

# 红冬蛇菰提取物抗氧化及抑制亚硝化作用研究

张声源<sup>1</sup>, 庄远杯<sup>1</sup>, 罗铝铿<sup>1</sup>, 陈一村<sup>2</sup>, 聂华<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>嘉应学院医学院, 梅州 514031; <sup>2</sup>汕头大学医学院, 汕头 515041

**摘要:** 对红冬蛇菰不同溶剂提取物的抗氧化活性及抑制亚硝化作用进行比较研究。采用 DPPH 法、ABTS 法和普鲁士蓝法分别测定各提取物的自由基清除能力和铁离子还原力, 以评价红冬蛇菰的抗氧化能力; 采用盐酸萘乙二胺法和  $\alpha$ -萘胺法分别测定红冬蛇菰各提取物对亚硝酸盐的清除率和对亚硝胺合成的阻断率, 以评价红冬蛇菰的抑制亚硝化作用。实验结果表明, 红冬蛇菰各提取物中乙酸乙酯提取物清除 DPPH 自由基 ( $IC_{50} = 0.06 \pm 0.001$  mg/mL) 和 ABTS 自由基 ( $IC_{50} = 0.07 \pm 0.001$  mg/mL) 能力以及对铁离子还原能力最强, 并显著强于其他提取物 ( $P < 0.01$ ), 其中清除 ABTS 自由基的能力显著高于 Vc ( $IC_{50} = 0.10 \pm 0.002$  mg/mL) ( $P < 0.01$ ); 在模拟人体胃液的条件下 (pH 3.0, 温度 37 °C), 各提取物能有效地清除亚硝酸盐以及阻断亚硝胺合成, 并随着反应质量浓度增加清除率和阻断率增大最后趋于平缓, 其中乙酸乙酯提取物对亚硝酸盐的清除能力 ( $IC_{50} = 1.91 \pm 0.022$  mg/mL) 和亚硝胺合成的阻断能力 ( $IC_{50} = 8.44 \pm 0.091$  mg/mL) 均显著强于其他提取物 ( $P < 0.01$ )。红冬蛇菰提取物属天然产物, 具有较好的抗氧化活性和抑制亚硝化作用, 因此在抗氧化剂的研究方面具有潜在的开发利用价值, 同时极有可能是一种新的防癌抗癌天然保健品。

**关键词:** 红冬蛇菰; 抗氧化; 抑制亚硝化; 自由基; DPPH

中图分类号: R932

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.12.014

## Antioxidant and Inhibitory Effect on Nitrosation of Extracts from *Balanophora harlandii*

ZHANG Sheng-Yuan<sup>1</sup>, ZHUANG Yuan-bei<sup>1</sup>, LUO Lv-keng<sup>1</sup>, CHEN Yi-cun<sup>2</sup>, NIE Hua<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Medical College, Jiaying University, Meizhou 514031, China; <sup>2</sup>Medical College, Shantou University, Shantou 515041, China

**Abstract:** The antioxidant activities and inhibition on nitrosation of different solvent extracts from *Balanophora harlandii* were researched by comparative study. Antioxidant activities of *B. harlandii* extracts were evaluated by methods of DPPH radical scavenging, ABTS radical scavenging and Prussian blue. Nitrate removal rate and blocking rate of nitrosamine of different solvent extracts were determined with the methods of hydrochloric acid naphthalene ethylene diamine and  $\alpha$ -naphthylamine to evaluate its inhibitory effect on nitrosation reactions, respectively. The results showed that the ethyl acetate extract of *B. harlandii* had the strongest free radical scavenging and ferric ion reducing power ( $P < 0.01$ ), the ABTS free radical scavenging ability of which was higher than Vc ( $P < 0.01$ ). In simulated conditions of human gastric juice (pH 3.0, temperature 37 °C), *B. harlandii* extracts can effectively scavenge nitrite and block the nitrosamines synthesis. With the concentration increasing, the rates of scavenging and block trended gently. However, the activity of scavenge nitrite and block the nitrosamines synthesis of *B. harlandii* ethyl acetate extract ( $IC_{50} = 1.91 \pm 0.022, 8.44 \pm 0.091$  mg/mL, respectively) were the higher than that of other extracts of *B. harlandii*. The extracts of *B. harlandii* had strong antioxidant activity and nitrosation inhibition effect, which had potential value for development and utilization in the antioxidant research and can be most potentially developed as a new anti-cancer natural health product.

