

头花蓼对 α-葡萄糖苷酶的抑制活性研究

陈百泉, 李昌勤, 常星, 康文艺*
(河南大学中药研究所, 河南 开封 475004)

[摘要] 目的: 研究头花蓼不同溶剂提取物对 α-葡萄糖苷酶的抑制活性。方法: 采用索氏提取法对头花蓼进行不同溶剂提取, 以体外法测定各提取物对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用。结果: 头花蓼各提取物均具有较好的 α-葡萄糖苷酶抑制活性。其中头花蓼的甲醇提取物抑制活性最高(IC₅₀ 1. 68 μg · mL⁻¹), 乙酸乙酯提取物(IC₅₀ 7. 27 μg · mL⁻¹) 和石油醚提取物(IC₅₀ 116. 81 μg · mL⁻¹) 的活性次之。3 个提取物活性均远大于阳性对照 acarbose(IC₅₀ 1 081. 27 μg · mL⁻¹) 。且各提取物对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用均具有剂量依赖性。结论: 头花蓼甲醇提取物对 α-葡萄糖苷酶活性的抑制效果非常显著, 具有很好的开发价值。

[关键词] 头花蓼; α-葡萄糖苷酶; 抑制活性
[中图分类号] R285. 5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 08-0151-03

Inhibitory Activity of *Polygonum Capitatum* to α-Glucosidase

CHEN Bai-quan, LI Chang-qin, CHANG Xing, KANG Wen-yi*
(Institute of Traditional Chinese Medicine, Henan University, Kaifeng 475004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate different extracts of *Polygonum capitatum* on inhibitory activity to α-glucosidase. **Method:** Different extracts were extracted by Soxhlet, and the inhibitory activity to α-glucosidase was screened by the 96-microplate-based method. **Results:** The results showed that *P. capitatum* had good inhibitory activity. The methanol extract had the highest inhibitory activity to α-glucosidase (IC₅₀ 1. 68 μg · mL⁻¹), and then the ethyl acetate extract (IC₅₀ 7. 27 μg · mL⁻¹) and the petroleum ether extract (IC₅₀ 116. 81 μg · mL⁻¹), three extracts of *P. capitatum* showed higher activity than Acarbose (IC₅₀ 1 081. 27 μg · mL⁻¹). And all of the extracts showed dose dependent for the inhibitory activity. **Conclusion:** The methanol extract of *P. capitatum* showed very significant inhibitory activity to α-glucosidase, and could be exploited the diabetes drugs as α-glucosidases inhibitors in future.

[Key words] *Polygonum capitatum*; α-glucosidase; inhibitory activity

糖尿病是以高血糖为特征的全身性疾病, α-葡萄糖苷酶抑制剂可竞争性抑制小肠内 α-葡萄糖苷酶的活性, 延缓或抑制葡萄糖在肠道内的吸收, 从而有效的降低餐后血糖的峰值, 调整血糖水平, 减少高血糖对胰腺的刺激, 提高胰岛素敏感性, 保护胰腺的功

能, 有效预防并改善糖尿病并发症的发生和发展^[1]。近年来研究发现 α-葡萄糖苷酶抑制剂还可以抑制蛋白糖基化和脂类糖基化过程, 因而还具有抗癌、抗病毒和免疫刺激活性等作用^[2]。

头花蓼 *Polygonum capitatum* 为蓼科蓼属植物, 以干燥全草入药。为我国民间常用草药, 药源丰富, 分布于全国各地, 主产于江西、湖北、广西、云南、贵州等地。具有清热解毒、利尿通淋与活血止痛等功效, 用于治疗痢疾、肾盂肾炎、膀胱炎、尿路结石、风湿痛、铁打损伤、疮疡湿疹^[3]。对其药理活性的研究发现其具有抗菌^[4]、抗氧化^[5]、镇痛抗炎^[6]等多种

[收稿日期] 2009-12-29
[基金项目] 河南省教育厅基础 Research 计划(2009B360001); 河南省教育厅青年骨干教师资助计划(教高[2008] 755)
[通讯作者] 康文艺, Tel: (0378) 3880680; E-mail: kangweny@ hotmail. com

