

香椿叶多酚的提取分离及其体外对糖尿病关键酶活性的抑制作用

扶雄¹, 张伟¹, 朱思明¹, 李超¹, 游丽君¹, 赵振刚¹, 刘瑞海^{1,2}

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 康奈尔大学食品科学系, 纽约伊萨卡 14853-7201)

摘要: 本研究从香椿叶中提取分离多酚, 研究多酚对糖尿病关键酶(猪胰腺 α -淀粉酶、鼠小肠蔗糖酶和麦芽糖酶)活性的影响。采用活性追踪法, 运用多种分离纯化技术和色谱学分析, 逐级筛选活性强的部位以及单体化合物。研究发现香椿叶多酚粗提物具有显著的酶抑制作用, 猪胰腺 α -淀粉酶、鼠小肠蔗糖酶和麦芽糖酶的半数抑制率 (IC_{50}) 值分别为 0.45 mg/mL、1.29 mg/mL 和 1.41 mg/mL。乙酸乙酯萃取后的 70% 乙醇洗脱部位为主要活性部位, 其对猪胰腺 α -淀粉酶、鼠小肠蔗糖酶和麦芽糖酶抑制作用的 IC_{50} 值分别为 0.091 mg/mL、0.97 mg/mL 和 1.00 mg/mL。从活性部位分离出 2 个单体化合物, 分别鉴定为: 1, 2, 3, 4, 6-O-五没食子酰葡萄糖 (PGG) 和没食子酸乙酯 (EG), 其中 PGG 具有显著的 α -淀粉酶抑制活性, IC_{50} 值为 0.069 mg/mL; EG 对蔗糖酶和麦芽糖酶具有一定的抑制活性, IC_{50} 值分别 0.82 mg/mL 和 0.81 mg/mL。研究表明多酚化合物是香椿叶的有效降血糖功能成分之一, PGG 和 EG 是主要的活性成分。

关键词: 香椿叶; 多酚; α -淀粉酶; 蔗糖酶, 麦芽糖酶, 糖尿病

文章编号: 1673-9078(2014)7-10-15

Inhibitory Activities of Phenols from *Toona sinensis* Leaves on Key Enzyme Linked to Type 2 Diabetes *in vitro*

FU Xiong¹, ZHANG Wei¹, ZHU Si-ming¹, LI Chao¹, YOU Li-jun¹, ZHAO Zhen-gang¹, LIU Rui-hai^{1,2}

(1. School of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Department of Food Science, Cornell University, Ithaca New York 14853-7201, USA)

Abstract: To clarify the postprandial glucose suppression effects of phenols from *Toona sinensis* leaves, its inhibitory effects against key enzymes (porcine pancreatic α -amylase, rat intestinal sucrase and maltase) linked to type 2 diabetes were investigated. Results showed that the crude extract of *Toona sinensis* leaves had significant enzyme inhibitory activities. Its IC_{50} values for the three key enzyme activities were 0.45, 1.29, and 1.41 mg/mL, respectively. The 70% ethanol sub-fraction of the ethyl acetate fraction was mainly responsible for enzymes inhibitory activities, which showed the strongest enzyme inhibitory activities with IC_{50} values of 0.091, 0.97, and 1.00 mg/mL, respectively, on porcine pancreatic α -amylase, rat intestinal sucrase and maltase. PGG (1, 2, 3, 4, 6-penta-O-galloyl- β -D-glucopyranose) and EG (ethyl gallate) isolated from 70% ethanol sub-fraction were identified as the active monomer compounds. PGG exhibited significant enzyme inhibitory activity against α -amylase with IC_{50} value of 0.069 mg/mL. The EG had inhibitory effects on sucrase and maltase to some extent. Its IC_{50} value for sucrase and maltase were 0.82 and 0.81 mg/mL, respectively. This study revealed that *Toona sinensis* leaves may be helpful to develop drug and functional foods for diabetes and related symptoms.

Key words: *Toona sinensis* leaves; phenols; α -amylase; sucrase; maltase; diabetes

近几十年来, 糖尿病的发病率逐年递增, 已成

收稿日期: 2014-04-25

基金项目: 广州市科技计划项目 (2013J4500036); 广东省科技计划项目 (2012B050500003); 广东省领军人才项目 (刘瑞海)

作者简介: 扶雄 (1971-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 功能碳水化合物

通讯作者: 赵振刚 (1979-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 功能碳水化合物

为继心脑血管疾病、恶性肿瘤之后严重威胁人类健康的第三大慢性疾病。糖尿病患者以 II 型糖尿病为主, II 型糖尿病已占糖尿病患者总数的 90% 以上, 患者表现为餐后血糖持续升高, 常引起大血管、微血管和神经并发症^[1]。随着我国经济的迅猛发展, 糖尿病患者也飞速增长, 中国疾病预防控制中心的调查显示, 我国已成为世界上糖尿病人口最多的国家。糖尿病的防治已成为我国最主要公共卫生问题之一。糖尿病关

