

小槐花提取物对 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

刘超¹, 王俊霞², 顾雪竹³, 张前军^{1*}

(1. 贵州大学化学与化工学院, 贵阳 550025; 2. 河南大学中药研究所, 河南 开封 475004;
3. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

〔摘要〕 目的:评价小槐花 *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. 提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。方法:通过建立体外 α -葡萄糖苷酶抑制模型,对小槐花提取物进行活性筛选。结果:小槐花提取物均有较好的 α -葡萄糖酶抑制作用,其中以乙酸乙酯部位(DCEA)和石油醚部位(DCPE)活性较好(IC_{50} = 9.79, 39.2 mg·L⁻¹),其次为正丁醇部位(DCBU) (IC_{50} = 625.1 mg·L⁻¹),抑制活性均远远大于阳性对照阿卡波糖(IC_{50} = 1 103.01 mg·L⁻¹)。DCBU 对 α -葡萄糖苷酶抑制活性呈显浓度依赖性;DCPE 和 DCEA 对 α -葡萄糖苷酶抑制活性对浓度的变化较灵敏,随浓度的增加而急剧上升。结论:小槐花石油醚部位和乙酸乙酯部位对 α -葡萄糖苷酶活性抑制非常显著,具有开发治疗糖尿病降血糖药物的价值。

〔关键词〕 小槐花; α -葡萄糖苷酶; 抑制活性

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903 (2013) 20-0091-03

〔doi〕 10.11653/syfy2013200091

α -Glucosidase Inhibitory Activity of Extracts from *Desmodium caudatum*

LIU Chao¹, WANG Jun-xia², GU Xue-zhu³, ZHANG Qian-jun^{1*}

(1. School of Chemistry and Chemical Engineer of Guizhou University, Guiyang 550025, China;
2. Institute of Chinese Materia Medica, Pharmaceutical College, Henan University, Kaifeng 475004, China;
3. Institute of Chinese Materia Medica, Traditional Chinese Medical Research Institute, Beijing 100700, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To evaluate α -glucosidase inhibitory activity of extracts from *Desmodium caudatum*. **Method:** By establishing α -glucosidase inhibitory model *in vitro*, the activity of extracts from *D. caudatum* was screened. **Result:** The extracts from *D. caudatum* showed good inhibitory activity. The ethyl acetate extract and petroleum ether extract had higher inhibitor activity (IC_{50} = 9.79 and 39.2 mg·L⁻¹), which showed far greater activity than that of acarbose (IC_{50} = 1 103.01 mg·L⁻¹), and followed by petroleum ether and *n*-butanol extract (IC_{50} = 625.1 mg·L⁻¹). The α -glucosidase inhibitory activity of DCBU had concentration-dependent manner. α -Glucosidase inhibitory activity of DCPE and DCEA is sensitive to the change of concentration, which increased dramatically as the concentration increased. **Conclusion:** DCPE and DCEA showed very significant inhibitory activity to α -glucosidase, and could be exploited the diabetes drugs as α -glucosidases inhibitors in future.

〔Key words〕 *Desmodium caudatum*. ; α -glucosidase; Inhibitory activity

小槐花是豆科山蚂蝗属植物,为直立灌木或亚灌木,产于我国长江以南各省,其味苦,性凉,具有清热利湿、消积散瘀的功效,主治劳伤咳嗽、吐血、水肿、小孩疳积、跌打损伤^[1-2]。山蚂蝗属植物含有萜类、黄酮、甾体和生物碱类等成分^[3-5],具有消炎抗菌^[6]、抗氧化^[7-8]、保肝^[9]和抗肿瘤活性^[10]等作用,

〔收稿日期〕 20120413(006)
〔基金项目〕 贵州省中药现代化项目(黔科合中药字[2010]5029);教育部春晖计划项目(Z20110363号);贵阳市科技局项目[筑科合同(2012204)号]
〔第一作者〕 刘超,硕士研究生,从事天然有机化学研究, Tel:13765100283, E-mail:676608687@qq.com
〔通讯作者〕 *张前军,博士,教授,从事天然产物化学研究, Tel:0851-8292313, E-mail:qianjunzhang@126.com

常用于治疗泌尿系统感染、结石、胆囊炎、头痛、腹痛、血栓等疾病。有关小槐花的化学成分及活性的研究较少,Ueno Akira 等^[7]从小槐花中分离得到了两个生物碱,即蟾毒色胺及其 *N*-氧化物,药理研究表明其具有止痛、抗炎、退热^[11]和雌激素等作用^[12]。本课题组对山蚂蝗属植物进行了系统的化学与生物活性的筛选;发现该属植物具有较好的抗氧化活性和保护 CCl₄ 诱导的急性肝损伤^[7,9];又对小槐花的化学成分及活性进行系统研究,发现其 75% 乙醇提取物对 α-葡萄糖苷酶具有较好的抑制活性。

