

## 垂丝海棠对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性

张伟<sup>1</sup>, 常美芳<sup>2</sup>, 金靖宜<sup>2</sup>, 申乾<sup>2</sup>, 王军杰<sup>2</sup>, 康文艺<sup>1,2\*</sup>

(1. 黄河科技学院, 郑州 450063; 2. 河南大学天然药物研究所, 河南 开封 475004)

**[摘要]** **目的:**对垂丝海棠花和叶  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性进行研究。**方法:**利用体外  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制模型,以阿卡波糖为阳性对照对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性评价。**结果:**垂丝海棠花和叶的不同提取部位均具有一定的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性,垂丝海棠叶 70% 乙醇部位 ( $IC_{50} = 69.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性最好,远高于阳性对照阿卡波糖 ( $IC_{50} = 1\,213.38 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。垂丝海棠叶中 70% 乙醇部位、石油醚部位和乙酸乙酯部位活性均高于垂丝海棠花中相应部位,而叶中正丁醇部位略低于花的正丁醇部位,且都高于阳性对照阿卡波糖。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。**结论:**垂丝海棠花和叶不同提取部位均具有一定的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性,但不同提取部位其抑制活性有差别。

**[关键词]** 垂丝海棠; 提取部位;  $\alpha$ -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(2014)04-0084-03

**[doi]** 10.11653/syfy2014040084

## $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity of *Malus halliana* Koehne

ZHANG Wei<sup>1</sup>, CHANG Mei-fang<sup>2</sup>, JIN Jing-yi<sup>2</sup>, SHEN Qian<sup>2</sup>, WANG Jun-jie<sup>2</sup>, KANG Wen-yi<sup>1,2\*</sup>

(1. Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China;

2. Institute of Natural Products, Henan University, Kaifeng 475004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of the flowers and leaves of *Malus halliana* Koehne. **Method:** By used  $\alpha$ -glucosidase inhibitory model *in vitro* and with acarbose as positive control, the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of the flowers and leaves of *M. halliana* were evaluated. **Result:** Different extracts from the flowers and leaves of *M. halliana* all had inhibitory activity of  $\alpha$ -glucosidase, among which leaves of *M. halliana* 70% ethanol extract ( $IC_{50} = 69.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) had the highest inhibitory activity of  $\alpha$ -glucosidase, it was far higher than that of the positive control acarbose ( $IC_{50} = 1\,213.38 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). 70% Ethanol extract, petroleum ether extract and ethyl acetate extract of leaves of *M. halliana* were higher than that of corresponding extract of flowers of *M. halliana*, while *n*-butanol extract of leaves was lower than that of *n*-butanol extract of flowers, and they were all higher than that of acarbose. In addition, the concentration of all extracts showed positive correlation with inhibitory activity, and also showed a certain degree of concentration dependence. **Conclusion:** Different extracts from the flowers and leaves of *M. halliana* all had inhibitory activity of  $\alpha$ -glucosidase, but different extracts of the inhibition rate had certain difference.

**[Key words]** *Malus halliana* Koehne; extract;  $\alpha$ -glucosidase; inhibitory activity

垂丝海棠为蔷薇科苹果属植物,主要分布于江苏、浙江、四川、陕西和云南等地山坡丛林中或山溪

**[收稿日期]** 20130604(011)

**[基金项目]** 河南省教育厅科学技术研究重点项目(2014年度);郑州市科技局重点攻关项目(20131015);河南大学大学生创新性实验计划项目(14B360011)

**[第一作者]** 张伟,硕士,副教授,从事中药活性成分研究,Tel:0371-66607902,E-mail:zzzwwqq@126.com

**[通讯作者]** \*康文艺,博士,教授,从事天然药物活性成分的研究工作,Tel:0378-3880680,E-mail:kangwenyi@hotmail.com

边,海拔 50 ~ 1 200 m,主要为观赏植物栽培,有重瓣花、白花等变种<sup>[1]</sup>。其味淡、苦,性平,入肝经,具有调经和血的功效,主治血崩<sup>[2]</sup>。目前,国内外关于垂丝海棠化学成分及生物活性的研究报道极少,主要集中在园林美化、栽培繁育等生物学方面<sup>[3-6]</sup>。此外,还有少量关于保健饮料方面的报道<sup>[7]</sup>。我们课题组对垂丝海棠花蕾和花的挥发性成分进行了报道<sup>[8]</sup>,但未见垂丝海棠 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性报道。本文利用体外 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制模型,对采于河南开封地区的垂丝海棠花和叶的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性进行报道,为其进一步开发利用提供理论依据。

## 1 材料

**1.1 仪器** 旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司), DELTA 320 型 pH 计(美国 Mettler-Toledo 公司),电子天平(美国 Mettler-Toledo 公司),LRH-150 型恒温培养箱(上海一恒科技有限公司),Multiskan MK3 型酶标仪(美国 Thermo Electron 公司)。

