

文章编号:1001-6880(2014)3-0410-05

六种花提取物抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究

常美芳,施余杰,顾海鹏,尹震花,康文艺*

河南大学中药研究所,开封,475004

摘要:采用96微孔板法对紫丁香、日本晚樱、锦带花、荆条花、疏毛绣线菊和猥实中不同提取部位对 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行评价,并与阳性对照药阿卡波糖进行了比较,发现6种花不同提取部位均具有一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。其中,荆条花的乙酸乙酯部位($IC_{50} = 290.57 \mu\text{g/mL}$)和日本晚樱的乙酸乙酯部位($IC_{50} = 292.72 \mu\text{g/mL}$)抑制活性最好,且都远大于阳性对照阿卡波糖($IC_{50} = 1213.38 \mu\text{g/mL}$)。不同溶剂提取物显示,紫丁香、日本晚樱、锦带花和荆条花的乙酸乙酯部位抑制活性均大于正丁醇部位;而疏毛绣线菊和猥实的正丁醇部位略大于乙酸乙酯部位,且6种花的石油醚部位活性最低。此外,各部位的抑制活性均与质量浓度呈现相关性,具有一定的浓度依赖性。

关键词:荆条花;日本晚樱; α -葡萄糖苷酶;抑制活性

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

α -Glucosidase Inhibitory Activity of Extracts from Six Kinds of Flowers

CHANG Mei-fang, SHI Yu-jie, GU Hai-peng, YIN Zhen-hua, KANG Wen-yi*

Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China

Abstract: α -Glucosidase inhibitory activity of different extracts from *Syringa oblata* Lindl., *Prunus serrulata* var. *lannesiana* (Carr.) Rehd., *Weigela florida* (Bunge) A. DC., *Vitex negundo* L. var. *heterophylla* (Franch.) Rehd., *Spiraea hirsuta* (Hemsl.) Schneid., *Kolkwitzia amabilis* Graebn. was evaluated compared with acarbose as positive control *in vitro*. The result showed that extracts from six kinds of flowers all had α -glucosidase inhibitory activity, which *V. negundo* ethyl acetate extract ($IC_{50} = 290.57 \mu\text{g/mL}$) and *P. serrulata* var. *lannesiana* ethyl acetate extract ($IC_{50} = 292.72 \mu\text{g/mL}$) had the highest activity. They were all higher than that of the positive control acarbose ($IC_{50} = 1213.38 \mu\text{g/mL}$). Among different extracts, inhibitory activity of ethyl acetate extract of *S. oblata*, *P. serrulata* var. *lannesiana*, *W. florida* and *V. negundo* were higher than that of *n*-butanol extract, while *n*-butanol extract of *S. hirsuta* and *K. amabilis* was higher than that of their ethyl acetate extract, and inhibitory activity of petroleum ether extract was the lowest. In addition, the concentration of all extracts showed positive correlation with inhibitory activity, and also showed a certain degree of concentration dependence.

Key words: *V. negundo*; *P. serrulata*; α -glucosidase; Inhibitory activity

紫丁香(*Syringa oblata* Lindl.)为木犀科丁香属植物,主要分布于东北、华北、西北以至西南达四川西北部。味苦,性寒^[1]。其花、叶、根和茎均可入药,根和茎可清心、解热、治疗头痛健忘和失眠等症,花中芳香成分丁香酚不仅有兴奋大脑皮层、防腐止痛、消炎杀菌等作用^[2,3]。文献报道小叶丁香有降血糖作用^[4],但紫丁香的降血糖的作用尚未见报

道。

日本晚樱(*Prunus serrulata* var. *lannesiana* (Carr.) Rehd.)是蔷薇科樱属植物,我国樱花资源丰富,约有48种,主要分布在西部和西南地区。其味辛,性平。可清肺透疹,用于麻疹透发不畅^[1]。据报道,在日本其花、叶、汁等均可食用^[5];樱花树叶中总黄酮含量高,有持久缓慢的降压作用,且对心肌和冠脉流量无多大影响,其水提物和有效成分总黄酮的急性毒性试验均无出现异常和死亡现象^[6]。

锦带花(*Weigela florida* (Bunge) A. DC.)是忍冬科锦带花属植物,又名四季海棠、文官花,产于大别山、桐柏山和伏牛山南坡;主要分布于东北、华北、华

收稿日期:2013-01-28 接受日期:2013-06-17

基金项目:河南省科技厅重点攻关项目(102102310019;122102310170);河南省科技厅基础前沿计划(112300410075);河南省青年骨干教师计划(教高2012-704)

* 通讯作者 Tel:86-378-3880680;E-mail:kangweny@ hotmail. com

东及西南^[7]。

荆条花 (*Vitex negundo* L. var. *heterophylla* (Franch.) Rehd) 是马鞭草科牡荆属荆条的花。产于各山区。荆条的茎叶可治久痢,种子能镇静、镇痛;根可驱蛲虫;花和枝叶可提芳香油^[7]。

