

文章编号:1001-6880(2016)6-0928-07

# 中国野生蓝莓总花青素对 A549 细胞活力和周期改变的影响

吕留庄<sup>1</sup>, 汪雯翰<sup>2\*</sup>, 许剑锋<sup>1\*</sup><sup>1</sup> 上海海洋大学食品学院 海洋生物制药教研室, 上海 201306; <sup>2</sup> 上海市农业科学院食用菌研究所

农业部南方食用菌资源利用重点实验室 国家食用菌工程技术研究中心 国家食用菌加工技术研发分中心

上海市农业遗传育种重点开放实验室, 上海 201403

**摘要:**为了进一步探究中国野生蓝莓的功能特性,本研究从中国野生蓝莓中提取总花青素,并使用 XAD-7 大孔树脂进行纯化,考察纯化后总花青素提取物对 A549 细胞平板克隆、增殖、细胞周期、早期凋亡和 ROS 释放的影响,并初步探讨其作用机理。研究结果表明,中国野生蓝莓总花青素对 A549 细胞活力有明显的抑制作用,对其增殖抑制的 IC<sub>50</sub> 值为 176.652 μg/mL,对细胞周期也有明显影响并能引起早期凋亡现象以及 ROS 释放。

**关键词:**花青素;A549;平板克隆;细胞周期;凋亡;ROS

中图分类号:Q936;TS202.3

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.6.019

## Effect of Chinese Wild Blueberry Anthocyanins on A549 Cell Viability and Cell Cycle Changes

LV Liu-zhuang<sup>1</sup>, WANG Wen-han<sup>2\*</sup>, XU Jian-feng<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Food science & Technology, Shanghai Ocean University, Marine bio-pharmaceutical Department, Shanghai 201306, China; <sup>2</sup> Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Edible Fungi Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture, P. R. China, National Engineering Research Center of Edible Fungi, National R&D Center for Edible Fungi Processing, Key Laboratory of Agricultural Genetics and Breeding of Shanghai, Shanghai 201403, China

**Abstract:** In order to further explore the functional characteristics of Chinese wild blueberry, anthocyanins were extracted from Chinese wild blueberry and purified by macroporous resin XAD-7. The effects of purified extract on the cells plate clone, proliferation, cell cycle, early apoptosis and ROS release were investigated to evaluate its anti-tumor activity against A549 cells, as well as its mechanism. The results showed that the viability of A549 cells was inhibited significantly after stimulation by Chinese wild blueberry anthocyanins. The half maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) value was 176.652 μg/mL. It also had a significant effect on the cell cycle and can cause early apoptosis and ROS release.

**Key words:**anthocyanins;A549;cell cycle;apoptosis;ROS

蓝莓,也称越橘,是多年生常绿灌木,属于杜鹃花科越橘属。蓝莓被誉为“水果皇后”,是第三代水果的典型代表<sup>[1]</sup>,是花青素含量最丰富的水果<sup>[2]</sup>。伴随着人们生活水平的不断提高和保健意识的日益增强,蓝莓成为一种时尚保健水果,受到广大消费者的喜爱。野生蓝莓与人工栽培蓝莓相比,其果实偏小,水分和糖含量较少,然而野生蓝莓中花青素色素(花青素、矮青牛配基和甲基花青素等)含量高达 3.3 ~ 33.8 mg/kg,约是人工栽培品种的 5 ~ 20 倍<sup>[3]</sup>。花青素是一种生物类黄酮,有多项研究表明

来源其他植物的花青素具有多种生物学活性<sup>[4-8]</sup>。然而,由于中国野生蓝莓口感稍差,如仅仅作为普通水果,与人工栽培蓝莓相比并不具有优势,但野生蓝莓中的花青素含量极高,提供先进的花青素高效提取法,可将其用于相关功能食品和保健品的开发。然而国内针对野生蓝莓的相关研究报道还较为少见,从而导致人们对野生蓝莓营养价值和生物活性的认识不足。本研究拟在中国野生蓝莓总花青素高效提取的基础上<sup>[9]</sup>,以人肺腺癌细胞系 A549 为研究对象,通过检测总花青素对体外培养肿瘤细胞增殖、周期、凋亡和细胞内活性氧水平的影响,来深入探明中国野生蓝莓总花青素的抗肿瘤生物学活性,为中国野生蓝莓的功能特性食品的开发奠定基础。

