

羊栖菜提取物的体外抗氧化活性及降低小鼠餐后血糖作用

郑晓丽, 阎利萍, 左吉卉, 陈玲, 程阳, 吴明江, 佟海滨

(温州大学生命与环境科学学院, 浙江温州 325035)

摘要: 为了研究羊栖菜不同溶剂萃取物的抗氧化及降低餐后血糖活性, 用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取羊栖菜乙醇提取物得到各萃取物, 测其总多酚、黄酮含量; 运用 DPPH·、ABTS·、FRAP 三种方法评价抗氧化活性, 对-硝基苯基- α -D 吡喃葡萄糖苷 (PNPG) 法及 DNS 法测定其对 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶抑制率, 小鼠糖耐量实验评价其降低餐后血糖作用。结果表明乙酸乙酯萃取物的总多酚和黄酮含量最高, 分别是 34.47 mg/g 和 5.77 mg/g, 其抗氧化活性仅在 DPPH· 试验中略低于正丁醇萃取物, 当浓度为 1.6 mg/mL 时, 乙酸乙酯萃取物的抗氧化活性分别是 90.17% (DPPH·)、0.35 mmol/mg (ABTS·) 和 0.72 mmol/mg (FRAP); 在 α -葡萄糖苷酶抑制实验中, 石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯萃取物的 IC₅₀ 值分别是 0.54、0.29、0.27 mg/mL; 前三种萃取物均能明显降低餐后血糖。本研究表明乙酸乙酯萃取物具有作为膳食补充剂或糖尿病治疗药物的潜力, 为羊栖菜的深度开发利用提供了理论依据。

关键词: 羊栖菜; 抗氧化; α -葡萄糖苷酶; 糖耐量; 多酚

文章编号: 1673-9078(2020)06-33-39

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.6.1155

In vitro Antioxidant Activity and Reduction of Postprandial Blood Glucose by the Extracts from *Sargassum fusiforme*

ZHENG Xiao-li, YAN Li-ping, ZUO Ji-hui, CHEN Ling, CHENG Yang, WU Ming-jiang, TONG Hai-bin

(College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China)

Abstract: To study the antioxidant and lower postprandial blood glucose activities by different solvents extracts from *Sargassum fusiforme*, the ethanol extract of *Sargassum fusiforme* was fractionated by different organic solvents (Petroleum ether, dichloromethane, ethyl acetate, butyl alcohol, PE, DCM, EAC, NBA). The contents of phenols and flavonoids were measured, then the DPPH·, ABTS·, and FRAP methods were used to evaluate the antioxidant activity, the p-nitrophenyl- α -D glucopyranoside (PNPG) and DNS methods were used to determine the inhibition rate of α -glucosidase and α -amylase. Finally, glucose tolerance was measured to evaluate the effect on the postprandial blood glucose. Result showed that EAC extract exhibited the highest total phenols and flavonoids contents, which were 34.47 mg/g and 5.77 mg/g, respectively, and its antioxidant activity was only slightly lower than that of NBA extract in DPPH test, when the concentration was 1.6 mg/mL, the antioxidant activities of EAC extract were 90.17% (DPPH·), 0.35 mmol/mg (ABTS·) and 0.72 mmol/mg (FRAP); in the α -glucosidase inhibition experiment, the IC₅₀ of PE, DCM, EAC extracts were 0.54, 0.29, and 0.27 mg/mL, respectively. The first three extracts can significantly reduce postprandial blood glucose. This study shows that EAC extract has the potential to be used as a dietary supplement or anti-diabetic medicine, providing a theoretical basis for the development and utilization of *Sargassum fusiforme*.

Key words: *Sargassum fusiforme*; antioxidation; α -glucosidase; glucose tolerance; phenols

引文格式:

郑晓丽, 阎利萍, 左吉卉, 等. 羊栖菜提取物的体外抗氧化活性及降低小鼠餐后血糖作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(6): 33-39

ZHENG Xiao-li, YAN Li-ping, ZUO Ji-hui, et al. *In vitro* antioxidant activity and reduction of postprandial blood glucose by the extracts from *Sargassum fusiforme* [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(6): 33-39

收稿日期: 2019-11-26

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (41876197, 81872952); 浙江省自然科学基金面上项目 (LY18C020006, LGN18C020004); 温州市重大科技创新攻关医疗卫生项目 (ZY2019013)

作者简介: 郑晓丽 (1993-), 女, 硕士, 研究方向: 天然产物开发

通讯作者: 佟海滨 (1981-), 男, 副教授, 研究方向: 天然产物开发

糖尿病是一种以高血糖为特征的代谢性疾病,由胰岛素分泌不足或胰岛素敏感性降低,或两者兼有而引起。糖尿病主要有两种类型,其中2型糖尿病(T2DM)占90%以上,通常发生在中老年人群体^[1]。遗传和代谢功能障碍以及不良生活方式等均可能导致T2DM的发生^[2]。近几十年来,糖尿病已成为全球发病率最高的疾病之一,2017年的报告显示,18岁以上的成年人中有4.25亿人患有糖尿病,而1980年仅为1.08亿人,并且专家预测2045年的糖尿病患者将超过6亿人^[3]。糖尿病伴随着多种并发症包括高血压、动脉粥样硬化、肾病、视网膜病变等^[4]。治疗糖尿病及其并发症耗费了大量资金,造成了巨大经济损失,已成为社会发展的负担。

