

# 鱼腥草中有效化学成分对 *N*-亚硝化反应的阻断作用

郭艳华, 邱红心, 张远方, 万 昆, 范剑虹

(江汉大学化学与环境工程学院, 湖北 武汉 430056)

**摘 要:** 采用紫外-可见光谱法和气质联用色谱法对鱼腥草中有效化学成分(黄酮类化合物、抗坏血酸(VC)、多酚、多糖、甲基正壬酮)进行测定, 并研究有效化学成分对 *N*-亚硝化反应阻断能力的关系。结果表明: 不同产地鱼腥草中各有效化学成分含量不存在显著性差异; 不同干燥时间鱼腥草中, 随着干燥时间的增加, 除总糖含量逐渐增大外, 其他有效化学成分均呈下降趋势。在干燥和新鲜鱼腥草中, VC、黄酮和总酚含量均与阻断率呈正相关的关系, 甲基正壬酮和多糖含量与阻断率不存在相关性。结论: 鱼腥草能阻断 *N*-亚硝化化合物的内源性合成, 且影响 *N*-亚硝化反应的有效化学成分为黄酮、VC 和多酚。

**关键词:** 鱼腥草; *N*-亚硝化反应; 黄酮; 多酚; 抗坏血酸; 阻断作用

## Effect of Chemical Components in *Houttuynia cordata* on the Blocking of *N*-Nitrosation Reaction

GUO Yan-hua, QIU Hong-xin, ZHANG yuan-fang, WAN Kun, FAN Jian-hong

(School of Chemistry and Environmental Engineering, Jianghan University, Wuhan 430056, China)

**Abstract:** Objective: To explore the effect of chemical components in *Houttuynia cordata* on the blocking of *N*-nitrosation reaction. Methods: UV-visible spectrum and gas chromatography-mass spectrometry methods were used to determine the chemical components including flavonoids, vitamin C, polyphenols, polysaccharides and 2-undecenal in *Houttuynia cordata* for exploring their blocking capabilities to *N*-nitrosation reaction. Results: The contents of chemical components in *Houttuynia cordata* from different areas did not exhibit an obvious difference. Although the content of total sugar exhibited an increase trend, other chemical components exhibited a declined trend during the extension of drying time. The contents of vitamin C, flavonoids and total polyphenols were positively correlated with the blocking rate of *N*-nitrosation reaction. However, the contents of 2-undecenal and total sugar had no correlation with the blocking rate. Conclusion: *Houttuynia cordata* can prevent human endogenous nitro-compound synthesis. The major components for influencing *N*-nitrosation reaction were flavonoids, vitamin C and polyphenols.

**Key words:** *Houttuynia cordata*; *N*-nitrosation reaction; flavonoids; polyphenols; vitamin C; locking effect

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)23-0072-04

近些年国内外对天然植物中有效化学成分的提取、分离、测定和应用的研究已成为热门课题<sup>[1-4]</sup>, 天然有效化学成分有各种重要的生物活性, 如抗氧化活性、抗癌活性等。*N*-二甲基亚硝胺化合物可能与人类某些癌症有关, 目前癌症已成为威胁人类生命的最大杀手, 其中 *N*-二甲基亚硝胺化合物是当前最令人关注的化学致癌物之一。从防癌角度出发, 采用阻断 *N*-二甲基亚硝胺合成或清除合成的 *N*-二甲基亚硝胺前体是防癌的有效途径。近些年对天然植物阻断 *N*-二甲基亚硝胺的合成已有研究<sup>[5-6]</sup>, 而对鱼腥草中有效化学成分影响 *N*-亚硝化反应的研究尚未见文献报道。鱼腥草为三白草科蕺菜属

植物蕺菜的全草, 具有清热解毒、消肿排脓、利尿涌淋的功效。其主要有效化学成分含有丰富的黄酮类化合物、抗坏血酸、多酚、多糖, 挥发油(主要成分为甲基正壬酮)等, 其生物活性有许多应用。本实验将对鱼腥草中影响 *N*-亚硝化反应的有效化学成分进行初步探讨, 旨在为药食两用植物鱼腥草的进一步综合利用提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

