

蓮子心萃取物之高效能液相層析串連質譜儀(LC/MS/MS)分析

劉炎明，黃啟瑞、黃信綸、楊繼江*

摘要

蓮子心的植物化學研究開始於上世紀中葉並有諸多化學成分、藥理活性等研究。本研究以水(WE)、水+酒(ME)及 95%乙醇(AE)三組蓮子心萃取物分別經高效能液相層析串連質譜儀(LC/MS/MS)分析，結果含 8 種多酚黃酮類化合物(rutin、quercetin 3-O-glucoside、luteolin 7-O-glucoside、kaempferol、vitexin、luteolin、baccalain、chrysoeriol)及 5 種非多酚黃酮類化合物(quinic acid、p-coumaric acid、cinnamic acid、pyrogallol、secoisolariciresinol)，三組化合物中以 rutin 含量最高。三組蓮子心萃取物以 WE 萃取所得黃酮類最多。與 ME 比較 WE 少了 pyrogallol(鄰苯三酚)；WE 與 AE 比較，AE 萃取物較少但含有 vitrxin。本研究並發現蓮子心萃取物中含有 quinic acid。

關鍵字：蓮子心、黃酮類、抗氧化作用

劉炎明，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程研究生、臺北榮民總醫院臺東分院心臟內科。E-mail: cvdrlu@yahoo.com.tw

黃啟瑞，國立臺東大學生物農食研究中心助理研究員、國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授、財團法人石材暨資源產業研究發展中心水資源組研究員、經濟部東部深層海水創新研發中心研究員。Email: crhuang.ksn@gmail.com

黃信綸，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授、國立臺東大學食品生物技術應用二年制在職學位學程兼任助理教授、財團法人石材暨資源產業研究發展中心水資源組專案經理、經濟部東部深層海水創新研發中心特色原料分析實驗室經理。Email: tom1203@srdc.org.tw

楊繼江(通訊作者)，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程教授、國立臺東大學生物農食研究中心主任。Email: cyang@nttu.edu.tw

Analyses of *Nelumbo nucifera* seed embryo extracts by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC/MS/MS)

Yen-Ming Liu, Chi-Ruei Huang, Hsin-Lun Huang, Chi-Chiang Yang*

Abstract

The research of *Nelumbo nucifera* seed embryo phytochemicals began in the middle of the last century and has many researches on chemical components and pharmacological activities. In this study, three groups of embryo of *Nelumbo nucifera* seeds extracts of water (WE), water + wine (ME) and 95% ethanol (AE) were analyzed by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC/MS/MS), and the results contain eight polyphenol flavonoids (rutin, quercetin 3-O-glucoside, luteolin 7-O-glucoside, kaempferol, vitexin, luteolin, bacicalein, chrysoeriol) and five non-polyphenol flavonoids (quinic acid, p-coumaric acid), cinnamic acid, pyrogallol, secoisolariciresinol). Rutin is the most abundant compound among the three groups of extracts. The most amounts of flavonoids was extracted from the WE. However, the WE was with less pyrogallol compared to the ME. The AE has fewer flavonoids but does with vitrxin compared to the WE. Moreover, it is found that *Nelumbo nucifera* seed embryo extracts contain quinic acid.

Keywords: embryo of *Nelumbo nucifera* seeds, flavone, antioxidation

Yen-Ming Liu, Master Student, Master Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University; Attending Physician, Cardiovascular Medicine Division, Taipei Veterans General Hospital Taitung Branch. E-mail: cvdrlu@yahoo.com.tw

Chi-Ruei Huang, Adjunct Assistant Researcher, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center; Adjunct Assistant Professor, Master Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University; Researcher, Division of Water Resource, Stone and Resource Industry Research and Development Center; Researcher, Eastern Taiwan Deep Sea Water Innovation and Research Center, Ministry of Economic Affairs. Email: crhuang.ksn@gmail.com

Hsin-Lun Huang, Adjunct Assistant Professor, Master Program in Biomedicine; On-Job Degree Program of Food Biotechnology Application, College of Science and Engineering, National Taitung University; Manager, Functional Ingredients and Food Inspection Integration Laboratory, Eastern Taiwan Deep Sea Water Innovation and Research Center, Ministry of Economic Affairs; Project Manager, Division of Water Resource, Stone and Resource Industry Research and Development Center. Email: tom1203@srdc.org.tw

