

水生蔬菜提取物抑制人肝癌 HepG2 细胞和人胃癌 SGC7901 细胞的增殖

王俊南¹, 胡晓潇¹, 单恬恬¹, 易阳^{2,3}, 王宏勋^{1,3}, 王丽梅^{1,3}

(1. 武汉轻工大学生物与制药工程学院, 湖北武汉 430023) (2. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北武汉 430023) (3. 湖北省生鲜食品工程技术研究中心, 湖北武汉 430023)

摘要: 为探究水生蔬菜不同部位提取物对人肝癌 HepG2 细胞和人胃癌 SGC7901 细胞增殖的影响。本研究对菱角、芡实、莲藕、水芋头、茭白、荸荠和慈姑等 7 种常见的水生蔬菜的不同部位进行醇提和水提获得 15 种醇提取物、15 种水提取物。采用 CCK-8 法检测不同提取物对人肝癌 HepG2、人胃癌 SGC7901 细胞增殖的影响。结果表明菱角壳醇提取物、芡实壳醇提取物及水提取物对 HepG2 的增殖具有明显的抑制作用及剂量效应, 其浓度在 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时抑制率分别为 70.20%、83.52%、71.89%, 相同浓度下阳性药五氟尿嘧啶 (5-Fu) 的抑制率为 73.19%。菱角壳醇提取物及水提取物、芡实壳醇提取物与水提取物、芡实肉醇提取物、藕节醇提取物和荸荠皮醇提取物对 SGC7901 的增殖有较好的抑制作用及剂量效应, 其浓度在 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时抑制率分别为 58.86%、46.79%、41.27%、67.11%、49.93%、57.3%、58.96%, 相同浓度下阳性药五氟尿嘧啶 (5-Fu) 的抑制率为 49.33%。Pearson 相关性分析表明水生蔬菜提取物对肿瘤细胞增殖的影响与其黄酮、多酚的含量有关。

关键词: 水生蔬菜提取物; 人肝癌 HepG2 细胞; 人胃癌 SGC7901 细胞; 细胞增殖

文章编号: 1673-9078(2020)09-9-16

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.9.0068

Aquatic Vegetable Extract Inhibits the Proliferation of Human Hepatoma HepG2 and Human Gastric Cancer SGC7901 Cells

WANG Jun-nan¹, HU Xiao-xiao¹, SHAN Tian-tian¹, YI Yang^{2,3}, WANG Hong-xun^{1,3}, WANG Li-mei^{1,3}

(1. College of Biological and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

(2. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

(3. Hubei Engineering Research Center for Fresh Food, Wuhan 430023, China)

Abstract: In order to investigate the effects of the extracts from different parts of aquatic vegetables on the proliferation of human hepatoma HepG2 cells and human gastric cancer SGC7901 cells. In this study, 15 kinds of alcohol extracts and 15 kinds of water extracts were obtained from different parts of 7 common aquatic vegetables including water chestnut, gordon euryale seed, lotus root, water taro, wild rice stem, chufa and arrowhead. The effects of different extracts on the proliferation of human liver cancer HepG2 and human gastric cancer SGC7901 cells were detected by the CCK-8 method. The results showed that the alcoholic extract of water chestnut shell, alcoholic extract of euryale shell and water extract of euryale shell exhibited significant and dose-dependent inhibitory effects on the proliferation of HepG2, with the inhibition rates being 70.2%, 83.52% and 71.89% respectively, at 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (the inhibition rate of positive drug, the entafluorouracil (5-Fu), was 73.19% at the same concentration). The alcoholic extract and water extract of water chestnut shell, alcoholic and water extracts of euryale

引文格式:

王俊南, 胡晓潇, 单恬恬, 等. 水生蔬菜提取物抑制人肝癌 HepG2 细胞和人胃癌 SGC7901 细胞的增殖[J]. 现代食品科技, 2020, 36(9): 9-16

WANG Jun-nan, HU Xiao-xiao, SHAN Tian-tian, et al. Aquatic vegetable extract inhibits the proliferation of human hepatoma hep2 and human gastric cancer sgc7901 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(9): 9-16

收稿日期: 2020-01-17

基金项目: 农产品加工与转化湖北省重点实验室开发课题 (2018HBSQGDKFA03); 国家重点研发计划项目 (2018YFD0400603)

作者简介: 王俊南 (1993-), 女, 硕士, 研究方向: 植物活性功能成分

通讯作者: 王丽梅 (1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 营养生物学

shell, alcoholic extract of euryale flesh, alcoholic extract of lotus root, and alcoholic extract of water chestnut peel exhibited significant inhibitory effect on SGC7901 proliferation in a dose-dependent manner, with the inhibition rates at 400 $\mu\text{g/mL}$ as 58.86%, 46.79%, 41.27%, 67.11%, 49.93%, 57.3%, and 58.96% respectively (the inhibition rate of 5-Fu was 49.33%). Pearson correlation analysis revealed that the effects of aquatic vegetable extracts on tumor cell proliferation were related to the contents of flavonoids and polyphenols.

