

# 阿纳其根脂肪酸成分分析及其对蛋白酪氨酸磷酸酯酶 1B 抑制作用研究

古丽娜尔·卡斯木<sup>1,3</sup>, 马庆苓<sup>2,3</sup>, 古丽米热·卡哈尔<sup>1,3</sup>, 阿吉艾克拜尔·艾萨<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>新疆医科大学研究生学院, 乌鲁木齐 830054; <sup>2</sup>中国科学院新疆理化技术研究所干旱区植物资源化学重点实验室;

<sup>3</sup>新疆特有药用资源利用省部共建国家重点实验室培育基地, 乌鲁木齐 830011

**摘要:**利用三种不同溶剂(正己烷、乙醚、氯仿)经索氏提取法提取阿纳其根中的油脂成分,经甲酯化后,用气相色谱质谱法(GC-MS)对脂肪酸组成进行了分析和鉴定。试验结果显示,正己烷提取油脂中共鉴定出了8种脂肪酸,其中亚油酸为36.341%、棕榈酸为34.268%、油酸为19.656%;乙醚提取油脂中共鉴定出了12种脂肪酸。其中亚油酸为34.102%、棕榈酸为32.916%、油酸为20.000%、亚麻酸为5.329%;氯仿提取油脂中共鉴定出了5种脂肪酸。其中亚油酸为42.427%、棕榈酸为40.952%、油酸为11.250%。对阿纳其根脂肪酸进行蛋白酪氨酸磷酸酯酶1B(PTP1B)的抑制作用研究,结果表明脂肪酸对PTP1B有较强的抑制作用,其IC<sub>50</sub>分别为5.27±0.40、4.71±0.08、7.01±1.98 μg/mL。该研究为深入研究阿纳其根的药理作用提供了科学依据。

**关键词:**阿纳其根;脂肪酸;气相色谱/质谱;蛋白酪氨酸磷酸酯酶1B抑制作用

中图分类号:O657.63

文献标识码:A

## Study on Component and PTP1B Inhibition Activity of Fatty Acids of *Anacyclus pyrethrum* (L) DC

Gulnar KASIM<sup>1,3</sup>, MA Qing-ling<sup>2,3</sup>, Gulmira KAHAR<sup>1,3</sup>, Haji Akber AISA<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Postgraduate college of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China; <sup>2</sup>The Key Laboratory of Plant Resources and Chemistry of Arid Zone, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences;

<sup>3</sup>State Key Laboratory Basis of Xinjiang Indigenous Medicinal Plants Resource Utilization, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China

**Abstract:** Fats and oil components were extracted by Soxhlet extraction from *Anacyclus pyrethrum* (L) DC using three different organic solvent (n-hexane, diethyl ether, chloroform). The chemical constituents of fatty acids in different extracts were identified and semi-quantified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results indicated that 8 components, mainly including linoleic acid (36.341%), hexadecanoic acid (34.268%) and oleic acid (19.656%), were detected in the n-hexane extract; 12 components, mainly including linoleic acid (34.102%), hexadecanoic acid (32.916%), oleic acid (20.000%) and α-linolenic acid (5.329%), were detected in the diethyl ether extract; 5 components, mainly including linoleic acid (42.427%), hexadecanoic acid (40.952%) and oleic acid (11.250%), were detected in chloroform extract. In addition, the fatty acid extracts showed strong inhibiting effect on PTP1B, and their IC<sub>50</sub> values were 5.27±0.40, 4.71±0.08, 7.01±1.98 μg/mL respectively. The results provided the basis for further study of *Anacyclus pyrethrum* (L) DC.

**Key words:** *Anacyclus pyrethrum* (L) DC; fatty acid; gas chromatography-mass spectrometry; PTP1B

维药阿纳其根 [*Anacyclus pyrethrum* (L) DC] 为菊科植物除虫菊的干燥根,具有清除异常粘液质,开滞止痛的功效,其性味为三级末四级首干热<sup>[1-3]</sup>。在

维吾尔医中,阿纳其根常被用来治疗白癜风<sup>[4]</sup>,但是其活性成分及其作用机理还不清楚;另据《维吾尔药志》<sup>[5]</sup>记载,阿纳其根中含有黄酮、墙草碱、菊糖,挥发油、鞣质及氨基酸。其脂肪酸化学成分及其生物活性的研究未见深入报道。GC-MS 联用作为一种新技术,具有准确、方便快捷的特点,在进行油脂和挥发性成分的测定中得到广泛的应用,成为一

