太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶活性的抑制作用

陈建中[1]，葛水莲[*1,2]，杨明建[1]，咎立峰[1]，刘 娜[3]

（1. 邯郸学院 生命科学与工程学院，河北 邯郸 056005；2. 邯郸学院 河北省高校冀南太行山区资源植物应用技术研发中心，河北 邯郸 056005；3. 衡水学院 化工学院，河北 衡水 053000）

摘要：为研究太行菊醇提物不同极性萃取相中黄酮对 α-葡萄糖苷酶活性的影响及其抑制作用的动力学特征，采用萃取法制得太行菊黄酮的乙酸乙酯相、正丁醇相、残余水相和石油醚相，使用体外（PNPG）法建立抑制 α-葡萄糖苷酶活性的筛选模型，通过酶促反应动力学绘制 Lineweaver-Burk 曲线，分析太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶作用的抑制类型。太行菊不同极性萃取物对 α-葡萄糖苷酶呈现不同程度的抑制作用，而且抑制活性与黄酮的质量浓度之间呈现明显的剂量效应关系。其中乙酸乙酯相和正丁醇相中黄酮质量分数及 α-葡萄糖苷酶抑制活性均显著高于其他萃取相，且高于阿卡波糖，而残余水相和石油醚相中黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制活性低于阿卡波糖。酶抑制活性乙酸乙酯（IC_{50}=1.01 mg/mL）<正丁醇（IC_{50}=1.25 mg/mL）<阿卡波糖（IC_{50}=1.47 mg/mL）<残余水相（IC_{50}=1.77 mg/mL）<石油醚（IC_{50}=2.12 mg/mL）。酶抑制动力学研究发现，乙酸乙酯相和正丁醇相中太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶是混合型抑制类型中竞争与非竞争关系；残余水相和石油醚相中太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶是竞争与反竞争的混合抑制类型。太行菊醇提物不同极性萃取相黄酮均具有一定的 α-葡萄糖苷酶的抑制活性，在开发成辅助降血糖的保健食品或药品方面具有良好的潜力，有望将太行菊醇提物乙酸乙酯相和正丁醇相黄酮开发为新型 α-葡萄糖苷酶抑制剂。

关键词：太行菊黄酮；α-葡萄糖苷酶抑制剂；动力学；降糖活性

中图分类号：TS 201.4　**文章编号：**1673-1689(2023)08-0095-08　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.08.012

Inhibition of the α-Glucosidase Activity by the Flavonoids from *Opisthopappus taihangensis* (Ling) Shih

CHEN Jianzhong[1]，*GE Shuilian*[*1,2]，*YANG Mingjian*[1]，*ZAN Lifeng*[1]，*LIU Na*[3]

(1. College of Life Science and Engineering, Handan University, Handan 056005, China; 2. Wild Plant Resources Research Centre in Taihang Mountain of Southern Hebei Province, Handan University, Handan 056005, China; 3. Department of Chemistry, Hengshui University,Hengshui 053000, China)

Abstract: To study the effects of flavonoids on the activity of α-glucosidase and their inhibitory kinetic characteristics in different polar extraction phases of the alcohol extract of *Opisthopappus*

收稿日期：2021-06-04

基金项目：河北省“三三三人才工程”资助项目；河北省高等学校科学技术研究项目(ZD2020414)；河北省大学生科技创新能力培育专项项目(22E50286D)。

作者简介：陈建中(1978—)，男，博士，教授，主要从事天然产物提取分离活性鉴定研究。E-mail：cjzhong@126.com

*** 通信作者：**葛水莲(1980—)，女，硕士，教授，主要从事天然食药植物活性物质研究。E-mail：geslian@126.com

taihangensis (Ling) Shih, the ethyl acetate phase, n-butanol phase, residual water phase and petroleum ether phase of flavonoids from *Opisthopappus taihangensis* were extracted. A screening model of α-glucosidase activity inhibition was established by *in vitro* (PNPG) method. Lineweaver-Burk curves were drawn to analyze the type of inhibition of α-glucosidase by flavonoids from *Opisthopappus taihangensis*. Flavonoids from *Opisthopappus taihangensis* in different polar extraction phases showed different degrees of inhibition on α-glucosidase, and a significant dose-effect relationship was found between the inhibitory activity and the concentration of flavonoids. Among them, the flavonoid content and α-glucosidase inhibitory activity in the ethyl acetate phase and n-butanol phase were significantly higher than those in the other extraction phases and higher than that of the acarbose, while the inhibitory activity of glucosidase is lower than that of acarbose. The inhibitory activity was: ethyl acetate (IC_{50}=1.01 mg/mL) <n-butanol (IC_{50}=1.25 mg/mL) <acarbose (IC_{50}=1.47 mg/mL) <residual water (IC_{50}=1.77 mg/mL) <petroleum ether (IC_{50}=2.12 mg/mL). Enzyme inhibition kinetics studies found that α-glucosidase of flavonoids from *Opisthopappus taihangensis* in ethyl acetate phase and n-butanol phase is competitive and non-competitive mixed type; flavonoids from *Opisthopappus taihangensis* in residual water phase and petroleum ether phase α-glucosidase is a mixed type of competition and anti-competition. The flavonoids of different polar extraction phases of *Opisthopappus taihangensis* have α-glucosidase inhibitory activity, and have good potential in developing health foods or medicines that assist in lowering blood sugar. Ethyl acetate phase and n-butanol phase flavonoids can be developed as novel α-glucosidase inhibitors.