新鲜鱼腥草购于武汉市石牌岭菜市场; 干燥鱼腥草(产于湖北、江苏、江西、广东、广西等, 为刚上市

收稿日期: 2010-07-03

基金项目: 湖北省教育厅科技项目(B20083404)

作者简介: 郭艳华(1960—), 女, 副教授, 学士, 主要从事天然产物的提取、分析应用研究。E-mail: jdyhyh@163.com

产品)购于武汉市各中药店。

芸香苷(芦丁)为生化试剂、2-十一烷酮(甲基正壬酮)、正十一烷 Sigma 公司;其他试剂均为分析纯。

UV-2401 紫外可见分光光度计 日本岛津公司;721 可见分光光度计、PHS-2c 型精密酸度计 上海精密科学仪器有限公司;RE-52 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;QP2010 气质联用仪 美国惠普公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 鱼腥草中有效化学成分的提取

鱼腥草中抗坏血酸和多糖含量测定液的制备:称取鲜鱼腥草折合的干质量和干燥鱼腥草各 10g 加入 500mL 蒸馏水,70℃ 热水浸提 70min,离心过滤 10min,去滤渣,得滤液为鱼腥草提取液 I,保存待测定。

鱼腥草中总黄酮和总酚含量测定液的制备:用 60% 的乙醇加热回流法提取,提取时间 70min、温度 70℃、固液比 1:50,称取鲜鱼腥草折合的干质量和干燥鱼腥草各 10g 进行提取,离心过滤 10min,去滤渣。将滤液用聚酰胺树脂吸附法分离提纯,得鱼腥草提取液 II,保存待测定。

鱼腥草中甲基正壬酮含量测定液的制备:称取鲜鱼腥草折合的干质量和干燥鱼腥草各 10g,加入 500mL 蒸馏水,连接挥发油测定器,自测定器上部分加水充满刻度部分,再加醋酸乙脂 4mL,连接回流冷凝管,加热回流 3h,停止加热,放置室温分取醋酸乙脂层的溶液,得供试品溶液 III。

鱼腥草对亚硝酸阻断率测定液的制备:将鱼腥草提取液 I、鱼腥草提取液 II、供试品溶液 III 各取等量混合,得鱼腥草提取液 IV,冰箱保存待测定。

### 1.2.2 亚硝酸阻断率测定<sup>[7]</sup>

取鱼腥草提取物 IV 5mL 于 50mL 容量瓶中,加入 pH 3.0 的柠檬酸钠盐缓冲溶液 25mL,1mmol/L NaNO<sub>2</sub> 溶液 2.5mL,1mmol/L 二甲胺溶液 2.5mL,再用蒸馏水定容至刻度,在 37℃ 下恒温 1h。用移液管吸取 1.0mL 上述 N-二甲基亚硝酸的测定液加到 7cm<sup>2</sup> 的培养皿中,加入质量分数 0.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液 0.5mL,于黑布遮盖的紫外分析仪上照 15min,紫外灯离液面 15cm,取出后加质量分数 0.1% 对氨基苯磺酸溶液 1.5mL,再加质量分数 0.1% 的 α-萘胺 1.5mL,0.5mL 蒸馏水,然后摇匀放置 15min 后,用分光光度计在 525nm 波长处测吸光度。同时用 60% 的乙醇和乙酸乙脂等量混合的溶液作空白,并计算阻断率。

$$\text{阻断率} / \% = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100$$

式中: A<sub>0</sub> 为加入对应浓度浸提剂的空白吸光度; A<sub>x</sub> 为加入各组提取液时的吸光度。

### 1.2.3 鱼腥草中有效化学成分的测定方法

#### 1.2.3.1 鱼腥草中抗坏血酸(VC)的测定

VC 的测定方法采用紫外分光光度快速测定法<sup>[8]</sup>,得标准方程式为:

$$Y = 0.00547 + 0.04458X (R^2 = 0.9979)$$

式中: X 为抗坏血酸质量浓度 / (μg/mL); Y 为溶液与碱处理样品两者吸光度之差 ΔA。取样品溶液代替抗坏血酸标准溶液实验,按标准方程式计算 VC 的含量。