药理活性。但是未见头花蓼对 α 葡萄糖苷酶抑制作用的研究报道。

本课题组持续对单味中药进行 α 葡萄糖苷酶体外抑制作用筛选, 并对高活性的中药进行了抑制活性成分的研究^[7-9]。本文对头花蓼的不同溶剂提取物对 α 葡萄糖苷酶抑制活性进行研究, 以期对头花蓼研究开发为糖尿病治疗药物及活性成分的分离纯化提供依据。

1 材料

1.1 药材与试剂 头花蓼于 2007 年 7 月采自河南省栾川地区, 经河南大学天然药物研究所生药教研室袁王俊博士鉴定为蓼科蓼属植物头花蓼 *Polygonum capitatum*; α 葡萄糖苷酶 (α -glucosidase, EC 3. 2. 1. 20); 4-硝基苯- α -D-吡 葡萄糖苷 (4-N-trophenyl- α -D-glucopyranoside, PNPG, 026K1516); 对硝基苯酚 (4-Nitrophenol, PNP, 10116387); 阿卡波糖 (Acarbose, Lot 16869) 和二甲亚砜 (DMSO) 均购自美国 Sigma 公司。

1.2 仪器 Multiskan MK3 酶标仪 (美国 thermo Electron 公司); LRH-150 恒温培养箱 (上海一恒科技有限公司); DELTA 320 型 pH 计 (梅特勒-托利多仪器有限公司); 电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); 旋转蒸发仪 (Heidolph)。

2 方法

2.1 头花蓼的提取 头花蓼全株干燥粉碎, 称取 29. 554 g, 浸泡 12 h 后, 于索氏提取器中连续回流提取 1 h, 重复提取 3 次, 得石油醚提取物 (PCP) 674. 8 mg, 挥干溶剂后, 按以上方法用乙酸乙酯提取, 得头花蓼乙酸乙酯提取物 (PCEA) 271. 2 mg, 挥干溶剂后, 同样方法甲醇提取, 得甲醇提取物 (PCME) 1. 759 2 g。

2.2 α 葡萄糖苷酶抑制活性的测定 在 96 孔板上进行, 反应体系参照张丽等^[7]的方法。

2.2.1 标准曲线制作 根据采用的反应体系, 用磷酸缓冲液 (pH 6. 8) 配置 1 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对硝基苯酚 (PNP), 稀释成 400, 300, 200, 150, 100, 50, 25, 5, 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。分别取 7 种不同浓度的 PNP 溶液各 160 μL , 加入 0. 2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Na_2CO_3 溶液 80 μL , 混匀, 在 405 nm 下测定 A 值, 设 3 个复孔取平均值。以 A 值为纵坐标, 对硝基苯酚浓度为横坐标, 制备标准曲线。

2.2.2 α 葡萄糖苷酶活力的测定 根据所采用的

反应体系: 112 μL 磷酸钾缓冲液 (pH6. 8), 加入 20 μL 0. 2 $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ α -glucosidase, 8 μL DMSO, 37 $^\circ\text{C}$ 恒温 15 min 后加入 2. 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PNPG 20 μL , 37 $^\circ\text{C}$ 恒温反应 15 min。再加入 80 μL 0. 2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Na_2CO_3 溶液, 于 405 nm 波长下测 A 值。

2.2.3 头花蓼 α 葡萄糖苷酶抑制活力的测定 配制一系列对半稀释的头花蓼提取物浓度的样品, 反应体系为 8 μL 一定浓度的样品, 以下步骤同 2. 2. 2。计算抑制率, 并用 origin 软件求出相应 IC_{50} 值。

3 结果

3.1 各提取物对 α 葡萄糖苷酶活性的作用比较 表 1 显示, 在相同浓度下, 各溶剂提取物对 α 葡萄糖苷酶抑制活性从大到小依次为甲醇提取物 (IC_{50} 1. 68 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) > 乙酸乙酯提取物 (IC_{50} 7. 27 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) > 石油醚提取物 (IC_{50} 116. 81 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 可见头花蓼不同溶剂提取物对 α 葡萄糖苷酶抑制活性有一定的差别。此外, 各提取物对 α 葡萄糖苷酶抑制活性均远大于阳性对照药 (IC_{50} 1081. 72 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 从提取率和抑制活性大小两方面考虑, 甲醇提取物最适合开发成 α 葡萄糖苷酶抑制剂。