Keywords: flavonoids from *Opisthopappus taihangensis*, α-glucosidase inhibitors, inhibition kinetics, hypoglycemic activity

国际糖尿病联盟于 2017 年公布了第 8 版的全球糖尿病地图，数据显示全球糖尿病患者（20~79 岁）已超过 4.25 亿[1]，糖尿病已成为一个全球性的公共健康问题，中国以高达 1.14 亿的糖尿病患者数量位居全球第一位[2-3]。糖尿病对人体危害极大，但至今缺乏依从性高、长效[4]且安全[5]的治疗方法，所以近年来安全有效的降糖物质天然黄酮备受国内外学者高度关注，但天然黄酮来源不同其成分与功效截然不同[6]。蔡红蝶等发现当黄蜀葵花中二氢黄酮质量浓度提高到 20 μg/mL 时，可以增加肝糖摄取量 30%~40%[7]。作为 α-糖苷酶抑制剂的刺槐素可抑制细胞中多糖的水解反应[8]。给糖尿病大鼠按照每千克体质量 50 mg 的剂量标准注射二氢黄酮紫杉叶 3-O 鼠李甲基酸酯[9]，可减少食物摄入量，促进胰岛素分泌，通过借助钾离子通道转运，提高糖原合酶和糖原磷酸化酶水平，促进糖原合成，但其对正常大鼠的影响非常小。芦丁可促进体内胰岛素的分泌，增强骨骼肌或肝脏细胞摄取葡萄糖[10]，并降低糖尿病大鼠的血糖水平[11]。过氧化物酶体增殖物激活受体拮抗剂香叶木素[12]和刺槐素[13]能显著提高胰岛素的敏感性，对 STZ 糖尿病大鼠有明显降糖作用。

α-葡萄糖苷酶（α-glucosidase，AG）可催化低聚糖水解释放出葡萄糖。而 α-葡萄糖苷酶抑制剂（α-glucosidase inhibitors，AGI）具有保护胰岛细胞功能，可有效降低餐后血糖和改善多种糖尿病并发症。其药效主要发挥在阻断低聚糖水解释放葡萄糖途径抑、抑制 α-葡萄糖苷酶活性和减缓肠道对葡萄糖吸收过程 3 个方面，目前已成为治疗 2 型糖尿病的首选药物。虽然临床实践中已有伏格列波糖、米格列醇和阿卡波糖等药物，但这几种的 α-葡萄糖苷酶抑制剂均是源自微生物发酵，由 AGI 前体经生化合成修饰而得，因而普遍存在对糖类物质不完全分解导致的胃肠道反应剧烈和细胞耐药性增强等问题[14]。因此从天然产物中筛选安全、新颖、有效的 AGI 已成为预防和治疗糖尿病的研究热点。

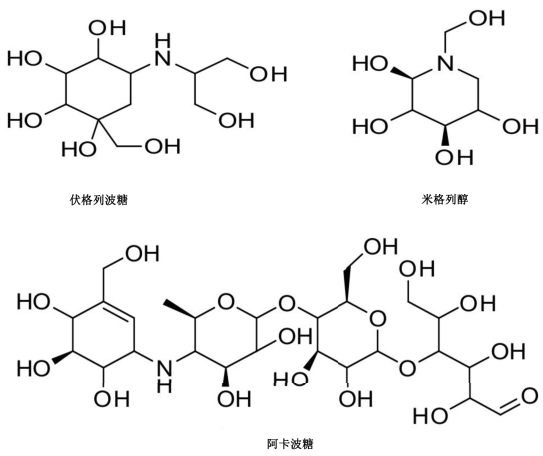


图 1 AGI 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of AGI

太行菊(*Opisthopappus taihangensis*)是中国特有珍稀物种,丛生于海拔 1 000 m 的峭壁之上,多耐荫耐寒耐旱,主要分布于豫、晋、冀三省太行山南麓。太行菊全株香气浓郁富含芳香油,干燥后香味持久,太行菊花经水蒸阴干后具有清肝明目和清热润喉的功效,作为药食兼用的野生植物资源极具开发价值。目前国内对太行菊醇提黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制活性的研究尚未见报道。作者以太行菊为研究对象,采用 α-葡萄糖苷酶体外筛选模型,对比太行菊醇提物不同极性萃取相黄酮的 α-葡萄糖苷酶抑制活性,分析酶促抑制反应动力学特征,为太行菊黄酮深入研发成为降血糖的药品或保健品提供药理基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料及试剂