Chi-Chiang Yang (Corresponding Author), Professor, Master Program in Biomedicine; Director, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center, College of Science and Engineering, National Taitung University. Email: cyang@nttu.edu.tw

壹、前言

蓮子心的植物化學研究開始於上世紀中葉，迄今為止，蓮子心的化學成分、藥理活性等方面研究已經比較深入和全面(沈，2009)。目前關於蓮子心藥理作用的研究，主要集中在生物鹼、黃酮類物質及蓮子心多醣體等成分的功能。因蓮子心含有多種alkaloids(生物鹼)與多種phenol derivatives(酚類化合物)，是近代傳統醫學上應用於組織抗發炎、抗菌活性(Yen et al., 2005)，具有清心安神、止咳化痰、降血脂、止血抗炎、抗氧化、抗愛滋病、抗血栓、保護肝肺腎、保護中樞神經系統等功效。在中醫用於治療心血管疾病方面，包含抗高血壓和主動脈保護作用(Liu et al., 2019)、鎮靜作用(Sugimoto et al., 2008)，並且還具有針對糖尿病，動脈粥樣硬化，肥胖症和降低血脂的藥理活性(Sharma et al., 2017)。蓮子心的降壓、抗心律失常、降血糖、免疫抑制及促進脂肪分解、抵制肺部纖維細胞增殖和抑菌等作用或功效也曾報導過(沈，2009)。蓮子心因其具有良好的抗氧化、抗腫瘤、抑制肝纖維化、降血糖、抑菌、抗發炎和心血管保護等藥理作用，而成為近年來的熱門研究。

植物蓮(*Nelumbo nucifera* Gaertn.)之成熟種子中的乾燥幼葉及胚根，具有清心火、平肝火的作用(傅，2015)，是在東南亞及中國廣泛使用的中藥和茶飲，近代研究中已發現蓮萃取物中含243種化學成分(Sharma et al., 2017)含有豐富的生物鹼、黃酮類及水溶性多醣體以及少量揮發性油類、甾醇類與少量微量元素、類固醇，脂肪酸、維生素等(Pinto et al., 2021)。蓮子心是一味藥食同源的傳統中藥，其所含成分的多樣性、複雜性和作用機制具有不確定性，因此，對蓮子心的指標成分與藥理作用的相關性研究，即以藥效活性成分作為評價指標，具有實用之價值。本研究所採用的蓮子心係取自桃園市觀音區大田蓮花農場所種植的百葉蓮品種蓮花，百葉蓮是近幾年才引進台灣的新蓮種，花期較長，花色呈粉紅色，花瓣尖端則帶一點紫紅色；蓮蓬如碗且蓬面無微凸，蓮藕為細長狀，蓮子渾圓飽滿，結實率極高，蓮子產量比原先栽種的大賀蓮提升約2倍，且葉子經過修剪，還能夠2次收成，大大提升蓮農收益；此外百葉蓮蓮子口感綿密，蓮心不苦，頗受消費者喜愛。

貳、文獻回顧

蓮子心含有相當多的黃酮類產物，而黃酮類化合物是人類飲食中不可或缺的多酚類化合物。黃酮類化合物是由15碳的基本骨架(C₆-C₃-C₆)組成基本構型化學結構，對哺乳動物的細胞有重要的生物活性與清除生物體內的自由基，以及抑制酶活性、抗腫瘤、抗菌、抗病毒、抗炎症、抗過敏、抗衰老、抗心血管疾病糖尿病併發症等藥理

作用。用乙醇萃取蓮子心酚類、醣類餵食用 streptozotocin (STZ)誘發 BALB/c 糖尿病小鼠的結果顯示，可降低 TG、HDL、IgG 及 IgA 降低葡萄糖的濃度，傾向抗發炎調節趨勢的功效(賴英淑，2006)。此外，植物中蘆丁的含量高，它的代謝物抑制巨噬細胞炎症反應，可以用於抗炎性疾病的佐劑(Su et al., 2014)。因蓮子心黃酮類蘆丁含量高，可以抑制氧化，應有效降低 Wistar 大鼠的神經毒性(Motamedshariaty et al., 2014)。槲皮素是存在於蔬菜和水果中主要的類黃酮，在動物和細胞實驗中具有潛在的抗癌作用，在體外對結腸癌細胞具有強大的細胞毒性，與抗增殖活性有關(Khafif et al., 1998, Salucci et al., 2002)。因此，黃酮類對多種腫瘤細胞有明顯的抑制作用，主要表現在抑制細胞增殖、誘導細胞凋亡、干預信號轉導、影響細胞週期、影響血管生成、克服腫瘤細胞多種耐藥性等。研究指出黃酮類能抑制前列腺癌細胞(Kobayashi et al., 2002)、結腸癌細胞(Dükel et al., 2021)、胃癌細胞和肝癌細胞增殖(Borska et al., 2012)。