自由基在体内的过度积累被认为是诱发T2DM的潜在分子机制^[5]。研究表明,清除自由基、修复氧化应激损伤可以干预T2DM及其并发症的发生发展^[6,7]。此外,血糖水平与水解酶(如 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶)的活性直接相关。 α -淀粉酶可以水解 α -1,4糖苷键形成低聚糖,而 α -葡萄糖苷酶可以从寡糖的非还原端水解 α -1,4糖苷键释放葡萄糖,所以通过抑制上述水解酶的活性可以抑制碳水化合物在肠道的消化、吸收,从而降低餐后血糖^[8,9]。因此, α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶被认为是糖尿病治疗的重要靶点。总之,抗氧化和抑制 α -淀粉酶或 α -葡萄糖苷酶活性能有效的防治2型糖尿病。

长期以来,天然产物一直是治疗人类疾病的药物来源。羊栖菜是一种典型的药用和食用同源藻类^[10]。据报道,它具有降血糖、降血脂、抗血栓等多种功能,还能消除大脑疲劳、促进儿童发育、增强免疫力、延缓衰老等^[10-13],但其药理作用机制尚不清楚。因此,本研究利用体内和体外模型,对羊栖菜乙醇提取物的抗氧化和控制餐后血糖活性进行了较为系统的评价。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

羊栖菜于2017年10月在浙江省温州市洞头区海域采集,经张旭博士鉴定为褐藻门马尾藻科马尾藻属羊栖菜(*Sargassum fusiforme*),存放于温州大学生命与环境科学学院;8周龄健康雄性ICR小鼠购自温州医科大学实验动物中心(Certificate No. SYXK Z2015-0009),体重为18~22 g,饲养温度为(22±2)℃,照明时间12 h/d(8:00~20:00),小鼠适应性饲养1周后进行实验。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH·)、福林酚试剂、

没食子酸,上海麦克林生化科技有限公司;对硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷、芦丁、 α -葡萄糖苷酶,源叶生物技术有限公司; α -淀粉酶,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;总抗氧化能力测定试剂盒(FRAP法),南京建成生物工程研究所;总抗氧化能力测定试剂盒(ABTS法),上海碧云天生物技术研究所;血糖试纸,三诺生物传感股份有限公司;其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

RE-52AA 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;UV-5100 紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;CYtation3 酶标仪,美国伯腾仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 提取物的制备

羊栖菜提取物的制备流程:羊栖菜→干燥→粉碎→称量→加入95%乙醇→浸提→过滤→浓缩→浸膏→萃取→浓缩、干燥→各萃取物

具体操作步骤:精密称取羊栖菜粉末2 kg,加入95%乙醇浸没,两周后进行过滤,滤液浓缩,滤渣用95%乙醇于电热套上回流提取三次,每次2 h,合并提取液,浓缩后得到浸膏。将浸膏分散于水中,依次采用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取,每种溶剂分别萃取3次,合并同类,获得5种萃取物。将各萃取层浓缩,分别得到石油醚萃取物、二氯甲烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物、水层,干燥,4℃冷藏备用。

1.3.2 总多酚与黄酮含量测定

采用福林-酚比色法^[14,15]:以(10.0~50.0 μ g/mL)没食子酸为标准品,做标准曲线,得到线性方程: $Y=0.0112X+0.0117$, ($R^2=0.9972$)。取0.50 mL的样品溶液(5 mg/mL)于试管中,加入2.50 mL 10%福林酚试剂,摇匀。反应5 min后加入2 mL 7.5% Na_2CO_3 ,摇匀。室温放置1 h后,于765 nm处测定吸光值,代入回归方程计算出各样品溶液中总多酚的含量,以每克萃取物干重中所含没食子酸(gallic acid, GAE)当量(mg gallic acid equivalents/g dry weight)来表示(mg GAE/g DW)。

总黄酮含量测定采用 NaNO_2 - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - NaOH 显色法^[16,17]:以(21.12~105.60 μ g/mL)芦丁为标准品,做标准曲线,得到线性方程: $Y=6.4962X-0.002$, ($R^2=0.9997$)。取0.50 mL的样品溶液(5 mg/mL)于10 mL容量瓶中,加入0.50 mL 5% NaNO_2 溶液,摇匀。6 min后加入0.50 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$,摇匀。6 min后