疏毛绣线菊 (*Spiraea hirsuta* (Hemsl.) Schneid) 是蔷薇科绣线菊属植物,产于河南太行山区;生于山坡灌丛或石缝中,分布于河北、山西等省^[8]。

猥实 (*Kolkwitzia amabilis* Graebn) 是忍冬科猥实属的落叶丛生灌木,是德国植物学家 Richard Kolkwitz 于 1901 年发现并命名,为中国特有的忍冬科单种属植物。它仅在中国山西、陕西、河南、湖北、甘肃和安徽 6 省区的荒坡、林缘有斑块状间断分布,是著名的观花观果植物,被誉为美丽的灌木,欧美各国已广泛引种^[9,10]。1987 年国家环保局在《中国濒危植物名录》中定为三级稀有保护植物^[11]。锦带花、荆条花、疏毛绣线菊、猥实主要作为观赏花木,目前尚未见相关的药理作用的报道。

α -葡萄糖苷酶抑制剂可竞争性抑制小肠内各种 α -葡萄糖苷酶,减慢淀粉类分解为葡萄糖的速度,从而减缓肠道内葡萄糖的吸收,降低餐后高血糖。目前,已广泛应用于糖尿病及其并发症的防治。为此,本文首次利用体外 α -葡萄糖苷酶抑制模型,对采集于河南开封的 6 种花的 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行报道,为其进一步开发利用提供一定的理论基础。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

紫丁香、日本晚樱、锦带花、荆条花、疏毛绣线菊、猥实这六种花均于 2012 年 7 月采集于河南省开封市金明校区,由河南大学中药研究所李昌勤教授鉴定,标本存在于河南大学中药研究所。

卡博平(阿卡波糖片,110704,杭州中美华东制药有限公司), α -葡萄糖苷酶(α -glucosidase EC3.2.1.20);4-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷(4-N-trophenyl- α -D-glucopyranoside, PNPG, 026 K1516) 均购自美国 Sigma 公司;二甲基亚砜(DMSO, 天津市富宇精细化工有限公司);其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

电子天平(美国 Mettler-Toledo 公司);DELTA 320 型 pH 计(美国 Mettler-Toledo 公司);LRH-150 恒温培养箱(上海一恒科技有限公司);Multiskan MK3 酶标仪(美国 Thermo Electron 公司);旋转蒸

发仪(德国 Heidolph 公司)。

2 实验方法

2.1 6 种花的提取

紫丁香:用 70% 乙醇室温浸泡 2 次,每次 2 d,合并、过滤、浓缩得紫丁香总浸膏;日本晚樱、锦带花、荆条花、疏毛绣线菊、猥实 5 种花均用 70% 乙醇加热回流 2 次,每次 1 h,合并、过滤、浓缩,分别得日本晚樱、锦带花、荆条花、疏毛绣线菊、猥实各花总浸膏;把以上 6 种花总浸膏均分散于水中,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得到 6 种花的石油醚部位、乙酸乙酯部位和正丁醇部位,6 种花不同部位得率见表 1。

2.2 α -糖苷酶活性成分的筛选方法

2.2.1 检测方法

参照张丽等^[12]的方法,6 种花的提取物以 DMSO 溶解,并存储于 4 ℃ 冰箱中,在 405 nm 处检测其 OD 值,每个样品平行测定 3 次。同时做相同体系下的样品空白组、不加样品的阴性对照组、不加样品、酶与底物的空白对照组以及以阿卡波糖为抑制剂的阳性对照组。按照酶活性抑制率(%) = [1 - (OD 样品 - OD 样品空白) / (OD 阴性 - OD 空白)] × 100,计算抑制率,并用 Origin 软件求出相应 IC₅₀ 值。

3 结果与分析

3.1 6 种花不同部位对 α -葡萄糖苷酶抑制作用

表 1 显示,不同花之间相比,荆条花的 α -葡萄糖苷酶的各部位抑制活性均较好,其乙酸乙酯提取部位($IC_{50} = 290.57 \mu\text{g/mL}$)、正丁醇提取部位($IC_{50} = 607.51 \mu\text{g/mL}$) 和 70% 乙醇总浸膏($IC_{50} = 597.91 \mu\text{g/mL}$) 的活性均高于阳性对照阿卡波糖($IC_{50} = 1213.38 \mu\text{g/mL}$);其次为猥实,其乙酸乙酯部位、正丁醇部位和 70% 乙醇总浸膏提取物的 IC_{50} 值分别为 530.42、512.71 和 679.86 $\mu\text{g/mL}$ 也均高于阿卡波糖。另外,日本晚樱、锦带花、荆条花、疏毛绣线菊四种花乙酸乙酯部位、正丁醇部位和 70% 乙醇总浸膏,以及紫丁香乙酸乙酯部位对 α -葡萄糖苷酶均有较好的抑制活性,且均高于阳性对照阿卡波糖。而 4 种花的石油醚部位和紫丁香的正丁醇部位对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性均低于阳性对照阿卡波糖。70% 乙醇总浸膏对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性之间相比,锦带花 > 荆条花 > 猥实 > 疏毛绣线菊 > 紫丁香。