**Key words:** *Balanophora harlandii*; antioxidant activity; inhibition of nitrosation; free radical; DPPH

各种自由基所引发的氧化损伤是导致体内各组织器官损伤、病变的重要原因之一, 人类许多重大疾病如糖尿病、癌症、心脑血管疾病等均与由自由基引起的氧化损伤密切相关<sup>[1,2]</sup>。亚硝胺具有强大的致癌作用, 是人类最重要的化学致癌物之一, 能引起鼻咽癌、食道癌、胃癌等多种器官恶性肿瘤, 还可通过

收稿日期: 2017-08-07 接受日期: 2017-10-13

基金项目: 广东省科技计划(2014A020221061, 2015A090905019); 广东省医学科研基金(A2015354); 梅州市科技研究与开发资金(201408); 广东省大学生创新创业项目(201510582060)

\* 通信作者 E-mail: niehua007@163.com

胎盘屏障使下一代致癌,清除体内亚硝酸盐和阻断亚硝胺的合成是预防亚硝胺所致癌症的有效途径<sup>[3]</sup>。大量研究显示,许多天然活性成分如黄酮类、酚类等具有良好的阻断亚硝胺合成、清除亚硝酸根以及抗氧化的作用<sup>[4,5]</sup>。药食两用植物具有安全低毒的特点,更符合人们对绿色安全的追求。从资源丰富的药食两用植物中寻找高效、低毒、安全、价廉的抗氧化及抑制亚硝化活性成分已成为国内外科研工作研究热点<sup>[6]</sup>。

红冬蛇菰 (*Balanophora harlandii*) 为蛇菰科 (*Balanophoraceae*) 蛇菰属多年生肉质寄生植物,又名红冬菰、石莲花、观音坐莲,主产于广东,具活血化瘀、清热解毒等功效<sup>[7,8]</sup>。我国是把蛇菰入药最早的一个国家,历代本草也有记述。《本草纲目》指出“诸名山皆有之,惟太和山采取,云乃葛之精华也。秋霜浮空,如芝、菌涌生地,其色赤脆,盖罩类也”<sup>[9]</sup>。笔者前期对广东梅州市阴那山自然保护区药用植物资源调查时首次发现红冬蛇菰在该区域资源较为丰富,常被当地群众作为植物汤料制作药膳用于防治糖尿病和风湿类疾病;此外,由于其外形独特,与肉苁蓉较为相似,民间根据“以形补形”中医养生理念以红冬蛇菰作为原料将其制作补肾药酒<sup>[10]</sup>。但由于野生红冬蛇菰生长环境特殊,生长季节性较强,采摘周期短,多年来红冬蛇菰一直未得到深入研究与开发,民间食用药用科学内涵不明确<sup>[8]</sup>。本试验首次采用 DPPH 法、ABTS 法和普鲁士蓝法评价红冬蛇菰各提取物的抗氧化活性,并在模拟人体胃液条件下采用盐酸萘乙二胺法和  $\alpha$ -萘胺法分别测定红冬蛇菰各提取物对亚硝酸盐的清除率和对亚硝胺合成的阻断率,以期红冬蛇菰的进一步开发利用提供实验数据和理论依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 植物来源

红冬蛇菰于 2015 年 11 月采自广东省阴那山自然保护区,经嘉应学院医学院药学系丘明建副教授鉴定为蛇菰科蛇菰属植物红冬蛇菰 (*Balanophora harlandii*) 的干燥全草,标本存放于嘉应学院医学院天然药物标本馆(编号:201511128)。

### 1.2 试剂

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH, 上海金穗生物科技有限公司,批号 20160119);2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS, 上海阿拉丁