收稿日期:2013-06-17 接受日期:2013-11-06

基金项目:国家自然科学基金国际合作项目(311110103908);新疆维吾尔自治区国际合作项目(20126023)

\* 通讯作者 E-mail:haji@ms.xjb.ac.cn

种国际通用的油脂脂肪酸测定方法<sup>[6]</sup>。为了进一步开发利用阿纳其根食用和药用价值,本论文利用索氏提取法从阿纳其根中提取油脂,经甲酯化处理后,用气相色谱质谱法(GC/MS)对脂肪酸组成进行了分析和鉴定;同时对其进行蛋白酪氨酸磷酸酯酶1B(PTP1B)的抑制作用研究,以期阿纳其根的深入研究提供了科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与仪器

阿纳其根:购于巴基斯坦,由经新疆维吾尔自治区维吾尔医院药剂科主任鉴定为菊科植物除虫菊 [*Anacyclus pyrethrum*(L) DC] 的干燥根;其余试剂均为分析纯。

GC-MS Agilent 7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司);BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 有限公司);HH-W600 三用恒温水箱(江苏省金坛市医疗仪器厂);SpectraMax M5 型酶标仪;平底 96 孔 ELISA 板。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 样品制备

称取 30 g 阿纳其根 3 份,分别加入正己烷、乙醚、氯仿各 80 mL,索氏提取法提取 5 h,减压回收溶剂,得淡黄色油状液体。

称取油样 0.1 g,置 50 mL 锥形瓶中,加 0.5 mol/L 氯化钾甲醇溶液 2 mL,在 65 °C 水浴中加热回流 30 min,放冷,加 15% 三氟化硼甲醇溶液 2 mL,在 65 °C 水浴中加热回流 30 min,放冷,加庚烷 4 mL,继续在 65 °C 水浴中加热回流 5 min 后,放冷,加饱和氯化钠溶液 10 mL 洗涤,摇匀,静置使分层,取上层液,用水洗涤 3 次,每次 2 mL,上层液经无水硫酸钠干燥,合并上清液于小瓶中待测。

#### 1.2.2 GC-MS 分析

色谱条件:HP-5MS 毛细管柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm);升温程序:起始温度为 150 °C,以 2 °C/min 的速率程序升温至 220 °C,保持 5 min,以 10 °C/min 升温至 250 °C。进样口温度:260 °C;载气:99.999% He;流速:1.0 mL/min;压力 96.1 kPa;进样量 1 μL;分流比 20:1。

质谱条件:电子轰击(EI)离子源;电子能量 70 eV;离子源温度:230 °C,质量扫描范围:30 ~ 350 amu。分流比:150:1。

取 1.2.1 项下制备所得上清液 0.1 μL 进行测定,按峰面积归一化法计算化学成分的质量分数。所得质谱图采用 Nist147 谱库及 Wiley7 谱库进行检索。

### 1.2.3 PTP1B 抑制作用研究

按照文献<sup>[7]</sup>方法,即三种不同溶剂(正己烷、乙醚、氯仿)提取的样品用适量 DMSO 溶解,反应体系中缓冲液(pH 7.0, 1 mmol/L EDTA, 150 mmol/L NaCl, 20 mmol/L HEPES), 0.09 μmol/L his-PTP1B<sub>1-321</sub> 1 μL, 35 mmol/L pNPP, 总体积为 200 μL。室温孵育 10 min,再加入 pNPP 20 μL,室温孵育 30 min 后,用 3 mol/L NaOH 10 μL 终止反应。在 405 nm 处测定吸收值,以不含酶溶液体系为空白对照。

IC<sub>50</sub> 值的确定:按上述活性测定方法,提取物用 DMSO 溶解,按不同剂量加入,405 nm 处测定吸收值,每个实验重复 3 次。按抑制率 = (OD<sub>405空白</sub> - OD<sub>405样品</sub>) / OD<sub>405空白</sub> × 100%, 计算不同浓度的抑制率。应用 Origin 软件计算 IC<sub>50</sub> 值。以此判断阿纳其根脂肪酸对 PTP1B 的抑制能力。

## 2 结果与讨论

### 2.1 阿纳其根油脂脂肪酸成分分析

按照 1.2.2 项所述条件,测得阿纳其根用正己烷提取油脂脂肪酸甲酯的 GC-MS 总离子流色谱图(TIC),脂肪酸甲酯成分有 8 种;用乙醚提取油脂脂肪酸甲酯的气相色谱-质谱总离子流色谱图(TIC),脂肪酸甲酯成分有 12 种;用氯仿提取油脂脂肪酸甲酯的气相色谱-质谱总离子流色谱图(TIC),脂肪酸甲酯成分有 5 种;见图 1 ~ 图 3,见表 1 ~ 表 3。

