

# 叶下珠甲醇提取物对 $\alpha$ -淀粉酶和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制作用研究

戴卫波\*, 梅全喜

广州中医药大学附属中山医院, 中山 528400

**摘要:** 观察叶下珠甲醇提取物体外对  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制作用。分别以可溶性淀粉和 4-硝基酚- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)为底物测定叶下珠甲醇提取物对  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制率。结果显示在实验剂量范围内, 叶下珠甲醇提取物对  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用均随浓度升高而抑制作用增加,  $IC_{50}$  值分别为 0.91 mg/mL 和 0.46 mg/mL。表明叶下珠甲醇提取物可体外抑制  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性。

**关键词:** 叶下珠; 甲醇提取物;  $\alpha$ -淀粉酶;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.035

## Inhibitory Effect of *Phyllanthus urinaria* Methanol Extract on the Activity of $\alpha$ -Amylase and $\alpha$ -Glucosidase

DAI Wei-bo\*, MEI Quan-xi

Zhongshan Hospital, Guangzhou University of TCM, Zhongshan 528400, China

**Abstract:** To investigate the effect of methanol extract of *Phyllanthus urinaria* (P. U.) on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity *in vitro*. The inhibitory effects of methanol extract of P. U. on the activity of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase were examined by using p-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (PNPG) and starch as substrate respectively. In the experimental dose range, methanol extract of P. U. of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects were with the increase of the concentration and increased the inhibition and  $IC_{50}$  values were 0.91 mg/mL and 0.46 mg/mL. P. U. methanol extract can inhibit the activity of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase *in vitro*.

**Key words:** *Phyllanthus urinaria*; methanol extract;  $\alpha$ -amylase;  $\alpha$ -glucosidase

糖尿病是由多种原因引起的糖、脂肪、蛋白质代谢紊乱, 以血糖增高和糖尿为特点, 进而导致多系统、多脏器损害的综合征, 胰岛素抵抗是其病症之一。研究表明, 抑制机体肠道对淀粉类物质的降解和葡萄糖的吸收, 可较好的降低餐后血糖水平<sup>[1,2]</sup>; 而  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶是肠道中对碳水化合物消化吸收起重要的作用, 目前该类酶的抑制剂已用于 2 型糖尿病的治疗。

叶下珠又名珍珠草, 为大戟科植物 *Phyllanthus urinaria* L. 的全草, 具有平肝清热、利水解毒之功效<sup>[3]</sup>, 现代药理研究表明其具有保肝护肝、抗乙型肝炎病毒、抗氧化、抗炎、抑菌等作用<sup>[4,5]</sup>, 已有产品开发用于肝炎、泌尿系感染<sup>[6]</sup>的治疗。课题研究表

明, 叶下珠甲醇提取物对四氧嘧啶诱导糖尿病模型小鼠空腹血糖有一定的降低作用, 并能一定程度改善糖尿病模型动物的体重减轻、多饮、多尿等症状, 并可明显增加胰岛素抵抗细胞的葡萄糖消耗, 改善胰岛素抵抗状态<sup>[7]</sup>。因此, 本研究进一步探讨叶下珠甲醇提取物体外对  $\alpha$ -淀粉酶和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制作用, 现介绍如下。

## 1 实验材料

### 1.1 主要材料与试剂

叶下珠(经中山市中医院曾聪彦主任中药师鉴定为大戟科植物叶下珠 *Phyllanthus urinaria* L. 的带根全草; 产地: 江苏; 购自广州至信中药饮片有限公司; 生产批号: 140701); 阿卡波糖片(拜耳医药保健有限公司, 国药准字 H19990205); 猪胰  $\alpha$ -淀粉酶(sigma);  $\alpha$ -葡萄糖苷酶(黑曲霉; 源叶生物,

S10049);4-硝基苯- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)( $\sigma$ - $\text{ma}$ );其他试剂均为国产分析纯。

## 1.2 仪器

电热恒温水槽(DK-SAS);洁净工作台(吴江市迅达净化设备有限公司;型号 XSW-CJ-2A);紫外可见分光光度计(岛津,UV-2550);电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,BS224S);旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂,RE-2000B);pH计(上海精科,pH SJ-3F)。