#### 1.2.3.2 鱼腥草中多糖含量的测定

用葡萄糖作标准品,采用苯酚-硫酸法测定鱼腥草中多糖的含量<sup>[9]</sup>,回归方程为:  $Y = -0.13250 + 1.2000X$  ( $R^2 = 0.99695$ )。式中: Y 为吸光度, X 为多糖含量 (mg/mL)。

#### 1.2.3.3 鱼腥草中总黄酮含量的测定

利用硝酸铝-亚硝酸钠光度法<sup>[10-12]</sup>,得芦丁质量浓度 c (mg/mL) 与吸光度 A 的关系曲线的回归方程:  $A = 10.31268c - 0.003857$ ,相关系数  $R^2$  为 0.999839。按照制作标准曲线的方法测定提取物中黄酮含量,然后换算为样品中的黄酮含量。

#### 1.2.3.4 鱼腥草中总酚含量的测定

利用没食子酸标准溶液和 Folin 试剂法测定没食子酸标准曲线<sup>[13-14]</sup>,制作标准方程。以吸光度 A 为横坐标,总酚质量浓度 c (mg/mL) 为纵坐标建立标准曲线,回归方程  $c = 7.9234A - 0.0157$  ( $R^2 = 0.9999$ )。按照制作标准曲线的方法测定提取物中总酚含量,然后换算为样品中的总酚含量。

#### 1.2.3.5 鱼腥草中甲基正壬酮含量的测定

采用气质联用色谱法测定<sup>[15]</sup>,绘制标准曲线,计算回归方程。回归方程为  $Y = 16.1563X - 0.03465$  ( $R^2 = 0.9998$ ),甲基正壬酮在 0.0361~0.0842mg/mL 范围呈良好线性关系。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同品种鱼腥草中有效化学成分与阻断率的关系

表 1 不同产地鱼腥草中有效化学成分与阻断能力的关系  
Table 1 Relationship between chemical components in *Houttuynia cordata* from different areas and blocking capability to N-nitrosation reaction

产地	VC 含量 / (mg/100g)	多糖含量 / (mg/g)	黄酮含量 / (mg/100g)	总酚含量 / (mg/100g)	甲基正壬酮含量 / (mg/100g)	阻断率 / %
湖北	32.03	4.972	39.26	48.25	3.746	87.92
广东	29.41	5.058	36.38	44.67	3.195	83.27
江西	31.25	4.865	38.74	47.86	4.342	86.43
广西	27.84	5.945	34.87	43.55	3.327	80.98
江苏	30.98	5.236	36.91	45.32	3.895	84.65

由表 1 可知,产地不同的鱼腥草所含的各有效化学成分的含量不同,对 *N*-亚硝化反应合成的阻断率大小顺序为:湖北>江西>江苏>广东>广西。经方差分析表明,各样品相同化学成分间不存在显著性差异,对 *N*-二甲基亚硝胺合成的阻断率也不存在显著性差异,其阻断率均在 80%~90% 之间。

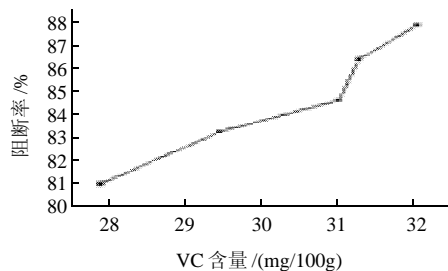


图 1 鱼腥草中 VC 含量与阻断能力的关系

Fig.1 Relationship between the content of vitamin C in *Houttuynia cordata* and blocking capability to *N*-nitrosation reaction

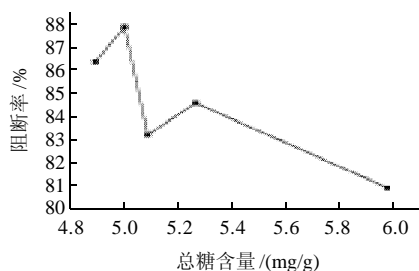


图 2 阻断率随总糖含量的变化

Fig.2 Relationship between the content of total sugars in *Houttuynia cordata* and blocking capability to *N*-nitrosation reaction

