

文章编号: 1004-4353(2016)01-0045-03

榛花粉不同提取物组分抗癌活性研究

曹思明¹, 韩立杰², 张玲², 金铁岩^{1,2*}

(1. 延边大学理学院 化学系, 吉林 延吉 133002; 2. 延边大学农学院 食品科学系, 吉林 延吉 133002)

摘要: 以榛花粉为原材料, 首先利用乙醇浸泡榛花粉得到乙醇提取物, 然后分别利用不同溶剂对榛花粉乙醇提取物进行萃取得到不同组分, 利用 MTT 比色法测量榛花粉各提取组分对胃癌细胞(AGS)和肝癌细胞(SK-Hep1)生长的体外抑制作用. 实验结果表明: 榛花粉各提取组分对胃癌细胞均具有很好的抑制作用, 对肝癌细胞的抑制活性较低, 其中二氯甲烷组分对癌症细胞的抑制活性均高于其他各组分.

关键词: 榛花粉; 榛花粉提取物; 抗癌活性

中图分类号: TS202.1

文献标识码: A

Research on anticancer activity of different extracts in hazel pollen

CAO Siming¹, HAN Lijie², ZHANG Ling², JIN Tieyan^{1,2*}

(1. Department of Chemistry, College of Science, Yanbian University, Yanji 133002, China;

2. Department of Food Science, College of Agriculture, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: Hazel pollen acted as raw material, and ethanol was used as extraction solvent to obtain the hazel pollen extracts. The extracts was tested with MTT assay after further extracted with different solvent to understand their effect on growth inhibition of in vitro test of human gastric carcinoma cells (AGS) and human liver adenocarcinoma cells (SK-Hep1). The results show that hazel pollen extract components have a good inhibition of gastric cancer but lower inhibitory activity in liver cancer; Dichloromethane extractes show higher inhibitory activity of cancer cells than the others.

Keywords: hazel pollen; hazel pollen extract; anticancer activity

癌症是危害人类健康的主要疾病之一^[1]. 在对抗癌药物的研究过程中, 研究者发现在天然植物体中含有大量与癌症治疗相关的有效成分, 例如: 云南红豆杉中的紫杉醇; 苦参和喜树中的生物碱类物质; 葡萄、白桦树中存在的多酚类物质如花青素及挥发油、有机酸类物质等^[2-3]. 研究^[4]显示, 这些天然成分能够作用于癌细胞非正常表达的特异性或非特异性大分子物质, 在一定程度上能够抑制其癌变, 更重要的是对正常细胞的损伤极小, 不良反应少, 这对新型抗癌药物的研发具有重要意义.

榛花是桦木科植物榛的雄花, 一些学者对其成分及其对肝脏的保护作用进行了研究, 例如: 白玉华等^[5]对榛花的药用化学成分进行了研究; 栾芳等^[6]利用火焰原子吸收光谱法检测了榛花中的金属元素, 发现榛花中含有钠、镁、锌等对人体必需的多种微量元素; 蔡英茂^[7]通过组织化学观察法研究了肝组织糖原的含量变化情况, 探讨了榛花的降糖作用机理. 植物花粉具有增强免疫、抗氧化、促进新陈代谢等功能, 其防癌抗癌作用也引起了国内外学者的关注^[8-10], 但有关榛花粉研究相对较少; 因此, 本文选取榛花粉, 选用二氯甲烷、乙

酸乙酯等 6 种不同溶剂提取榛花粉的组分, 并采用 MTT 法对各组分提取物对 AGS 和 SK-Hep1 的体外生长抑制活性进行了实验^[11-12].

1 材料与仪器

1.1 实验材料

野生榛花粉; 二甲亚砜(DMSO)、MTT 试剂, sigma 公司生产; 乙醇、正己烷(n-hexane)、二氯甲烷(CH_2Cl_2)、四氯化碳(CCl_4)、乙酸乙酯(EtOAc)、正丁醇(BuOH) 为 AR 级, 均购于 Aladdin 试剂公司; 青霉素、链霉素, 上海尚善生物科技有限公司生产; AGS、SK-Hep1, 上海慧颖生物科技有限公司生产; 灭活胚牛血清(FBS), 江苏恩莫阿赛生物技术有限公司生产; RPMI、DMEM 培养基.

1.2 实验仪器

B224S 型电子天平, 立特电子(德国)科技公司生产; EE-5250 型旋转蒸发仪, 西安市太康科技集团生产; HS-1 型恒温水浴锅, 南京舜昇仪器有限公司生产; HZ-2411K 型恒温摇床, 常州市凯航仪器有限公司生产; SHELLAB 2514-2 型 CO_2 培养箱, 北京伯乐有限公司生产.