加入 4 mL 4% NaOH, 并加 60%乙醇定容, 反应 20 min。在 510 nm 处测定吸光值, 代入回归方程计算出各样品溶液中总黄酮的含量, 以芦丁当量来表示(mg rutin equivalent/g dry weight mg RE/g DW)。

1.3.3 DPPH 清除自由基能力的测定^[18]

将样品溶解在 50%的乙醇中, 得到不同浓度(0.025~1.60 mg/mL)的样品。然后, 将 100 μ L 的 DPPH 溶液(0.10 mM, 50%乙醇)与 100 μ L 的样品溶液在 96 孔板中混合。摇匀, 室温避光反应 20 min, 517 nm 波长测定吸光度, 记为 A1。等量 DPPH 和 50%乙醇作为对照, 记为 A3, 等量样品和 50%乙醇记为 A2。所有测量数据一式三份。DPPH 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{清除率(\%)}=[1-(A1-A2)/A3]\times 100\%$$

注: A1: 样品+DPPH·反应孔; A2: 等量样品+50%乙醇, A3: 同体积的 DPPH·乙醇溶液和 50%乙醇混合。

1.3.4 ABTS 自由基清除能力的测定

参考总抗氧化能力测定试剂盒(ABTS·法)说明书, ABTS 自由基阳离子(ABTS⁺)溶液是将 ABTS·原液与过硫酸钾(2.45 mmol/L)在室温下黑暗中反应 12 h 后制备所得, 然后用 80%的乙醇稀释 ABTS⁺溶液, 在 734 nm 处调节吸光度至 0.70 \pm 0.05。将 10 μ L 样品或 Trolox 标准品加入 200 μ L 稀释 ABTS⁺溶液中, 室温下避光 5 min 后在 734 nm 处测定吸光度。Trolox 是一种类似于维生素 E 的水溶性物质, 作为参考标准, 准备了浓度范围为 0.15~1.50 mM 的校准曲线。数据以 Trolox 等效抗氧化能力(TEAC, mmol/mg)表示。

1.3.5 FRAP 法测定总抗氧化能力

参考 FRAP 法试剂盒说明书, 取 5 μ L 样品溶液和 180 μ L FRAP 工作液于 96 孔板中, 37 $^{\circ}$ C 孵育 5 min 后, 检测 593 nm 处的吸光度。以蒸馏水为空白对照。在酸性条件下, Fe³⁺-TPTZ 在抗氧化化合物的存在下被还原为蓝色的 Fe²⁺-TPTZ, 在 593 nm 处有最大吸收。以 FeSO₄·7H₂O (0.15~1.50 mM)做标准曲线, 总抗氧化能力用 FeSO₄·7H₂O 标准溶液的浓度来表示。

1.3.6 α -葡萄糖苷酶抑制率的测定^[19]

首先配制好 0.1 M 磷酸钠缓冲溶液(pH 6.8), 用上述缓冲液配制 1 U/mL 的 α -葡萄糖苷酶溶液和 2.50 mM 的 pNPG 溶液, 并配好 0.20 M Na₂CO₃ 溶液。取 20 μ L 不同浓度的样品溶液 (0.025~1.60 mg/mL)、40 μ L 0.1 M 磷酸盐缓冲液和 20 μ L α -葡萄糖苷酶溶液于 96 孔板中, 充分混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min 后, 加入 20 μ L pNPG, 充分混合, 37 $^{\circ}$ C 反应 20 min。加入 0.20 M Na₂CO₃ 溶液 100 μ L, 震荡摇匀后在 405 nm 处测定吸光度, 记为 A1。同等条件下, 用缓冲液代替酶溶液测

定吸光值, 记为 A2。再取溶剂代替样品测定吸光值 A3。取缓冲液和溶剂混合液测得吸光值 A4。计算公式为:

$$\text{抑制率\%}=[1-(A1-A2)/(A3-A4)]\times 100\%$$

1.3.7 α -淀粉酶抑制率的测定

先配制好 0.1 M 磷酸钠缓冲液(pH 6.9, 0.0067 M NaCl), 并用此缓冲液配置 0.50 mg/mL α -淀粉酶, 0.1% 淀粉溶液, 煮沸两分钟取上层清液备用。参考文献^[20], 取 80 μ L 样品溶液 (0.025~1.60 mg/mL), 50 μ L α -淀粉酶溶液于离心管中, 混匀并在 25 $^{\circ}$ C 孵育 10 min, 之后加入 50 μ L 0.1%淀粉溶液, 混匀并在 25 $^{\circ}$ C 反应 15 min, 之后加入 200 μ L 96 mM 二硝基水杨酸(DNS), 沸水浴 10 min, 冷却至室温, 在 540 nm 处测定吸光值, 记为 A1。对照组用缓冲液代替酶溶液, 记为 A2。标准组用溶剂代替样品, 记为 A3, 空白组取缓冲液和溶剂混合液测得吸光值 A4。

$$\text{抑制率(\%)}=[1-(A1-A2)/(A3-A4)]\times 100\%$$

1.3.8 萃取物对小鼠淀粉/麦芽糖耐量实验^[21,22]