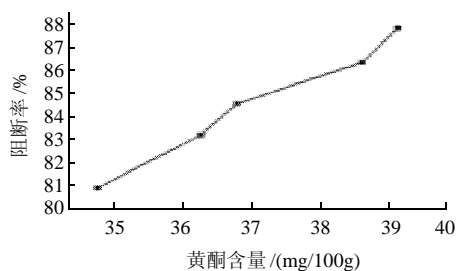


图 3 鱼腥草中黄酮含量与阻断能力的关系

Fig.3 Relationship between the content of flavonoids in *Houttuynia cordata* and blocking capability to *N*-nitrosation reaction

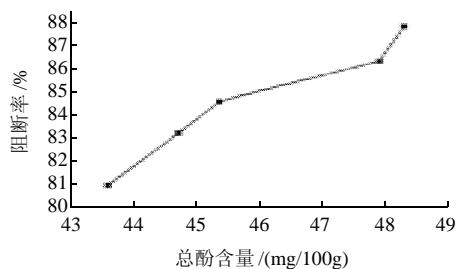


图 4 鱼腥草中总酚含量与阻断能力的关系

Fig.4 Relationship between the content of total polyphenols in *Houttuynia cordata* and blocking capability to *N*-nitrosation reaction

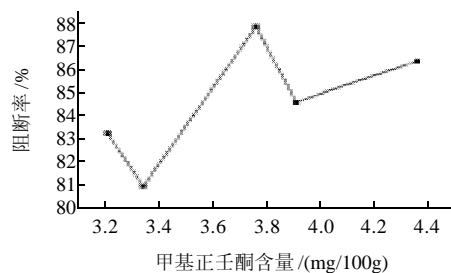


图 5 阻断率随甲基正壬酮含量的变化

Fig.5 Relationship between the content of 2-undecenal in *Houttuynia cordata* and blocking capability to *N*-nitrosation reaction

由图 1~5 可知,VC 含量、黄酮含量、总酚含量与阻断率呈正相关的关系,3 种有效化学成分的含量相差不大,总酚含量略高,这说明鱼腥草中复杂的有效化学成分产生阻断作用是其特点,即本研究提示鱼腥草中酚类物质在阻断 *N*-二甲基亚硝胺上所起的作用较大。鱼腥草中总糖含量、甲基正壬酮含量与阻断率没有明确的相关性关系。

## 2.2 不同干燥时间鱼腥草中有效化学成分与阻断率的关系

将新鲜鱼腥草洗净,在温度 25℃ 左右自然干燥,样品以采样当天表面水分晾干开始为干燥 0d 试样。此后在干燥 2、4、8、18、32d 中分别称取与 0d 样品等量(干物质)样品,重复同样实验操作,测定各有效化学成分和阻断率,平行测定 3 次,取平均值。

表 2 不同干燥时间鱼腥草中有效化学成分与阻断能力的关系

Table 2 Relationship between chemical components in *Houttuynia cordata* with various drying time and blocking capability to *N*-nitrosation reaction

干燥 时间/d	VC 含量/ (mg/100g)	总糖含量/ (mg/g)	黄酮含量/ (mg/100g)	总酚含量/ (mg/100g)	甲基正壬酮含量/ (mg/100g)	阻断率/ %
0	38.72	6.983	44.56	46.75	4.128	91.25
2	34.31	11.52	41.92	43.27	4.052	88.76
4	28.13	12.71	38.58	39.85	3.873	86.34
8	24.00	14.37	35.16	36.92	3.715	84.05
16	18.99	15.46	32.14	34.38	3.438	80.63
32	16.01	16.69	28.06	30.20	3.159	77.42

