



研究报告

Research Report

灯笼草的抗氧化活性和细胞毒性

Tuğçe DEMİR¹, Mehmet Özgün ÖZEN^{1,2}, E. Esin HAMEŞ-KOCABAŞ¹

1. Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Ege University, 35100, Bornova, Izmir, Turkey

2. Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Gümüşhane University, 29100, Gümüşhane, Turkey

✉ 通讯作者: esin.kocabas@ege.edu.tr, esinkocabas@gmail.com; ✉ 作者

植物药与药理学杂志, 2014年, 第3卷, 第9篇 doi: [10.5376/jpmpp.cn.2014.03.0009](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2014.03.0009)

收稿日期: 2014年02月17日

接受日期: 2014年02月25日

发表日期: 2014年02月28日

本文首次发表在《Medicinal Plant Research》(2014, Vol.4, No.4)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

Demir 等, 2014, 灯笼草的抗氧化活性和细胞毒性, 植物药与药理学杂志(online) Vol.1 No.2 pp.1-4 (doi: [10.5376/jpmpp.cn.2014.03.0009](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2014.03.0009))

引用格式(英文):

Demir et al., 2014, Antioxidant and cytotoxic activity of *Physalis peruviana*, Zhiwuyao Yu Yaolixue Zazhi (online) Vol.1 No.2 pp.1-4 (doi: [10.5376/jpmpp.cn.2014.03.0009](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2014.03.0009))

摘要 自古以来, 灯笼草作为治病的药用植物已广泛用于民间医药中。灯笼草是一种具有药用价值的天然产品, 因其含有诸如植物甾醇、维生素、矿物质的生物活性化合物。在本次研究中, 我们的目的是观察不同癌细胞系里灯笼草可食部分的抗氧化活性和细胞毒性[人结肠腺癌细胞株(HT-29)、人前列腺癌细胞系(LNCaP)、人肝癌细胞系(Hep3B)、人乳腺癌细胞株(MCF-7)、人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)、人骨肉瘤细胞株(SAOS-2)]以及一个来自非洲绿猴肾细胞系(vero)的非癌上皮细胞。利用 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) 自由基清除法测定是果实提取物的抗氧化活性和采用 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyltetrazolium bromide)法观察细胞毒作用。测定粗提物的抗氧化能力, IC50 值为 0.43 ± 0.003 mg/mL。对 HT-29, Hep3B, SaOS-2 和 SH-SY5Y 细胞系进行细胞毒性作用 48 小时后, 所测得的 IC50 值分别为 40.79, 24.92, 15.44 and 44.24 μ g/mL。灯笼草果实提取物对 MCF-7、LNCaP、Vero 细胞系没有细胞毒作用。

关键词 抗氧化活性, 细胞毒性, DPPH, 灯笼草

Antioxidant and Cytotoxic Activity of *Physalis peruviana*

Tuğçe DEMİR¹, Mehmet Özgün ÖZEN^{1,2}, E. Esin HAMEŞ-KOCABAŞ¹

1. Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Ege University, 35100, Bornova, Izmir, Turkey

2. Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Gümüşhane University, 29100, Gümüşhane, Turkey

✉ Corresponding author, esin.kocabas@ege.edu.tr, esinkocabas@gmail.com; ✉ Authors

Abstract *Physalis peruviana* has widely used in folk medicine as a medicinal herb for treating diseases since ancient times. It is a pharmacologically valuable natural product due to the presence of biologically active compounds such as phytosterols, vitamins, essential minerals, with anolides and physalins. In this study, we aimed to observe the antioxidant capacity and cytotoxic activity of edible parts of *P. peruviana* on different cancer cell lines [human colon adenocarcinoma cell line (HT-29), human prostate adenocarcinoma cell line (LNCaP), human hepatoma cell line (Hep3B), human breast adenocarcinoma cell line (MCF-7), human neuroblastoma cell line (SH-SY5Y), human osteosarcoma cell line (SaOS-2)] and a non-cancerous kidney epithelial cells from African green monkey (Vero) cell line. Antioxidant activity of the fruit extracts was determined with DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) radical scavenging method and cytotoxic effect was observed by using MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyltetrazolium bromide) assay. For antioxidant capacity of the crude extract, IC50 value was calculated as 0.43 ± 0.003 mg/ml. IC50 values of cytotoxicity for HT-29, Hep3B, SaOS-2 and SH-SY5Y cell lines for 48 h were determined as 40.79, 24.92, 15.44 and 44.24 μ g/ml, respectively. Fruit extract of *P. peruviana* had no cytotoxic effect on MCF-7, LNCaP and Vero cell lines.