生化科技股份有限公司, K1517067); $\alpha$ -萘胺 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 C1611170);磷酸二氢钠 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 I1510084);十二水磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 H1531004);铁氰化钾 ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , 上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 G1523049);三氯乙酸 ( $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ , 上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 H1519007);对氨基苯磺酸 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 A1604003),二甲胺 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 D1627011),盐酸萘乙二胺 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 F1602040),维生素 C (Vc, 天津市天新精细化工开发中心,批号 20150504,纯度  $\geq 98\%$ ),其他试剂均为分析纯。

### 1.3 仪器

UV-1800 型紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司),Q-Gard A2 型超纯水仪 (德国 Millipore 公司),BT125D 型电子分析天平 (德国 Sartorius 公司),BS110s 型电子分析天平 (德国 Sartorius 公司),TG16-WS 型高速离心机 (长沙维尔康湘鹰离心机有限公司),JP-100S 型超声波清洗器 (深圳市洁盟清洗设备有限公司),N-1100V 型旋转蒸发器 (上海爱朗仪器有限公司),WJX-A1000 型高速多功能粉碎机 (浙江省永康市红太阳机电有限公司),PHSJ-3F 型 pH 计 (上海精科仪器有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 提取物制备

干燥野生红冬蛇菰全株 1.0 kg,阴干,粉碎后用 5 倍量的 95% 乙醇超声 (45  $^{\circ}\text{C}$ , 200 W, 30 min) 提取 3 次,合并提取液后减压浓缩得到 95% 乙醇浸膏 (132 g)。取总浸膏 100 g 并分散于水中,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,回收溶剂得到石油醚提取物 (BH-P, 12 g),乙酸乙酯提取物 (BH-E, 33 g),正丁醇提取物 (BH-B, 28 g),水提取物 (BH-W, 27 mg),所有样品置于玻璃真空干燥器中保存备用。

### 2.2 提取物抗氧化活性评价

#### 2.2.1 DPPH 法

参照文献<sup>[11]</sup>并做适当修改。分别精密移取 1.0 mL 不同质量浓度的样品和 Vc 溶液,再分别加入 1.0 mL 0.1 mmol/L DPPH 无水乙醇溶液,置于暗

处,室温反应 20 min,以无水乙醇溶剂做空白对照,测定其在波长 517 nm 处的吸光度 ( $A_1$ );测定 1.0 mL 0.1 mmol/L DPPH 无水乙醇溶液与 1.0 mL 无水乙醇混合后在波长 517 nm 处的吸光度 ( $A_0$ );测定 1.0 mL 无水乙醇溶液与 1.0 mL 样品溶液在波长 517 nm 处的吸光度 ( $A_j$ )。并根据公式(1)计算出样品和 Vc 溶液对 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{清除率}(\%) = [1 - (A_1 - A_j) / A_0] \times 100\% \quad (1)$$

### 2.2.2 ABTS 法

ABTS 工作液的配制及 ABTS 自由基清除能力的测定参考文献<sup>[12,13]</sup>方法并略作修改。将 7.0 mmol/L ABTS 溶液与 2.45 mmol/L 过硫酸钾等体积混合,置于暗处反应 12~16 h,制备得到 ABTS 工作液。ABTS 工作液用 10 mmol/L 磷酸缓冲溶液 (pH 7.4) 进行稀释,直到工作液在 734 nm 处吸光度值为  $0.70 \pm 0.02$ ,避光室温保存备用。分别精密移取 100  $\mu\text{L}$  不同质量浓度的样品和 Vc 溶液于试管中,各试管加入 3.9 mL ABTS 工作液,振荡,于暗处室温反应 10 min,测定其在波长 734 nm 处的吸光度 ( $A_i$ )。同法测定 3.9 mL ABTS 工作液与 100  $\mu\text{L}$  无水乙醇混合后在波长 734 nm 处的吸光度 ( $A_0$ ),3.9 mL 10 mmol/L 磷酸缓冲溶液与 100  $\mu\text{L}$  样品溶液在波长 734 nm 处的吸光度 ( $A_j$ )。根据公式计算出样品和 Vc 溶液对 ABTS 自由基的清除率。计算公式同 2.2.1 项下公式(1)。