野生种长裂太行菊:取材于冀南山区的河北涉县偏城镇和合漳乡。太行菊又称"野菊花",花期 4 个月,在五月份开花前收集其地上部分,采集时选取株高 4~10 cm 为宜。采后太行菊全株洗净,于 60 ℃鼓风干燥箱中烘干至恒质量,粉碎后过 60 目筛备用;α-glucosidase 和 p-nitrophenyl-α-*D*-galactopyranoside:Sigma 公司;PNP ≥99.5%、Acarbose≥99.5%和 DMSO:Macklin 公司。

1.2 不同极性萃取相太行菊黄酮的样品制备

精确称取干燥太行菊粉末 1 kg,按 1 g:10 mL 料液比加 70%体积分数乙醇超声,50 ℃浸提 60 min,提取 3 次后合并滤液并过滤,使用旋转蒸发仪浓缩即得太行菊醇提物浸膏。混悬液按照 1:5 体积比加入蒸馏水制得,依照石油醚、乙酸乙酯、正丁醇顺序萃取,每相萃取 3 次,旋转蒸发仪浓缩后可得到太行菊醇提物的石油醚相、乙酸乙酯相和正丁醇相,均置于 4 ℃冷藏备用[15]。

1.3 太行菊黄酮质量浓度的测定

绘制太行菊黄酮标准曲线[16],根据实验数据得到吸光度和黄酮质量浓度的回归方程:Y=0.048 7X+0.000 4,方程回归线性良好(R^2=0.999 5)。太行菊黄酮浓度测定:吸取供试样液 1 mL,加入体积分数 70%乙醇定容至 5 mL,加质量分数 5%的 $NaNO_2$ 0.3 mL,摇匀后静置 10 min;加入质量分数 10%的 $Al(NO_3)_3$ 0.3 mL,摇匀静置 10 min;加入质量分数 4%的 NaOH 4 mL,最后定容至 l0 mL,摇匀后静置 20 min,测定待测样液吸光度,根据回归方程计算其对应的黄酮质量浓度。

1.4 不同极性萃取相太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制作用

太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶活性抑制实验参考 Liu 等[17],并稍做改动。首先缓冲液(PBS)选用 pH 6.8 浓度 0.1 mol/L 的磷酸盐,配制 0.5 mmol/L 底物 PNPG 溶液和 0.04 U/mL α-葡萄糖苷酶溶液。取酶液 40 μL 和样品 40 μL 于试管中,水浴 37 ℃加热 5 min,加 20 μL 底物 PNPG 溶液,反应体系置于 37 ℃水浴锅中处理 30 min,终止反应试剂为 50 μL 的 0.2 mol/L Na_2CO_3 溶液,室温(25 ℃)处理 5 min。酶标仪于 405 nm 处测定吸光值 A_x。反应体系不同处理组的反应配置见表 1,设置阿卡波糖作为对照组,每个处理设置 3 个重复,按式(1)计算抑制率I_R。

表 1 α-葡萄糖苷酶活性抑制试验反应体系

Table 1 Reaction system configuration for inhibiting α-glucosidase

组别	α-葡萄糖苷酶	抑制剂	PBS	PNPG	Na_2CO_3
A_1	40	40	0	20	50
A_2	0	40	40	20	50
A_3	40	0	40	20	50
A_4	0	0	80	20	50

$$I_R=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_3-A_4}\right)\times 100\% \quad (1)$$