雄性 ICR 小鼠禁食 12 h 后, 随机分为 4 组, 每组 6 只。对照组为生理盐水。每种提取物以 400 mg/kg 剂量灌胃给药。10 min 后, 灌胃剂量为 2 g/kg 淀粉或麦芽糖溶液, 分别于 0、15、30、60、90、120 min 测定血糖值, 绘制血糖曲线并计算线下曲线面积。

1.4 数据处理

利用 GraphPad Prism 5 进行数据分析和作图, 测定结果用平均值 \pm 标准差表示。

2 结果与讨论

2.1 羊栖菜各萃取物中总多酚和黄酮含量

羊栖菜乙醇提取物经石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇四种不同极性溶剂萃取, 得到五种萃取物。各萃取物总多酚和黄酮的含量见表 1, 其中乙酸乙酯萃取物的总多酚及黄酮含量最高, 分别为 34.47 mg/g 和 5.77 mg/g。水层萃取物的总多酚和黄酮含量最低分别是 2.61 mg/g 和 0.89 mg/g。该结果表明中极性溶剂乙酸乙酯比小极性石油醚及大极性正丁醇和水对羊栖菜中总多酚和黄酮类物质的溶解性更好。邱珊莲等^[23]也观察到嘉宝果嫩叶提取物乙酸乙酯相的总多酚含量(33.92 mg/g)及总黄酮含量(13.35 mg/g)明显高于其他溶剂萃取物。5 种萃取物中, 大极性的水层萃取物中总多酚和黄酮的含量最低, 可能其中含有其它的成分如寡糖、有机酸等, 而小极性的石油醚萃取物中则可能含有较多的色素和油脂。

表 1 羊栖菜各萃取物的总多酚和黄酮含量

Table 1 Total phenols and flavonoids contents of extracts from *Sargassum fusiforme* (n=3)

溶剂类型	总多酚/(mg/g)	总黄酮/(mg/g)
石油醚	9.79±0.19	4.57±0.09
二氯甲烷	15.37±0.47	4.74±0.19
乙酸乙酯	34.47±0.31	5.77±0.07
正丁醇	10.37±0.31	1.82±0.05
水	2.61±0.05	0.89±0.03

2.2 抗氧化活性

2.2.1 萃取物对 DPPH·的清除能力

各萃取物对 DPPH·的清除能力见图 1a 所示。当浓度从 0 mg/mL 到 0.80 mg/mL 时，正丁醇和乙酸乙酯萃取物清除率增长较快，之后减缓，当浓度为 1.60 mg/mL，两种萃取物的 DPPH 自由基清除能力分别为 94.55%、90.17%，石油醚和水层萃取物在浓度范围内增幅不明显。石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、水萃取物的 IC₅₀ 依次是 3.32、0.93、0.27、0.13 和 2.17 mg/mL。许海棠等^[18]对百香果叶不同极性提取物的抗氧化相关性分析中表明，其 DPPH·清除能力与总酚、黄酮含量的相关系数为 0.788~0.847，说明百香果叶各萃取物的总酚、总黄酮对其抗氧化能力起着较大作用，这与本研究结果类似，羊栖菜不同萃取物间的抗氧化活性存在差异，可能与萃取物中多酚和黄酮的含量、类型有密切联系。对于正丁醇萃取物，其多酚和黄酮含量并不是最高的，但其表现出了最高的清除 DPPH 自由基的活性，这可能与其他活性化合物的存在有关。

2.2.2 ABTS 自由基清除能力测定

羊栖菜各溶剂萃取物对 ABTS 自由基清除能力结果见图 1b 所示。在实验浓度范围内，各萃取物的 ABTS 自由基清除能力都呈现出剂量依赖性，特别是乙酸乙酯和正丁醇萃取物。当浓度达到 1.60 mg/mL 时，乙酸乙酯萃取物抗氧化能力最强，为 0.35 mmol/mg。而与乙酸乙酯萃取物相比，石油醚、二氯甲烷及水萃取物具有较低的抗氧化水平，三者抗氧化能力相差不大。五种萃取物清除能力顺序为：乙酸乙酯萃取物>正丁醇萃取物>水层萃取物>二氯甲烷萃取物>石油醚萃取物，其对 ABTS 自由基清除能力与对 DPPH·的清除能力趋势接近，这与许海棠等^[18]研究的总多酚和黄酮含量与 ABTS·清除能力强弱相关性分析结论相一致。

2.2.3 FRAP 法测定总抗氧化能力

FRAP 法测定羊栖菜各溶剂萃取物总抗氧化能力结果如图 1c 所示。乙酸乙酯萃取物在五种萃取物中抗氧化能力最强，正丁醇萃取物次之，水层萃取物抗氧

化能力最弱。随着样品浓度的逐渐增大，五种萃取物的抗氧化能力都逐渐增大，当萃取物浓度达到 1.60 mg/mL，石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、水层萃取物的抗氧化能力达到最大值分别是 0.17、0.25、0.72、0.51 和 0.12 mmol/mg。五种萃取物抗氧化能力与之前的两种方法测定结果相似。孙海龙等^[24]在李果皮总酚含量及其抗氧化能力研究中同样发现总酚含量与 FRAP 法测定的抗氧化能力呈极显著正相关 ($p<0.01$)。