收稿日期:2016-01-22 接受日期:2016-04-29

\* 通讯作者 Tel:86-21-61900388;E-mail:jfxu@shau.edu.cn;  
wangwenhan@saas.sh.cn

# 1 材料与仪器

## 1.1 材料与试剂

蓝莓采摘于中国大兴安岭林区,-20 ℃冻存;蒸馏水(实验室制备);无水甲醇,甲酸,98%甲酸,试剂均为分析纯,购买自国药集团化学试剂有限公司;Amberlite® XAD-7HP 大孔树脂,购买自美国 Sigma 公司;A549 细胞株由上海市农业科学院保存传代;RPMI-1640 (# 21875-034)、无色 RPMI-1640 (# 1016442) 和胎牛血清 (#8172881) 购自 GIBCO 公司;Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (#8043) 购自 Carl Roth 公司;Ribonuclease A (RNase A) (#EN053) 购自 Fermentas 公司;Propidium iodide (PI) (#P4170) 购自 Sigma 公司;alamarBlue® (#BUF012B) 购自 AbD serotec 公司。凋亡试剂盒购买自凯基生物,活性氧检测试剂盒(S0033)购买自碧云天生物科技研究所。

## 1.2 仪器

5424 高速离心机(德国 Eppendorf 公司);CR21G 高速冷冻离心机(日本 Hitachi 公司);Christ Alpha 2-4 LD 冷冻干燥机(德国 Christ 公司);BC-R2001 型旋转蒸发仪(上海贝凯生物化工设备有限公司);RS12 生物安全柜(美国 Thermo 公司);Synergy HT 多功能酶标仪(Bio-TEK 公司);流式细胞仪(BD Accuri C6);Mirco-Osmometer Model 3300 渗透压仪。

# 2 实验方法

## 2.1 中国野生蓝莓中总花青素提取

总花青素提取参照 Prior<sup>[9]</sup> 等的方法,稍作改进。将蓝莓冻果解冻匀浆并冷冻干燥成粉末,取 120 g 粉末,加入 1.8 L 甲醇:水:甲酸(85:15:0.5,体积比),涡旋 30 s,超声 5 min,超声过程中振荡 2 次,使得样品重悬,静置 5 min,漩涡 30 s,静置 5 min,5500 rpm 离心 10 min,收集上清。再用 1.2 L 甲醇:水:甲酸(85:15:0.5,体积比)提取 3~5 次,直到残渣中颜色不再改变为止,将两次所得上清液混合,4 ℃ 8000 rpm 冷冻离心 5 min 除去残渣,旋转蒸发去除甲醇。

## 2.2 中国野生蓝莓总花青素的纯化

将所得提取液装入 Amberlite® XAD-7HP 大孔树脂柱中纯化,体积比为 1:3,其中大孔树脂柱是采用湿法装柱,先用 95% 乙醇洗脱 2~3 个 BV,再用

蒸馏水洗至无醇味,然后用 2~3 倍体积 0.5% 甲酸水溶液饱和吸附柱,上样,充分吸附后开始洗脱,用 0.5% 甲酸、甲醇洗脱,回收总花青素,去除甲醇,乙酸乙酯萃取 3 次,除去酚酸后减压浓缩收集得总花青素,冷冻干燥得冻干粉,并置于-20 ℃ 保存。