由表 2 可知,鱼腥草在干燥过程中,随着干燥时间的增加,主要有效化学成分 VC、黄酮、总酚、甲基正壬酮都表现出逐渐减少的趋势,其中 VC、黄酮、总酚下降程度较大,甲基正壬酮下降趋势较小,可能由于部分鱼腥草素在干燥过程中分解后氧化和脱羧转化为甲基正壬酮。而总糖则相反,呈上升趋势,是由于鱼腥草中的纤维素酶、半纤维素酶、淀粉酶等酶将结构性碳水化合物转变成可溶性糖类。随着干燥时间的延长,阻断率与 VC、黄酮、总酚一样也逐渐降低,且降低程度都很明显,阻断率与这三种有效化学成分成正相关。甲基正壬酮随不同干燥时间延长,含量缓慢减

少,而阻断率则减少较快,说明无明显相关性。总糖与阻断率相反变化,说明不同干燥时间鱼腥草中总糖对阻断 *N*-二甲基亚硝胺的合成没有相关性。

### 3 结 论

鱼腥草中含有的有效化学成分主要有黄酮类化合物、抗坏血酸、多酚、多糖,挥发油(主要成分为甲基正壬酮),多糖含量最大,多酚含量与黄酮类化合物、抗坏血酸较高。甲基正壬酮含量相对以上有效化学成分低。不同产地新上市的干燥鱼腥草及湖北产鲜鱼腥草在干燥过程中的有效化学成分含量与阻断 *N*-二甲基亚硝胺合成的关系为:阻断率与鱼腥草中 VC、黄酮、总酚含量成正相关关系;甲基正壬酮与阻断率无明显相关性,鱼腥草中总糖对其阻断 *N*-二甲基亚硝胺的合成无相关性。结果显示:鱼腥草中阻断 *N*-二甲基亚硝胺合成的有效化学成分是 VC、黄酮和多酚,说明了鱼腥草能阻断人体 *N*-二甲基亚硝胺化合物的内源性合成,提示鱼腥草有助于人类癌症的病因性预防,有待于进一步开发利用其中防癌抗癌的有效化学成分。

### 参考文献:

- [1] KOSAR M, DORMAN H J D, HILTUNEN R. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected *Lamiaceae* species[J]. Food Chemistry, 2005: 91(3):525-533.
- [2] MASUDA Y, KIKUZAKI H, HISAMOTO M, et al. Antioxidant properties of gingerol related compounds from ginger[J]. Bio Factors, 2004, 21(1/4):293-296.
- [3] SKERGET M, KOTNIK P, HADOLIN M, et al. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities[J]. Food Chemistry, 2005, 89(2):191-198.
- [4] 欧阳玉祝, 吕程丽, 郑胜丰, 等. 大孔树脂吸附法分离过路黄中的总多酚[J]. 食品科学, 2009, 30(22): 213-216.
- [5] 薛颖, 宋晓辉, 陈杭. 苦瓜等 91 种食用植物抗促癌作用的研究[J]. 营养学报, 1998, 20(2): 219-223.
- [6] 袁毅华, 陈忻, 陈纯馨, 等. 柚皮提取物对亚硝化反应抑制作用研究[J]. 化学世界, 2004(1): 26-28.
- [7] 郭艳华, 胡思前. 荸荠皮提取物对亚硝化反应抑制作用研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(3): 64-66; 83.
- [8] 谭延华. 紫外分光光度法测定还原型 VC[J]. 药物分析杂志, 1991, 11(1): 28-29.
- [9] 丁刚强, 于村, 张双凤, 等. 食品多糖含量不同测定方法的研究[J]. 实用预防医学, 2000, 21(3): 325-327.
- [10] 郭艳华, 许江扬. 鱼腥草总黄酮的提取纯化及黄酮类型的初步鉴定[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 287-291.
- [11] YAO L H, JIANG Y M, CAFFIN N, et al. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets[J]. Food Chemistry, 2006, 96: 614-620.
- [12] 张艳荣, 辛红阳, 刘婷婷, 等. 红景天黄酮提取技术研究[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 292-294.
- [13] 于善凯, 张英. 不同品种杭白菊中酚类物质含量与清除自由基活性的比较[J]. 食品科学, 2001, 22(4):84-87.
- [14] RABABAH T M, HETTIARACHCHY N S, HORAX R. Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(16): 5183-5186.
- [15] 林光美, 侯长江, 陈贵东, 等. 不同产地鱼腥草产量与质量的比较研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(7): 633-635.