同一花不同部位相比较,紫丁香、日本晚樱、锦

带花和荆条花各部位对 α -葡萄糖苷酶抑制活性均为乙酸乙酯部位 > 正丁醇部位 > 石油醚部位；疏毛绣线菊和猥实各部位对 α -葡萄糖苷酶抑制活性均

为正丁醇部位略高于乙酸乙酯部位，石油醚部位活性最低。以上表明乙酸乙酯部位为 6 种花的有效提取部位。

表 1 6 种花不同提取部位对 α -葡萄糖苷酶抑制活性

Table 1 α -glucosidase inhibitory activity of the different extracts of six kinds of flowers

样品 Sample	提取溶剂 Extraction solvent	得率 Yield (%)	初筛终浓度 Screening concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	抑制率 Inhibition rate (I%)	半数抑制质量浓度 Half inhibitory concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
紫丁香 <i>S. oblata</i>	石油醚 Petroleum ether	0.045	1500	36.87147622	-
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	1.82	1500	51.20500577	324.99
	正丁醇 <i>n</i> -butanol	2.86	1500	53.69682331	1407.06
	70% 乙醇 70% Ethanol	21.42	1500	25.39423901	-
日本晚樱 <i>P. serrulata var. lannesiana</i>	石油醚 Petroleum ether	0.71	1500	61.42440447	1262.23
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.79	1500	107.016691	292.72
	正丁醇 <i>n</i> -butanol	1.97	1500	104.0836169	338.45
锦带花 <i>W. florida</i>	石油醚 Petroleum ether	0.71	1500	62.97977343	1262.23
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	0.94	1500	99.77685216	368.94
	正丁醇 <i>n</i> -butanol	2.08	1500	101.2942575	487.89
	70% 乙醇 70% Ethanol	38	1500	105.1770299	408.46
荆条花 <i>V. Negundo</i>	乙酸乙酯 Ethyl acetate	1.57	1500	105.6233256	290.57
	正丁醇 <i>n</i> -butanol	4.16	1500	93.7518605	607.51
	70% 乙醇 70% Ethanol	15	1500	94.78204505	597.91
疏毛绣线菊 <i>S. hirsuta</i>	石油醚 Petroleum ether	1.5	1500	66.82871496	1219.69
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	2.35	1500	96.90487765	390.21
	正丁醇 <i>n</i> -butanol	7.87	1500	100.1458435	378.2
	70% 乙醇 70% Ethanol	38.89	1500	96.08653379	748.63
猥实 <i>K. amabilis</i>	石油醚 Petroleum ether	0.08	1500	49.87846378	-
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	1.7	1500	96.43493761	530.42
	正丁醇 <i>n</i> -butanol	3.94	1500	96.82385351	512.71
	70% 乙醇 70% Ethanol	51.22	1500	83.87619511	679.86
阳性对照	阿卡波糖 Acarbose		1333	59.1277112	1213..38

注:-:未测定(抑制率低于 50%)；阿卡波糖为阳性对照。

Note:-:not measure (inhibition rate lower than 50%); Acarbose as a positive control.

3.2 各提取物质量浓度对 α -葡萄糖苷酶抑制活性

的影响

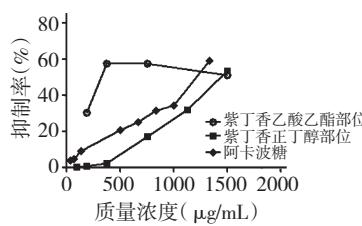


图 1 紫丁香各部位质量浓度对 α -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig. 1 The mass concentration of extracts of *S. oblata* effect on inhibitory activity of α -glucosidase

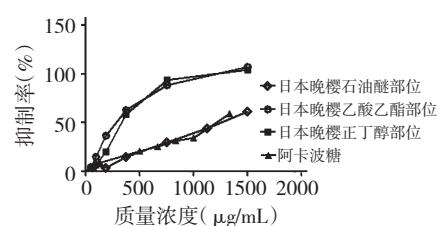


图 2 日本晚樱各部位质量浓度对 α -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig. 2 The mass concentration of extracts of *P. serrulata var. lannesiana* effect on inhibitory activity of α -glucosidase