## 2.3 中国野生蓝莓总花青素含量的测定

总花青素含量采用 pH 示差法测定,参照矢车菊-3-O-葡萄糖苷。取样品 1 mL,加入 4 mL pH4.5 的醋酸钠缓冲液(0.4 mol/L)或 pH1.0 的氯化钾缓冲液(0.025 mol/L),摇匀,吸光值分别在 520 nm 和 700 nm 波长处被测定。3 次重复实验。结果按照以下公式进行计算:

$$C = \frac{A}{(\varepsilon \times 1) \times 1000 \times MW \times DF}$$

式中,C 为蓝莓中总花青素的含量,mg/L;A = (OD<sub>520</sub>-OD<sub>700</sub>)pH<sub>1.0</sub>-(OD<sub>520</sub>-OD<sub>700</sub>)pH<sub>4.5</sub>;ε 为摩尔吸光系数,按照矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的摩尔系数进行计算,是 26900,MW 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的摩尔质量,是 449.2 g/mol;DF 为稀释因子,1 为比色皿宽度(1 cm)。最终结果用 100 g 样品中含有总花青素的量(mg)来表示。

## 2.4 中国野生蓝莓生物活性研究

### 2.4.1 细胞培养

A549 细胞培养基为 RPMI-1640,细胞在 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 以及饱和湿度的培养箱中培养,细胞汇集至 85% 时进行传代接种,选取对数生长期细胞进行实验。

### 2.4.2 对 A549 细胞平板克隆形成的影响

取分别用浓度为 12.5、50、100 μg/mL 花青素处理过 18 h 的 A549 细胞,用 0.25% 胰蛋白酶消化并吹打成单个细胞,并把细胞悬浮在 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中备用。分别接种于含 10 mL 37 ℃ 预温培养液的皿中,每个培养皿中接种细胞数目为 100 个,并轻轻转动使细胞分散均匀。每组至少 3 个平行,置 37 ℃ 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的细胞培养箱中培养 2~3 周。经常观察,当培养皿中出现肉眼可见的克隆时,终止培养。弃去上清液,用 PBS 小心浸洗 2 次。加 4% 多聚甲醛固定细胞 5 mL 固定 15 min。然后去固定液,加适量 GIMSA 应用染色液染 10~30 min,然后用流水缓慢洗去染色液,空气干燥。将平皿倒置并叠加一张带网格的透明胶片,用肉眼直接计数克隆,或在显微镜(低倍镜)计数大于 10 个细胞的克隆数。最后计算克隆形成率,并对

实验结果使用 SPSS 19.0 进行单因素显著性分析。

$$\text{克隆形成率} = (\text{克隆数}/\text{接种细胞数}) \times 100\%$$

#### 2.4.3 对 A549 细胞增殖的影响

取对数生长期的 A549 细胞, 胰酶消化, 1000 rpm 离心 3 min, 除去上清, 用无色 RPMI-1640 培养基稀释成  $2 \times 10^4$  个/mL 的细胞悬浮液, 用移液枪轻轻吹打均匀后, 加至 96 孔板, 每孔加 100  $\mu\text{L}$ , 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 以及饱和湿度的培养箱中培养 4~6 h, 待细胞完全贴壁后吸取旧培养基, 然后每孔分别加入含不同浓度样品 (50、80、100、150 和 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的新鲜培养基 100  $\mu\text{L}$ , 每个样品重复 3 个孔, 以 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 5 氟尿嘧啶 (5-Fu) 为阳性对照, 以 DMSO 为阴性对照。置于 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 以及饱和湿度的细胞培养箱中共培养 72 h, 培养结束后吸去培养基, 每孔加入 180  $\mu\text{L}$  无色 RPMI-1640 培养基和 20  $\mu\text{L}$  Alamar blue 原液, 放入细胞培养箱中继续孵育, 随时观察 AlamarBlue 变色情况, 待其发生变色后, 用酶标仪上测定 570 nm 和 600 nm 处的吸光度, 然后根据公式计算样品对细胞增殖的抑制率, 并采用 SPSS19.0 软件处理求得 IC<sub>50</sub> 值。

$$\text{抑制率}(\%) =$$

$$1 - \frac{A\lambda 570(\text{sample}) - A\lambda 600(\text{sample})}{A\lambda 570(\text{control}) - A\lambda 600(\text{control})} \times 100\%$$