Key words: aquatic vegetable extract; human hepatoma HepG2 cells; human gastric cancer SGC7901 cells; cell proliferation

水生蔬菜 (Aquatic vegetable) 是指在淡水中生长, 可供食用的维管束植物, 其种类多达 10 多种, 大部分都是我国的传统蔬菜^[1]。现代医学表明, 水生蔬菜具有很高的保健和药用价值。如菱角的各个部位都可用来做药, 在抗肿瘤、控制血压、免疫调节、预防心血管疾病、抗氧化、抗炎方面有很强的功效^[2-4]。芡实具有多糖、黄酮、多酚等多种活性成分, 具有抗氧化及清除自由基、抑菌、降血糖、抑制黑素生成、抗疲劳等作用^[5-8]。莲藕含有丰富的膳食纤维, 全身都是宝, 具有明显的抗炎镇痛^[9]、降脂、抗氧化^[10]、抗痛觉过敏^[11]、抗病毒、抑菌能力。茭白可以开胃、清热解毒、预防高血压和动脉粥样硬化^[12]。荸荠有抗肿瘤、抗菌、抗氧化等作用^[13]。慈菇可促进消化吸收、治疗尿道炎症、缓解脚气等^[14]。

目前水生蔬菜中菱角的抗肿瘤研究相对较多, 其他水生蔬菜较少。Ge Zhan 等^[15]人对菱角壳黄酮进行体外抗氧化活性及抗肿瘤活性研究发现, 菱角壳黄酮提取物具有显著的抗氧化活性, 且能抑制人肺癌细胞 A594 的增值。谢艳茹等^[16]人发现菱角壳提取物可以抑制 SMMC-7721 肝癌细胞的增殖并诱导其凋亡。张杲等^[17]人研究发现菱角壳口服液对人胃癌裸鼠皮下移植瘤的生长具有一定的抑制作用, 可能是通过降低 VEGF 来防治胃癌。庞中好^[18]对菱角提取物多酚进行体外抗氧化活性及抗肿瘤活性研究发现, 四角菱角茎酚类化合物具有显著的抗氧化活性, 且能明显抑制人肺癌 A549 肿瘤细胞增殖, 诱导其凋亡。伍茶花^[19]等人选用二角菱壳和四角菱壳提浸膏进行体外抗肿瘤活性研究, 发现四角菱壳提浸膏对肺癌 A549 细胞的生长抑制作用强于二角菱壳提浸膏。欧丽兰等^[20]人提取慈菇多糖, 在小鼠皮下接种 S180 肿瘤细胞, 灌胃后慈菇多糖具有明显的体内抗肿瘤活性。

据报道, 肝癌和胃癌是最常见的恶性肿瘤, 其发病率和死亡率较高^[21,22], 现有文献表明水生蔬菜具有较好的抗肿瘤效果, 因此本研究选择常见的肿瘤细胞人肝癌 HepG2、人胃癌 SGC7901 细胞为研究对象。人肝癌细胞 HepG2 由 Aden 等人分离, 由于其在体外保持许多肝脏基因的特异性表达, 被广泛用于肝细胞功能研究^[23]。人胃癌 SGC7901 细胞于 1979 年建系, 取自一位 56 岁女性胃腺癌患者的淋巴结转移灶^[24]。

通过比较 7 种常见水生蔬菜不同部位提取物对人肝癌 HepG2、人胃癌 SGC7901 细胞增殖的影响, 旨在初步筛选出抗肿瘤活性较强的水生蔬菜提取物, 为水生蔬菜的开发利用提供一定参考, 为深入研究水生蔬菜的抗肿瘤作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

1.1.1 材料与试剂

菱角 (二角菱)、芡实、荸荠、莲藕; 茭白、莲藕、慈菇, 均购于武汉武商量贩超市; 人胃癌细胞 (SGC7901)、人肝癌细胞 (HepG2)、DMSO, 百奥斯生物公司; DMEM 高糖, PBS, Hyclone 公司; 胰酶, 杭州吉诺生物公司; 5-氟尿嘧啶, sigma 公司; 胎牛血清、双抗, 杭州四季青生物工程公司; CCK-8 试剂, 日本同仁; T 25 培养瓶、96 孔板, 美国 Coming 公司; 离心管, Extragene 公司。

1.1.2 仪器与设备

立式压力蒸汽灭菌锅, 上海博讯实业有限公司; CJ-1F 型医用净化工作台, 苏州市金燕净化设备有限公司; BX51 型电子显微镜, 日本 Olympus 公司; SCHP-80 CO₂ 培养箱, 常州恒德仪器有限公司; AXTD5A 台式低速离心机, 盐城市安信实验仪器有限公司; 酶标仪, 美国 Thermo。

1.2 实验方法

1.2.1 七种水生蔬菜不同部位提取物样品制备

水生蔬菜的提取由实验室单恬恬^[25]制备。

1.2.2 细胞传代及药品配置

细胞传代: 待细胞汇合至 90% 左右, 进行传代。弃去培养瓶中的培养基, 取 2 mL PBS 洗 2 次, 加入 1 mL 胰酶进行消化, 镜下观察细胞变圆, 间隙变大时弃去胰酶, 加入 2 mL 完全培养基进行吹打, 待瓶底细胞吹打干净后, 吸至 5 mL 离心管 1000 r/min 离心 3 min, 弃去上清, 加 2 mL 完全培养基吹打均匀。分别吸取 1 mL 细胞悬液到 T 25 细胞培养瓶中, 每瓶补加 4 mL 新鲜培养基吹打混匀, 放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养。

药品配置:称取 20 mg 样品,先加入 200 μL DMSO 溶液助溶,然后加入 1800 μL 的完全培养基。配置成 10 mg/mL 样品溶液,用 0.22 μm 的滤膜过滤除菌,然后稀释到 2000 μg/mL、1600 μg/mL、1200 μg/mL、800 μg/mL、400 μg/mL 备用。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞活力