**1.2 试药**  $\alpha$ -葡萄糖苷酶( $\alpha$ -glucosidase EC3.2.1.20),4-硝基苯- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷(4-N-tropheny-l- $\alpha$ -D-glucopyranoside,PNPG,026 K1516)均购自美国 Sigma 公司,阿卡波糖片(卡博平,110704,杭州中美华东制药有限公司)。

垂丝海棠花和叶均于 2012 年 3 月采集于河南大学金明校区,经河南大学中药研究所李昌勤副教授鉴定为蔷薇科苹果属植物垂丝海棠 *Malus halliana* Koehne,标本存在于河南大学天然药物研究所。

## 2 方法

**2.1 活性成分的提取** 垂丝海棠花:阴干粉碎,称取 260 g,用 70% 乙醇加热回流 2 次,每次 1 h,合并、过滤、浓缩得垂丝海棠花总浸膏;垂丝海棠叶:阴干粉碎,称取 660 g,用 70% 乙醇室温浸泡 2 次,依次为 3,2 d,合并、过滤、浓缩得垂丝海棠叶总浸膏;花和叶的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,得到花和叶的石油醚部位、乙酸乙酯部位和正丁醇部位。

**2.2  $\alpha$ -糖苷酶活性成分的筛选方法** 检测在 96 微孔板上进行,反应体系参照文献<sup>[9-10]</sup>方法,于 405 nm 波长下测 A 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,不加样品的阴性组、不加样品、酶与底物的空白组和以阿卡波糖为抑制剂的阳性对照组。按照  $I = [1 - (A_{\text{样品组}} - A_{\text{样品空白组}}) / (A_{\text{阴性组}} - A_{\text{空白组}})] \times 100\%$ ,计算抑制率,并用 Origin 6.0 软件

求出相应  $IC_{50}$  值。

## 3 结果与讨论

**3.1 垂丝海棠各提取部位对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用** 垂丝海棠各提取部位对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用结果见表 1。表 1 显示,在初筛浓度下,垂丝海棠花各提取部位中对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率大小顺序为正丁醇部位 > 70% 乙醇部位 > 乙酸乙酯部位 > 石油醚部位;垂丝海棠叶各提取部位中对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率大小顺序为 70% 乙醇部位 > 正丁醇部位 > 乙酸乙酯部位 > 石油醚部位;垂丝海棠叶中 70% 乙醇部位、石油醚部位和乙酸乙酯部位活性均高于垂丝海棠花中相应部位,而叶中正丁醇部位略低于花的正丁醇部位,且均高于阳性对照阿卡波糖。

表 1 垂丝海棠花和叶各提取部位对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性

样品名称	提取溶剂	初筛浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	初筛抑制率 /1%	半数抑制质量 浓度 IC <sub>50</sub> /mg·L <sup>-1</sup>
垂丝海棠花	70% 乙醇	1 500	102.90	464.25
	石油醚	1 500	65.45	1 027.3
	乙酸乙酯	1 500	103.94	536.28
	正丁醇	1 500	105.77	240.95
垂丝海棠叶	70% 乙醇	1 500	104.06	69.68
	石油醚	1 500	78.33	339.4
	乙酸乙酯	1 500	99.73	280.17
	正丁醇	1 500	93.93	267.36
阳性对照	阿卡波糖	1 500	59.13	1 213.38

由以上初筛抑制率为指导,对垂丝海棠花和叶各部位进行复筛,发现垂丝海棠叶的 70% 乙醇部位( $IC_{50} = 69.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性最好,远高于阳性对照阿卡波糖( $IC_{50} = 1 213.38 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );除垂丝海棠花正丁醇部位对( $IC_{50} = 240.95 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性均略高于垂丝海棠花正丁醇部位( $IC_{50} = 267.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),垂丝海棠花 70% 乙醇部位、石油醚部位和乙酸乙酯部位( $IC_{50} = 464.25, 1 027.3, 536.28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性均低于垂丝海棠花中相应部位( $IC_{50} = 69.68, 339.4, 280.17 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。可见,垂丝海棠花和叶各提取部位均具有一定的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性,但是抑制活性强弱有差别。

另外,垂丝海棠同一部位不同溶剂提取物相比较,乙酸乙酯部位和正丁醇部位的活性高于石油醚部位,说明垂丝海棠对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性不仅与部位有关,还与提取物极性密切相关。

**3.2 各提取部位质量浓度对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的影响** 垂丝海棠不同溶剂提取物的质量浓度与

抑制率的关系见图 1。在一定浓度范围内,各提取部位对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性均具有一定的剂量依赖性,即抑制率随浓度的升高而逐渐增大。其中,垂丝海棠花的 70% 乙醇部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和垂丝海棠叶的 70% 乙醇部位最大抑制活性均达到 100%,活性很大。