#### 2.4.4 流式细胞术 Annexin V-FITC 和 PI 双染色法检测对 A549 细胞早期凋亡的影响

选择生长良好的对数期 A549 细胞制成细胞悬液, 将细胞浓度调整为  $1 \times 10^5$ /mL, 以每孔 1 mL 细胞悬液接种于 12 孔板, 分五组, 分别为阴性对照组 (5% DMSO), 三组样品组 (50、100 和 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 和一组阳性对照组 (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  5-Fu)。加入含有 50、100 和 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  花青素的培养基于相应样品组, 37 °C 培养 48 h 后, 加入 0.05% EDTA 离心收集细胞, 弃上清, 用预冷 PBS 洗细胞一次, 吸去上清, 再加入 300  $\mu\text{L}$  Binding Buffer 悬浮细胞, 加入 2.5  $\mu\text{L}$  Annexin V-FITC 和 2  $\mu\text{L}$  PI 混匀, 室温避光孵育 15 min, 以标准程序用流式细胞仪检测, 计数 1 万个细胞, 结果用细胞周期拟合软件 FlowJo 分析, 并对实验结果使用 SPSS 19.0 进行单因素显著性分析。

#### 2.4.5 流式细胞术碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 染色法检测野生蓝莓总花青素对 A549 细胞周期影响

选择生长良好的对数期 A549 细胞制成细胞悬液, 将细胞浓度调整为  $1 \times 10^5$  个/mL, 以每孔 1 mL

细胞悬液接种于 12 孔板, 分五组, 分别为阴性对照组 (5% DMSO), 四组样品组 (50、80、100 和 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 和阳性对照组 (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  5-Fu)。加入含有 50、80、100 和 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  花青素的培养基于样品组, 37 °C 培养 48 h 后, 离心收集细胞, 弃上清, 用预冷 PBS 洗细胞一次, 加入预冷 70% 乙醇, 于 4 °C 固定过夜, 离心收集细胞, 以 PBS 洗细胞一次, 加入 100  $\mu\text{L}$  含 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PI 和 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  RNase A 的 PBS 溶液, 常温孵育 30 min, 加入 300  $\mu\text{L}$  PBS 后, 以标准程序用流式细胞仪检测, 计数 1 万个细胞, 结果用细胞周期拟合软件 FlowJo 分析。

#### 2.4.6 流式细胞术 DCF 染色法检测中国野生蓝莓总花青素对 A549 细胞 ROS 释放的影响

选择生长良好的对数期 A549 细胞制成细胞悬液, 将细胞浓度调整为  $2 \times 10^5$  个/mL, 以每孔 0.5 mL 细胞悬液接种于 24 孔板, 分六组, 分别为阴性对照组 (5% DMSO), 四组样品组 (30、50、80 和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 和一组阳性对照组 (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  5-Fu), 加入含有 30、50、80 和 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  花青素的培养基于四个相应实验组; 37 °C 培养 24 h 后, 吸去培养基, 加入 400  $\mu\text{L}$  含有 50 mM DCF 的 PBS, 37 °C 避光培养 30 min, 吸去上清, 加入 300  $\mu\text{L}$  0.05% EDTA 收集细胞, 以标准程序用流式细胞仪检测, 计数 1 万个细胞, 结果用细胞周期拟合软件 FlowJo 分析。

### 3 结果与分析

#### 3.1 中国野生蓝莓总花青素含量测定结果

选择 520 nm 为花青素的最大吸收波长, 并将测得的花青素含量转变成每 100 g 样品含的花青素 mg 数。测得该实验蓝莓中总花青素含量为 (149.66 ± 3.45) mg/100 g 冻果。