用完全培养基将细胞密度调整为 4×10^4 cells/mL 的细胞悬液备用,在 96 孔板中设置只含完全培养基的空白组,只含细胞的完全培养基为对照组和含有细胞悬液加不同浓度药物的实验组,加药前每孔加入细胞悬浮液 100 μL,空白组加入 100 μL 完全培养基,每组设计 5 个复孔,外围加 100 μL PBS,37 °C、5% CO₂ 培养箱 24 h。实验组加入不同浓度的药品 100 μL,空白组和对照组加入 100 μL 完全培养基,培养 24 h。检

测时弃去孔内液体, PBS 洗 3 次,在厚沓纸上拍干,避光加入含有 10 μL CCK8 试剂的 100 μL 完全培养基,放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱孵育 3 h。酶标仪在波长为 450 nm 读数。按如下公式计算细胞增殖抑制率:

$$\text{细胞抑制率}/\% = (1 - \frac{OD_{\text{实验组}} - OD_{\text{空白组}}}{OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{空白组}}}) \times 100\%$$

1.3 数据统计分析

数据统计分析采用 Microsoft Excel2007、SPSS4.0 进行。

2 实验结果与分析

2.1 提取物对人肝癌细胞 HepG2 增值的影响

表 1 水生蔬菜提取物对 HepG2 的增殖抑制作用

Table 1 The effect of aquatic vegetable extracts on proliferation in HepG2 cells

样品	肝癌细胞生长抑制率/%				
	200 μg/mL	400 μg/mL	600 μg/mL	800 μg/mL	1000 μg/mL
菱角壳醇提取物	27.59±8.46	70.2±1.53	74.17±6.26	80.57±3.75	81.9±13.11
菱角壳水提取物	11.74±5.80	36.44±9.09	75.10±6.50	80.37±1.64	87.99±4.78
菱角肉醇提取物	11.8±16.94	19.32±3.09	19.59±16.25	20.77±15.69	31.34±12.28
菱角肉水提取物	8.18±3.91	12.86±1.76	8.05±7.27	17.92±1.31	24.14±6.73
芡实壳醇提取物	50.87±5.2	83.52±5.24	87.25±4.22	86.76±1.82	92.03±1.62
芡实壳水提取物	30.41±2.87	71.89±4.68	79.46±5.73	73.78±9.17	80.81±4.47
芡实肉醇提取物	11.80±7.65	35.11±3.19	48.03±1.29	58.59±9.2	74.44±2.23
芡实肉水提取物	-	-	-	-	-
茭白叶醇提取物	32.97±3.11	38.89±2.67	47.79±2.00	68.20±1.99	49.57±0.88
茭白叶水提取物	23.77±2.09	25.37±1.34	19.50±3.99	24.89±1.43	24.69±1.99
茭白肉醇提取物	-16.95±10.29	3.22±5.25	12.61±3.57	15.55±0.42	17.09±10.71
茭白肉水提取物	1.73±2.94	-6.00±14.67	17.99±3.08	7.38±10.35	14.30±1.56
芋头皮醇提取物	28.87±1.79	35±5.87	37.75±10.76	38.31±5.5	58.03±2.39
芋头皮水提取物	-	-	-	-	-
芋头肉醇提取物	-	-	-	-	-
芋头肉水提取物	-	-	-	-	-
藕节醇提取物	10.10±3.73	21.23±7.18	38.93±3.57	61.36±4.91	67.04±10.12
藕节水提取物	3.47±1.62	22.95±2.69	28.00±5.44	30.74±3.47	39.16±7.62
藕皮醇提取物	33.28±6.91	42.08±9.27	55.5±4.67	55.28±3.97	56.74±4.18
藕皮水提取物	-36.67±12.63	-20.69±11.53	-0.97±4	5.69±6.62	17.50±2.32
藕可食醇提取物	-11.99±5.89	16.07±3.3	19.42±3.4	22.06±2.08	39.81±1.44
藕可食水提取物	-	-	-	-	-
慈姑芽醇提取物	-8.49±15.37	5.90±1.79	18.98±11.94	21.72±0	23.83±1.46
慈姑芽水提取物	-	-	-	-	-
慈姑肉醇提取物	38.29±7.95	42.01±5.6	45.44±7.01	44.99±7.44	49.91±12.61
慈姑肉水提取物	-6.75±13.29	-3.88±11.88	9.96±4.05	7.68±10.39	10.30±11.4

转下页

接上页					
荸荠皮醇提取物	25.08±1.33	31.73±2.22	35.04±2.01	52.17±3.02	48.50±1.67
荸荠皮水提取物	-	-	-	-	-
荸荠肉醇提取物	20.84±4.3	48.15±0.75	35.92±0.26	34.80±2.76	37.42±2.23
荸荠肉水提取物	-20.7±3.36	18.05±7.89	34.79±5.03	31.99±10.73	51.06±4.06
五氟尿嘧啶	70.13±7.61	73.19±6.16	75.4±0.98	80.63±2.24	82.94±4.07