由上述黃酮類的相關研究可發現其有抑制腫瘤細胞、抗癌或抗氧化作用，因此本研究乃嘗試萃取蓮子心內容物並進行成分分析，作為後續抗氧化作用及抗癌的可能性等相關研究之基礎。

參、研究動機

一、植物材料和萃取

本研究蓮子心是取自 2020 年桃園市觀音區大田蓮花農場所生產的百葉蓮品種，從蓮蓬中挖出生蓮子，去皮後托出具有苦味的胚芽即為蓮子心，蓮子心經乾燥加工後冷凍保持於-20°C 下備實驗使用。實驗前取蓮子心經機械磨成粉狀，分別以水萃取 (Water extract, WE)、酒精萃取 (Alcohol extract, AE)、酒精水混合萃取 (Mixed water and alcohol extract, ME)，經 24 小時震盪後，取上清液經兩次離心後用 0.22 μ m 過濾 (Acrodisc syringe filter 0.45um super membrane NonPyrogenic PN 4616)，置於 40°C 恆溫培養箱去除水份乾燥，乾燥樣品存放於-20°C 中，以備進行細胞實驗，實驗前再用 PBS 回溶成 500mg/mL 濃度，離心機以 1500rpm 離心 5 分鐘，取上清液使用無菌 0.22 μ m 的濾膜過濾，配製不同濃度的萃取液。同時取以上三組樣品在高效能液相層析串連質譜儀(LC/MS/MS)進行蓮子心萃取物功效成份評估。

二、成份分析

由東部深層海水創新研發中心提供 AB SCIEX QTRAP® 4500 LC/MS/MS System 以高效能液相層析串連質譜儀 (LC/MS/MS) 進行蓮子心萃取物功效成份評估，包含

多酚類等非揮發性功能成份檢測。將過濾之原汁、濃縮液稀釋 100 至 10,000 倍，並以 0.2 μm 之過濾膜過濾，使用 C18 管柱進行梯度分析試驗，移動相為乙晴與 2.5% 之甲酸溶液，並以梯度之形式洗滌，再以相對應之標準品進行標準曲線繪製，訂定其內之含量。有效分離出其內之多酚與類黃酮物質。並以 rutin 為標準品進行標準曲線繪製，訂定其內之含量，以作為相關試驗之品質管控與條件測試。

肆、結果與討論

蓮子心 WE 萃取物以 rutin 為對照品，經 LC/MS/MS 分析結果其中化合物包括 rutin, quercetin 3-O-glucoside、luteolin 7-O-glucoside)、kaempferol、p-coumaric acid、chrysoeriol、baicalein、cinnamic acid)、quinic acid、luteolin glucoside、secoisolariciresinol)(見圖 1)，其中 WE 以 rutin、Kaempferol 含量最多。ME 萃取物其中酮類化合物包括 rutin、quercetin 3-O-glucoside)、p-coumaric acid、pyrogallol、kaempferol、luteolin glucoside、quinic acid、secoisolariciresinol)(見圖 1)。AE 萃取酮類化合物包括 rutin、quercetin 3-O-glucoside、luteolin 7-O-glucoside、vtexin)及 p-coumaric acid(見圖 1)。

有關黃酮類(flavones)基本結構(見圖 2)，C 環上的 C-2 和 C-3 為雙鍵，C-4 位置以羰基($\text{C}=\text{O}$)型式存在，在 A 環在 C-5 及 C-7 上有-OH 基。本研究蓮子心萃取物的各化學結構式(見圖 3)及三組萃取內容物比較敘述如下(見表 1)。

1. Quercetin 3-O-glucoside(槲皮素)

槲皮素為黃酮醇屬於多酚類中的黃酮類化合物，在 C-3 處連接有 β -D-葡萄糖基。發現具有抗腫瘤活性，可降低聚合速率紅血球和鐮刀菌，植物代謝產物，骨密度保護劑，成骨調節劑，抗氧化劑，組胺拮抗劑和止癢藥的作用。