键酶(α -淀粉酶、蔗糖酶和麦芽糖酶)抑制剂是近年来开发的一类新型口服降糖药物,它通过可逆性地抑制胰脏 α -淀粉酶以及肠道蔗糖酶和麦芽糖酶的活性,从而抑制碳水化合物水解为单糖,减慢葡萄糖的吸收速度,降低餐后血糖,改善糖尿病患者糖代谢紊乱^[2]。然而,目前临床上使用的酶抑制剂存在引起肠道明显不适等副作用,研究表明,这是由于酶的过度抑制引起的^[3]。为了寻找有效且副作用小的糖尿病关键酶抑制剂,国内外专家学者把目标转向了作用温和、多种降糖成分并存的中草药天然产物^[4-5]。

香椿为双子叶植物纲芸香目楝科植物,原产于我国,主要分布于东亚与东南亚地区。香椿已有两千多年的栽培历史,是我国著名的药食两用木本植物,其根皮、树皮、芽、叶、果实均可作为中药,始收载于《唐本草》。中医认为,香椿味苦涩、性寒,具有清热解毒、润肠止血、杀虫固精等功效,可用于治疗久泄久痢、肠风便血、崩漏带下、遗精白浊、疝积、白秃、疔疽、疥疮等疾病^[6]。香椿嫩芽作为人们食用已久的时令蔬菜,脆嫩甘美,香味浓郁,营养成分丰富。研究发现,香椿叶含有丰富的多酚类物质,香椿叶多酚提取物具有抑制四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖升高的功效^[7]。而且,民间流传着香椿叶泡水代茶饮可预防糖尿病的说法。目前对于香椿叶多酚降血糖活性的报道只停留在多酚粗提物上,对于降糖活性部位以及降糖因子的研究尚未见报道,值得开展进一步研究。

本文探究香椿叶多酚的抗糖尿病功效,从糖尿病关键酶(α -淀粉酶、蔗糖酶和麦芽糖酶)体外抑制活性方面,考察香椿叶多酚对糖尿病关键酶的抑制作用,通过逐级筛选与分离,结合色谱学分析,确定多酚中酶抑制活性较高的部位以及主要活性成分。

1 材料与方 法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料与试剂

香椿叶购自中国江苏省南通市,风干后粉碎备用;阿卡波糖片(批号:19990205,规格:50 mg/片),购自拜耳医药保健有限公司;Type VI-B α -amylase from porcine pancreatic (猪胰腺 α -淀粉酶),rat small intestinal acetone powder (鼠小肠丙酮粉),购自Sigma-Aldrich公司;Glucose C-II Test Wako kit (葡萄糖检测试剂盒),购自Wako Pure公司;聚酰胺树脂(30~60目,柱层析用),购自上海化学试剂站分装厂;其它化学试剂均为国产分析纯。

1.1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪(配XBridgeTMC₁₈分析柱,Waters600泵,以及DAD检测器),美国Waters公司;EZ Purifier快速中压制备液相色谱系统,利穗科技(苏州)有限公司;LCQ-Fleet质谱仪,美国Thermo Scientific公司;DMX-500核磁共振波谱仪,德国Bruker Biospin GmbH公司;Multiskan MK3型多功能荧光/化学分析仪,美国Thermo Scientific公司;UV-2300紫外-可见分光光度计,日本日立公司;RE-52A型旋转蒸发器,上海亚荣仪器有限公司;DHG-9240A型恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;SB-500型超声波清洗器,宁波科技生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 香椿叶多酚的提取分离

称取2.5 kg香椿叶粉末,以70%乙醇(料液比为1 g:30 mL)超声辅助提取(70 °C,320 W,100 min),提取液经过滤、浓缩、冷冻干燥后,得到香椿叶多酚粗提物482 g。将粗提物混悬于1.0 L蒸馏水中,依次采用石油醚(5×1 L)、氯仿(5×1 L)、乙酸乙酯(5×1 L)、正丁醇(5×1 L)进行萃取。萃取液经过浓缩、真空干燥后,分别制得不同萃取部位的干燥样品。经实验得出乙酸乙酯萃取部位的酶抑制活性最强,因此将乙酸乙酯部位萃取的样品用聚酰胺柱层析(6 cm×80 cm)进行分离纯化,采用不同体积分数的乙醇溶液(0,10,20,30,50和70%)进行洗脱,流速为10 mL/min,洗脱10倍柱体积。分别收集洗脱液,经浓缩、冷冻干燥得不同洗脱部位的粉末。酶抑制活性实验表明70%乙醇洗脱部位活性最强,因此选择此部位进一步分离纯化单体化合物,采用制备液相色谱,甲醇-水梯度洗脱分离得到化合物1(32.8 mg)和化合物2(37.6 mg)。制备色谱柱为美国Symmetry PrepTMC₁₈柱(5 μ m,250 mm×4.6 mm);流动相为水和甲醇,线性梯度洗脱程序:0~30 min,5%水~30%水;30~120 min,30%水~90%水;120~150 min,100%水;流速为15 mL/min。流动相在使用前需经0.45 μ m微孔滤膜过滤,超声脱气;进样量为2 mL,检测波长为254 nm。