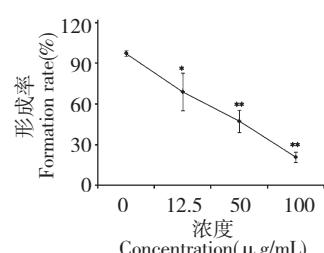


图 1 不同浓度花青素对 A549 细胞平板克隆形成的抑制作用

Fig. 1 Inhibition effects of different concentrations of anthocyanins on flat plate clone of A549 cells

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

### 3.2 中国野生蓝莓总花青素对 A549 细胞平板克隆形成的影响结果

由图 1 可知,不同浓度的花青素对 A549 平板克隆形成有显著地抑制作用,当花青素浓度为 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时即对 A549 细胞平板克隆形成表现出明显的抑制作用,花青素浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,克隆形成率仅为 21%。

### 3.3 中国野生蓝莓总花青素对 A549 细胞增殖的影响结果

由图 2 可知,中国野生蓝莓总花青素在对 A549 细胞增殖有明显的抑制作用,且与浓度呈现正相关关系,在 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度时与同浓度的阳性对照 5-Fu 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  抑制效果十分接近,并且通过 SPSS19.0 软件分析数据得出中国野生蓝莓花青素对 A549 细胞增殖抑制作用的  $\text{IC}_{50}$  值为 176.652  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

### 3.4 中国野生蓝莓总花青素对 A549 细胞早期凋亡的影响结果

细胞增殖能力与早期凋亡有着密切的关系,因

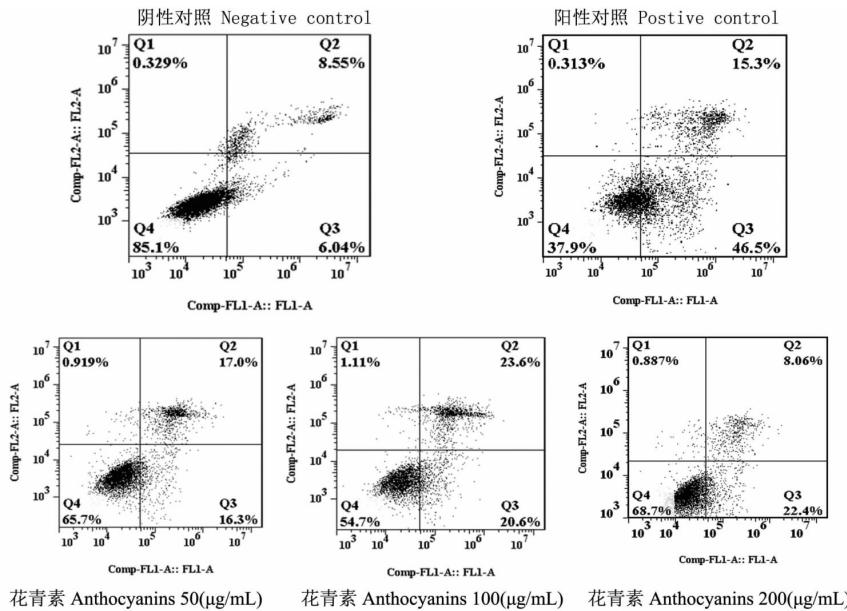


图 3 不同浓度花青素对 A549 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effects of different concentrations of anthocyanins on apoptosis of A549 cells

### 3.5 中国野生蓝莓总花青素对 A549 细胞周期的影响结果

通过流式细胞术实验,不仅能观察凋亡发生还能检测细胞周期的变换,而肿瘤细胞增殖能力的下降则与细胞周期改变也存在着一定的关系。研究结果如图 4 所示,各浓度花青素处理组均可明显降低 G0/G1 细胞数量,并同时能引起 A549 细胞凋亡,提