1 材料

新鲜的小槐花采自贵州省凯里市,经贵阳医学院陈德媛教授鉴定为豆科山蚂蝗属小槐花 *Desmodium caudatum* (Thunb.) DC. 的全草,标本存放于贵州大学化学与化工学院化学系。

α-葡萄糖苷酶 (α-glucosidase, EC 3. 2. 1. 20), 4-硝基苯-α-*D*-吡喃葡萄糖苷 (4-*N*-trophenyl-α-*D*-glucopyranoside, PNPG, 026 K1516), 阿卡波糖 (Acarbose, Lot 16869), 二甲亚砜 (DMSO) 均购自美国 Sigma 公司,其他试剂均为分析醇。

Multiskan MK3 型酶标仪 (美国 Thermo Electron 公司), LRH-150 型恒温培养箱 (上海一恒科技有限公司), DELTA 320 型 pH 计 (美国 Mettler-Toledo 公司), 电子天平 (美国 Mettler-Toledo 公司), TGL-16 型高速离心机 (江苏金坛市中大仪器厂)。

2 方法

2.1 小槐花浸膏的提取 将小槐花全草阴干,粉碎,用乙醇室温下浸泡 3 次,每次 7 d,合并提取滤液后浓缩,得到乙醇总浸膏。总浸膏分散于水中,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,减压浓缩得到小槐花石油醚部位 (DCPE)、乙酸乙酯部位 (DCEA)、正丁醇部位 (DCBU)。

2.2 α-葡萄糖苷酶抑制活性的测定

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) 配制 1 000 μmol·L⁻¹ PNP,稀释成 400, 300, 200, 150, 100, 50, 25, 5, 0 μmol·L⁻¹。分别取 7 种不同浓度的 PNP 溶液各 160 μL,加入 0. 2 mol·L⁻¹ Na₂CO₃ 溶液 80 μL,混匀,在 405 nm 下测定 *A* 值,测 3 组取平均值。以 *A* 值为纵坐标,对硝基苯酚浓度为横坐标,做出标准曲线。

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 (pH 6. 8),加入 20 μL

0. 2 U·mL⁻¹ α-葡萄糖苷酶和 8 μL DMSO,37 ℃ 恒温 15 min 后加入 2. 5 mmol·L⁻¹ PNPG 20 μL,摇匀,37 ℃ 恒温反应 15 min。再加入 80 μL 0. 2 mol·L⁻¹ 的 Na₂CO₃ 溶液,于 405 nm 波长下测 *A* 值。

酶活力单位定义:37 ℃,pH 6. 8 条件下,每分钟水解底物所产生 1 μmol 对硝基苯酚的酶量,规定为一个酶活力单位 (U)^[13]。

2.2.3 检测方法 将小槐花各提取物以 DMSO 溶解,并存储于 4 ℃ 冰箱中。以张丽^[14-16]等建立的 96 微孔板筛选方法,405 nm 处检测其 OD 值。同时做相同体系下的样品空白组,不加样品、酶与底物的空白对照组、不加样品的阴性对照组和以阿卡波糖为抑制剂的阳性对照组。并用 Origin 软件求出相应的 IC₅₀ 值。

$$\text{酶活性抑制率} = (A_{\text{样品阴性}} - A_{\text{样品空白}}) / (A_{\text{阴性}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$$

3 结果与讨论

3.1 小槐花不同提取部位 α-葡萄糖苷酶抑制活性比较分析 图 1 显示,初筛时,同一初筛浓度下,小槐花不同部位 α-葡萄糖苷酶初筛抑制活性从大到小依次为 DCPE > DCBU > DCEA,且均高于阳性对照 Acarbose。

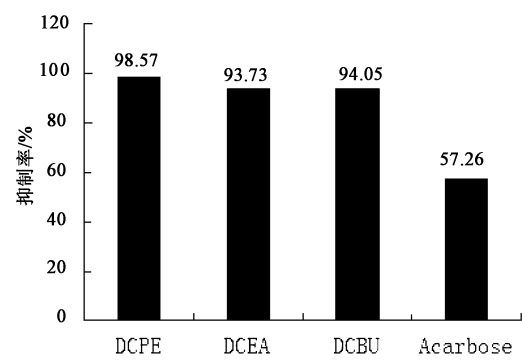


图 1 小槐花不同提取部位 α-糖苷酶初筛抑制活性

表 1 显示,在初筛浓度下,各提取部位对 α-葡萄糖苷酶抑制活性从大到小依次为 DCEA (IC₅₀ = 9. 79 mg·L⁻¹) > DCPE (IC₅₀ = 39. 2 mg·L⁻¹) > DCBU (IC₅₀ = 625. 1 mg·L⁻¹), DCPE 和 DCEA 对 α-葡萄糖苷酶抑制活性均远远大于阳性对照阿卡波糖 (IC₅₀ = 1 103. 01 mg·L⁻¹),分别为阿卡波糖的 28. 14,112. 67 倍。可见,小槐花不同溶剂提取部位对 α-葡萄糖苷酶抑制活性有一定的差别。初筛抑制率和 IC₅₀ 值评价各提取部位对 α-葡萄糖苷酶抑制活性结果不一致,仅从抑制率评价其活性并不可靠,采用较为客观的 IC₅₀ 值作为指标。