1.2.2 香椿叶多酚对 α -淀粉酶抑制活性的测定

α -淀粉酶抑制活性的测定参考文献^[8]方法并稍作修改。分别将NaCl、多酚样品和可溶性淀粉用100 mM磷酸盐缓冲溶液(pH 6.9)配成所需浓度,淀粉酶溶液用6.7 mM NaCl溶液配成所需浓度。取250 μ L α -淀粉酶溶液(1 units/mL)于10 mL比色管中,加入250 μ L待测液,在37 °C水浴中活化10 min。添加底物250 μ L可溶性淀粉溶液(1.0 g/100mL),在25 °C

室温下反应 10 min。最后,加入 500 μ L DNS 试剂(A液(12.0 g 四水合酒石酸钾钠溶于 8.0 mL 2 mol/L NaOH)与 B液(0.88 g 的 3,5-二硝基水杨酸溶于 46 mL 去离子水)体积比为 1:1)。将比色管放入沸水浴,5 min 灭酶。冷却后,加入 5 mL 去离子水稀释,在 520 nm 波长下检测吸光度。

参照上述方法,在反应体系中加入 250 μ L 不同浓度的抑制剂溶液,阳性对照为阿卡波糖,空白对照为不加抑制剂,其他与抑制剂组操作相同。背景对照为对应浓度的抑制剂溶液,不加酶液,其他与抑制剂组操作相同。反应终止后用 5 mL 去离子水稀释于波长 520 nm 处测其吸光值。

抑制剂对 α -淀粉酶的抑制率:

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

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

注:式中 A_1, A_2, A_3, A_4 分别为 520 nm 处空白、空白对照、抑制剂组和背景对照组的吸光值^[9]。

1.2.3 香椿叶多酚对蔗糖酶和麦芽糖酶抑制作用的测定

蔗糖酶和麦芽糖酶抑制活性的测定参考文献^[10]方法并稍作修改。取 1 g 鼠小肠丙酮粉用 10 mL 0.9% NaCl 溶解,依次进行超声(1 min \times 3),离心(3000 r/min \times 30 min)处理,取上清液用水稀释 4 倍作为酶溶液备用。蔗糖、麦芽糖和样品均用 100 mM 磷酸盐缓冲溶液(pH 6.9)配成所需浓度。取底物(0.2 mL 的 3.5 mM 麦芽糖溶液或 0.4 mL 的 56 mM 蔗糖溶液)于 10 mL 比色管中,加入 50 μ L 待测液,于 37 $^{\circ}$ C 的水浴中孵化 5 min。然后,添加 0.2 mL 酶溶液,37 $^{\circ}$ C 继续反应 20 min。最后,将比色管放入沸水浴,5 min 进行灭酶。冷却后用葡萄糖检测试剂盒检测样品吸光度。以阿卡波糖为阳性对照,同时设定空白组(缓冲液+酶液+底物),空白对照组(缓冲液+缓冲液+底物),样品测定组(样品+酶液+底物),样品对照组(样品+缓冲液+底物)。

$$\text{蔗糖酶/麦芽糖酶抑制率}=[1-(A_1-A_0)/(A_3-A_2)]\times 100\%$$

注:式中 A_0, A_1, A_2, A_3 分别为 505 nm 处空白对照组、空白组、样品对照组和样品测定组的吸光值。

1.3 数据分析处理

采用 Origin 8.0 进行作图,各组实验数据均为 3 次重复测定之后的平均值。

2 结果与讨论

2.1 单体化合物结构鉴定

化合物 1 为黄色粉末,ESI-MS m/z : 939 [M-H]⁻. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 6.89, 6.94, 6.97, 7.04, 7.10 (each 2H, s, galloyl H-2, 6); glu: 6.23 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-1), 5.58 (1H, dd, J = 8.4, 9.6 Hz, H-2), 5.90 (1H, dd, J = 9.5, 9.6 Hz, H-3), 5.60 (1H, t, J = 8.7, 9.5 Hz, H-4), 3.78 (1H, m, H-5), 4.40-4.52 (2H, m, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD)。以上数据与文献^[11]报道一致,确定化合物 1 为 1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖(1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl- β -D-glucopyranose)。