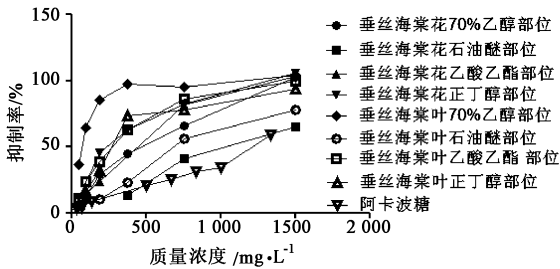


图 1 垂丝海棠各部位质量浓度对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的影响

垂丝海棠花和叶各提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率均随着质量浓度的增大而逐渐增大,并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。

#### 4 结论

据文献报道,一些中草药提取物具有很好的抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的作用<sup>[11-12]</sup>。最新研究发现,从植物中筛选的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂结构类型主要为多酚、黄酮及其苷、肽类、生物碱、脂类和酸类等<sup>[13]</sup>。垂丝海棠花中含有酮类、脂类、酸类等多种挥发成分<sup>[8]</sup>,可以推测其也具有一定的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性,试验结果表明,垂丝海棠花和叶中各部位对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶均有不同程度的抑制作用,且抑制活性与样品浓度具有一定的相关性,但具体是哪一类化学成分在起作用,需要进一步研究证实。

$\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂体外筛选模型包括以下 4 种,以 4-硝基苯基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG) 为底物筛选模型<sup>[14]</sup>;以淀粉、蔗糖、麦芽糖为底物筛选模型<sup>[15]</sup>;微孔板筛选模型<sup>[16]</sup>;固定化酶筛选模型<sup>[18]</sup>。以 PNPG 为底物的 96 微孔板法的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的高通量筛选模型,筛选过程经济、快捷、灵敏度高、筛选结果正确可靠,并具有体外高通量筛选等优点。

本文利用体外  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制模型对垂丝海棠进行了测定,结果发现垂丝海棠花和叶各部位均具有一定的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性,且都高于阳性对照阿卡波糖。垂丝海棠叶的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性除正丁醇部位略低于花的正丁醇部位外,其余部位均高于花的相应部位。其中,垂丝海棠叶的 70% 乙醇部位活性最好,远高于阳性对照阿卡波糖,

因此可对其相应部位进行深入研究。

#### [参考文献]

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 36 卷[M]. 北京:科学出版社,1974:380.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 10 卷[M]. 上海:科学技术出版社,1999:158.
- [3] 唐桂梅. 薇科树种在城市园林绿化中的应用[D]. 南京:南京农业大学,2007.
- [4] 林娜,姜卫兵,翁忙玲. 海棠树种资源的园林特性及其开发利用[J]. 中国农学通报,2006,22(10):242.
- [5] 单秀梅,吴华. 药用植物垂丝海棠人工栽培技术[J]. 中国林副特产,2012(3):51.
- [6] 许以太,邓兆华,张鹏,等. 垂丝海棠离体快繁技术体系的研究[J]. 山东林业科技,2012,42(4):45.
- [7] 余梅,尹艺林,闵运江. 垂丝海棠保健饮料的加工工艺[J]. 安庆师范学院学报:自然科学版,2003,9(3):50.
- [8] 苑鹏飞,姬志强,康文艺. 垂丝海棠花蕾和花挥发性成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2010(22):1036.
- [9] 康文艺,张丽,宋艳丽. 滇丁香中抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性成分研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(4):406.
- [10] 张倩,康文艺. 芭蕉根活性成分研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(18):2424.
- [11] 王俊霞,武晓红,李昌勤,等. 山茱萸提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):74.
- [12] 肖小华,王丽华,徐丽瑛,等. 栀子抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(8):210.
- [13] 季芳,肖国春,董莉,等. 药用植物来源的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂研究进展[J]. 中国中药杂志,2010,35(12):1633.
- [14] 田璞玉,康文艺. 具斑芒毛苣苔抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性成分研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(19):2910.
- [15] Jayantrao S, Tony T, Michael B, et al.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel *in vitro* and in Goto-Kakizaki (GK) rats [J]. Carbohydr Res, 2008, 343(7):1278.
- [16] 李婷,张小东,宋聿文,等. 一种用微孔板筛选  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的方法[J]. 中国临床药理学与治疗学,2005,10(10):1128.
- [17] 卢大胜,吕敬慈,雍克岚,等. 用固定化酶筛选模型从天然产物中筛选  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂[J]. 中国新药杂志,2005,14(12):1411.

[责任编辑 顾雪竹]