表 1 头花蓼不同提取物的 α -糖苷酶抑制活性($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)					
样品	提取率 / %	初筛终浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	A 值	抑制率 / %	IC_{50} / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
PCP	2. 28	1 500	1. 247 $\pm$ 0. 034	105. 84 ¹⁾	116. 81
PCEA	0. 92	1 500	2. 571 $\pm$ 0. 096	102. 98 ¹⁾	7. 27
PCME	5. 95	1 500	1. 722 $\pm$ 0. 589	108. 66 ¹⁾	1. 68
Acarbose	—	1 500	1. 189 $\pm$ 0. 023	55. 63	1 081. 27

注: 与 Acarbose 比较¹⁾ $P < 0. 01$

3.2 不同浓度各提取物对 α 葡萄糖苷酶抑制活性的影响 图 1 显示, 头花蓼不同溶剂提取物对 α 葡萄糖苷酶抑制活性均呈剂量依赖性, 而且, 当抑制率达到一定程度时, 再增加提取物浓度, 抑制活性不再增加。

从结果可知, PCME 在浓度为 3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时其对 α 葡萄糖苷酶抑制率达到最高值, 再增加提取物浓度其抑制率不再增加, 可见甲醇提取物对 α 葡萄糖苷酶抑制的最佳浓度是 3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。PCEA 作用的最佳浓度为 30 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 而 PCP 在浓度为 400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时其对 α 葡萄糖苷酶的抑制率才达到 96%, 随后提取物浓度增加抑制率变化不大。

4 结论

本文采用 α 葡萄糖苷酶体外抑制模型, 对头花

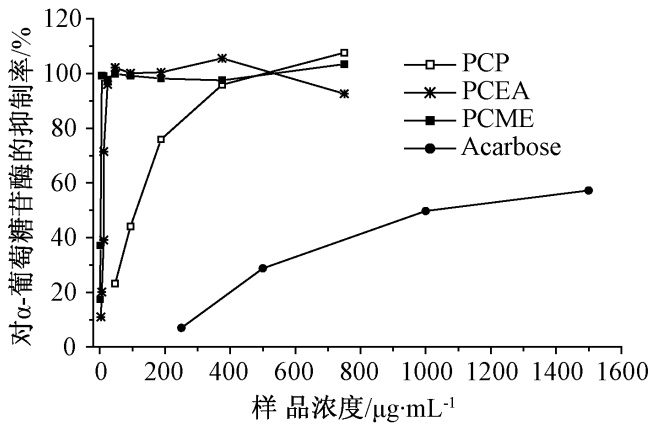


图 1 头花蓼提取物不同浓度对 α -葡萄糖苷酶活性的影响

蓼的不同溶剂提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行研究,发现头花蓼 3 种提取物均具有一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,且均高于阳性对照 Acarbose。其中头花蓼甲醇提取物的活性最高,各提取物的抑制活性具有剂量依赖性,因此具有较好的开发价值。

以上研究表明,头花蓼具有很好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,可以采用活性追踪方法对其活性成分进行研究。

[参考文献]

[1] 张远超, 陆付耳. α -葡萄糖苷酶抑制剂治疗糖尿病的

研究进展[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2004, 12 (2): 125.

[2] N. Asano. Glycosidase inhibitors: Update and perspectives on practical use [J]. Glycobiology, 2003, 13: 93.

[3] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 2646.

[4] 李咏梅, 龚元. 头花蓼的化学成分及药理研究进展 [J]. 贵州大学学报: 自然科学版, 2007, 24(2): 205.

[5] 刘志军, 戚进, 朱丹妮, 等. 头花蓼化学成分及抗氧化活性研究[J]. 中药材, 2008, 31(7): 995.

[6] 刘明, 罗春丽, 张永萍, 等. 头花蓼、飞龙掌血的镇痛抗炎及利尿作用研究[J]. 贵州医药, 2007, 31(4): 370.

[7] 张丽, 李晓梅, 李彩芳, 等. 加拿大蓬 α -葡萄糖苷酶抑制作用研究[J]. 河南大学学报: 医学版, 2008, 27 (4): 39.

[8] 康文艺, 张丽, 宋艳丽. 滇丁香中抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(4): 406.

[9] 康文艺, 张丽, 宋艳丽. 茜草抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1104.

[责任编辑 何伟]