### 2.2.3 普鲁士蓝法

参考文献方法<sup>[14,15]</sup>并做适当调整。分别精密移取 2.5 mL 不同质量浓度样品和 Vc 溶液置于 10 mL 试管中,再分别加入 2.5 mL 磷酸盐缓冲液 (0.2 mol/L、pH 6.6) 和 2.5 mL 质量分数 1% 铁氰化钾溶液,摇匀,50  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴 20 min 后,冰浴,快速冷却,加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸溶液,离心 10 min (3000 rpm),取上清液 2.5 mL,再依次加入 2.0 mL 去离子水和 0.5 mL 0.1%  $\text{FeCl}_3$  溶液,充分混匀,静置 10 min 后于 700 nm 波长处测定吸光度 ( $A$ ),铁还原能力用吸光度表征,以等量无水乙醇作为空白值 ( $A_0$ )。根据公式计算出样品和 Vc 溶液对铁的还原能力。

$$\text{铁还原能力} = A - A_0 \quad (2)$$

## 2.3 提取物抑制亚硝化作用评价

### 2.3.1 盐酸萘乙二胺法

参考文献方法<sup>[16]</sup>并做适当调整,准确吸取不同质量浓度的样品溶液 1.0 mL 于 25 mL 具塞比色管

中,再分别依次加入 pH 3.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液 2.0 mL,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的亚硝酸钠溶液 2.0 mL,混匀。在 37  $^{\circ}\text{C}$  下水浴 1 h,取出,加入 0.4% 对氨基苯磺酸 2.0 mL,混匀,静置 5 min 后,各加入 1.0 mL 0.2% 盐酸萘乙二胺溶液,再加去离子水至刻度,混匀,静置 15 min,后在 538 nm 下测定吸光度,同时用 Vc 做对照实验。并根据公式计算出样品和 Vc 溶液对亚硝酸钠的清除率。

$$\text{亚硝酸盐清除率} = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100\% \quad (3)$$

$A_0$  为空白反应体系的吸光度值; $A_1$  为样品反应体系的吸光度值。

### 2.3.2 $\alpha$ -萘胺法

参考文献方法<sup>[16,17]</sup>并做适当调整,准确吸取不同质量浓度的样品溶液 1.0 mL 于 25 mL 具塞比色管中,再分别依次加入 pH 3.0 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液 10.0 mL,1.0 mmol/L  $\text{NaNO}_2$  溶液 1.0 mL,1.0 mmol/L 二甲胺溶液 1.0 mL,用去离子水稀释至刻度,充分混匀,在 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴下恒温 1 h。用移液管分别吸取 1.0 mL 该溶液加到培养皿 (75 mm  $\times$  15 mm) 中,分别加入质量分数 0.5% 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液 0.5 mL,在紫外灯 (254 nm) 下照射 15 min,取出后分别依次加入质量分数 1% 对氨基苯磺酸溶液 1.5 mL,0.1%  $\alpha$ -萘胺 1.5 mL,再加去离子水 0.5 mL,摇匀,静置 15 min,在 525 nm 下测定吸光度,同时用 Vc 做对照实验。实验平行操作 3 次,并根据公式计算出样品和 Vc 溶液对亚硝胺合成的阻断率。计算公式同 2.3.1 项下公式(3)。

## 2.4 数据处理

所有实验数据均为 3 次重复实验结果平均值,以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行单因素方差分析,组间均数比较采用  $F$  检验,以  $P < 0.05$  为具有统计学显著差异,以  $P < 0.01$  位极显著差异。

## 3 实验结果

### 3.1 体外抗氧化活性结果

#### 3.1.1 对 DPPH 自由基的清除作用

清除 DPPH 自由基能力的测定结果及  $\text{IC}_{50}$  分别见图 1 和表 1。由图 1 可知,红冬蛇菰各提取物和阳性对照 Vc 在质量浓度 0.02~0.10 mg/mL 范围内均呈现一定的剂量依赖性,对 DPPH 自由基的清除能力顺序为:Vc > BH-E > BH-B > BH-P > BH-W。因此,在红冬蛇菰不同提取物中,BH-E 清除 DPPH