## 2 实验方法

### 2.1 叶下珠甲醇提取物制备

取叶下珠药材粗粉 100 g,用 50% 甲醇 600 mL 浸泡 24 h,过滤,剩余药渣继续提取 1 次,合并两次滤液,在旋转蒸发器 40  $^{\circ}\text{C}$  下回收甲醇并浓缩滤液至 50 mL,保存于冰箱中,临用前配制成所需浓度<sup>[7,8]</sup>。

### 2.2 对 $\alpha$ -淀粉酶活性的抑制作用

#### 2.2.1 溶液的配制<sup>[9]</sup>

0.067 mol/L 磷酸盐缓冲溶液(PB;pH 6.8):A 液为称取( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) $\cdot$ 12 $\text{H}_2\text{O}$  23.86 g,定容至 1000 mL;B 液为称取  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  9.08 g,定容至 1000 mL;A 液取 49.6 mL 与 50.4 mL 的 B 液取混匀,调 pH 值至 6.8 即得。

1% 淀粉底物缓冲液:精确称取 1 g 可溶性淀粉溶于少量 0.067 mol/L PB 缓冲溶液,加热煮沸至溶液澄清透明,冷却至室温,并用 0.067 mol/L PB 缓冲溶液定容至 100 mL。

猪胰  $\alpha$ -淀粉酶缓冲液:用 0.067 mol/L PB 缓冲溶液溶解此酶,摇匀,使其充分溶解,酶的最终浓度为 0.686 mg/mL。

显色剂(DNS)溶液:称取 61.081 g 四水酒石酸钾钠溶于 50 mL 蒸馏水中,水浴加热溶解,趁热加入

3,5-二硝基水杨酸 1.578 g,另加入 65.5 mL 2 mol/L 的 NaOH 溶液至上述溶液中,同时称取 1.282 g 苯酚和 1.266 g 无水亚硫酸钠移入配置好的溶液中,蒸馏水定容至 250 mL,密封、避光保存一周后使用。

#### 2.2.2 $\alpha$ -淀粉酶活性的测定<sup>[9]</sup>

取 6 个 2.5 mL EP 管,分别移取 0.3 mL 1% 的淀粉底物缓冲液,盖紧放于 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温水浴。 $\alpha$ -淀粉酶配成 0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 mg/mL 系列浓度,每个浓度取 0.3 mL,37  $^{\circ}\text{C}$  预热后加入到装有淀粉底物缓冲液的 EP 管中,混匀后 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温反应 15 min,加入 0.5 mL DNS 溶液终止反应,放置沸水中煮沸 5 min,冷却至室温后用蒸馏水定容至 10 mL,在紫外 540 nm 波长测吸光度值。空白对照用蒸馏水代替淀粉酶液。以吸光度值计算酶活性。

#### 2.2.3 对 $\alpha$ -淀粉酶活性的抑制

参考文献<sup>[9-11]</sup>进行方法改良,叶下珠甲醇提取物配制成浓度梯度为 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 mg/mL 的样品抑制剂溶液,阳性药阿卡波糖浓度梯度为 0.05、0.10、0.20、0.40 mg/mL,各取 0.3 mL 抑制剂与 0.3 mL 猪胰  $\alpha$ -淀粉酶缓冲溶液装于 2.5 mL EP 管中,混匀后置于 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴 5 min。各管均加入 37  $^{\circ}\text{C}$  浴温好的 1% 淀粉底物缓冲溶液 0.3 mL,混匀,37  $^{\circ}\text{C}$  浴温反应 15 min,加入 0.5 mL DNS 溶液终止反应。各管放置沸水中煮沸 5 min,冷却后蒸馏水定容至 10 mL,540 nm 波长紫外测吸光度值。同时,另设空白管为不加叶下珠甲醇提取物,以蒸馏水代替。设空白对照管为不加淀粉酶溶液以 PB 缓冲液代替和 不加叶下珠甲醇提取物,以蒸馏水代替。设背景对照管为不加不加淀粉酶溶液以 PB 缓冲液代替,其余同叶下珠甲醇提取物样品管。每个实验重复 3 次。详见表 1。