化合物 2 为无色粉末,ESI-MS: m/z 197.3 [M-H]⁻. ¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ : 6.99 (2H, s, H-2, 6), 4.21 (2H, q, J = 7.2 Hz, -OCH₂CH₃), 1.28 (3H, t, J = 7.2 Hz, -OCH₂CH₃). ¹³C-NMR (CD₃OD, 100MHz) δ : 121.8 (C-1), 110.0 (C-2, C-6), 146.5 (C-3, C-5), 139.7 (C-5), 168.6 (C-7), 61.7 (-OCH₂CH₃), 14.6 (-OCH₂CH₃)。以上数据与文献^[12]报道基本一致,确定化合物 2 为没食子酸乙酯(ethyl gallate)。两种单体化合物的分子结构式如图 1 所示。

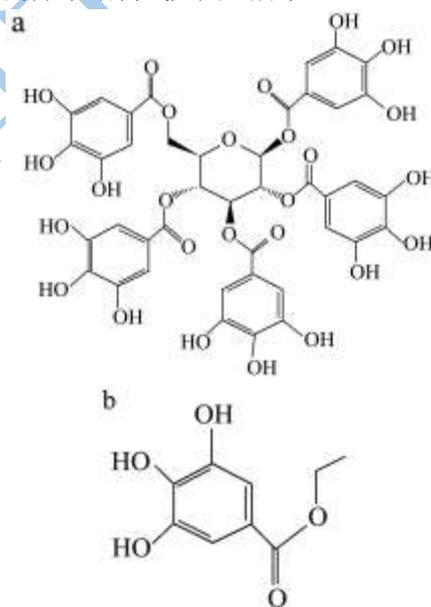


图 1 香椿叶多酚单体化合物的分子结构式。

Fig.1 Compounds and their chemical structures isolated from *Toona Sinensis* leaves

注: a: PGG(1,2,3,4,6-*O*-五没食子酰葡萄糖); b: EG(没食子酸乙酯)。

2.2 香椿叶多酚粗提物对糖尿病关键酶抑制

活性的影响

图2为香椿叶多酚粗提物对糖尿病关键酶的抑制率, 阿卡波糖作为阳性对照。

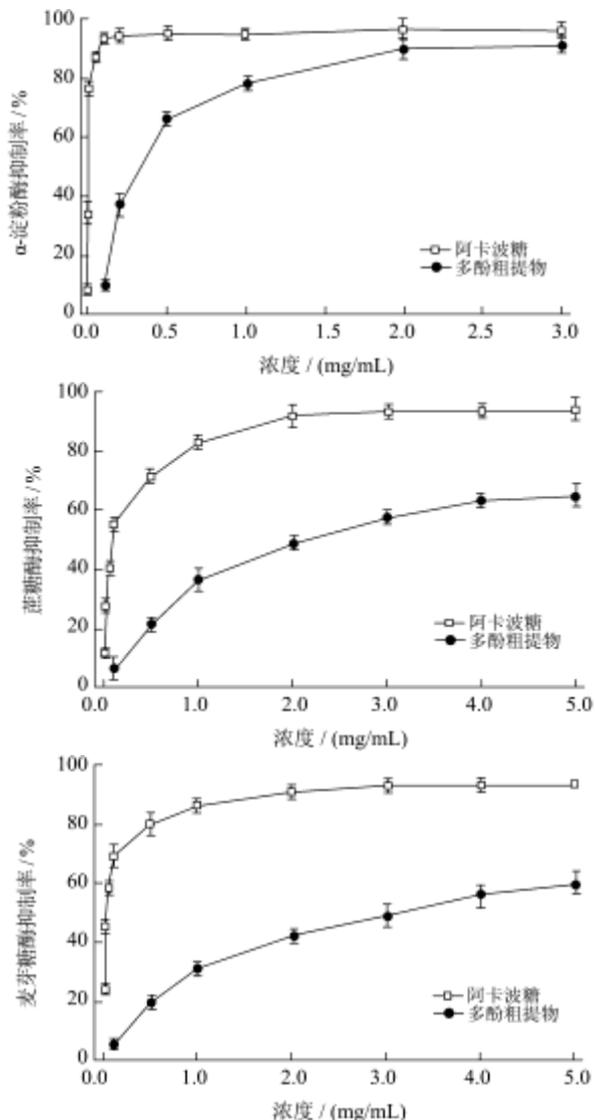


图2 香椿叶多酚粗提物对糖尿病关键酶的抑制率曲线

Fig.2 Inhibition effects of phenols from *Toona Sinensis* leaves on key enzymes linked to type 2 diabetes