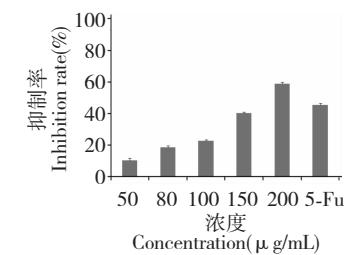
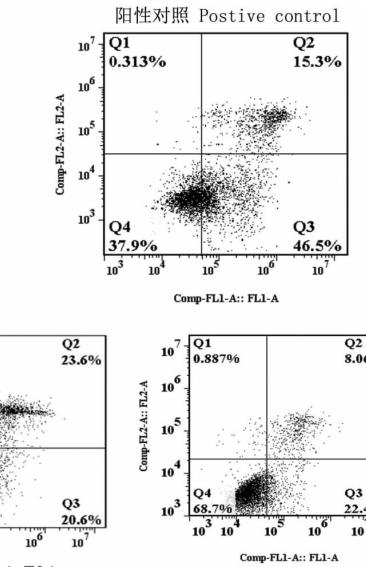


图 2 不同浓度花青素对 A549 细胞增殖抑制作用

Fig. 2 Inhibition effects of different concentrations of anthocyanins on A549 cells proliferation

而在本实验中利用 Annexin V-FITC 和 PI 双染法检测早期凋亡率。研究结果如图 2 提示,50、100 和 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  花青素组的早期细胞凋亡率分别为 16.3%、20.6% 和 22.8%,均明显高于阴性对照组,提示花青素能引起细胞早期凋亡上升,并呈现一定的浓度梯度依赖性。并且由表 1 可知,与阴性对照组相比,阳性对照组具有极显著性差异,100 和 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  花青素组有显著性差异。



示凋亡细胞主要来自于 G0/G1 期细胞,而阳性对照虽也引起凋亡细胞比率上升,但凋亡细胞主要来自于 S 期细胞。

### 3.6 中国野生蓝莓总花青素对 A549 细胞 ROS 释放的影响结果

已有研究表明肿瘤细胞凋亡的 Fas-FasL 死亡受体途径和线粒体途径在很大程度上都依赖于

表 1 不同浓度花青素诱导 A549 细胞凋亡率 (Mean ± SD)

Table 1 The apoptosis rate of A549 cells induced by different concentrations of anthocyanins (Mean ± SD)

| 组别<br>Groups          | 浓度<br>Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ ) | 凋亡率<br>Apoptosis rate (%) |
|-----------------------|--|---------------------------|
| 阴性对照 Negative control | -  | 6.04 ± 0.50               |
| 阳性对照 Positive control | 25                                       | 46.5 ± 0.80 * *           |
| 花青素 Anthocyanins      | 50                                       | 16.3 ± 1.10               |
|                       | 100                                      | 20.6 ± 0.82 *             |
|                       | 200                                      | 22.4 ± 1.57 *             |

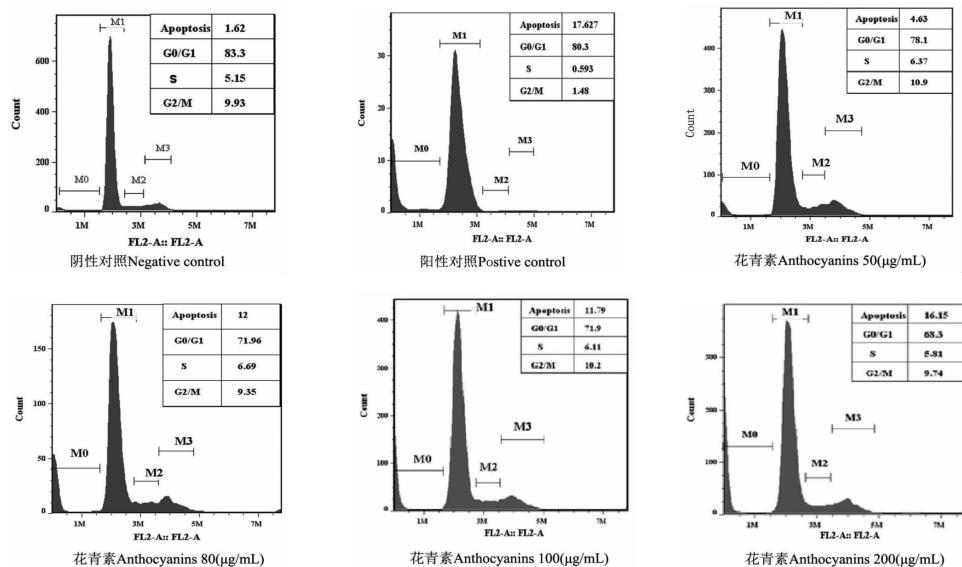
注:与阴性对照组相比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。Note: Compared with negative control, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