表 1  $\alpha$ -淀粉酶活性抑制体系表

Table 1  $\alpha$ -Amylase activity inhibition system table

组别 Group	酶液 Enzyme solution (mL)	抑制剂 Inhibitors (mL)	淀粉溶液 Starch solution (mL)	DNS (mL)
空白管 Blank tube	0.3	-	0.3	0.5
空白对照管 Control tube	-	-	0.3	0.5
叶下珠甲醇提取物抑制管 P. U. tube	0.3	0.3	0.3	0.5
阿卡波糖抑制管 Acarbose tube	0.3	0.3	0.3	0.5
背景对照管 Background control tube	-	0.3	0.3	0.5

$\text{IC}_{50}$  值为抑制  $\alpha$ -淀粉酶活性 50% 时的药物浓度。

叶下珠甲醇提取物抑制剂对  $\alpha$ -淀粉酶的抑制率计算公式:

抑制率 (%) =  $(1 - A_{00}/A_{01}) \times 100\%$

$A_{00} = A_3 - A_4$ ;  $A_{01} = A_1 - A_2$

式中  $A_1, A_2, A_3, A_4$  分别为 540 nm 处空白管、空白对照管、样品抑制剂管和背景对照管的 OD 值。

## 2.3 对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制作用

### 2.3.1 溶液的配制

0.1 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 (PB; pH 6.8): A 液为称取  $(\text{Na}_2\text{HPO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  3.58 g, 用蒸馏水定容至 1000 mL; B 液为称取  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.36 g, 用蒸馏水定容至 1000 mL; A 液取 49.6 mL 与 50.4 mL 的 B 液取混匀, 1000 mL 容量瓶中定容, 从中移取 100 mL 再定容至 1000 mL, 调 pH 至 6.8 即得 0.1 mmol/L PB 溶液。

### 2.3.2 对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制

参考文献<sup>[12-14]</sup>方法进行优化, 叶下珠甲醇提取

物配制成浓度梯度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/mL, 阿卡波糖为对照配制成浓度梯度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/mL。分别吸取 0.1 mmol/L PB 溶液和叶下珠甲醇提取物或阿卡波糖溶液各 1 mL 装于 5 mL Ep 管中混匀, 加入 10 mg/L  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 200  $\mu\text{L}$ , 37  $^\circ\text{C}$  水浴 15 min 后, 加入 1 mL 2.5 mmol/L PNPG, 混匀后 37  $^\circ\text{C}$  水浴 15 min, 加入 2 mL 0.2 mol/L 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液终止反应, 于 405 nm 波长下紫外测 OD 值, 计算抑制率和  $\text{IC}_{50}$  值, 实验重复 3 次, 取平均值。反应体系见表 2。

$$\text{酶活性抑制率} = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{背景}}}{A_{\text{空白}}}\right) \times 100\%$$

式中,  $A_{\text{空白}}$ : 不加样品反应后的吸收值;  $A_{\text{样品}}$ : 加入样品反应后的吸收值;  $A_{\text{背景}}$ : 只加样品的吸收值。

表 2  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制体系表

Table 2  $\alpha$ -Glucosidase activity inhibition system table

组别 Group	PB 溶液 PB solution (mL)	抑制剂 Inhibitors (mL)	酶液 Enzyme solution (mL)	PNPG (mL)	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ solution (mL)
空白对照管 Control tube	1.0	-	0.2	1.0	2.0
叶下珠甲醇提取物抑制管 P. U. tube	1.0	1.0	0.2	1.0	2.0
阿卡波糖抑制管 Acarbose tube	1.0	1.0	0.2	1.0	2.0
叶下珠甲醇提取物背景对照管 P. U. background control tube	1.0	1.0	-	-	-
阿卡波糖背景对照管 Acarbose background control tube	1.0	1.0	-	-	-

## 3 实验结果

### 3.1 对 $\alpha$ -淀粉酶活性的抑制作用结果

#### 3.1.1 $\alpha$ -淀粉酶活性的测定结果

结果显示随着  $\alpha$ -淀粉酶浓度的增加, 淀粉酶解液的 OD 值也逐渐升高, 呈良好的线性关系, 曲线方程  $Y = 0.0077X + 0.009$ ,  $R^2 = 0.9989$ , 表明  $\alpha$ -淀粉酶在 0.05 ~ 0.80 mg/mL 浓度范围内对 1% 淀粉缓冲