on key enzymes linked to type 2 diabetes

香椿叶多酚对三种酶具有显著的抑制效果, 呈剂量依赖型, 随着其浓度的增加, 酶的抑制活性也随之增强。多酚粗提物对 α -淀粉酶的抑制活性最强, 当浓度增加至2 mg/mL时, 抑制率为90.1%, 仅次于同浓度下, 阿卡波糖对 α -淀粉酶的抑制率(96.84%)。香椿叶多酚粗提物对蔗糖酶的抑制作用比 α -淀粉酶弱, 当浓度为2 mg/mL时, 抑制率为48.99%, 相同浓度下, 阿卡波糖对蔗糖酶的抑制率为91.65%。香椿叶多酚粗提物对麦芽糖酶的抑制作用最弱, 当浓度为2 mg/mL时, 抑制率为41.55%, 相同浓度下, 阿卡波糖对麦芽糖酶的抑制率为90.42%。结果表明香椿叶多酚粗提物对糖尿病关键酶具有一定的抑制作用, 其中对 α -淀粉酶抑制率最强, 蔗糖酶次之, 麦芽糖酶最弱。

采用活性追踪法, 对香椿叶多酚进一步分离纯化, 评价不同分离部位的糖尿病关键酶抑制活性。

2.3 香椿叶多酚粗提物的不同萃取相对糖尿病关键酶抑制活性的影响

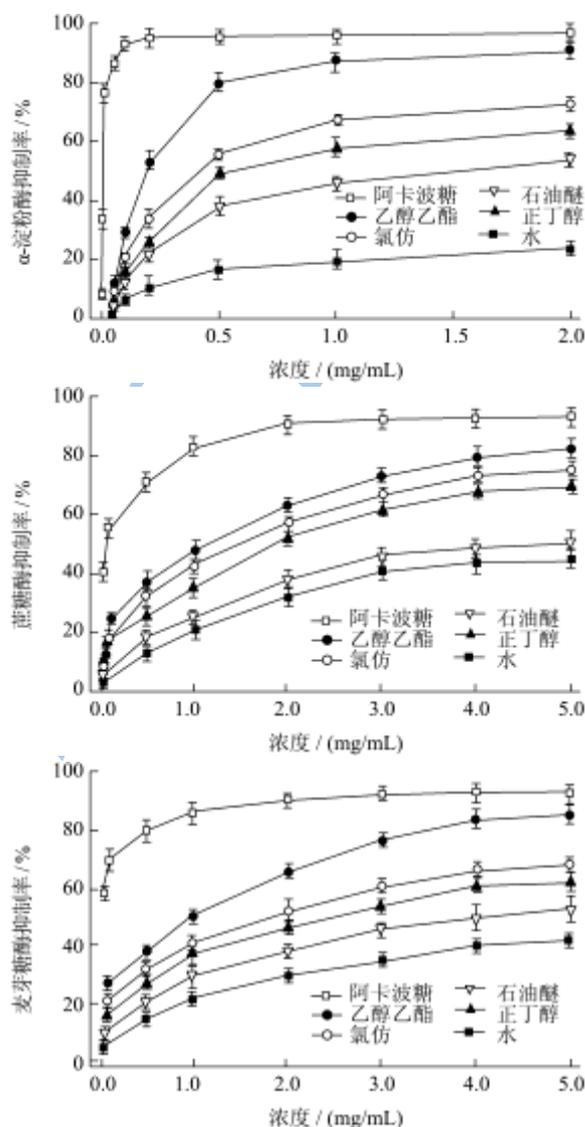


图3 香椿叶多酚不同萃取部位对糖尿病关键酶的抑制率曲线

Fig.3 Inhibition effect of each fraction isolated from phenols of *Toona Sinensis* leaves on key enzymes linked to type 2 diabetes

图3为香椿叶多酚粗提物进一步萃取分离得的不同极性部位对糖尿病关键酶的抑制率, 阿卡波糖作为阳性对照。由图可见, 各极性部位中乙酸乙酯部位的酶抑制活性最强, 在浓度为2 mg/mL时, 对 α -淀粉酶、蔗糖酶、麦芽糖酶的抑制率分别为90.58%、64.11%和65.13%。氯仿部位、正丁醇部位和石油醚部位的酶抑制率相似, 但低于乙酸乙酯部位; 水部位对 α -淀粉酶的抑制活性最低, 在浓度为2 mg/mL时, 对 α -淀粉酶的抑制率为23.56%; 水部位对于蔗糖酶和麦芽糖酶的