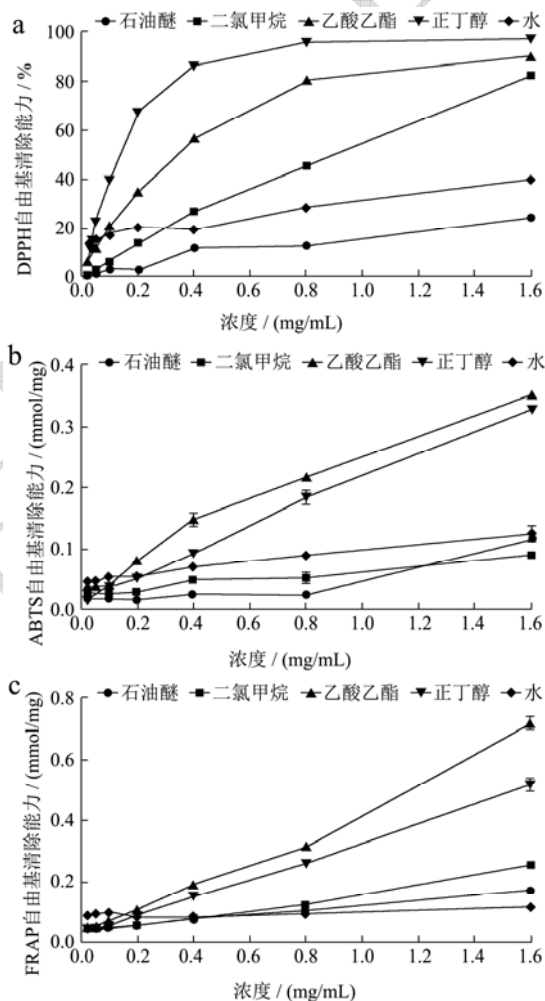


图 1 羊栖菜萃取物的抗氧化活性

Fig.1 Antioxidant activity of *Sargassum fusiforme* extracts

2.3 对 α-葡萄糖苷酶及 α-淀粉酶的抑制作用

如图 2a 所示，当萃取物浓度逐渐增大到 0.40 mg/mL 时，对酶活性的抑制作用增幅明显，当浓度从 0.80 mg/mL 到 1.60 mg/mL 时，抑制作用增幅减缓，并逐渐趋于平稳。石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯萃取物对 α-葡萄糖苷酶抑制活性的 IC₅₀ 值分别是 0.54、0.29、0.27 mg/mL，而正丁醇和水层萃取物对 α-葡萄糖苷酶具有很小的抑制活性，乙酸乙酯萃取物具有最好的 α-葡萄糖苷酶抑制活性。许海棠等^[18]发现，当剂

量为 0.625 mg/mL 时, 百香果叶乙酸乙酯萃取物的 α -葡萄糖苷酶抑制率仅为 30% 左右; 而剂量为 0.8 mg/mL 的羊栖菜乙酸乙酯层萃取物, 其 α -葡萄糖苷酶抑制率高达 70%, 优势明显。从图 2b 可以看出, 各萃取物对 α -淀粉酶的抑制作用均呈剂量依赖性, 并且在 0~0.40 mg/mL 浓度范围内, 抑制率增幅明显, 之后趋于平稳。当浓度为 1.60 mg/mL 时, 石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、水层萃取物抑制率达到最大值, 分别是 41.79%、36.85%、30.80%、36.65%、24.75%。

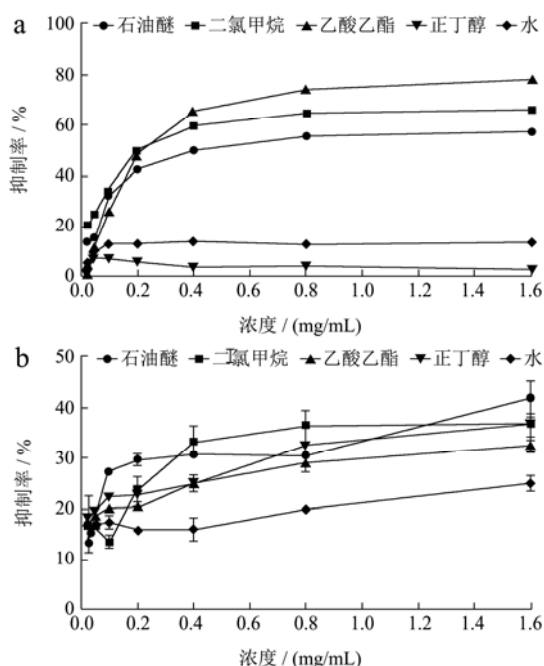


图 2 羊栖菜萃取物对 α -葡萄糖苷酶、 α -淀粉酶抑制效果

Fig.2 Inhibition effect of *Sargassum fusiforme* extracts on α -glucosidase and α -amylase