2. Luteolin 7-O-glucoside(木犀草苷)

草苷又稱木犀草苷是天然多酚類類黃酮化合物，在 C-7 處被 β -D-葡糖吡喃糖基部分取代的木犀草素。它具有抗氧化劑和植物代謝產物的作用。

3. Vitexin(牡荊素)

牡荊素是天然多酚類類黃酮化合物，存在於竹葉、西番蓮和珍珠粟中，具有血小板聚集抑制劑， α -葡萄糖苷酶抑制劑，抗腫瘤藥和植物代謝產物的作用。

4. Quinic acid(金雞納酸)

金雞納酸是一種環己多醇羧酸，從金雞納樹樹皮、咖啡豆以及其它植物產物中提取，能通過綠原酸水解合成，也能影響咖啡的酸度。

5. Luteolin (木犀草素)

木犀草素為多酚類類黃酮化合物屬 3',4',5,7-四羥基黃酮。可能具有的藥理作用，包括抗氧化、抗炎、抗菌和抗癌抗過敏作用和免疫增強作用。對金黃色葡萄球菌、肺炎雙球菌、綠膿桿菌尚有抑菌作用。用於慢性支氣管炎和其他呼吸道疾病的痰多咳嗽者。

6. Secoisolariciresinol(開環異落葉松樹脂酚)

開環異落葉松樹脂酚它具有抗抑鬱藥，植物代謝產物和植物雌激素的作用，已用於研究預防乳腺癌的試驗中。

7. p-Coumaric acid(香豆酸)

香豆酸其中 OH 基取代於苯環的 C-4 的位置。它具有植物代謝產物的作用

8. Chrysoeriol(金聖草黃素)

金聖草黃素為多酚類類黃酮化合物，4', 5,7-三 OH-3'-甲氧基黃酮是木犀草素的 3'-O-甲基衍生物。它具有抗腫瘤藥，抗氧化劑和代謝產物的作用。

9. Baicalein(黃芩素)

黃芩素為多酚類類黃酮化合物，在位置 C-5，-6 和-7 處帶有羥基的三羥基黃酮。它具有抗發炎和抗氧化作用，激素拮抗劑，前列腺素拮抗劑，自由基清除劑，是植物代謝產物。

10. Cinnamic acid(肉桂酸)

肉桂酸是由在 C-3 位苯基取代丙烯酸組成的一元羧酸。在肉桂中被發現，植物代謝產物，它是苯乙烯的成員和肉桂酸的成員。

11. Kaempferol(山奈酚)

山奈酚為天然多酚類類黃酮化合物，具有四-OH 其中四個羥基基團位於位置 C-3、5、7 和 C-4'。它具有抗菌劑與氧化劑的作用，植物代謝物，人異生物代謝物，人尿代謝物和人血清代謝物的作用，目前將其作為可能的癌症治療方法。

12. Rutin(蘆丁)

蘆丁是一種多酚類類黃酮化合物槲皮素的糖苷，其 C-3 位的-OH 被葡萄糖和鼠李糖糖基取代。它具有代謝產物和抗氧化劑的作用，是二糖衍生物，槲皮素 O-葡萄糖苷，四羥基黃酮和芸香糖苷。存在於許多植物中，包括蕎麥、煙草、連翹、繡球花等。已用於治療減少毛細血管的脆性。