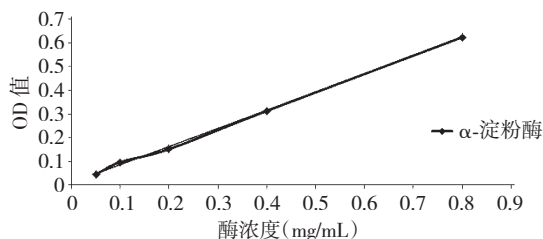


图 1 不同浓度  $\alpha$ -淀粉酶活性的测定

Fig. 1 Determination of  $\alpha$ -amylase activity in different concentrations

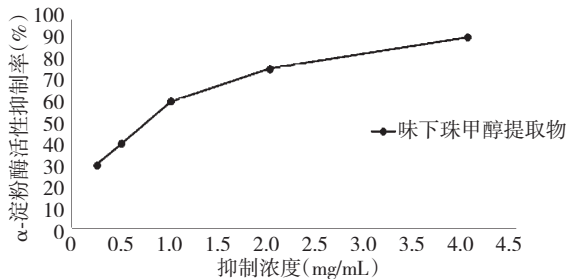
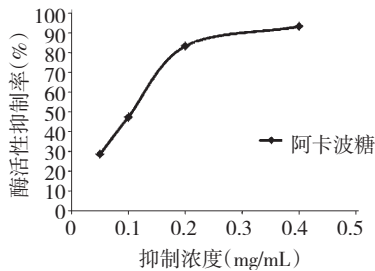
液均有较好的水解作用, 显示出良好的酶解活性。详见图 1。

#### 3.1.2 对 $\alpha$ -淀粉酶的活性结果

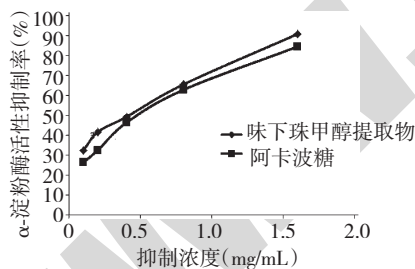
如图 2、图 3 所示, 在浓度范围 0.25 ~ 4.0 mg/mL 的叶下珠甲醇提取物和浓度范围 0.05 ~ 0.40 mg/mL 的阿卡波糖, 对  $\alpha$ -淀粉酶的抑制作用均随浓度升高而抑制率上升, 其中浓度 4.0 mg/mL 叶下珠甲醇提取物抑制率为 91.51%, 0.40 mg/mL 阿卡波糖的抑制率为 93.12%。对  $\alpha$ -淀粉酶叶下珠甲醇提取物的  $\text{IC}_{50}$  为 0.91 mg/mL, 阿卡波糖的  $\text{IC}_{50}$  为 0.11 mg/mL。因此, 对  $\alpha$ -淀粉酶的抑制作用叶下珠甲醇提取物 < 阿卡波糖。

### 3.2 对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制结果

如图 4 所示, 在浓度范围 0.1 ~ 1.6 mg/mL 的叶下珠甲醇提取物和浓度范围 0.1 ~ 1.6 mg/mL 的阿卡波糖, 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用均随浓度升

图2 叶下珠甲醇提取物对 $\alpha$ -淀粉酶的活性抑制曲线Fig. 2 P. U. methanol extracts inhibitors to  $\alpha$ -amylase activity图3 阿卡波糖对 $\alpha$ -淀粉酶的活性抑制曲线Fig. 3 Activity curve of  $\alpha$ -amylase from acarbose

高而抑制率上升,其中浓度 1.6 mg/mL 叶下珠甲醇提取物抑制率为 90.72%,1.6 mg/mL 阿卡波糖的抑制率为 84.42%。对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制,叶下珠甲醇提取物的  $IC_{50}$  为 0.46 mg/mL,阿卡波糖的  $IC_{50}$  为 0.61 mg/mL。因此,对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用叶下珠甲醇提取物 > 阿卡波糖。