2.4 体内淀粉/麦芽糖耐量实验

羊栖菜五种溶剂萃取物对 ICR 小鼠淀粉/麦芽糖耐量的作用效果如图 3 所示。图 3a、3b 淀粉耐量实验中, 在灌胃淀粉后, 对照组小鼠血糖明显升高, 在 30 min 时达到峰值 (13.02 mmol/L)。与对照组相比, 石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取物均能显著改善淀粉耐量, 其中乙酸乙酯萃取物最为显著。在图 3c、3d 麦芽糖耐量实验中, 对照组小鼠血糖在 15 min 到达峰值 (17.92 mmol/L), 90 min 后恢复到生理水平。根据曲线下面积 (图 3d) 可知, 除正丁醇萃取物外其他萃取物均能显著改善小鼠麦芽糖耐量。15 min 时, 五种萃取物灌胃的小鼠血糖值达到最高, 依次为 10.22、12.80、12.68、14.17、13.88 mmol/L, 120 min 后恢复到生理水平。综上所述, 前三种萃取物均展现出改善淀粉/麦芽糖耐量的作用效果。池里群等^[21]研究

表明由于红杉醇不同提取物中所含主要成分的不同 (多糖类、黄酮类、皂甙类等), 导致抑制葡萄糖苷酶及改善糖耐量的效果不同, 其降血糖作用机制也各有区别。羊栖菜五种萃取物对淀粉/麦芽糖耐量的作用效果不同, 可能与其含有的活性化合物种类有关, 需进一步研究和开发。

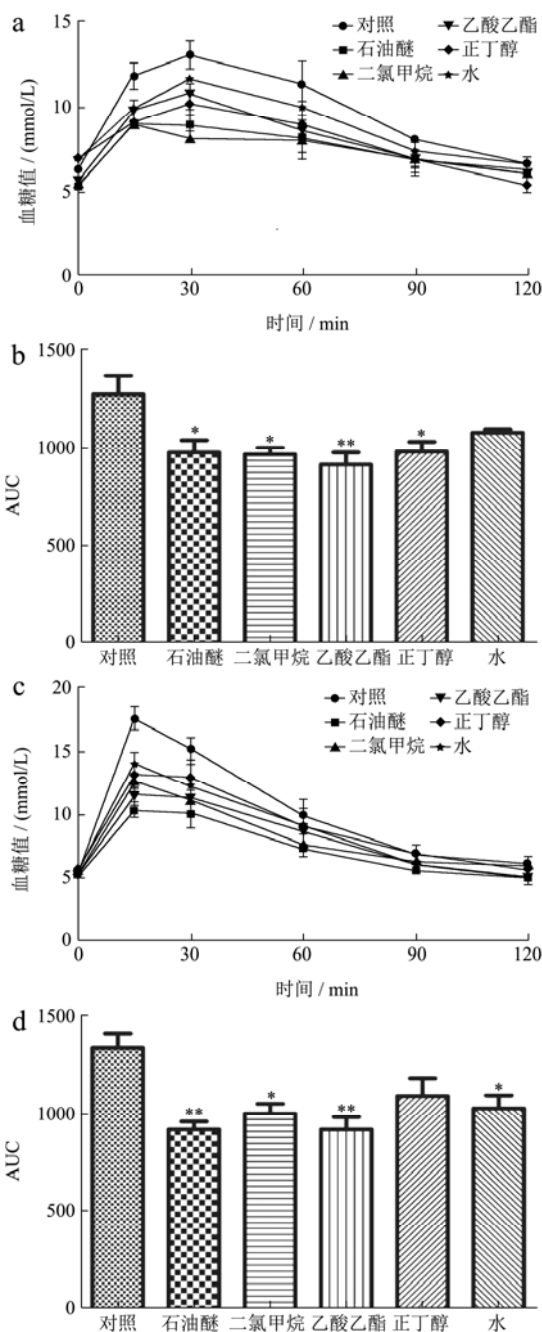


图 3 淀粉和麦芽糖耐量实验

Fig.3 Starch and maltose tolerance test

注: a: 灌胃淀粉 2 h 内血糖曲线; b: 灌胃淀粉 2 h 内血糖曲线下面积; c: 灌胃麦芽糖 2 h 内血糖曲线; d: 灌胃麦芽糖 2 h 内血糖曲线下面积; *表示相关性显著, $p < 0.05$; **表示相关性极显著, $p < 0.01$ 。