13. Pyrogallol(鄰苯三酚)

鄰苯三酚是在位置 C-1、2 和 3 帶有-OH 的苯三酚，具有植物代謝產物的作用。

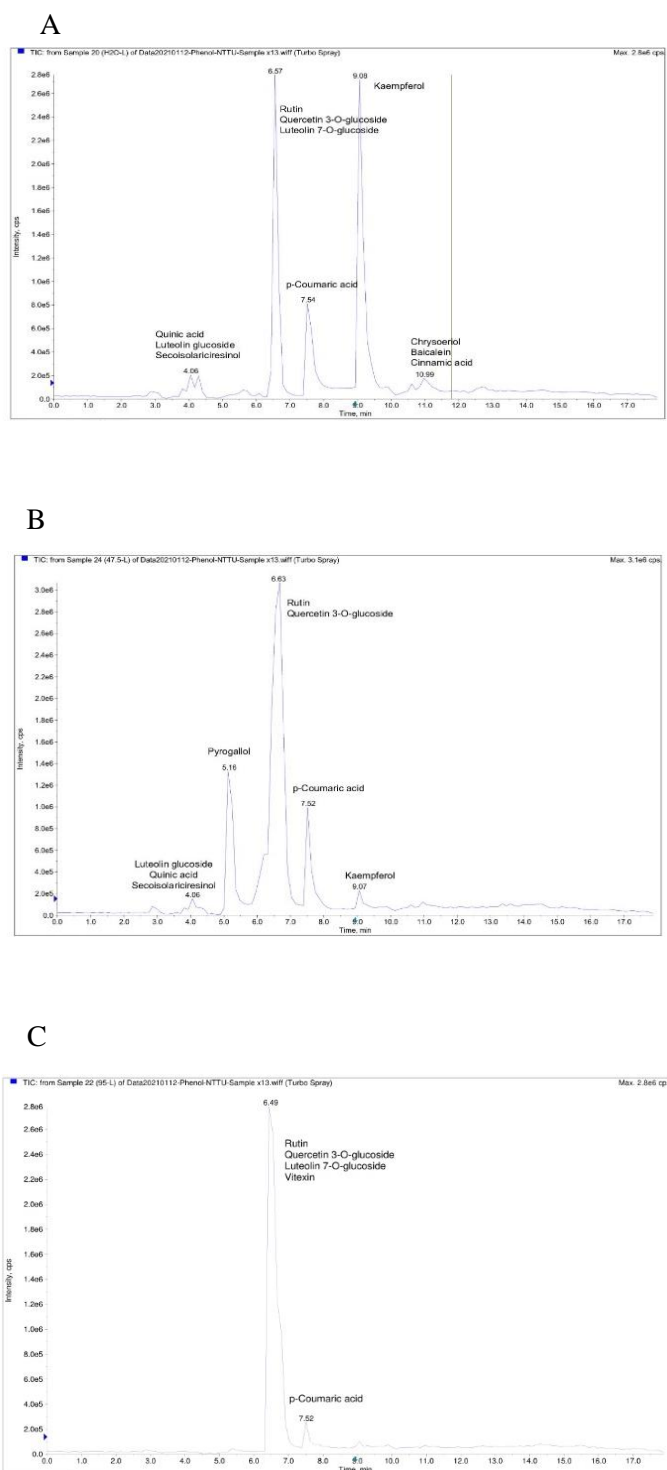


圖1. 三組蓮子心萃取物經高效能液相層析串連質譜儀(LC/MS/MS)分析結果A.WE、B.ME、C.AE。

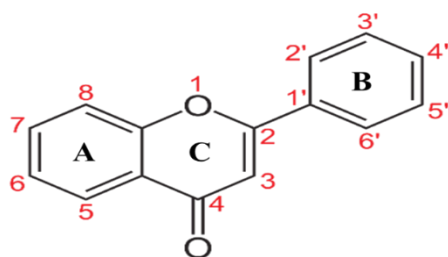
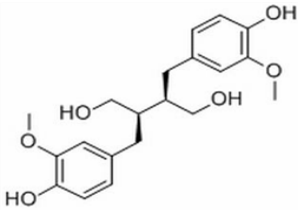
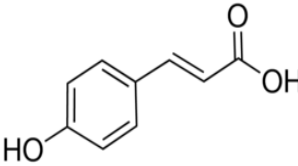
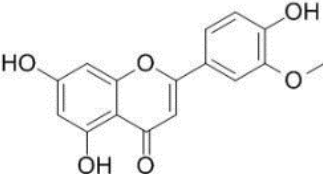
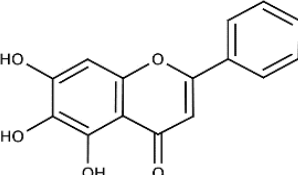
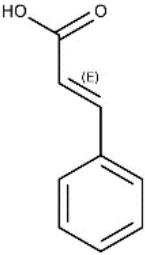
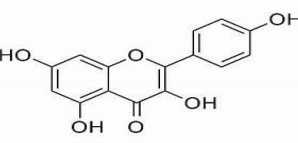
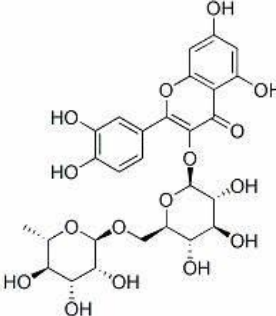