自由基能力最强 ( $IC_{50} = 0.061 \pm 0.001 \text{ mg/mL}$ ) ( $P < 0.1$ ), 与对照组 Vc ( $IC_{50} = 0.043 \pm 0.001 \text{ mg/mL}$ ) 无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 其次是 BH-B ( $IC_{50} = 0.094 \pm 0.002 \text{ mg/mL}$ ), 但显著弱于阳性对照 Vc ( $P < 0.01$ )。

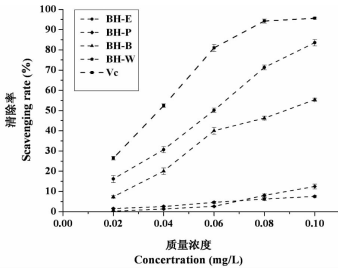


图1 红冬蛇菰各提取物和 Vc 对 DPPH 自由基的清除能力  
Fig. 1 DPPH radical scavenging ability of different extracts from *B. harlandii* ( $n = 3$ )

表1 红冬蛇菰各提取物和 Vc 对自由基清除能力的  $IC_{50}$  ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1  $IC_{50}$  values of radical scavenging ability of *B. harlandii* extracts and Vc ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品 Sample	$IC_{50}$ 浓度 $IC_{50}$ values (mg/mL)	
	DPPH	ABTS
Vc	$0.043 \pm 0.001$	$0.103 \pm 0.002$
BH-P	$0.693 \pm 0.002^{**}$	$0.244 \pm 0.001^{**}$
BH-E	$0.061 \pm 0.001$	$0.074 \pm 0.001^{**}$
BH-B	$0.094 \pm 0.002^{**}$	$0.342 \pm 0.001^{**}$
BH-W	$0.733 \pm 0.015^{**}$	$0.462 \pm 0.009^{**}$

注: 与对照组相比,  $^{**} P < 0.01$ 。

Note:  $^{**} P < 0.01$  vs Control group.

### 3.1.2 对 ABTS 自由基的清除作用

清除 ABTS 自由基能力的测定结果及  $IC_{50}$  分别见图 2 和表 1。在本试验条件下, 红冬蛇菰各提取物对 ABTS 自由基均具有较好的清除能力, 并呈现量效关系。各提取物对 ABTS 自由基的清除能力顺

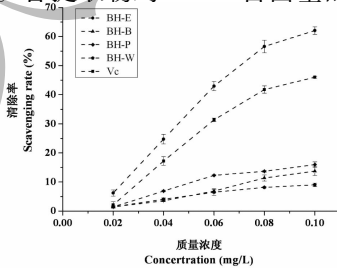


图2 红冬蛇菰各提取物和 Vc 对 ABTS 自由基的清除能力  
Fig. 2 ABTS radical scavenging ability of different extracts from *B. harlandii* and Vc ( $n = 3$ )

序为: BH-E > BH-P > BH-B > BH-W。其中 BH-E 对 ABTS 自由基的清除能力最强, 其  $IC_{50}$  为  $0.074 \pm 0.001 \text{ mg/mL}$ , 且显著强于阳性对照 Vc ( $IC_{50} = 0.103 \pm 0.002 \text{ mg/mL}$ ) ( $P < 0.01$ )。

### 3.1.3 还原 $Fe^{3+}$ 的作用

由图 3 可知, 红冬蛇菰各提取物表现出不同程度的铁还原力, 在低浓度时, 各提取物的还原力均较弱, 但随着浓度的增加, 除了 BH-W 部分其余提取物的还原力均增强。总体上, 在相同质量浓度下, BH-E 的铁还原力最强, BH-W 最弱, 而 BH-B 与 BH-P 铁还原力接近, 但所有提取物的还原力均弱于阳性对照 Vc。

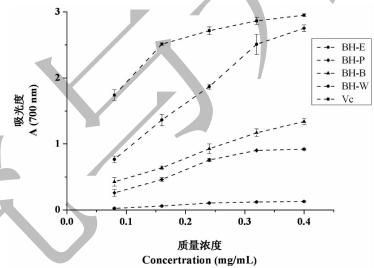


图3 红冬蛇菰各提取物和 Vc 的还原能力  
Fig. 3 Reduction ability of different extracts from *B. harlandii* and Vc ( $n = 3$ )