表 1 小槐花提取部位 α -葡萄糖苷酶抑制活性

提取物	初筛浓度 /mg·L ⁻¹	抑制率 /%	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹
石油醚部位 (DCPE)	1 500	98.57	39.2
乙酸乙酯部位 (DCEA)	1 500	93.73	9.79
正丁醇部位 (DCBU)	1 500	94.05	625.1
阿卡波糖 (Acarbose)	1 500	57.26	1 103.01

注:阿卡波糖为阳性对照。

3.2 提取物浓度对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的影响

图 2 显示,DCBU 对 α -葡萄糖苷酶抑制活性随浓度的增加而缓慢增加,呈显浓度依赖性;DCPE 和 DCEA 对 α -葡萄糖苷酶抑制活性随浓度的增加而急剧直线上升,与对浓度的稍微变化较灵敏,在相同的浓度下, DCEA 对 α -葡萄糖苷酶抑制活性大于 DCPE。

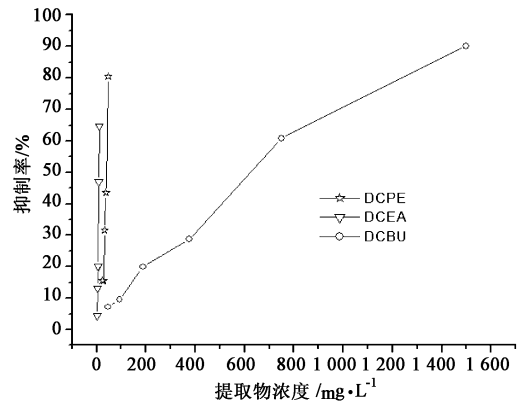


图 2 提取物浓度对 α -葡萄糖苷酶抑制活性的影响

[参考文献]

[1] 中国科学院植物研究所. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社, 2005:17.

[2] 《中华本草》编写委员会. 中华本草. 第 11 卷[M]. 上海:上海科学技术出版社 1999:451.

[3] 李传宽, 张前军, 陈青, 等. 饿蚂蝗化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35 (18):2420.

[4] 吴颖, 张前军, 陈青, 等. 尖叶长柄山蚂蝗化学成分研究[J]. 中成药, 2010, 32(3):465.

[5] Ueno A, Ikeya Y, Fukushima S, et al. Studies on the Constituents of *Desmodium caudatum* DC [J]. Chem Pharm Bull, 1978, 26(8):2411.

[6] Yadava R N, Reddy K, Indra Sena. Novel bioactive flavonol glycoside from *Desmodium gangeticum* DC[J]. Indian Chem Society, 2003, 80(12):1179.

[7] 张前军, 刘瑜新, 康文艺, 等. 饿蚂蝗抗氧化活性研究[J]. 2010, 32(11):1980.

[8] 毛少春, 李竹英, 李聪. 山蚂蝗属 3 种植物的抗氧化性能研究[J]. 云南大学学报, 2007, 29(4):393.

[9] 张前军, 于海林, 李传宽, 等. 饿蚂蝗对四氯化碳致急性肝损伤小鼠保护作用研究[J]. 中成药, 2011, 33(11):1993.

[10] 干宁, 杨欣, 李天华, 等. 毛排钱草的化学成分及其对肿瘤细胞的细胞毒活性研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18):2070.

[11] Ma K J, Zhu Z Z, Yu C H, et al. Analgesic, anti-inflammatory, and antipyretic activities of the ethanol extract from *Desmodium caudatum* [J]. Pharmaceutical Biology, 2011, 49(4):403.

[12] YOO H H, Kim T, Ahn S, et al. Evaluation of the estrogenic activity of leguminosae plants[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(3):538.

[13] Kang W Y, Song S L, Zhang L. α -Glucosidase inhibitory and antioxidant properties and antidiabetic activity of *Hypericum ascyron* L [J]. Med Chem Res, 2011, 20:809.

[14] 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.

[15] 康文艺, 王金梅, 张丽. 河南产连翘叶抑制 α -糖苷酶活性成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35 (9):1156.

[16] 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.

[责任编辑 顾雪竹]