圖2. 黃酮類化合物之基本化學結構式。

編號	化合物名稱	化學結構
1.	Quercetin 3-O-glucoside 槲皮素	
2.	Luteolin 7-O-glucoside 木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖 苷	
3.	Vitexin 牡荊素	
4.	quinic acid 金雞納酸	
5.	luteolin (3',4',5,7-四羥基黃 酮) 木犀草素	

編號	化合物名稱	化學結構
6.	Secoisolariciresinol 開環異落葉松樹脂酚	
7.	p-coumaric acid 香豆酸	
8.	Chrysoeriol 金聖草黃素	
9.	Baicalein(5,6,7-三羥基黃 酮) 黃芩素	
10.	Cinnamic acid 肉桂酸	
11.	Kaempferol 山柰酚為天然黃酮類化合物	
12.	Rutin 蘆丁	

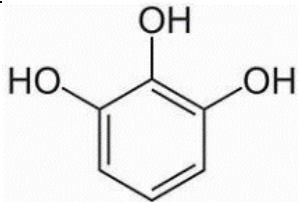
編號	化合物名稱	化學結構
13.	Pyrogallol 鄰苯三酚	

圖3. 本研究蓮子心萃取物之化合物及其化學結構式。

表一 本研究三組萃取內容物之比較。

項目	WE	ME	AE	化合物類別
化合物				
Rutin	✓	✓	✓	黃酮醇
Quercetin 3-O-glucoside	✓	✓	✓	類黃酮
Luteolin 7-O-glucoside	✓		✓	類黃酮
Pyrogallol		✓		連苯三酚
Luteolin glucoside	✓	✓		類黃酮
Secoisolariciresinol	✓	✓		木質素
Kaempferol	✓	✓		類黃酮
p-Coumaric acid	✓	✓	✓	香豆酸
Quinic acid	✓	✓		奎寧酸
Chrysoeriol	✓			黃酮類
Baicalein	✓			類黃酮
Cinnamic acid	✓			肉桂酸
vitexin			✓	類黃酮

一般總酚含量越高的物質清除自由基能力也越好，常是研究的焦點。類黃酮包含黃酮醇、黃烷酮、黃烷醇等幾種不同的形式，是蔬果中的重要成分，癌症及心血管疾病的預防上扮演重要角色，且具有抗癌、抗發炎、抗氧化及細胞穩定等特性。由表 1 得知三組以 WE 萃取所得黃酮類最多，與 ME 比較 WE 少了 pyrogallol 鄰苯三酚，WE 與 AE 比較，AE 萃取物較少但含有 vitrxin。AE 萃取物中有 vitexin 可經由腸道細菌分解去除糖基及苷元結構基而形成肉桂酸及香豆酸(Peng et al., 2021)。本實驗中出現此兩種化合物質有可能再萃過程中被分解或蓮子心本身既有的產物，這可能仍有待進一步分析研究。

伍、結論

萃取蓮子心有多種方法，如水、酒、超音波輔助、微波輔助、酶輔助、超臨界流體、大孔吸附樹脂分離等方法萃取，所分離出物質也不同，而水萃操作方便、簡單、成本低、容易操作，但提取時間較長，萃取物較複雜，再濃縮較困難，酒萃溶劑消耗量大成本比水較高。本研究利用中草藥常用傳統的方法，將乾燥過的蓮子心磨成粉末以水或乙醇萃取其成分，經 LC/MS/MS 以蘆丁為對照品分析其內含物，結果得到 13 種化合物質。其中含有高量的黃酮類萃取物有 8 種，以蘆丁含量最高，與文獻資料雷同(林，2012)。以水、酒萃取所得以極性較高的多酚黃酮類為主，黃酮類化合物存在於植物與蔬菜中，顯示其有抗氧化、抗發炎、抗癌、對心臟血管疾病也有保護效果。本實驗萃取物也相同含有大量的黃酮類，其中以蘆丁含量最高。另外，本土百葉蓮在本實驗發現含有少量 quinic acid。