## 3.2 体外抑制亚硝化作用结果

### 3.2.1 对亚硝酸盐的清除作用

模拟人体胃液条件下, 红冬蛇菰各提取物对亚硝酸盐清除作用结果及  $IC_{50}$  见图 4 和表 2。由图 4 可知, 红冬蛇菰各提取物均表现出一定程度的亚硝酸盐清除作用, 且呈量效关系, 其中 BH-E ( $IC_{50} = 1.91 \pm 0.022 \text{ mg/mL}$ ) 对亚硝酸盐的清除作用最强 ( $P < 0.01$ ), 其次是 BH-B ( $IC_{50} = 3.61 \pm 0.044 \text{ mg/mL}$ ) ( $P < 0.01$ ), 均远大于 BH-P 和 BH-W ( $P < 0.01$ ), 但各提取物对亚硝酸盐的清除能力的均弱于阳性对照 Vc ( $IC_{50} = 1.45 \pm 0.002 \text{ mg/mL}$ ) ( $P < 0.01$ )。

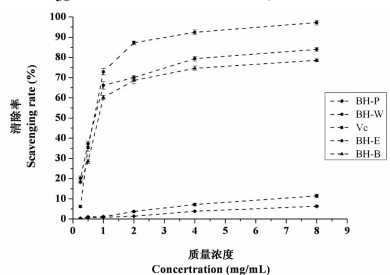


图4 红冬蛇菰各提取物和 Vc 对亚硝酸盐清除率的影响  
Fig. 4 Effects of different extracts from *B. harlandii* and Vc on the scavenging rates of nitrate ( $n = 3$ )

表2 红冬蛇菰各提取物和 Vc 抑制亚硝化作用的 IC<sub>50</sub> ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Table 2 IC<sub>50</sub> values of inhibitory effect on nitrosation of *B. harlandii* extracts and Vc ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品 Sample	IC <sub>50</sub> 浓度 IC <sub>50</sub> value (mg/mL)	
	亚硝酸盐清除作用 Nitrite scavenging effect	亚硝胺合成阻断作用 Nitrosation inhibitory effect
Vc	1.45 ± 0.002	5.23 ± 0.061
BH-P	59.35 ± 0.045 * *	59.32 ± 0.204 * *
BH-E	1.91 ± 0.022 * *	8.44 ± 0.091 * *
BH-B	3.61 ± 0.044 * *	14.77 ± 0.089 * *
BH-W	32.44 ± 0.110 * *	19.54 ± 0.014 * *

注:与对照组相比, \* \*  $P < 0.01$ 。

Note: \* \*  $P < 0.01$  vs Control group.

### 3.2.2 对亚硝胺合成的阻断作用

模拟人体胃液条件下,红冬蛇菰各提取物对亚硝胺合成阻断作用结果及 IC<sub>50</sub> 见图 5 和表 2。由图 5 可知,红冬蛇菰各提取物均表现出一定程度的阻断亚硝胺合成的作用,且阻断率在实验浓度的范围内随质量浓度增加而增加,其中 BH-E (IC<sub>50</sub> = 8.44 ± 0.091 mg/mL) 对亚硝胺合成的阻断最强,在质量浓度 10 mg/mL 时,阻断率达到 52.82%,远大于红冬蛇菰其他提取物 ( $P < 0.01$ ),但弱于阳性对照 Vc (IC<sub>50</sub> = 5.23 ± 0.061 mg/mL) ( $P < 0.01$ )。

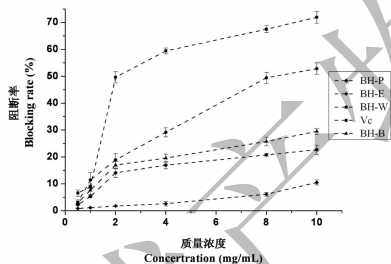


图5 红冬蛇菰各提取物和 Vc 对亚硝胺合成阻断率的影响

Fig. 5 Effects of different extracts from *B. harlandii* and Vc on the blocking rate of nitrosamines synthesis ( $n = 3$ )