图 4 不同浓度花青素对 A549 细胞周期的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of anthocyanins on A549 cell cycle

ROS, 并且这两种途径是相互联系的, 也与 ROS 水平有关。研究结果如图 5 所示, 30  $\mu\text{g/mL}$  花青素不能明显引起 A549 释放 ROS, 而 50、80 和 100  $\mu\text{g/mL}$

的花青素均能明显引起 ROS 的释放, 但 80 和 100  $\mu\text{g/mL}$  花青素引起 ROS 的释放量有所下降。

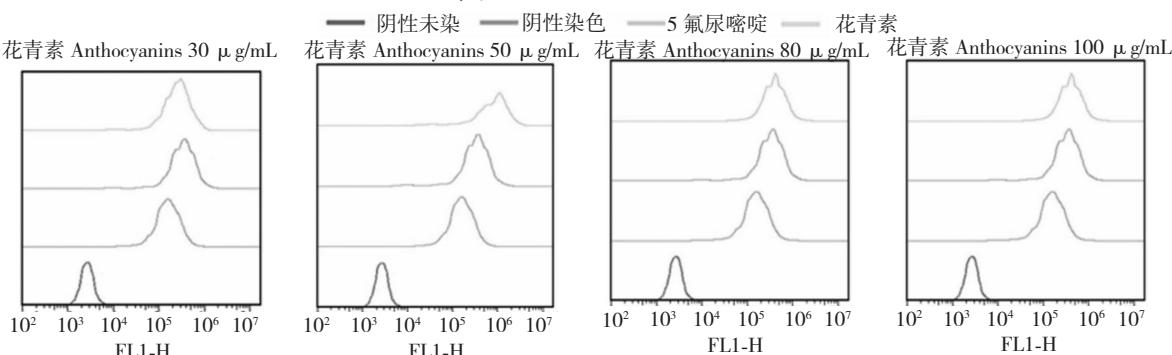


图 5 不同浓度花青素对 A549 细胞 ROS 释放的影响

Fig. 5 Effect of different concentrations of anthocyanins on ROS release of A549 cells

## 4 讨论

花青素传统的提取方法是在低沸点的醇类中加入盐酸,但 Garcia-Viguera 近年研究认为添加盐酸可能会导致花青素的分解,本研究采用的提取方法经吴献礼<sup>[10]</sup>的研究证明使用甲醇替代乙醇提取花青素的得率更高,采用的甲酸代替盐酸也不易导致花青素的分解。

近 50 年来许多国家都报道肺癌的发病率和死亡率均明显增高,男性肺癌发病率和死亡率均占所有恶性肿瘤的第一位,女性发病率占第二位,死亡率占第一位。作为全球头号癌症杀手,近年来肺癌的发病率在全球范围内仍呈持续上升的趋势,而这一趋势在中国尤其明显<sup>[11,12]</sup>。目前,化疗是治疗肺癌的主要手段之一,而传统化疗药物单独治疗肺癌的效果不理想,同时其毒副作用较大。经大量实践证明,运用现代提取分离纯化技术,从天然产物中获得的天然活性物质,如三萜、生物碱、多糖和皂苷等活性成分能治疗恶性肿瘤,同时减轻放化疗的毒副作用<sup>[13-16]</sup>;孙璐曾做过玉米紫色植株色素对人肺腺癌 A549 细胞增殖的抑制作用研究,但目前为止,国内尚未发现有关于中国野生蓝莓总花青素针对 A549 细胞增殖的抑制作用的研究报道。本实验研究表明,中国野生蓝莓花青素对体外 A549 细胞克隆和增殖有明显的抑制作用,并能引起肺癌细胞早期凋亡大幅上升,展现出良好的抗肿瘤活性,同时实验中使用液体渗透压仪器检测各组的渗透压,溶液均在正常渗透压范围,排除了过高浓度的溶剂因改变培养液的渗透压等因素引起细胞的坏死。而侯锐等人的研究也发现花青素会选择性的抑制癌细胞,并且对正常的细胞几乎没有抑制作用<sup>[17]</sup>。在本实验中,细胞周期的研究进一步表明花青素通过改变细胞周期,降低 G0/G1 细胞数量,来发挥诱导细胞凋亡的作用。有研究表明,花青素通过作用于周期调控蛋白(P53、P21、P27)、细胞周期蛋白 D1 和细胞周期蛋白 A 等来阻滞细胞周期的各个阶段,从而发挥抗增殖作用<sup>[18]</sup>,因而提示花青素导致 A549 细胞 G0/G1 期比例下降的作用,可能是通过作用于以上调控蛋白来完成的。