图4 叶下珠甲醇提取物和阿卡波糖对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性抑制曲线Fig. 1 P. U. methanol extract and acarbose activity of  $\alpha$ -glucosidase inhibition curve

## 4 讨论

在我国糖尿病发病率正逐年升高,其中 II 型糖尿病占 90% 以上,而 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和 $\alpha$ -淀粉酶抑制剂在 II 型糖尿病治疗过程中发挥着重要作用,如阿卡波糖、伏格列波糖等均对 $\alpha$ -淀粉酶和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶都有很强的抑制作用,可减缓淀粉类分解为葡萄

糖的速度,减少葡萄糖肠道吸收,较好的控制餐后血糖升高,现已广泛用于临床<sup>[15]</sup>。本研究也显示,叶下珠甲醇提取物体外对 $\alpha$ -淀粉酶和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性均有较好的抑制作用, $IC_{50}$ 值分别为 0.91 mg/mL 和 0.46 mg/mL,其中 4.0 mg/mL 叶下珠甲醇提取物对 $\alpha$ -淀粉酶抑制率为 91.51%,1.6 mg/mL 叶下珠甲醇提取物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率为 90.72%,均随着制剂浓度升高而抑制作用增强,其中对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用强于阿卡波糖( $IC_{50}$ 叶下珠甲醇提取物 0.46 mg/mL <  $IC_{50}$ 阿卡波糖 0.61 mg/mL)。因此,叶下珠甲醇提取物可较好的通过抑制肠道 $\alpha$ -淀粉酶和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性,减缓肠道中淀粉类物质的消化分解为葡萄糖的速度,减少肠道葡萄糖的吸收,较好的降低餐后血糖<sup>[16]</sup>。课题另有研究表明,叶下珠甲醇提取物可降低四氧嘧啶诱导糖尿病模型小鼠空腹血糖,改善胰岛素抵抗,本研究显示可抑制肠道 $\alpha$ -淀粉酶和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性,这些均可能为叶下珠用于糖尿病治疗的作用机制。

叶下珠含有黄酮、香豆素、鞣质、有机酸等多种成分,多篇文献报道认为所含的多酚类成分为其主要活性成分<sup>[17]</sup>,含量达 10%<sup>[18]</sup>,大孔树脂富集处理达 60%<sup>[19]</sup>,而柯里拉京、鞣花酸、没食子酸等为其多酚类的主要成分<sup>[20]</sup>。现代研究表明多种植物多酚均具有降血糖作用<sup>[21]</sup>,成分没食子酸、鞣花酸、柯里拉京,均具有醛糖还原酶活性抑制作用<sup>[22]</sup>,可减缓糖尿病患者体内葡萄糖转化为山梨醇的速度,防止糖尿病并发症的发生。因此,叶下珠治疗糖尿病的药效成分可能与所含的多酚类成分有关,值得进一步研究。

## 参考文献

- 1 Kwon YI, Apostolidis E, Kim YC, *et al.* Health benefits of traditional corn, beans, and pumpkin; *in vitro* studies for hyperglycemia and hypertension management. *Med Food*, 2007, 10:266-275.
- 2 Chen J, Cheng YQ, Yamaki K, *et al.* Anti- $\alpha$ -glucosidase activity of Chinese traditionally fermented soybean (douchi). *Food Chem*, 2007, 103:1091-1096.
- 3 Dai WB (戴卫波), Mei QX (梅全喜). A herbal textual research on Yexiazhu. *J Chin Med Mater* (中药材), 2014, 37: 1688-1691.
- 4 Dai WB (戴卫波), Xiao WJ (肖文娟). Research progress of *Phyllanthus urinaria* pharmacological action. *Drug Evalu Res* (药物评价研究), 2016, 39:498-500.