3 结论

本研究测定了羊栖菜不同极性溶剂萃取物中总多酚和黄酮的含量,溶剂极性从小到大,各萃取层多酚的提取效率为:0.98%、1.54%、3.45%、1.04%、0.26%,黄酮的提取效率分别为:0.46%、0.47%、0.58%、0.18%、0.09%。并运用 DPPH·、FRAP、ABTD· 三种方法测定了萃取物的抗氧化活性,其中乙酸乙酯、正丁醇萃取物抗氧化活性较强,这可能与多酚和黄酮含量高有关。 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶活性抑制实验发现,乙酸乙酯萃取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制率最高达到 80%。石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯萃取物均能显著改善淀粉/麦芽糖耐量,表明三者均可抑制餐后血糖的升高,具有干预 2 型糖尿病发生发展的潜在作用。因此后续进一步的筛选 α -葡萄糖苷酶及淀粉酶的抑制剂可以从乙酸乙酯层的分离纯化着手,找出抑制活性较强的化合物,并通过分子对接技术找到抑制剂和酶的作用位点及结合方式,为 2 型糖尿病的治疗提供更多的理论依据。

参考文献

- [1] Cheng Y, Sibusiso L, Hou L, et al. *Sargassum fusiforme* fucoidan modifies the gut microbiota during alleviation of streptozotocin-induced hyperglycemia in mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 1162-1170
- [2] Quan NV, Xuan TD, Tran HD, et al. Antioxidant, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities and potential constituents of *Canarium tramdenum* bark [J]. Molecules, 2019, 24(3): E605
- [3] Hago S, Mahrous E A, Moawad M, et al. Evaluation of antidiabetic activity of *Morusnigra* L. and *Bauhinia variegata* L. leaves as Egyptian remedies used for the treatment of diabetes [J]. Natural Product Research, 2019, 10: 1-7
- [4] Almalki D A, Alghamdi S A, Al-Attar A M. Comparative study on the influence of some medicinal plants on diabetes induced by streptozotocin in male rats [J]. Biomed Research International, 2019, 2: 1-11
- [5] Raguraman V, L SA, J J, et al. Sulfated polysaccharide from *Sargassum tenerrimum* attenuates oxidative stress induced reactive oxygen species production *in vitro* and in zebrafish model [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 203: 441-449
- [6] Annunziata G, Barrea L, Ciampaglia R, et al. *Arctium lappa* contributes to the management of type 2 diabetes mellitus by regulating glucose homeostasis and improving oxidative stress: a critical review of *in vitro* and *in vivo* animal-based studies [J]. Phytotherapy Research, 2019, 33(9): 2213-2220
- [7] Bigagli E, Lodovici M. Circulating oxidative stress biomarkers in clinical studies on type 2 diabetes and its complications [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 2019: 5953685
- [8] Shanmugam S, Gomes IA, Denadai M, et al. UHPLC-QqQ-MS/MS identification, quantification of polyphenols from *Passiflora subpeltata* fruit pulp and determination of nutritional, antioxidant, α -amylase and α -glucosidase key enzymes inhibition properties [J]. Food Research International, 2018, 108: 611-620
- [9] Du X, Myracle A D. Fermentation alters the bioaccessible phenolic compounds and increases the alpha-glucosidase inhibitory effects of aronia juice in a dairy matrix following *in vitro* digestion [J]. Food Function, 2018, 9(5): 2998-3007
- [10] Chen P, He D, Zhang Y, et al. *Sargassum fusiforme* polysaccharides activate antioxidant defense by promoting Nrf2-dependent cytoprotection and ameliorate stress insult during aging [J]. Food Function, 2016, 7(11): 4576-4588
- [11] Wu X, Jiang W, Lu J, et al. Analysis of the monosaccharide composition of water-soluble polysaccharides from *Sargassum fusiforme* by high performance liquid chromatography/electrospray ionisation mass spectrometry [J]. Food Chemistry, 2014, 145: 976-83
- [12] Chen P, He D, Zhang Y, et al. *Sargassum fusiforme* polysaccharide rejuvenates the small intestine in mice through altering its physiology and gut microbiota composition [J]. Current Molecular Medicine, 2017, 17(5): 350-358
- [13] Liu L, Heinrich M, Myers S, et al. Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in Traditional Chinese medicine: a phytochemical and pharmacological review [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2012, 142(3): 591-619
- [14] 陈志娜,叶韬,刘梦肴,等. 茵陈蒿不同溶剂提取物体外抗氧化活性分析[J]. 食品科技, 2019, 44(7): 262-266
CHEN Zhi-na, YE Tao, LIU Meng-yao, et al. Antioxidant of extracts from *Artemisia capillaries* by different solvents [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(7): 262-266
- [15] Zhang DY, Luo M, Wang W, et al. Variation of active constituents and antioxidant activity in pyrola (*P. incarnata* Fisch.) from different sites in northeast China [J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2213-9
- [16] 刘欣,何新益,刘斌,等. 绿茶粉添加对黑色冲调粉抗氧化及