由表 1 ~ 表 3 可知,阿纳其根脂肪酸中主要成

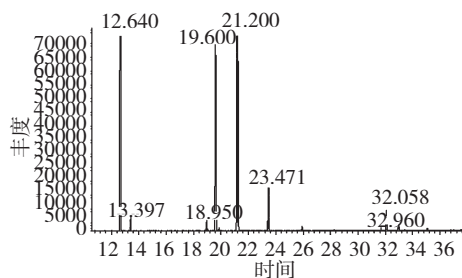


图 1 阿纳其根正己烷提取油脂脂肪酸甲酯 GC-MS 总离子流图

Fig. 1 GC-MS total ion chromatogram (TIC) of fatty acid component of *A. pyrethrum* extracted by n-hexane

表 1 阿纳其根正己烷提取油脂脂肪酸甲酯成分和含量

Table 1 Main components of fatty acids of *A. pyrethrum* extracted by n-hexane

峰号 No.	保留时间 Retention Time (min)	分子式 Molecular formula	名称 Chemical component	相对含量 Relative contents (%)
1	12.640	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	棕榈酸 Hexadecanoic acid	34.268
2	13.397	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	棕榈油酸 9-Hexadecenoic acid	0.932
3	18.950	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	硬酯酸 Octadecanoic acid	0.951
4	19.600	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	油酸 9-Octadecenoic acid	19.656
5	21.200	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	亚油酸 9,12-Octadecadienoic acid	36.341
6	23.471	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	亚麻酸 9,12,15-Octadecatrienoic acid	4.744
7	32.058	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	2-羟基-4-甲氧基苯甲醛 2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde	2.495
8	32.960	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	二十二烷酸 Docosanoic acid	0.612

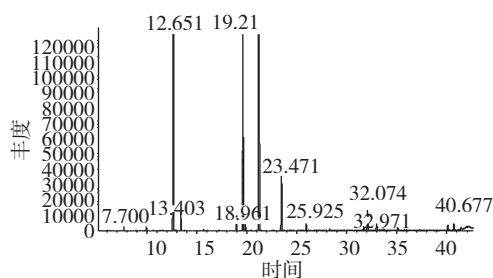


图 2 阿纳其根乙醚提取油脂脂肪酸甲酯 GC-MS 总离子流图

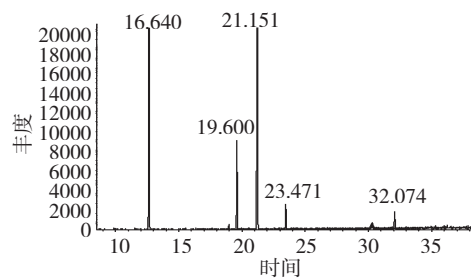
Fig. 2 GC-MS TIC of fatty acid component of *A. pyrethrum* extracted by diethyl ether

图 3 阿纳其根氯仿提取油脂脂肪酸甲酯 GC-MS 总离子流图

Fig. 3 GC-MS TIC of fatty acid component of *A. pyrethrum* extracted by chloroform

表 2 阿纳其根乙醚提取油脂脂肪酸甲酯成分和含量

Table 2 Main components of fatty acids of *A. pyrethrum* extracted by diethyl ether

峰号 No.	保留时间 Retention Time (min)	分子式 Molecular formula	名称 Chemical component	相对含量 Relative contents (%)
1	7.700	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	(S)-12-甲基十四酸 Tetradecanoic acid	0.202
2	12.651	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	棕榈酸 Hexadecanoic acid	32.916
3	13.403	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	棕榈油酸 9-Hexadecenoic acid	1.318
4	18.961	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	硬脂酸 Octadecanoic acid	1.238
5	19.610	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	油酸 9-Octadecenoic acid	20.000
6	21.221	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	亚油酸 9,12-Octadecadienoic acid	34.102
7	23.471	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	亚麻酸 9,12,15-Octadecatrienoic acid	5.329
8	25.925	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	二十酸 Eicosanoic acid	0.595
9	32.971	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	山嵛酸 Docosanoic acid	0.787
10	40.677	C <sub>25</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>	木蜡酸 Tetracosanoic acid	0.875