## 4 讨论与结论

随着医学毒理学和生物学的不断深入发现,人工合成抗氧化剂存在一定的毒副作用,会引起肝脏损伤,甚至诱发癌症<sup>[18,19]</sup>,而由仲胺和亚硝酸盐合成的亚硝胺已经被证实可引起人体恶性肿瘤,动物试验结果表明,亚硝胺能够诱导鸟类、鱼类和哺乳动物(包括五种灵长类动物)等产生癌症病变<sup>[3]</sup>。在崇尚回归自然的潮流中,寻找出具有抗氧化、清除亚硝酸盐及阻断亚硝胺合成、安全、无副作用的天然

活性物质,已成为研究开发防癌抗肿瘤药物、保健食品和功能食品的一个切实可行的途径和研究方向。

我国红冬蛇菰的资源较为丰富,民间食用和药用基础深厚,但对红冬蛇菰物质基础、质量评价、生物活性等方面的现代研究还处于起步阶段,导致其民间食用和药用的科学内涵不明确,也限制了对红冬蛇菰的进一步开发利用<sup>[20]</sup>。然而,国内外学者对其同属植物穗花蛇菰(*Balanophora laxiflora*)、筒鞘蛇菰(*Balanophora involucrata*)、多蕊蛇菰(*Balanophora polyandra*)等进行了深入、系统的研究,从中分离鉴定了一系列结构新颖和活性显著的成分<sup>[8]</sup>,并发现蛇菰科植物具有显著的抗氧化、降血糖、抑制β-分泌酶裂解酶(BACE)等活性<sup>[8]</sup>,以上提示同属植物红冬蛇菰也有可能存在相似或者更为丰富的上述药效物质基础和生理活性。

本文是初次报道了红冬蛇菰不同溶剂提取物的抗氧化活性及其抑制亚硝化作用,实验结果表明,各提取物均有不同程度的还原力、自由基清除作用以及抑制亚硝化作用,并呈一定的量效关系。从整体上看,乙酸乙酯组分(BH-E)表现出较强的 DPPH、ABTS 自由基清除作用和较强的 Fe<sup>3+</sup> 还原作用,且明显强于红冬蛇菰其他组分 ( $P < 0.01$ ),其中对 ABTS 自由基的清除作用优于阳性对照 Vc ( $P < 0.01$ )。与此同时,乙酸乙酯组分(BH-E)对亚硝化反应有较好的抑制作用,能够清除亚硝酸盐和阻断亚硝胺的合成,并优于其他组分,但弱于阳性对照 Vc,差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。因此,红冬蛇菰各提取物中,中等极性的乙酸乙酯提取物(BH-E)具有较强的体外抗氧化活性和抑制亚硝化作用,具有开发前景,应针对对其抗氧化和抑制亚硝化活性成分的提取、分离及各成分的协同作用和活性关