抑制活性与石油醚部位相似。乙酸乙酯部位抑制三种酶活性的 IC₅₀ 值分别为 0.21、1.09 和 1.16 mg/mL，低于多酚粗提物 (0.45、1.29 和 1.41 mg/mL)，高于阳性对照阿卡波糖 (0.029、0.13 和 0.177 mg/mL)。结果表明通过萃取分离处理，对香椿叶活性成分起到了一定的富集作用，富集后的部位对糖尿病关键酶抑制作用增强。

2.4 香椿叶多酚的乙酸乙酯萃取相的不同乙醇洗脱部位对糖尿病关键酶抑制活性的影响

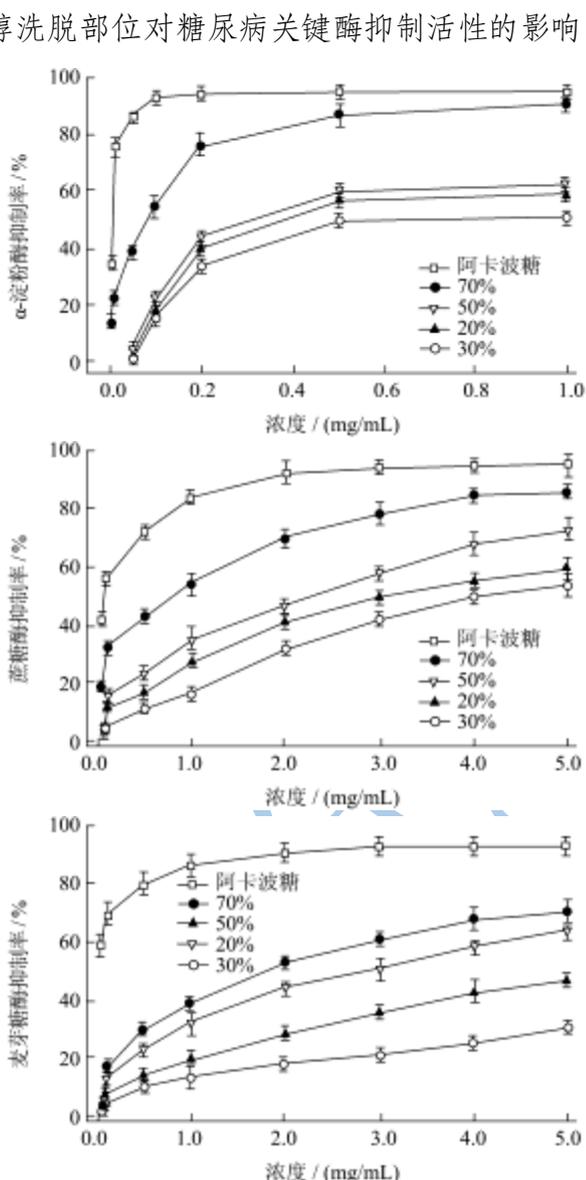


图4 香椿叶多酚的乙酸乙酯萃取部位用聚酰胺柱分离的不同的乙醇洗脱部位对糖尿病关键酶的抑制率曲线

Fig.4 The key enzymes linked to type 2 diabetes inhibitory effects of the different eluents from the ethyl acetate fraction

乙酸乙酯部位经过聚酰胺柱层析进一步分离纯化，得到不同乙醇浓度洗脱部位，分别考察各洗脱部位在不同浓度下的糖尿病关键酶抑制情况，阿卡波糖

作为阳性对照，结果如图4所示。各洗脱部位中70%乙醇部位的酶抑制活性最强，在浓度为1 mg/mL时，对α-淀粉酶，蔗糖酶和麦芽糖酶的抑制率分别为90.44、53.54和38.63%；70%乙醇部位对α-淀粉酶抑制作用最强，仅稍低于阿卡波糖在相同浓度下的α-淀粉酶抑制率(95.19%)。50%乙醇的部位、20%乙醇的部位和30%乙醇的部位对糖尿病关键酶的抑制率依次下降，但比乙酸乙酯部位低。70%乙醇部位抑制糖尿病关键酶活性的 IC₅₀ 值分别为 0.091、0.97 和 1.00 mg/mL，低于乙酸乙酯部位 (0.21、1.09 和 1.16 mg/mL)，高于阳性对照阿卡波糖 (0.029、0.13 和 0.177 mg/mL)。结果表明乙酸乙酯部位经聚酰胺吸附后，再用70%乙醇洗脱对香椿叶中糖尿病关键酶抑制活性成分有富集作用。

2.5 香椿叶多酚单体对糖尿病关键酶抑制抑制活性的影响

表1 抑制剂对糖尿病关键酶的半数抑制浓度 (IC₅₀)