2 实验方法

2.1 榛花粉提取物的制备

称取 1 g 干燥后的榛花粉, 加入 10 mL 体积分数为 95% 的乙醇溶液, 室温下静置浸泡 12 h, 将粗取物进行真空抽滤并蒸发除去其中溶剂, 得到干燥的榛花粉乙醇提取物, 简称 HP-EE.

利用 n-hexane、 CH_2Cl_2 、 EtOAc 、 BuOH 、蒸馏水对干燥的 HP-EE 分别进行梯度提取, 将得到的榛花粉不同溶剂提取组分低温避光保存, 待实验备用.

2.2 榛花粉不同提取组分抗癌活性测定

2.2.1 细胞培养 将 AGS、SK-Hep1 培养在含有青霉素(100 unit/mL)、链霉素(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和体积分数 10% 的灭活胎牛血清(FBS) 的 RPMI 和 DMEM 培养基中, 在 5% CO_2 和 37 $^\circ\text{C}$ 恒温条件下培养, 并每 3~4 d 进行 1 次续代培养.

2.2.2 细胞生长抑制实验 参考文献^[12] 并进

行修改, 采用 MTT 比色法对榛花粉不同提取物组分进行细胞生长抑制实验. 将 AGS 和 SK-Hep1 调节到 2×10^4 cells/mL, 并将它们培养在 96 孔细胞培养板中. 培养 16 h 后, 分别用浓度为 100、50、25、12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的榛花粉提取物处理, 72 h 后加入 MTT 溶液, 4 h 后终止细胞培养. 去除孔内培养液和 MTT 溶液, 每孔分别加入 DMSO, 并放置在摇床上振荡 10 min(低速), 以使生成的蓝紫色结晶物甲臌充分溶解. 在 540 nm 处测量各孔的吸光值. 设置调零孔(MTT、DMSO、培养液) 及对照孔(调零孔基础上添加药物介质溶解等浓度的细胞).

2.2.3 数据处理 根据各孔测得的吸光值计算细胞的存活率^[13], 利用榛花粉不同提取组分的浓度对 2 种癌症细胞株的生长抑制能力作图, 并算出半抑制浓度(IC_{50} 值).

3 结果与讨论

榛花粉不同提取组分对 AGS 和 SK-Hep1 生长的体外抑制作用如图 1 和图 2 所示. 可以看出, 榛花粉不同提取组分对胃癌细胞的抑制活性都较高, 其中抑制活性最高的是 CH_2Cl_2 所提取的组分. 从半抑制浓度 IC_{50} 值可以看出, CH_2Cl_2 组分的 IC_{50} 值为 18 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 而作为医药品 IC_{50} 值不能超过 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 这说明实验中各组分都不满足这一要求. 在实验过程中只有 CH_2Cl_2 组分在 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度时, 对 AGS 表现出 45.5% 的生长抑制效果, 而且在 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度时表现出 75% 的生长抑制效果.

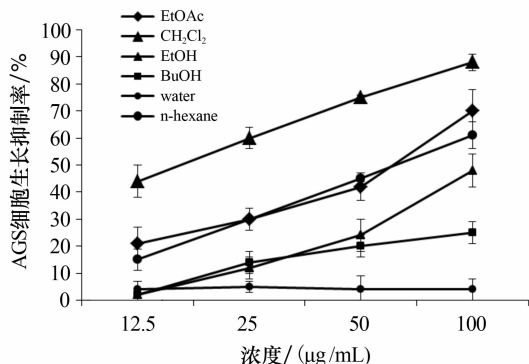


图 1 榛花粉不同提取组分对 AGS 细胞体外抑制的效果

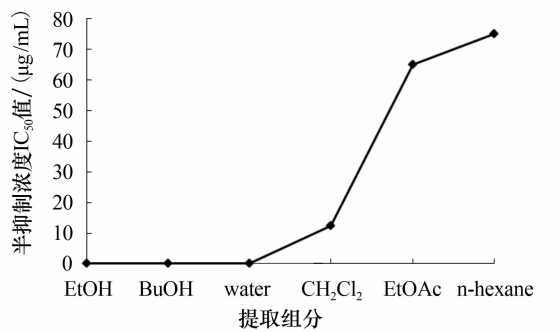


图 2 榛花粉不同提取组分对 AGS 细胞的半抑制浓度 IC₅₀ 值

由图 3 和图 4 可以看出,榛花粉不同提取组分对肝癌细胞的抑制活性不是很高,其中抑制活性最高的是 CH₂Cl₂ 提取组分.从半抑制浓度 IC₅₀ 值可以看出,CH₂Cl₂ 组分的 IC₅₀ 值为 50 μg/mL,而作为医药品 IC₅₀ 值不能超过 10 μg/mL,这说明各组分都不能满足作为抗肝癌药品开发的要求.在实验过程中,CH₂Cl₂ 组分在 50 μg/mL 浓度时,对肝癌细胞表现出 50% 的生长抑制效果.因此,如果对榛花粉抗癌有效物质进行进一步研究,CH₂Cl₂ 组分是最佳选择.