Keywords Antioxidant activit; Cytotoxic activity; DPPH; *Physalis peruviana*

灯笼草属于茄科酸浆属, 原产于安第斯山脉地区, 如今, 南非和哥伦比亚为全球最大的灯笼果生产国。灯笼草有很多不同的名称, 比如uchuva (哥伦比亚), uvilla (在厄瓜多尔), aguaymanto (秘鲁), topotopo (委内瑞拉), 在英语国家中则被称为“goldenberry”和“cape gooseberry” (Salazar et al., 2008; Puente et al., 2011)。这种水果在土耳其非常受欢迎并被成为“altın çilek”。灯笼草作为治病的药用植物已广泛用于民间医药中, 比如治疗疟疾、哮喘、肝炎、皮炎、利尿、风湿病和癌症。

最近, 灯笼草因其营养和药用的特性越来越受到人们的关注。公布的资料显示, 灯笼草所含有的植物甾醇、维生素、矿物质、醉茄内酯类和苦味素等生物活性化合物使其成为具有药用性能的重要保健品 (Puente et al., 2011)。众所周知, 植物甾醇具有抗氧化活性, 而报告显示, 灯笼果果实具有抗氧化活性 (Wu et al., 2006; Vasco et al., 2008; Puente et al., 2011)。灯笼果果实橙色呈的原因是含有 β -胡萝卜素, 而 β -胡萝卜素是维生素A的主要活性成分。 β -胡萝卜素和维生素C的含量防止组织内自由基的积累有关, 使其具有抗癌的作用。特别是, 醉茄内酯类和苦



味素是具有非常重要抗炎、抗菌、抗肿瘤、免疫调节和抗寄生虫的生物活性成分。灯笼草叶子、茎和/或整个植株对不同细胞系(如结肠癌、慢性骨髓系白血病、肺癌、乳腺癌和肝癌细胞系)具有细胞毒性和抗增值作用。

本研究旨在观察灯笼草可食部分的抗氧化活性和细胞毒性。

1 结果

1.1 DPPH 自由基清除活性

DPPH 自由基清除法因其简单和复现性而成为水果样品的抗氧化活性测定中最受欢迎的方法之一。

根据样品和抗坏血酸(对照组)引起DPPH溶液吸光度减小的能力来计算其清除DPPH自由基能力。利用Graph Pad Prism绘制DPPH降低的百分比与样品及抗坏血酸的浓度之间的关系($R^2=0.9681$ 和 0.9948)。测定抗坏血酸和灯笼草的 IC_{50} 值分别为 $1.06 \pm 0.008 \mu\text{g/mL}$ 和 $430 \pm 3 \mu\text{g/mL}$ (表1)。

表1 灯笼草提取液和抗坏血酸的 IC_{50} 值

Table 1 IC_{50} values of *P. peruviana* extract and ascorbic acid for antioxidant capacity

Sample	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>P. peruviana</i>	430 ± 3
Ascorbic acid	1.06 ± 0.008

1.2 细胞毒性评估

利用MTT法测定灯笼草提取物的细胞毒性效应。结果显示, 提取物对Saos-2, HT-29和Hep3B细胞具有细胞毒性。图1和图2显示的是这三种细胞在48小时里 IC_{50} 值和生存能力%的变化。在24小时的时候, 细胞增殖取代了生长抑制。图3显示的是Saos2, HT-29和Hep3B细胞系的细胞死亡和形态变化过程。24小时里没有观察到细胞系的生长抑制, 而无论24小时还是48小时, LNCap, MCF-7和Vero细胞系都没有观察到生长抑制(MCF-7和LNCap细胞系的结果没有给出)。