參考文獻

一、中文部分

- 沈元帥(2009)。蓮子心水溶性次生代謝產物的分離純化和結構鑒定福州。福建農林大學，4-53。
- 林志欽(2012)。蓮子心總黃酮的提取純化及其功能性研究。福建農林大學學位論文。
- 傅育鈴(2015)。蓮子心與石蓮子之品質評估。中國藥學暨中藥資源學系學位論文。
- 賴英淑(2006)。蓮子心及其萃取物對免疫細胞及糖尿病誘發小鼠免疫調節功能之影響。中興大學食品暨應用生物科技學系學位論文。

二、外文部分

- Borska, S., Chmielewska, M., Wysocka, T., Drag-Zalesinska, M., Zabel, M., & Dziegiel, P. (2012). In vitro effect of quercetin on human gastric carcinoma: targeting cancer cells death and MDR. *Food and chemical toxicology*, 50(9), 3375-3383.
- Dükel, M., Tavsan, Z., & Kayali, H. A. (2021). Flavonoids regulate cell death-related cellular signaling via ROS in human colon cancer cells. *Process Biochemistry*, 101, 11-25.
- Khafif, A., Schantz, S. P., Chou, T. C., Edelstein, D., & Sacks, P. G. (1998). Quantitation of chemopreventive synergism between (-)-epigallocatechin-3-gallate and curcumin in normal, premalignant and malignant human oral epithelial cells. *Carcinogenesis*, 19(3), 419-424.
- Kobayashi, T., Nakata, T., & Kuzumaki, T. (2002). Effect of flavonoids on cell cycle progression in prostate cancer cells. *Cancer letters*, 176(1), 17-23.

- Liu, C. M., Kao, C. L., Wu, H. M., Li, W. J., Huang, C. T., Li, H. T., & Chen, C. Y. (2014). Antioxidant and anticancer aporphine alkaloids from the leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn. cv. Rosa-plena. *Molecules*, *19*(11), 17829-17838.
- Liu, M., Jiang, Y., Liu, R., Liu, M., Yi, L., Liao, N., & Liu, S. (2019). Structural features guided “fishing” strategy to identification of flavonoids from lotus plumule in a self-built data “pool” by ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, *1124*, 122-134.
- Motamedshariaty, V. S., Farzad, S. A., Nassiri-Asl, M., & Hosseinzadeh, H. (2014). Effects of rutin on acrylamide-induced neurotoxicity. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, *22*(1), 1-9.
- Peng, Y., Gan, R., Li, H., Yang, M., McClements, D. J., Gao, R., & Sun, Q. (2021). Absorption, metabolism, and bioactivity of vitexin: recent advances in understanding the efficacy of an important nutraceutical. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *61*(6), 1049-1064.
- Pinto, M. M., Palmeira, A., Fernandes, C., Resende, D. I., Sousa, E., Cidade, H., Tiritan, M.E., Correia-da-Silva, M., & Cravo, S. (2021). From natural products to new synthetic small molecules: a journey through the world of xanthenes. *Molecules*, *26*(2), 431.
- Salucci, M., Stivala, L. A., Maiani, G., Bugianesi, R., & Vannini, V. (2002). Flavonoids uptake and their effect on cell cycle of human colon adenocarcinoma cells (Caco2). *British journal of cancer*, *86*(10), 1645-1651.
- Sharma, B. R., Gautam, L. N. S., Adhikari, D., & Karki, R. (2017). A comprehensive review on chemical profiling of *Nelumbo nucifera*: potential for drug development. *Phytotherapy Research*, *31*(1), 3-26.
- Su, K. Y., Yu, C. Y., Chen, Y. P., Hua, K. F., & Chen, Y. L. S. (2014). 3, 4-Dihydroxytoluene, a metabolite of rutin, inhibits inflammatory responses in lipopolysaccharide-activated macrophages by reducing the activation of NF- κ B signaling. *BMC complementary and alternative medicine*, *14*(1), 1-9.
- Sugimoto, Y., Furutani, S., Itoh, A., Tanahashi, T., Nakajima, H., Oshiro, H., Sun, S., & Yamada, J. (2008). Effects of extracts and neferine from the embryo of *Nelumbo nucifera* seeds on the central nervous system. *Phytomedicine*, *15*(12), 1117-1124.
- Yen, G. C., Duh, P. D., & Su, H. J. (2005). Antioxidant properties of lotus seed and its effect on DNA damage in human lymphocytes. *Food Chemistry*, *89*(3), 379-385.