Table 1 IC₅₀ values of inhibitor in inhibiting key enzymes linked to type 2 diabetes

抑制剂	IC ₅₀ /(mg/mL)		
	猪胰腺 α-淀粉	鼠小肠蔗糖	鼠小肠麦芽糖
阿卡波糖	0.029	0.130	0.077
多酚粗提物	0.450	1.290	1.410
乙酸乙酯部	0.210	1.090	1.160
70%部位	0.091	0.970	1.000
PGG	0.069	>5.000	>5.000
EG	1.640	0.820	0.810

70%乙醇部位制备出来的多酚单体化合物的糖尿病关键抑制率曲线，如图5所示。由上述结构鉴定的两种单体化合物为1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖 (PGG) 和没食子酸乙酯 (EG)，PGG 和 EG 是香椿叶多酚主要的单体化合物，分子结构式如图1所示。前期的研究中已证明了 EG 和 PGG 均具有较高的抗氧化活性，并且由于 PGG 中含有的较多数目的羟基，导致其抗氧化活性远强于 EG^[13]。本实验研究了这两种化合物对于糖尿病关键酶活性抑制的影响，PGG 具有显著的α-淀粉酶抑制作用，在浓度为1 mg/mL时，对α-淀粉酶的抑制率为86.27%，仅次于同浓度下，阿卡波糖对α-淀粉酶的抑制率(95.1%)。EG 对于α-淀粉酶活性的抑制作用一般，在同浓度下抑制率为45.54%。EG 对于蔗糖酶和麦芽糖酶的抑制作用明显高于 PGG，EG 对于蔗糖酶和麦芽糖酶抑制作用的 IC₅₀ 值分别为 0.82 和 0.81 mg/mL，高于阳性对照对于两种

酶的 IC₅₀ 值 (0.13 和 0.077 mg/mL)。然而, PGG 与 EG 对于糖尿病关键酶活性的抑制作用的机理还未见报道。孙平等人在研究与 EG 结构类似的没食子酸对 α-淀粉酶活性影响时, 推测没食子酸对 α-淀粉酶的作用机制可能是通过与 α-淀粉酶催化所必需的三个酸性氨基酸残基相结合来实现的^[4]。

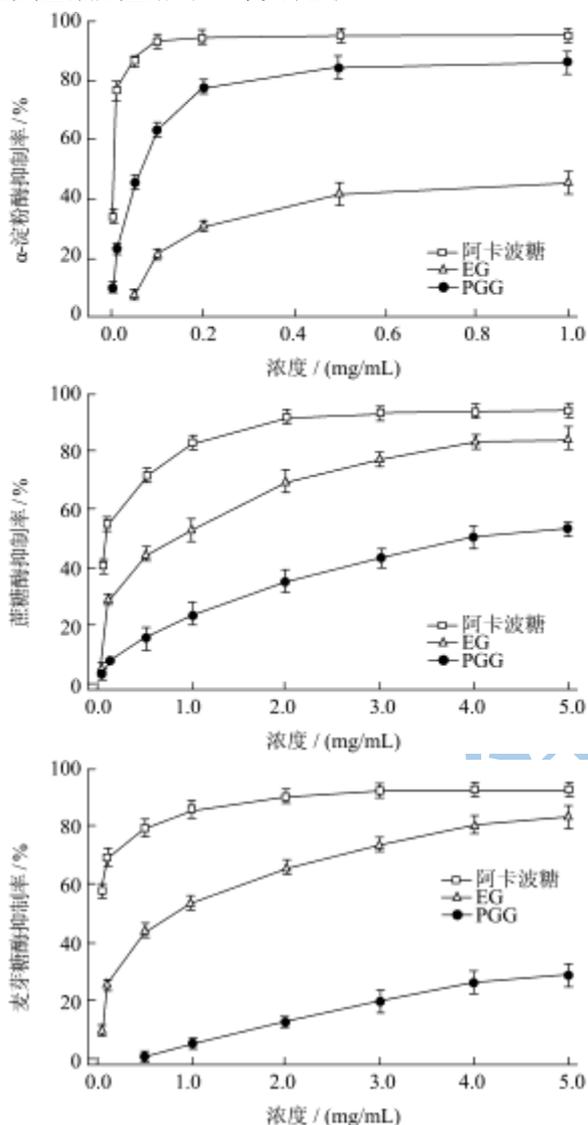


图5 从70%乙醇洗脱部位分离出的单体化合物对糖尿病关键酶的抑制率曲线

Fig.5 Inhibition effects of compounds isolated from 70% fraction on key enzymes linked to type 2 diabetes