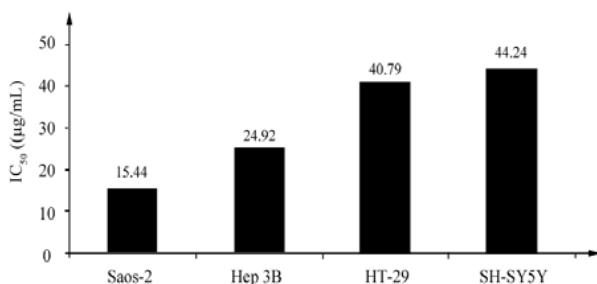


图1 Saos-2, HT-29, Hep 3B and SH-SY5Y 48小时后的 IC_{50} 值
 Figure 1 IC_{50} values for Saos-2, HT-29, Hep 3B and SH-SY5Y cell lines for 48 h

2 讨论

先前有研究报道过灯笼草的抗氧化活性(Wu et al., 2006; Ramadan and Moersel 2007; Vasco et al., 2008;

Puente et al., 2011)。研究表明, 灯笼草的叶子具有强效的抗氧化活性(Wu et al., 2006)。Ramadan和Moersel (2007)研究了灯笼草汁的抗氧化活性与DPPH反应时间之间的关系。他们注意到抗氧化能力与生育酚、甾醇类和类胡萝卜素等脂溶性生物成分有关。Vasco等(2008)分析了厄瓜多尔不同类型主要水果的抗氧化能力, 得出灯笼草抗氧化能力较低。在本研究中, 结果显示灯笼草果实的粗提物抗氧化能力较低。

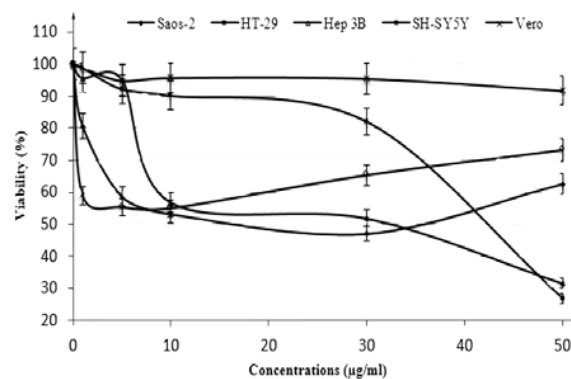


图2 用不同浓度灯笼草提取液处理48小时后的细胞生存能力
 Figure 2 Cell viability after 48 h treatment with different concentrations of *P. peruviana* extracts

除了抗氧化活性, 灯笼草作用于SaOS-2, HT-29, Hep3B and SH-SY5Y细胞48小时后的 IC_{50} 值分别为15.44, 40.79, 24.92和44.24 $\mu\text{g/mL}$ 。Wu等(2004)评价灯笼草(整株)提取物对Hep3B和HepG2细胞系的抗癌能力, 同时发现对Hep3B的细胞毒性(IC_{50} $41.25 \pm 1.40 \mu\text{g/mL}$)较低。根据这些结果得出, 灯笼草果实粗提物要比整株提取物更具细胞毒性。

Wu和他的同事们(2004)也对HepG2细胞的细胞凋亡的诱导机制进行了研究。本次研究中对于其它细胞系抑制路径的研究应该要在分子水平上, 因为非癌细胞系Vero所有提到的浓度都不会受MCF-7 and LNCap的影响。

为了深入研究, 不同萃取方法如超临界 CO_2 萃取法应该用来研究灯笼草。提取效率会因提取技术不同而不同。不同提取方法也会导致不同活性成分的组成方式, 而这将影响到灯笼草的药理性质。

除此之外, 在这个试验中, 发生在癌细胞系(除了正常细胞)中细胞毒性分子机制的有效分子需要被确定。经过24 h的处理后, 对增殖癌细胞的诱导进行研究(数据未给出)。这种效应的重要性在于与灯笼草提取物可能的医药用途有关。纯化原果实提取物的活性分子将有助于解释细胞毒性和增殖效应。

3 材料与方法

3.1 样品准备和提取

灯笼草果实于2012年3月购自安塔利亚当地供应商。在提取步骤之前, 将果实洗净, 晾干。200 g果实放在家庭搅拌器均匀, 用600 mL的80%乙醇提取, 置于28 $^{\circ}\text{C}$ 的150 r/m定轨摇床过夜提取。提取液