注：-表示无抑制效果。

由表 1 可以看出芡实肉水提取物、芋头皮水提取、芋头肉醇提取物、芋头肉水提取物、藕可食水提取物、茨菇芽水提取、荸荠皮水提取物 7 种提取物对 HepG2 细胞增殖无抑制作用。其它水生蔬菜提取物对 HepG2 的增殖都有一定的抑制作用。其中茭白肉醇提取物、藕皮水提取物、藕可食醇提取物、慈姑芽醇提取物、茨菇肉水提取物、荸荠肉水提取物在低浓度时抑制率为负值，考虑为在低浓度时由于样品营养物质的促进作用大于功效成分的抑制作用，因而促进了 HepG2 的生长。根据各提取物抑制强弱，计算出有抑制效果的提取物的 IC₅₀ 值，如表 2。

表 2 水生蔬菜提取物抑制 HepG2 增殖的 IC₅₀ 值
Table 2 The IC₅₀ of aquatic vegetable extracts inhibit proliferation in HepG2 cells

样品	IC ₅₀ /(μg/mL)	R ²
菱角壳醇提取物	312.72	0.8746
菱角壳水提取物	441.73	0.9582
芡实壳醇提取物	148.51	0.8411
芡实壳水提取物	289.34	0.7931
芡实肉醇提取物	586.77	0.9817
茭白叶醇提取物	937.33	0.9362
芋头皮醇提取物	851.18	0.8233
藕节醇提取物	686.35	0.9223
藕皮醇提取物	570.14	0.9266
慈姑肉醇提取物	1288.97	0.9122
荸荠皮醇提取物	1372.21	0.9138
5-FU	18.42	0.9098

由表 2 可知，芡实壳醇提取物、芡实壳水提取物、菱角壳醇提取物、菱角壳水提取物对 HepG2 增殖的抑制效果最好，其 IC₅₀ 值分别为 148.51、289.34、312.72、441.73 μg/mL。其次菱角壳醇提取物、芡实肉醇提取物、藕节醇提取物、藕皮醇提取物对 HepG2 的增殖抑制率 IC₅₀ 值分别为 441.73、586.77、686.35、570.14 μg/mL。同种蔬菜同种部位之间醇提取物 HepG2 增殖抑制效果要强于水提取物。将 4 种效果较好的水生蔬菜提取物与阳性药 5-FU 进行显著性分析，如图 1 所示。

如图 1，将同种浓度下芡实壳醇提取物、芡实壳水提取物、菱角壳醇提取物、菱角壳水提取物四种效果好的提

取物与 5-FU 进行比较，得出：五种样品随着浓度的递增，对 HepG 的增殖抑制率呈上升趋势。当样品浓度为 200 μg/mL 时，5-FU 对 HepG2 的增殖抑制率显著高于四种水生蔬菜提取物 ($p < 0.05$)；当样品浓度为 400 μg/mL 时，菱角壳水提取物的 HepG2 细胞增殖抑制率显著低于 5-FU ($p < 0.05$)，芡实壳醇提取物、芡实壳水提取物、菱角壳醇提取物对 HepG2 细胞的增殖抑制率接近 5-FU，差异不明显 ($p > 0.05$)；当提取物浓度达 600 μg/mL 后，四种提取物对 HepG2 的增殖抑制率与 5-FU 比较差异均不明显 ($p > 0.05$)。

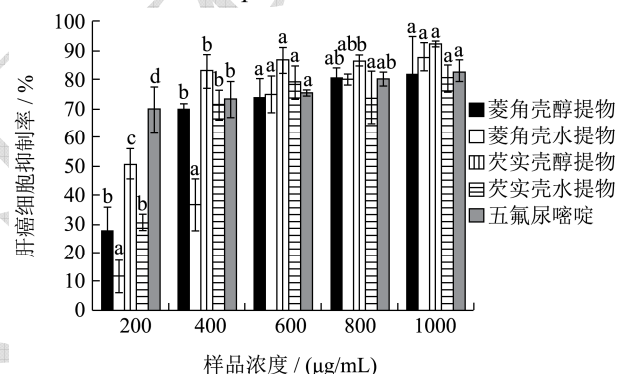


图 1 四种提取物在不同浓度下对 HepG2 生长抑制率

Fig.1 Four kinds of extracts on HepG2 cells growth inhibition rate under different concentrations

注：同一浓度的肝癌细胞抑制率显著性差异采用不同小写英文字母表示 ($p < 0.05$)。

综上所述，在 30 种水生蔬菜提取物中，对 HepG2 增殖抑制有较好效果的四种提取物，菱角壳醇提取物、菱角壳水提取物、芡实壳醇提取物及芡实壳水提取物在浓度大于等于 400 μg/mL (菱角壳水提取物为 600 μg/mL) 时，对 HepG2 增殖抑制效果与 5-FU 效果一致。菱角壳提取物对 HepG2 细胞的增殖抑制效果与侯莉莉^[26]研究结果相似，侯莉莉结果表明菱角壳黄酮粗提取物作用于 HepG 细胞 24 h 的 IC₅₀ 为 137.42 μg/mL。莲藕提取物对 HepG2 的增殖有一定的抑制效果，这与万红霞^[27]和孙杰^[28]的研究结果一致。万红霞研究结果表明，莲藕提取物作用于 HepG2 细胞 72 h 的 EC₅₀ 为 169.60 μg/mL，孙杰研究表明不同品种不同部位莲藕多糖可以抑制 HepG2 细胞增殖，藕可食多糖、藕皮多糖、藕节多糖作用于 HepG2 细胞 24 h 的 IC₂₅ 平均值分别为

352.74 $\mu\text{g/mL}$ 、212.81 $\mu\text{g/mL}$ 、217.84 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2 提取物对人胃癌细胞 SGC7901 增殖的影响