3 结论

3.1 香椿叶多酚粗提物具有显著的糖尿病关键酶活性抑制作用, α-淀粉酶、蔗糖酶和麦芽糖酶抑制活性的 IC₅₀ 值分别为 0.45、1.29 和 1.41 mg/mL。

3.2 香椿叶多酚粗提物中筛选出乙酸乙酯萃取后的 70%乙醇洗脱部位具有显著的酶抑制作用, α-淀粉酶、蔗糖酶和麦芽糖酶 IC₅₀ 值分别为 0.091、0.97 和 1.00

mg/mL。

3.3 分离纯化制得两种单体化合物 1,2,3,4,6-O-五没食子酰葡萄糖 (PGG)和没食子酸乙酯 (EG)。PGG 对于 α-淀粉酶抑制作用最强, 当浓度为 1 mg/mL 时, 对 α-淀粉酶的抑制率为 86.27%, 仅次于同浓度下, 阿卡波糖对 α-淀粉酶的抑制率 (95.1%)。EG 对于蔗糖酶和麦芽糖酶有一定的抑制作用, EG 对于蔗糖酶和麦芽糖酶抑制作用的 IC₅₀ 值分别为 0.82 和 0.81 mg/mL。

3.4 结果表明香椿叶多酚类对于降低餐后血糖水平, 防治糖尿病具有一定的功效。作为天然活性降血糖物质, 香椿叶值得进一步研究开发。

参考文献

- [1] Bonora E, Muggeo M. Postprandial blood glucose as a risk factor for cardiovascular disease in type II diabetes: the epidemiological evidence [J]. Diabetologia, 2001, 44(12): 2107-2114
- [2] Haffner S M. The importance of hyperglycemia in the nonfasting state to the development of cardiovascular disease [J]. Endocrine Reviews, 1998, 19(5): 583-592
- [3] Yee H S, Fong N T. A review of the safety and efficacy of acarbose in diabetes mellitus [J]. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, 1996, 16(5): 792-805
- [4] 阿依仙木·加帕尔, 闫冬, 何雯, 等. 维药石榴花多酚提取物对 α-葡萄糖苷酶和 α-淀粉酶抑制作用的研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2013, 36(5): 581-583
- AYXAM J, YAN Dong, HE Wen, et al. Inhibitory effects of pomegranate polyphenol extracts on α-glucosidase and α-amylase [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2013, 36(5): 581-583
- [5] Tsujita T, Shintani T, Sato H. α-Amylase inhibitory activity from nut seed skin polyphenols. 1. Purification and characterization of almond seed skin polyphenols [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(19): 4570-4576
- [6] Yang Y, Wang J, Xing Z E, et al. Identification of phenolics in Chinese toon and analysis of their content changes during storage [J]. Food Chemistry, 2011, 128(4): 831-838
- [7] Zhang J F, Yang J Y, Wen J, et al. Experimental studies on hypoglycemic effects of total flavonoid from Toona Sinensis [J]. Zhong Yao Cai: Journal of Chinese Medicinal Materials, 2008, 31(11): 1712-1714
- [8] Flores F P, Flores F P, Singh R K, et al. Antioxidant and enzyme inhibitory activities of blueberry anthocyanins

- prepared using different solvents [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(18): 4441-4447
- [9] 王斯慧,黄琬凌,陈庆松,等.芦丁、槲皮素对 α -淀粉酶抑制活性研究.[J].食品与发酵科技,2012,48(3):34-37
WANG Si-hui, HUANG Wan-ling, CHEN Qing-song, et al. Research on α -amylase inhibition function of rutin and quercetin [J]. Food and Fermentation Technology, 2012, 48(3): 34-37
- [10] Ryu H W, Cho J K, Curtis-Long M J, et al. α -Glucosidase inhibition and antihyperglycemic activity of *prenylated xanthenes* from *Garcinia mangostana* [J]. Phytochemistry, 2011, 72(17): 2148-2154
- [11] Gupta R K, Al-Shafi SM, Layden K, et al. The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants. Part2. Esters of (S)-hexahydroxydiphenic acid with D-glucopyranose (4C1) [J]. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 1982, 2525-2534
- [12] Sawai Y, Sakata K. NMR analytical approach to clarify the antioxidative molecular mechanism of catechins using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(1): 111-114
- [13] Wang K J, Yang C R, Zhang Y J. Phenolic antioxidants from Chinese toon (fresh young leaves and shoots of *Toona sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 365-371
- [14] 丁阳平,张曦,周洁,等.没食子酸及其衍生物对 α -淀粉酶作用机制研究[J].食品工业科技,2012,(2):167-169
DING Yang-ping, ZHANG Xi, ZHOU Jie, et al. The mechanism of gallic acid and its derivatives on α -amylase [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, (2):167-169