用Whatman 1号滤纸过滤, 残渣重新在相同条件下提取。合并所有滤液后, 溶剂在40℃真空下浓缩, 将剩

余样品冻干。果实含水量测定为82%)。提取液保存在-20℃, 直到使用。

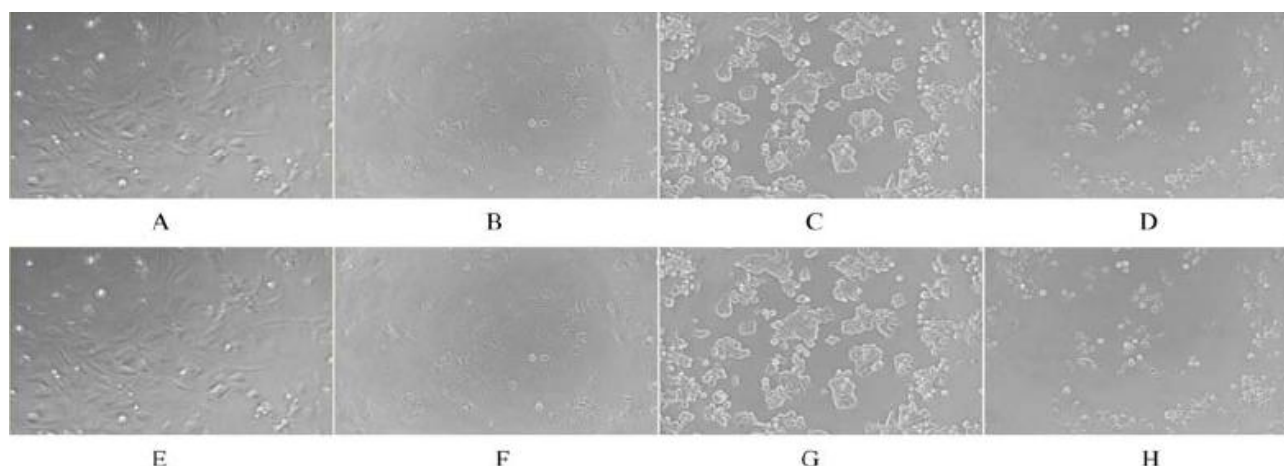


图3 对照培养和提取液培养后细胞的形态差异

Figure 3 Morphological differences of control cultures and extract treated cultures

3.2 DPPH自由基清除能力

根据Rodriguez等(2001)的方法测定提取物的抗氧化活性。这个方法是通过检测化合物作为自由基清除剂或氢供体的能力测定其抗氧化活性(Reddy等, 2010)。DPPH从紫色变成黄色, 因为DPPH与来自自由基清除剂的氢配对形成还原性DPPH-H。抗败血酸作为标准品。用80%的甲醇配制不同浓度的提取液和标准品。100 μL样品与2.9 ml 60 μmol/L用80%甲醇配制的DPPH (Sigma Aldrich, Germany)溶液混合, 在暗处室温中反应30分钟, 用分光光度计与515nm测定其吸光度(Jenway 6400 Bibby Scientific, UK), 80%甲醇作为对照。每次测定做三次重复。根据以下方程计算清除自由基率% (Liu et al., 2008):

其中, D_0 表示溶于80%甲醇的DPPH试剂的吸光度, 作为阴性对照, A_1 表示反应混合物的吸光度, A_2 表示样品的吸光度(不含DPPH溶液), 这是作为校正, 因为样品自身具有颜色。利用Graph Pad Prism的相关与回归分析测定 IC_{50} 值。

3.3细胞培养的准备

6个癌细胞系和1个非癌细胞系应用于本次细胞毒性的测定。人结肠腺癌细胞株(HT-29), 人肝癌细胞系(Hep3B), 乳腺癌细胞系(MCF-7), 神经母细胞瘤细胞株(SH-SY5Y), 骨肉瘤细胞线(SAOS-2), 前列腺癌(LNCap)细胞系被选为癌细胞系, 而非非洲绿猴的肾上皮细胞(Vero)则被用来作为非癌细胞系。除了LNCap以外所有细胞系均在Dulbecco改良的Eagle培养基(DMEM)上培养(Biochrom AG, 德国), 改培养基添加了10%的胎牛血清(FBS)(biocrom AG, 德国), 2毫米L-谷氨酰胺、葡萄糖1 g/L, 100 U/ml链霉素青霉素和100 μ克/毫升(Biochrom AG, 德国)。LNCap细胞系在RPMI 1640 (Biochrom AG, 德国)培养基上培养。该培养基添加了10% FBS、2mM谷氨酰胺, 100 U/ml链霉素青霉素和100 μ克/毫升(Biochrom AG, 德国)。将