由表 3 可以看出芡实肉水提取物、茭白叶醇提取物、茭白叶水提取物、茭白肉醇提取物、茭白肉水提取物、芋头肉醇提取物、芋头肉水提取物、藕可食水提取物、茨菇芽水提取、慈姑肉水提取物、荸荠皮水提取物、荸荠肉醇提取物、

荸荠肉水提取物 13 种提取物对 SGC7901 的体外增殖无抑制作用。其它水生蔬菜提取物对人肝癌细胞 SGC7901 的体外增殖都有一定的抑制作用。其中芋头皮水提取物、藕皮水提取物、藕可食醇提取物、慈姑芽醇提取物在低浓度时抑制率为负值，考虑为在低浓度时由于样品营养物质的促进作用大于功效成分的抑制作用，因而促进了 SGC7901 的生长。根据各提取物抑制作用的强弱，计算出提取物对 SGC7901 增殖的抑制率的 IC_{50} 值，如表 4。

表 3 水生蔬菜提取物对 SGC7901 的增殖抑制作用

Table 3 The effects of aquatic vegetable extracts on proliferation in SGC7901 cells

样品名	胃癌细胞生长抑制率/%				
	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	600 $\mu\text{g/mL}$	800 $\mu\text{g/mL}$	1000 $\mu\text{g/mL}$
菱角壳醇提取物	47.47±10.46	58.86±8.97	75.95±9.56	81.01±5.7	90.03±3.59
菱角壳水提取物	15.38±4.00	46.79±4.84	73.72±5.88	82.69±16.36	95.51±9.99
菱角肉醇提取物	12.73±3.31	19.22±2.38	23.64±3.31	29.61±5.9	62.34±10.02
菱角肉水提取物	8.17±4.16	26.80±5.55	32.68±3.92	41.18±9.87	59.15±9.71
芡实壳醇提取物	12.70±11.98	41.27±5.5	88.89±7.27	88.89±2.75	96.83±2.75
芡实壳水提取物	61.39±8.23	67.11±3.47	75.00±32.68	75.33±5.56	78.45±2.72
芡实肉醇提取物	21.45±5.7	49.93±1.93	52.75±13.15	65.51±9.38	82.75±5.53
芡实肉水提取物	-	-	-	-	-
茭白叶醇提取物	-	-	-	-	-
茭白叶水提取物	-	-	-	-	-
茭白肉醇提取物	-	-	-	-	-
茭白肉水提取物	-	-	-	-	-
芋头皮醇提取物	28.16±2.01	34.66±2.01	44.36±5.43	44.01±6.03	55.42±7.12
芋头皮水提取物	-16.36±3.93	-0.46±4.66	24.38±5.24	46.37±0.33	49.61±2.95
芋头肉醇提取物	-	-	-	-	-
芋头肉水提取物	-	-	-	-	-
藕节醇提取物	41.20±6.19	57.30±3.37	71.35±14.29	79.03±8.73	79.40±2.83
藕节水提取物	11.14±8.12	19.33±13.18	25.59±5.88	6.56±3.64	33.77±7.22
藕皮醇提取物	10.87±10.25	28.74±4.43	44.20±7.67	50.00±5.80	64.49±4.10
藕皮水提取物	-35.03±11.63	-25.38±3.83	2.54±1.52	16.24±2.15	30.96±9.79
藕可食醇提取物	-22.22±8.57	-21.27±5.95	-6.98±1.35	0.63±4.95	32.38±4.79
藕可食水提取物	-	-	-	-	-
慈姑芽醇提取物	-26.97±9.49	2.56±2.78	15.85±2.15	16.17±0.57	16.34±2.09
慈姑芽水提取物	-	-	-	-	-
慈姑肉醇提取物	17.60±2.53	12.91±9.53	15.09±6.48	15.09±7.62	15.31±2.4
慈姑肉水提取物	-	-	-	-	-
荸荠皮醇提取物	52.60±6.66	58.96±5.89	59.93±5.28	48.72±2.99	60.90±10.32
荸荠皮水提取物	-	-	-	-	-
荸荠肉醇提取物	-	-	-	-	-
荸荠肉水提取物	-	-	-	-	-
五氟尿嘧啶	25.13±9.53	49.33±7.63	70.83±7.08	80.24±4.03	86.29±0

注：-表示无抑制效果。

表 4 水生蔬菜提取物抑制 SGC7901 增殖的 IC₅₀ 结果

Table 4 The IC₅₀ of aquatic vegetable extracts inhibit proliferation in SGC7901 cells

样品名称	IC ₅₀ /(μg/mL)	R ²
菱角壳醇提取物	240.31	0.9701
菱角壳水提取物	403.49	0.9938
菱角肉醇提取物	1207.35	0.6409
菱角肉水提取物	927.92	0.9298
芡实壳醇提取物	393.86	0.9346
芡实壳水提取物	71.98	0.9648
芡实肉醇提取物	457.66	0.945
芋头皮醇提取物	808.68	0.9561
芋头皮水提取物	1010.37	0.9492
藕节醇提取物	281.66	0.9801
藕皮醇提取物	719.74	0.9783
荸荠皮醇提取物	96.93	0.8675
5-FU	380.52	0.9922