分有亚油酸为、棕榈酸、油酸、亚麻酸等。其中亚油酸和棕榈酸不饱和脂肪酸的含量较高,可达 60% 以上,具有较高的营养价值。亚麻酸和亚油酸是人体

必需脂肪酸,且无法由人体自行合成,必须从食物中摄取获得<sup>[8]</sup>。抑制缺血性心血管疾病等方面起重要作用<sup>[9]</sup>。由此可见,阿纳其根油是很好的保健食品

表3 阿纳其根氯仿提取油脂脂肪酸甲酯成分和含量  
Table 3 Main components of fatty acids of *A. pyrethrum* extracted by chloroform

峰号 No.	保留时间 Retention Time (min)	分子式 Molecular formula	名称 Chemical component	相对含量 Relative contents (%)
1	12.640	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	棕榈酸 Hexadecanoic acid	40.952
2	19.600	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	油酸 9-Octadecenoic acid	11.250
3	21.194	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	亚油酸 9,12-Octadecadienoic acid	42.427
4	23.471	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	1,4-环己烷二甲醇 1,4-Cyclohexanedimethanol	3.054
5	32.074	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	6-氨基-1,4-苯并二氧杂环 1,4-Benzodioxan-6-amine	2.317

品,具有较高食用药用价值。

## 2.2 PTP1B 抑制作用的研究

将得到的阿纳其根 3 种溶剂提取油脂脂肪酸进行 PTP1B 抑制作用的研究。结果表明,阿纳其根脂肪酸对 PTP1B 有较强的抑制作用,正己烷提取脂肪酸 IC<sub>50</sub> 值为 5.27 ± 0.40 μg/mL; 乙醚提取脂肪酸 IC<sub>50</sub> 值为 4.71 ± 0.08 μg/mL; 氯仿提取脂肪酸 IC<sub>50</sub> 值为 7.01 ± 1.98 μg/mL。

## 3 结论

在阿纳其根 3 种溶剂提取油脂脂肪酸中主要成分为亚油酸、棕榈酸、油酸、亚麻酸。而且其正己烷提取脂肪酸、乙醚提取脂肪酸、氯仿提取脂肪酸对 PTP1B 抑制作用的 IC<sub>50</sub> 值分别为 5.27 ± 0.40、4.71 ± 0.08、7.01 ± 1.98 μg/mL, 都对 PTP1B 有较强的抑制作用。

阿纳其根中亚麻酸、亚油酸和棕榈酸含量较多,具有良好的开发利用价值和广阔的应用前景。本文为维药阿纳其根在食品及药用产品领域的开发提供了一定理论依据,并为阿纳其根的深入研究和资源利用奠定了基础。

## 参考文献

- 1 Ministry of Health Pharmacopoeia Commission(中华人民共和国卫生部药典委员会). Republic of China Ministry of Health Drug Standards · Uygur Medicine Branch(中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册). Urumqi: Xin-

- 2 jiang Science and Technology Publishing House,1999. 43.
- 2 Xinjiang Uygur Autonomous Region Health Department Compiled(新疆维吾尔自治区卫生厅编). Uygur Medicine Standards(维吾尔药材标准). Urumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House,1993. 143-144.
- 3 Gu YS(顾永寿),Gu YF(顾永福). Commonly Used Medicinal Herbs of Uygur Medicine(维吾尔医常用药材). Urumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House, 1992. 22-23.
- 4 Abila R(阿布拉·热娜古丽),Dolkun M(多力坤·买热木). Preliminary study of vitiligo. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*(中国民族医药杂志),2011,9:45-46.
- 5 Liu YM(刘勇民). Pharmacography of Uighur(维吾尔药志.下). Urumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House,1999. 433-434.
- 6 Li GY(李高阳),Ding XL(丁霄霖). Analysis of fatty acids of flaxseed oil with GC-MS. *Food Mach*(食品与机械), 2005,(21)5:30-32.
- 7 Hu XX(胡辛欣),Yang YF(杨雁芳),Zhang YT(张英涛). Preliminary exploration of inhibitory activities of *Salvia* species on PTP1B. *Acta Pharm Sin*(药学学报),2009,44: 440-442.
- 8 Bi YL(毕艳兰),Guo Z(郭诤),Yang TK(杨天奎). Oil Chemistry(油脂化学). Beijing: Chemical Industry Publishing House,2005. 9-10.
- 9 Carovic-Stanko K,Orlic S,Politeo O, et al. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum taxa*. *Food Chem*,2010,119:196-201.