在细胞正常的新陈代谢过程中会产生适量的 ROS,并且一定量的 ROS 是细胞正常生长所必需的,然而过量的 ROS 往往会导致细胞凋亡的发生。已有研究表明,ROS 诱导的细胞凋亡与 Fas-FaL 死亡

受体途径和线粒体途径均密切相关;FasL 可以诱导 Ralcl 蛋白激活,而这种激活受到 ROS 的调节,Ralcl 蛋白能够激活 Caspase-8 引起细胞出现凋亡<sup>[19]</sup>;ROS 的增加能够导致线粒体膜通透性转运孔(Mitochondrial Permeability Transition pore, MPT)开放,MPT 的开放引起线粒体跨膜电位降低,细胞色素的释放,进一步激活一系列的 Caspase 酶通路<sup>[20]</sup>。本实验研究发现中国野生蓝莓花青素可引起 A549 细胞 ROS 释放增加,表明青花素的促细胞凋亡作用可能通过引起 ROS 释放来实现的。

随着科学家们对花青素抗肿瘤机制深入的研究,给予了医学界和医药界新的发展领域。花青素虽然普遍存在于各种水果和蔬菜等人们日常摄取的食物中,但实验表明,通过人们正常的消化途径,在人体中能够检测到的花青素浓度很低,无法达到发挥生物活性的最低浓度,如何充分发挥花青素药理活性尚待进一步研究。

## 参考文献

- 1 Jiang WJ (姜文洁), Sun XH (孙晓红), Zhu Y (朱颖), et al. Antibacterial effects of Chinese wild blueberry extracts on four pathogenic bacteria. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2014, 26: 1884-1888.
- 2 Hu YX (胡雅馨), Li J (李京), Hui BL (惠伯棣). Research for blueberry fruit nutrition and anthocyanin main components. *Food Sci*, 2006, 27: 600-603.
- 3 Farah S, Hosseiniyan. Saskatoon and wild blueberries have higher anthocyanin contents than other manitoba berries. *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 10832-10838.
- 4 Van Duyn MA, Pivonka, E. Overview of the health benefits of fruit and vegetable consumption for the dietetics professional: selected literature. *J Am Diet Assoc*, 2000, 10: 1511-1521.
- 5 Wu XL, Alexander G. Schauss. Mitigation of inflammation with foods. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 6703-6717.
- 6 Wu XL, Kang J, Xie CH, et al. Dietary blueberries attenuate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by upregulating antioxidant enzyme expression. *J Nutr*, 2010, 7: 1628-1632.
- 7 Kalt W, Blumberg JB, McDonald JE, et al. Identification of anthocyanins in the liver, eye, and brain of blueberry-fed pigs. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 705-712.
- 8 Wu M (吴敏), Zhang J (张杰), Zeng FJ (曾凡骏). The current stability situation of anthocyanins. *China Food Addit* (中国食品添加剂), 2008, 5: 50-54.

(下转第 903 页)