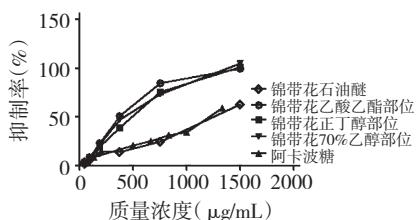


图3 锦带花各部位质量浓度对 α -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig. 3 The mass concentration of extracts of *W. florida* effect on inhibitory activity of α -glucosidase

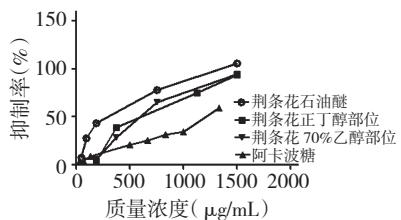


图4 荆条花各部位质量浓度对 α -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig. 4 The mass concentration of extracts of *V. negundo* effect on inhibitory activity of α -glucosidase

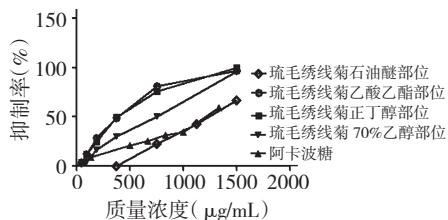


图5 疏毛绣线菊各部位质量浓度对 α -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig. 5 The mass concentration of extracts of *S. hirsuta* effect on inhibitory activity of α -glucosidase

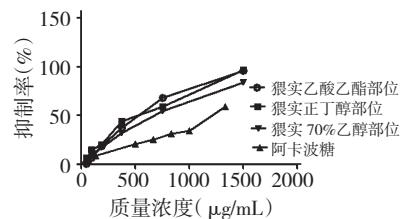


图6 猥实各部位质量浓度对 α -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig. 6 The mass concentration of extracts of *K. amabilis* effect on inhibitory activity of α -glucosidase

由图1-图6显示,各提取物部位质量浓度对 α -葡萄糖苷酶活性的影响发现:除紫丁香的乙酸乙酯部位外,6种花的不同溶剂提取物的抑制率均呈剂量依赖性,即抑制率随浓度的升高而逐渐增大。其中,日本晚樱和锦带花的乙酸乙酯和正丁醇部位、荆

条花的乙酸乙酯部位以及疏毛绣线菊的正丁醇部位最大抑制活性均达到100%,活性很大。其他各部位对 α -葡萄糖苷酶抑制活性也随着质量浓度的增大而增大,当达到一定浓度后,再继续增加浓度,抑制率变化不大,即 α -葡萄糖苷酶抑制活性接近饱和。

4 结论

研究表明,荆条花和猥实的 α -葡萄糖苷酶抑制活性各部位均较好;紫丁香、日本晚樱、锦带花和荆条花的 α -葡萄糖苷酶抑制活性均为乙酸乙酯部位高于正丁醇部位;而疏毛绣线菊和猥实的 α -葡萄糖苷酶抑制活性均为正丁醇部位略高于乙酸乙酯部位,且6种花的石油醚部位活性最低;其中荆条花和日本晚樱的乙酸乙酯部位抑制活性最好。

参考文献

- 1 Chinese Berbal (中华本草). The State Administration of Traditional Chinese Medicine Chinese Herbal' Editorial Committee(国家中医药管理局《中华本草》编委会). Shanghai: Science and Technology Press, 1999. 16:198-199, 10:110.
- 2 Yin CZ(尹承增). Analysis and appraisement of volatilisable substance in flowers of *lilae*. Haerbin: Northeast Forestry University(东北林业大学), PhD. 2003.
- 3 Yin WP(尹卫平), Zhao TZ(赵天增), Zhang ZW(张占旺), et al. The volatile oil components of *Syringa microphylla* Diels of Henan. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 1998, 29: 225-226.
- 4 Trovato A, Forestieri A M, Iank L, et al. Hypoglycemic activity of different extracts of *Olea europaea* L. in rats. *Plant Med Phytother*, 1993, 26:300-308.
- 5 Hu SM(胡善美). World Flower Collection(世界国花集锦). Shanghai: Science and Technology Press, 1984. 24.
- 6 Wu LZ(吴练中), Gu WR(顾维戎), Zhou XY(周秀云), et al. Leaves total flavonoids, content of trace elements and the determination of toxicity and pharmacological studies of *Prunus serrulata* Lindl. *Shanghai Med Pharm J*(上海医药), 1994, 4:45-46.
- 7 Ding BZ(丁宝章), Wang SY(王遂义). Flora of Henan Volume III (河南植物志第三册). Henan: Science and Technology Press, 1997. 509, 326-327.
- 8 Ding BZ(丁宝章), Wang SY(王遂义). Flora of Henan Volume II(河南植物志第二册). Henan: Science and Technology Press, 1997. 154-155.

(下转第437页)