系等方面进一步深入研究,将有助于阐明红冬蛇菰民间食用药用科学内涵,以及才能更好地为开发出红冬蛇菰医药健康产品提供理论支持和技术保障。

### 参考文献

- 1 Labat-Robert J, Robert L. Longevity and aging: Role of free radicals and xanthine oxidase. *Pathol Biol*, 2014, 62(2): 61-66.
- 2 Toledo P, Luis H, Alexander H, et al. Antioxidant ischemic disease. *Crit Care Med*, 2008, 36: 3275-3276.
- 3 Jurado-Sánchez B, Ballesteros E, Gallego M. Automatic screening method for the preconcentration and determination of N-nitrosamines in water. *Talanta*, 2007, 73: 498-504.
- 4 Huang YX (黄韵璇), Li HF (李海峰), Huang ZB (黄泽波). Recent progress on antioxidant products from natural sources. *Acad J Guangdong Coll Pharm* (广东药学院学报), 2016, 32: 532-536.
- 5 Zhang QL (张庆乐), Wu SL (吴守林), Zhang LQ (张丽青), et al. Application of plant flavonoids in inhibition of nitrosation reaction. *Herald Med* (医药导报), 2009, 28: 733-734.
- 6 Mircea O, Isabel E. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res Int*, 2015, 74: 10-36.
- 7 Flora of China Editorial of Committee of Chinese Academy of Sciences (中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora of China (中国植物志). Beijing: Science Press, 1998. 72, 265-266.
- 8 Wang XH, Liu ZZ, Qiao WL, et al. Phytochemicals and biological studies of plants from the genus *Balanophora*. *Chem Cent J*, 2012, 6: 79-88.
- 9 Teng RW (滕荣伟), Wang DZ (王德祖), Yang CR (杨崇仁). Chemical constituents from *Balanophora harlandii*. *Acta Botan Yunnan* (云南植物研究), 2000, 22: 225-233.
- 10 Lin DD (林大都), Luo BP (罗宝平), Li LF (李兰芳), et al. Investigation of medicinal plant resources in Yinna Mountain nature reserve of Guangdong Province. *Pharm Today* (今日药学), 2015, 25(4): 253-259.
- 11 Qin L (秦龙), Wang YX (王艺璇), Huang Y (黄燕), et al. Antioxidant activities of different tissues of *Gentiana straminea* Maxim. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 1924-1928.
- 12 Huang Y (黄雅), Chen HG (陈华国), Zhou X (周欣), et al. Determination of total polyphenols and evaluation of antioxidant activities of *Sambucus chinensis* Lindl. in Guizhou. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 255-263.
- 13 Pan QD (潘乔丹), Xiong YY (熊圆圆), Chen WD (陈文东), et al. Antioxidant activity of different polarity chemical constituents from *Tetrastigma planicaule*. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19: 232-235.
- 14 Zhu KX, Lian CX, Guo XN, et al. Antioxidant activities and total phenol contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chem*, 2011, 126: 1122-1126.
- 15 Venkatachalam U, Muthukrishnan S. Free radical scavenging activity of ethanolic extract of *Desmodium gangeticum*. *J Acute Med*, 2012, 2(2): 36-42.
- 16 Wang XB (王晓波), Li JF (李金芳), Wang M (王梅), et al. The flavonoids antioxidant and inhibition effect of nitrosation from *Mangosteen Shell*. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2013, 34(6): 9-13.
- 17 Chen DL (陈冬丽), Huang JS (黄俊生). Study on scavenging nitrite and disconnecting nitrosamine synthesis with south ginger extracts. *Chin Condiment* (中国调味品), 2010, 35(5): 59-61.
- 18 Kupfer R, Dwyer-Nield LD, Malkinson AM, et al. Lung toxicity and tumor promotion by hydroxylated derivatives of 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) and 2-tert-butyl-4-methyl-6-iso-propylphenol: correlation with quinonemethide reactivity. *Chem Res Toxicol*, 2002, 15: 1106-1112.
- 19 Grice HC. Safety evaluation of butylated hydroxyanisole from the perspective of effects on forestomach and oesophageal squamous epithelium. *Food Chem Toxicol*, 1988, 26: 717-723.
- 20 Zhuang YB (庄远杯), Lin DD (林大都), Li YX (李云霞), et al. Research progress of *Balanophora harlandii*. *Chin Nat Folk Med*, 2017, 26(8): 60-62.

(上接第 2121 页)

- 8 Cao XZ (曹晓正), Yang XH (杨小红), Cao JG (曹建国), et al. 8-Bromo-7-Methoxy Chrysin reverses EMT of thesephere-forming cells derived from cervical cancer SiHa cell line. *Chin Pharmacol Bull*, 2014, 30: 415-418.
- 9 Tang AQ, Cao XC, Tian L, et al. Apigenin inhibits the self-renewal capacity of human ovarian cancer SKOV3 derived sphere-forming cells. *Mol Med Rep*, 2015, 11: 2221-2226.
- 10 Liu J, Cao XC, Xiao Q, et al. Apigenin inhibits HeLa sphere-forming cells through inactivation of casein kinase 2 $\alpha$ . *Mol Med Rep*, 2015, 11: 665-669.
- 11 Jeng KS, Sheen IS, Tsai HH, et al. Activation of the sonic hedgehog signaling pathway occurs in the CD133 positive cells of mouse liver cancer Hepa 1-6 cells. *Onco Targets Ther*, 2013, 6: 1047-1055.
- 12 Takebe N, Harris PJ, Warren RQ, et al. Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8: 97-106.