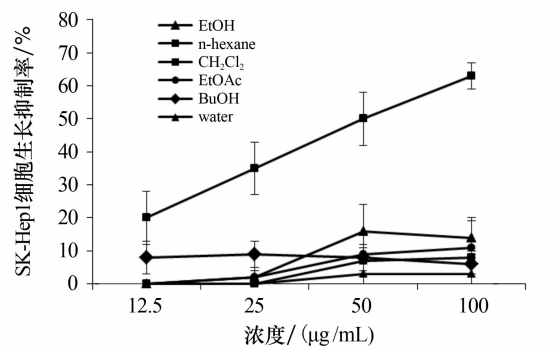


图 3 榛花粉不同提取组分对 SK-Hep1 细胞体外抑制的效果

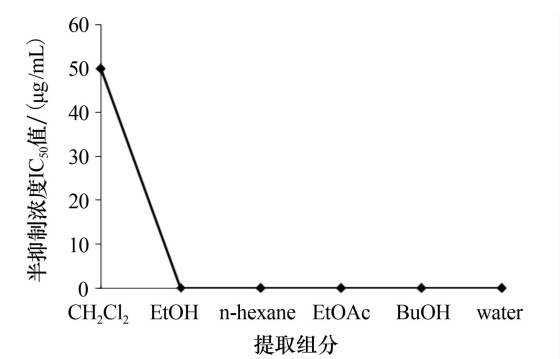


图 4 榛花粉不同提取组分对 SK-Hep1 细胞的半抑制浓度 IC₅₀ 值

4 结论

本文利用 MTT 法,分析了榛花粉不同提取物组分对 AGS 和 SK-Hep1 的体外抑制作用.结果表明,榛花粉各提取物组分对胃癌细胞有一定抑制作用,而对肝癌细胞的抑制活性较低,对 2 种癌症细胞的抑制率分别为 75% 和 50%.榛花粉提取物组分的抗癌机理和活性化学成分的研究还需要进一步探索.

参考文献:

[1] 刘峰,魏新庭,王冬冬. 抗癌药物的研究现状[J]. 聊城大学学报(自然科学版),2006,19(1):39-43.

[2] 聂纯. 天然药物抗癌有效成分研究进展[J]. 中草药,1999,30(1):65-69.

[3] 唐春风,梁洁,彭玉德. 天然抗癌药物研究进展[J]. 广西医学,2006,28(6):946-948.

[4] 萧伟,陈凤龙,章成峰,等. 国内外天然药物的发展现状和趋势[J]. 中草药,2009,11(11):1681-1687.

[5] 白玉华,孙颖,于春月,等. 榛花挥发油的化学成分[J]. 药学与临床研究,2010,18(3):265-266.

[6] 栾芳,赵艳丽,李锦莲,等. 榛花中八种金属元素分析鉴别[J]. 黑龙江医药科学,2014,37(5):31-32.

[7] 蔡英茂. 榛花对糖尿病小鼠肝组织糖原合成的影响[J]. 中国中医药科技,2008,15(4):322.

[8] 郭芳彬. 花粉的抗癌作用机理浅析[J]. 蜜蜂杂志,2006,26(6):38-40.

[9] 周康,杨芳,姚娜,等. 花粉的营养及功能概述[J]. 农产品加工(学刊),2013(10):60-63.

[10] 于淑玲,杜丽敏. 花粉的营养价值和综合利用[J]. 中国食物与营养,2007(1):43-44.

[11] Stockerta J C, Blázquez-Castroa A, Canetea M, et al. MTT assay for cell viability: intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets[J]. Acta Histochemica, 2012,114(8):785-796.

[12] 马金霞,潘世扬,张卫,等. MTT 比色法用于肿瘤细胞体外药物敏感性试验的检测[J]. 临床检验杂志,2002,20(2):104.

[13] 林秋生. 菱壳生物活性成分分析及抗胃癌机制研究[D]. 杭州:浙江大学,2013.