这些培养基置于含有5%的CO₂、温度为37℃的加湿环境中(Heraeus, 德国)。

3.4细胞毒性测试

根据制造商(Sigma-Aldrich, USA)的说明书, 利用MTT法检测凋亡细胞的百分比。细胞培养在密度为每孔 1×10^5 个细胞的含有100 μL DMEM培养基(LNCap cells为RPMI培养基)的96-孔盘子里过夜。培养物用不同浓度(1 μg/mL, 5 μg/mL, 10 μg/mL, 30 μg/mL, 50 μg/mL)的提取物处理24小时和48小时。培养结束后, 培养基改成含有MTT (5 μg/mL)的FBS-free培养基, 在37℃培养4小时。去掉培养基, 组成的甲瓩晶体溶解在DMSO (二甲基亚砷), 利用多孔分光光度计在570和690 nm波长处测定其光密度(VersaMax, 美国)。

作者贡献

所有作者在本次研究中贡献同等的作用, 所有作者已经阅读并同意稿件的最终版本。

致谢

感谢S. İsmet Deliloğlu Gürhan教授(Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Ege University, Izmir, Turkey)在实验过程中给出有价值的评论和建议。

参考文献

- Lan Y.H., Chang F.R., Pan M.J., Wu C.C., Wu S.J., Chen S.L., Wang S.S., Wu M.J., and Wu Y.C., 2009, New cytotoxic withanolides from *Physalis peruviana*, Food Chem., 116: 462-469
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.061>
- Puente L.A., Pinto-Mu-oz C.A., Castro E.S., and Cortés M., 2011, *Physalis peruviana* Linnaeus, multiple properties of a highly functional fruit: A review, Food Res. Int., 44: 1733-1740
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.034>
- Ramadan M.F., 2011, Bioactive phytochemicals, nutritional value and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview, Food Res. Int. 44: 1830- 1836
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.042>
- Ramadan M.F., and Moersel J.T., 2007, Impact of enzymatic treatment on chemical composition, physicochemical properties and radical



- scavenging activity of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) juice, J. Sci. Food Agr., 87: 452-460
<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2728>
- Reddy C.V.K., Sreeramulu D., and Raghunath M., 2010, Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India, Food Res. Int. 43: 285-288
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.10.006>
- Rodriguez A.T., Moreno Y.S., Guadarrama S.V., and Tejacal I.A., 2011, Soluble phenols and antioxidant activity in mameysapote (*Pouteria sapota*) fruits in postharvest, Food Res. Int., 44: 1956- 1961
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.045>
- Salazar M.R., Jones J.W., Chaves B., and Cooman A., 2008, A model for the potential production and dry matter distribution of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.), Sci. Hortic., 115: 142-148
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2007.08.015>
- Vasco C., Ruales J., and Kamal-Eldin A., 2008, Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador, Food Chem.111: 816-823
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054>
- Wu S.J., Chang S.P., Lin D.L., Wang S.S., Hou F.F., and Ng L.T., 2009,



- Supercritical carbon dioxide extract of *Physalis peruviana* induced cell cycle arrest and apoptosis in human lung cancer H661 cells, *Food Chem. Toxicol.* 47: 1132-1138
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.044>
- Wu S.J., Ng L.T., Chen C.H., Lin D.G., Wang S.S., and Lin C.C., 2004, Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *P. peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells, *Life Sci.*, 74: 2061-2073
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.058>
- Wu S.J., Tsai J.Y., Chang S.P., Lin D.L., Wang S.S., Huang S.N., and Ng L.T., 2006, Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana*, *J. Ethnopharmacol.* 108: 407-413
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.05.027>
- Zavala D., Mauricio Q., Pelayo A., Posso M., Rojas J., and Wolach V., 2006, Citotoxic effect of *Physalis peruviana* (capuli) in colon cancer and chronic myeloid leukemia, *An. Fac. Med. Lima.*, 67: 283-289