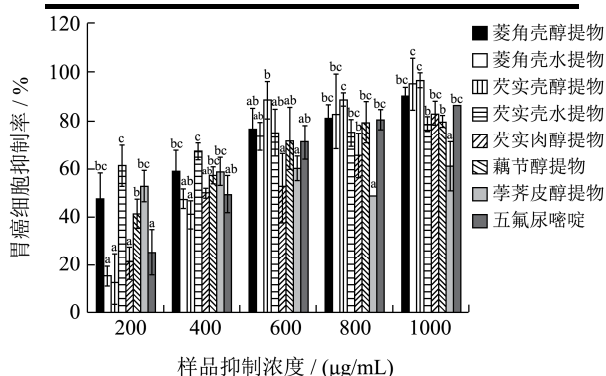


图 2 七种提取物在不同浓度下对 SGC7901 生长抑制率

Fig.2 Seven kinds of extracts on SGC7901 cells growth inhibition rate under different concentrations

注：同一浓度的肝癌细胞抑制率显著性差异采用不同小写字母表示 ($p < 0.05$)。

由表 4 可以看出，芡实壳水提取物、荸荠皮醇提取物对 SGC7901 增殖的抑制效果最好，其增殖抑制率的 IC₅₀ 值分别为 71.98 μg/mL、96.93 μg/mL。其次是菱角壳醇提取物、藕节醇提取物、芡实壳醇提取物、菱角壳水提取物、芡实肉醇提取物、对 SGC7901 增殖抑制效果较好，其 IC₅₀ 值分别为 240.31 μg/mL、281.66 μg/mL、393.86 μg/mL、403.49 μg/mL、457.66 μg/mL。除去芡实壳提取物以外，同种蔬菜同种部位之间醇提取物对 SGC7901 增殖抑制效果要强于水提取物。阳性对照 5-FU 的增殖抑制率 IC₅₀ 值为 380.52 μg/mL，菱角壳醇提取物、菱角壳水提取物、芡实壳醇提取物、芡实壳水提取物、芡实肉醇提取物、藕节醇提取物、荸荠皮醇提取物的 IC₅₀ 值小于阳性对照或与其相差不大，通过图 2 进行显著性分析。

将同种浓度下菱角壳醇提取物、菱角壳水提取物、芡

实壳醇提取物、芡实壳水提取物、芡实肉醇提取物、藕节醇提取物、荸荠皮醇提取物与 5-FU 进行比较，荸荠皮醇提取物对 SGC7901 具有增殖抑制作用，但对浓度不敏感，其它 7 种样品对 SGC7901 的增殖抑制率有剂量效应。当样品浓度为 200 μg/mL 时，菱角壳醇提取物、芡实壳水提取物、藕节醇提取物、荸荠皮醇提取物对 SGC7901 的增殖抑制率显著高于 5-FU ($p < 0.05$)，菱角壳水提取物、芡实壳醇提取物、芡实肉醇提取物对 SGC7901 的增殖抑制率与 5-FU 比较无明显差异 ($p > 0.05$)；当样品浓度为 400 μg/mL 时，芡实壳水提取物对 SGC7901 的抑制率显著高于 5-FU 以及其它 6 种提取物 ($p < 0.05$)，其它 6 种提取物对 SGC7901 的抑制作用与 5-FU 比较无明显差异 ($p > 0.05$)；当样品浓度为 600 μg/mL，七种提取物对 SGC7901 的增殖抑制作用与 5-FU 比较无明显差异 ($p > 0.05$)。

综上所述，对 SGC7901 增殖抑制有较好效果的七种提取物中，荸荠皮醇提取物在低浓度时对 SGC7901 的抑制作用强于 5-FU，高浓度时弱于 5-FU。菱角壳醇提取物、菱角壳水提取物、芡实壳醇提取物、芡实肉醇提取物、藕节醇提取物以及荸荠皮醇提取物在浓度等于 400 μg/mL 浓度时对 SGC7901 的增殖抑制效果与 5-FU 无显著差异 ($p > 0.05$)。菱角壳提取物对胃癌细胞有增殖抑制效果，这与侯莉莉^[26]、牛凤兰^[29]、宁颖^[30]林秋生^[31]的研究结果一致，都具有较好的抗肿瘤效果。侯莉莉结果表明菱角壳黄酮粗提取物作用于 SGC7901 细胞 24 h 的 IC₅₀ 为 279.64 μg/mL，牛凤兰结果表明菱壳水提取物作用于 SGC7901 细胞 2 h 时，剂量达 14.06 g/L 时，抑瘤率为 37.76%；宁颖结果表明南湖菱壳提取物经均匀设计优化提取工艺，其作用于 SGC7901 细胞 24 h，细胞的存活率仅为 45.52%；林秋生研究结果表明无角菱壳、二角菱壳、四角菱壳的乙酸乙酯相对 SGC7901 有较好的抑制效果，在浓度为 50 μg/mL 时，其作用于 SGC7901 细胞 24 h 最高抑制率分别可以达到 89.11%、71.79%和 70.17%。

2.3 水生蔬菜提取物抑制肿瘤增殖的 IC₅₀ 值与

其化学成分的相关分析

将提取物抑制细胞增殖的 IC₅₀ 值与其黄酮及多酚含量进行相关性分析，30 种提取物总酚及黄酮含量由实验室单恬恬测定^[25]。由表 5 得出，提取物抑制 HepG2 增殖的 IC₅₀ 值与其黄酮及多酚含量极显著相关，随着黄酮和多酚含量的增加，其对 HepG2 的增殖抑制效果越好，IC₅₀ 值越小。提取物抑制 SGC7901 增殖的 IC₅₀ 值与其黄酮及多酚含量显著相关，随着黄酮和多酚含