- 5 Dai WB(戴卫波), Wu FR(吴凤荣), Xiao WJ(肖文娟). Study on analgesic and anti-inflammatory effects in methanol extracts of *Phyllanthus urinaria* L. and its effect on bacteria *in vitro*. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2016, 34:978-980.
- 6 Dai WB(戴卫波), Huang XK(黄新凯), Guo WX(郭文贤), *et al.* Clinical efficacy of Liniao mixture in patients with urinary tract infection. *Anti-infection Pharm* (抗感染药学), 2015, 12:103-105.
- 7 Dai WB(戴卫波), Mei QX(梅全喜). Effect of methanol extract of *phyllanthusurinaria* on glucose uptake of insulin-resistant HepG2 cells. *Asia-Pacific Tradit Med* (亚太传统医药), 2016, 12(12):10-12
- 8 Gunawan-Puteri MD, Kato E, Kawabata J.  $\alpha$ -Amylase inhibitors from an Indonesian medicinal herb, *Phyllanthus urinaria*. *J Sci Food Agric*, 2012, 92:606-609.
- 9 Zhao R(赵蓉), Li DW(李多伟), Ren T(任涛), *et al.* Activity determination of *Phaseolus vulgaris* + amylase inhibitor by DNS colorimetry. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2013, 35:573-576.
- 10 Chen R(陈睿), Zeng Y(曾阳), Huang Y(黄元), *et al.* Pilot study of extraction of Peking cotoneasteer inhibit effect to  $\alpha$ -amylase. *Food Sci Technol* (食品科技), 2009, 34:243-245.
- 11 Wang SH(王斯慧), Huang WL(黄琬凌), Chen QS(陈庆松), *et al.* Research on  $\alpha$ -amylase inhibition function of rutin and quercetin. *Food Ferment Technol* (食品与发酵科技), 2012, 48(3):34-37.
- 12 Wang B(王波), Liu HC(刘衡川), Hong JR(洪君蓉), *et al.* Effect of *Psidium guajava* leaf extract on alpha-glucosidase activity in small intestine of diabetic mouse. *J Sichuan Univ, Med Sci* (四川大学学报, 医学版), 2007, 38:298-301.
- 13 Quan JS(全吉淑), Yin XZ(尹学哲), Jinze WD(金泽武道), *et al.* Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by soybean isoflavonoids. *J Med Sci Yanbian Univ* (延边大学医学学报), 2001, 24:239-242.
- 14 Wu CY(伍城颖), Wu QN(吴启南), Wang H(王红), *et al.* In vitro inhibitory effects of polyphenol extracts from *Euryale ferox* seed coat on  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase activities. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2015, 36(16):91-94.
- 15 Li B(李波), Bao YH(包怡红), Gao F(高锋), *et al.* Inhibitory effect of polyphenols from Korean pine cone lamella on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2015, 36(1):63-65.
- 16 Kang WY(康文艺), Zhang L(张丽), Zhang Q(张倩).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of extracts of *Coptis chinensis*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2009, 21:992-994.
- 17 Ye Y(叶勇), Zhang YB(张永波), Zhu QH(朱全红). Separation and determination of polyphenols in *Phyllanthus urinaria* L. by LC/MS. *J Zhejiang Univ Tradit Chin Med* (浙江中医药大学学报), 2008, 32:524-525.
- 18 Yang ZY(杨再雍), Liu K(刘琨), Yang C(杨超), *et al.* Optimization of extraction process of polyphenol from *Phyllanthus urinaria* by orthogonal test. *Guangxi J Light Ind* (广西轻工业), 2006, 6:41-42.
- 19 Yi DF(冀德富), Guo DY(郭东艳). Study on purification of total polyphenols in *Phyllanthus urinaria* L. by HPD100 macroporous resin. *China J Tradit Chin Med Pharm* (中华中医药杂志), 2013, 28:240-242.
- 20 Sun M(孙敏). Simultaneous determination of the contents active components in *Phyllanthus amarus* L. of five by HPLC. *Qingdao Med J* (青岛医药卫生), 2012, 44:325-328.
- 21 Zhai QB(翟清波), Li C(李诚), Wang J(王静), *et al.* Advances in research on hypoglycemic and hypolipidemic effects of plant polyphenols. *China Pharm* (中国药房), 2012, 23:279-282.
- 22 Ren JY(任进余), Qin CL(秦存林). Pharmacological action and mechanism of *Phyllanthus amarus* and *Phyllanthus urinaria*. *Int J Tradit Chin Med* (国外医学中医中药分册), 1999, 21(2):3-7.