- 消化特性的影响[J].食品研究与开发,2019,40(17):64-68
- LIU Xin, HE Xin-yi, LIU Bin, et al. Effect of green tea powder addition on antioxidant and digestive properties of black powder [J]. Food Research and Development, 2019, 40(17): 64-68
- [17] Yan Y, Zhang F, Chai Z, et al. Mixed fermentation of blueberry pomace with *L. rhamnosus* GG and *L. plantarum*-1: Enhance the active ingredient, antioxidant activity and health-promoting benefits [J]. Food and Chemical Toxicology, 2019, 131: 110541
- [18] 许海棠,廖华珍,张金彦,等.百香果叶提取物的体外抗氧化活性和抑制 α -葡萄糖苷酶的作用[J].食品科技,2019,44(7): 256-261
- XU Hai-tang, LIAO Hua-zhen, ZHANG Jin-yan, et al. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity *in vitro* of the extracts from the leaves of *Passiflora edulis* [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(7): 256-261
- [19] Prabha B, Neethu S, Krishnan S L, et al. Antidiabetic potential of phytochemicals isolated from the stem bark of *Myristica fatua* Houtt. var. *magnifica* (Bedd.) Sinclair [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2018, 26(12): 3461-3467
- [20] El Abed H, Chakroun M, Fendri I, et al. Extraction optimization and *in vitro* and *in vivo* anti-postprandial hyperglycemia effects of inhibitor from *Phoenix dactylifera* L. parthenocarpic fruit [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 88: 835-843
- [21] 池里群,舒向荣,王霆.红杉醇抑制葡萄糖苷酶及改善糖耐量实验研究[J].中国预防医学,2018,19(11):856-860
- CHI Li-qun, SHU Xiang-rong, WANG Ting. The inhibitory effect of sequoyitol on glucosidase activity *in vitro* [J]. Chinese Preventive Medicine, 2018, 19(11): 856-860
- [22] Satoh T, Igarashi M, Yamada S, et al. Inhibitory effect of black tea and its combination with acarbose on small intestinal α -glucosidase activity [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 161: 147-55
- [23] 邱珊莲,林宝妹,张少平,等.嘉宝果嫩叶提取物不同极性部位抗氧化及抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究[J].热带作物学报, 2019,40(7):1373-1378
- QIU Shan-lian, LIN Bao-mei, ZHANG Shao-ping, et al. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of different polarity fractions of the extracts of the young leaves of *Myrciaria cauliflora* [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(7): 1373-1378
- [24] 孙海龙,张静茹,鲁晓峰,等.李果皮总酚含量及其抗氧化能力研究[J].中国南方果树,2019,48(5):84-88
- SUN Hai-long, ZHANG Jing-ru, LU Xiao-feng, et al. Study on total phenol content of *Plum* peel and its antioxidant capacity [J]. South China Fruits, 2019, 48(5): 84-88
-
- (上接第 16 页)
- [23] 王雪芹.鲑鱼多肽的抗氧化活性与抗疲劳作用研究[D].北京:中国科学院研究生院(海洋研究所),2014
- WANG Xue-qin. Study on the antioxidant activity and antifatigue effect of mackerel peptides [D]. Beijing: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2014
- [24] 符群.鸡骨胶原蛋白肽的酶法制备及其抗氧化性研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2009
- FU Qun. The preparation of hydrolyzed collagen from chicken bone by enzyme and the research of antioxidant activity [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2009
- [25] Johansen J S, Harris A K, Rychly D J, et al. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice [J]. Cardiovasc Diabetol, 2005, 4-5
- [26] 由文华,刘青云,熊正英.自由基与运动性疲劳关系的研究进展[J].陕西师范大学继续教育学报,2007,24(2):125-128
- YOU Wen-hua, LIU Qing-yun, XIONG Zheng-ying. Research progress on the relationship between free radicals and exercise fatigue [J]. Journal of Further Education of Shaanxi Normal University, 2007, 24(2): 125-128
- [27] 林琳,李八方.鲑鱼皮胶原蛋白水解肽抗氧化活性研究[J].中国海洋药物,2006,25(4):48-51
- LIN Lin, LI Ba-fang. Studies on the antioxidation activity of squid (*Dosidicus eschrichitii* Steenstrup) skin gelatin hydrolysate [J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2006, 25(4): 48-51
- [28] Nazeer R A, Sampath Kumar N S, Jai Ganesh R. *In vitro* and *in vivo* studies on the antioxidant activity of fish peptide isolated from the croaker (*Otolithes ruber*) muscle protein hydrolysate [J]. Peptides, 2012, 35(2): 261-268
- [29] Pan D, Guo Y, Jiang X. Anti-fatigue and antioxidative activities of peptides isolated from milk proteins [J]. Journal of Food Biochemistry, 2011, 35(4): 1130-1144
- [30] You L, Zhao M, Regenstein J M, et al. *In vitro* antioxidant activity and *in vivo* anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion [J]. Food Chemistry, 2011, 124(1): 188-194