量的增加, 其对 SGC7901 的增殖抑制效果越好, IC_{50} 值越小。可初步判断水生蔬菜提取物的抗肿瘤活性与其黄酮、多酚的含量有一定关系。

表5 提取物抑制细胞增殖 IC_{50} 值与成分的相关性分析

Table 5 IC_{50} value of extract inhibiting cell proliferation and the chemical composition analysis of the correlation

细胞株		Pearson 相关性	
		黄酮	多酚
HepG2	IC_{50}	-0.863**	-0.839**
SGC7901	IC_{50}	-0.589*	-0.601*

注: “**”在 0.01 水平 (双侧) 上极显著相关; “*”在 0.05 水平 (双侧) 上显著相关。

3 结论

3.1 目前水生蔬菜的利用主要是取其可食部分, 其不可食部分例如皮、壳等被丢弃, 造成一定的资源浪费。本实验以 7 种水生蔬菜的不同提取部位的提取物为材料, 包括可食和不可食部分的醇提物和水提物, 采用 CCK-8 法检测其对人肝癌 HepG2、人胃癌 SGC7901 细胞增殖的影响。结果发现同种蔬菜同种部位之间醇提物对 HepG2 增殖抑制效果要强于水提物。除去芡实壳提取物之外, 其它同种蔬菜同种部位之间醇提物对 SGC7901 增殖抑制效果要强于水提物。醇提物是用 70% 乙醇提取减压浓缩, 冷冻干燥获得的。水提物是蒸馏水提取减压浓缩冷冻干燥获得的, 二者的区别主要是极性不同, 醇提物主要是极性小的物质, 水提物主要是极性大的物质。大部分醇提物对人肝癌 HepG2、人胃癌 SGC7901 细胞的抑制效果强于水提物, 主要原因是其含有更多的黄酮和多酚物质。在这些水生蔬菜提取物中, 芡实壳醇提物对 HepG2 增殖的抑制效果最好, 其 IC_{50} 值为 148.51 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。芡实壳水提物对 SGC7901 增殖的抑制效果最好, 其增殖抑制率的 IC_{50} 值为 71.98 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.2 综上所述, 芡实壳醇提物和芡实壳水提物对人肝癌 HepG2、人胃癌 SGC7901 细胞增殖抑制效果最好, 相关性分析表明水生蔬菜提取物对肿瘤细胞增殖的影响与其黄酮、多酚的含量有关, 该实验结果为水生蔬菜的开发利用提供了一定的参考。后续实验室将会关注抗肿瘤效果最好的芡实壳提取物, 对其抗肿瘤活性成分及其机理进行研究。

参考文献

[1] 张海芬, 高云涛, 那吉, 等. 8 种水生蔬菜清除水溶性 ABTS⁺ 自由基活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(6): 8-13, 18
ZHANG Hai-fen, GAO Yun-tao, NA Ji, et al. Scavenging

activities of water-soluble ABTS⁺ free radicals from eight species of aquatic vegetables [J]. Food Research and Development, 2019, 40(6): 8-13, 18

- [2] Poyuan Chiang, Jhihying Ciou. Effect of pulverization on the antioxidant activity of water caltrop (*Trapa taiwanensis* Nakai) pericarps [J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 43(2): 361-365
- [3] 林秋生, 陈莹, 于海宁, 等. 三种菱壳不同极性部位提取物的生物活性[J]. 食品工业科技, 2013, 34(2): 139-142, 146
LIN Qiu-sheng, CHEN Ying, YU Hai-ning, et al. Bioactivities of different polar fractions from three water caltrop pericarps [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(2): 139-142, 146
- [4] Bora Kim, Jin Eun Kim, Byung-Kook Choi, et al. Anti-inflammatory effects of water chestnut extract on cytokine responses via nuclear factor- κ B-signaling pathway [J]. Biomolecules & Therapeutics, 2015, 23(1): 90-97
- [5] 张溢, 孙培冬, 陈桂冰, 等. 芡实多糖的提取、抗氧化活性及对质粒 DNA 氧化损伤防护作用的研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(11): 122-126
ZHANG Yi, SUN Pei-dong, CHEN Gui-bing, et al. Antioxidant activity and protective effect on oxidative plasmid DNA damage of polysaccharides from semen euryales [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(11): 122-126
- [6] 王红, 吴启南, 蒋征, 等. 干燥方式对芡实功能性成分含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(7): 19-25
WANG Hong, WU Qi-nan, JIANG Zheng, et al. Effects of different drying methods on functional component contents and antioxidant activity of *Euryale semen* [J]. Food Science, 2015, 36(7): 19-25
- [7] Seung-Hwa Baek, In-Jeong Nam, Hyeong Seob Kwak. Cellular anti-melanogenic effects of a *Euryale ferox* seed extract ethyl acetate fraction via the lysosomal degradation machinery [J]. International Journal of Molecular Science, 2015, 16(5): 9217-9235
- [8] Wu ChengYing, Chen Rong, Wang Xin Sheng. Antioxidant and anti-fatigue activities of phenolic extract from the seed coat of *Euryale ferox* Salisb and identification of three phenolic compounds by LC-ESI-MS/MS [J]. Molecules, 2013, 18(9): 11003-11021
- [9] K Ghedira, W Borgi, N Chouchane. Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks [J]. Fitoterapia, 2007, 78(1): 16-19
- [10] Jeong Soon You, Yun Ju Lee, Kyoung Soo Kim, et al.

- Ethanol extract of lotus (*Nelumbo nucifera*) root exhibits an anti-adipogenic effect in human pre-adipocytes and anti-obesity and anti-oxidant effects in rats fed a high-fat diet [J]. *Nutrition Research*, 2014, 34(3): 258-267
- [11] Abdur Rauf, Ghias Uddin, Haroon Khan, et al. Anti-hyperalgesic activity of crude extract and 7-methyljuglone of *Diospyros lotus* roots [J]. *Natural Product Research*, 2015, 29(23): 2226-2229
- [12] 李效尊.水生蔬菜营养及药用价值研究进展[J].长江蔬菜, 2015,22:25-30
LI Xiao-zun. Research progress on nutrition and medicinal value of aquatic vegetables [J]. *Journal of Changjiang Vegetables*, 2015, 22: 25-30
- [13] 刘旭,周忠光,安柏松,等.荸荠药理学研究进展[J].中医药信息,2010,27(6):106-108
LIU Xu, ZHOU Zhong-guang, AN Bai-song, et al. Advances in pharmacology of water chestnut [J]. *Information on Traditional Chinese Medical*, 2010, 27(6): 106-108
- [14] 戴得蓉,涂彩虹,段丽丽,等.慈姑药用价值研究进展[J].新农业,2016,13:25-26
JI De-rong, TU Cai-hong, DUAN Li-li, et al. Research progress on medicinal value of arrowhead [J]. *Xin Nong Ye*, 2016, 13: 25-26
- [15] ZHAN Ge, PAN Lei-qing, TU Kang, et al. Antitumor, antioxidant, and nitrite scavenging effects of chinese water chestnut (*Eleocharis dulcis*) peel flavonoids [J]. *Journal of Food Science*, 2016, 81(10): 2578-2586
- [16] 谢艳茹.菱角提取物诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡[J].肿瘤学杂志,2011,17(1):34-37
XIE Yan-ru. Trapa extract induced apoptosis in liver cancer cell line SMMC-7721 [J]. *Journal of Chinese Oncology*, 2011, 17(1): 34-37
- [17] 张杲,金国梁.菱角口服液对人胃癌裸鼠皮下移植瘤生长的抑制作用及其 VEGF 表达的影响[J].中国中医药科技, 2015,22(2):148-150
ZHANG Gao, JIN Guo-liang. Inhibition of caltrop oral liquid on growth of human gastric cancer transplanted subcutaneous in nude mice and effect on VEGF expression [J]. *Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology*, 2015, 22(2): 148-150
- [18] 庞中好.四角菱角茎多酚的提取及体外抗氧化、抗肿瘤活性研究[D].镇江:江苏大学,2017
PANG Zhong-hao. The extraction of polyphenols from tetranychus citrinol and evaluation its antioxidant and antitumor activity *in vitro* [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2017
- [19] 伍茶花.菱角壳化学成分及其活性研究[D].长沙:湖南中医药大学,2012
WU Cha-hua. Chemical constituents and activities of caltrop shell [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2012
- [20] 欧丽兰,余昕,张椿,等.慈姑多糖的提取工艺及其抗肿瘤活性[J].中成药,2016,38(8):1835-1838
OU Li-lan, YU Xin, ZHANG Chun, et al. Extraction technology and antitumor activity of arrowhead polysaccharides [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2016, 38(8): 1835-1838
- [21] 陈陶阳,朱源荣.我国肝癌发病趋势及展望[J].肿瘤,2008, 28(10):908-910
CHEN Tao-yang, ZHU Yuan-rong. Incidence trend and prospect of liver cancer in China [J]. *Tumro*, 2008, 28(10): 908-910
- [22] 邹文斌,李兆申.中国胃癌发病率及死亡率研究进展[J].中国实用内科杂志,2014,34(4):408-415
ZHOU Wen-bin, LI Zhao-shen. Research progress on incidence and mortality of gastric cancer in China [J]. *Chinese Journal of Practical Internal Medicine*, 2014, 34(4): 408-415
- [23] Darlington G J, Kelly J H, Buffone G J. Growth and hepatospecific gene expression of human hepatoma cells in a defined medium [J]. *Vitro Cellular & Developmental Biology*, 1987, 23(5): 349-354
- [24] 林超鸿,富志民,刘亚伦,等.人体胃腺癌细胞株 SGC-7901 的建立[J].肿瘤,1981,1:1-3,44-51
LIN Chao-hong, FU Zhi-min, LIN Ya-lun, et al. The establishment of human gastric carcinoma cell line (SGC-7901) [J]. *Tumro*, 1981, 1: 1-3, 44-51
- [25] 单恬恬,范艳慧,徐筱莹,等.水生蔬菜提取物抑菌活性研究及其在冷鲜鸭肉保鲜中的应用[J].食品科技,2019,7:146-153
SHAN Tian-tian, FAN Yan-hui, XU Xiao-ying, et al. Research on antibacterial activity of aquatic vegetable extracts and application in duck meat preservation [J]. *Food Science and Technology*, 2019, 7: 146-153
- [26] 侯莉莉.菱角壳黄酮提取纯化工艺优化及生物活性研究[D].武汉:武汉轻工大学,2015
HOU Li-li. Study on extraction, purification and biological activity flavonoids from water chest shell [D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2015