式中:I_R 为抑制率,%;A_1 为样品组吸光度;A_2 为阳

性对照组吸光度;A_3为空白组吸光度;A_4为空白对照组吸光度。

1.5 不同极性萃取相中太行菊黄酮对α-葡萄糖苷酶抑制动力学研究

酶动力学实验参照 Zhu[18]方法并稍做修改。底物 PNPG 的浓度固定不变，调整 α-葡萄糖苷酶的浓度和太行菊黄酮质量浓度:0、2、4、6 mg/mL,采用酶标仪于 405 nm 处测定反应体系的吸光值，并计算酶反应速率 V,单位 mmol/(L·min)。根据 V 与[S]之间的映射拟合回归曲线判断酶促抑制反应是否可逆。α-葡萄糖苷酶浓度固定不变,选取太行菊不同极性萃取相的黄酮作为抑制剂，测定底物 PNPG 浓度下的 α-葡萄糖苷酶的酶促反应速率。最后以 1/[S]为横坐标,1/V 为纵坐标,将 1/V 对 1/[S]进行 Lineweaver-Burk 法回归作图分析,求得 K_m 和 V_{max},判定不同太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶活性的可逆抑制类型。按式(2)和(3)计算 V_{max} 和 K_m。

$$V=\frac{V_{max}[S]}{K_m+[S]} \quad (2)$$

$$\frac{1}{V}=\frac{K_m}{V_{max}}\times\frac{1}{[S]}+\frac{1}{V_{max}} \quad (3)$$

1.6 数据的统计分析

结果数据用 $x\pm s$ 表示，用 SPSS 26.0 软件进行方差分析和多重比较,相关性分析采用 pearson 法,P<0.01 为差异极显著,P<0.05 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同极性萃取相太行菊黄酮对α-葡萄糖苷酶抑制活性

将太行菊醇提取物的不同极性萃取相分别浓缩成浸膏,测定各浸膏的黄酮质量分数,结果见表 2。太行菊醇提取物在不同极性萃取相中的黄酮质量分数差异较大,其中乙酸乙酯相和正丁醇相中的黄酮质量分数分别为(83.46±1.24) mg/g 和(56.73±1.01) mg/g,均显著高于其他萃取相(P<0.05);且石油醚相和残余水相中的黄酮质量分数较少,分别为(4.15±0.21) mg/g 和(2.02±0.09) mg/g,两相之间差异不显著(P>0.05)。由于太行菊黄酮的极性与乙酸乙酯及正丁醇相似,所以萃取后太行菊黄酮主要富集在乙酸乙酯和正丁醇中。

将上述样品均复溶于无水乙醇,测定各萃取相中太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用。结果如表 2，太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶活性强弱为:乙酸乙酯相>正丁醇相>残余水相>石油醚相（P<0.05),而且乙酸乙酯相和正丁醇相中黄酮抑制活性显著高于残余水相和石油醚相中黄酮抑制活性(P<0.05)。综上所述,太行菊黄酮在乙酸乙酯相和正丁醇相中对 α-葡萄糖苷酶抑制活性均强于其他萃取相。

表 2 太行菊黄酮在不同极性萃取相中对α-葡萄糖苷酶抑制活性

Table 2 Inhibition rate of α-glucosidase by FOT in different solvents

指标	浸膏质量/g	黄酮质量分数/(mg/g)	α-葡萄糖苷酶抑制率/%
石油醚相	49.22±4.46^b	4.15±0.21^c	15.07±1.03^c
乙酸乙酯相	28.93±1.57^c	83.46±1.24^a	54.18±2.19^a
正丁醇相	30.46±1.76^c	56.73±1.01^b	32.53±2.14^b
剩余水相	274.56±8.33^a	2.02±0.09^c	7.61±0.43^d

注:a、b、c、d 表示组间在 P<0.05 水平上统计学显著性

2.2 太行菊黄酮对α-葡萄糖苷酶抑制活性相关性分析

将 α-葡萄糖苷酶抑制活性与太行菊不同极性萃取相的黄酮质量分数做相关性研究,结果显示见表 3。各萃取相黄酮质量分数与 α-葡萄糖苷酶抑制活性呈正相关,其中乙酸乙酯相和正丁醇相的黄酮质量分数与 α-葡萄糖苷酶抑制活性相关系数达到极显著水平(P<0.01),且残余水相和石油醚相的黄酮质量分数与 α-葡萄糖苷酶抑制活性相关系数差异不显著(P>0.05)。因此可推测太行菊黄酮是对 α-葡萄糖苷酶产生抑制作用的主要活性物质。

2.3 太行菊黄酮对α-葡萄糖苷酶抑制活性

作者测定了不同质量浓度的太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制活性,太行菊不同极性萃取相黄酮对 α-葡萄糖苷酶均显示出不同程度抑制作用,而且抑制效果与黄酮质量浓度之间呈现明显的剂量效应关系。图 2(a)中乙酸乙酯相和正丁醇相黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制效果高于阳性对照阿卡波糖,而图 2(b)中残余水相和石油醚相中太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制效果低于阳性对照阿卡波糖。

表 3　太行菊黄酮在不同极性萃取相中对 α-葡萄糖苷酶抑制活性相关性

Table 3　Correlations between inhibition rate of α-glucosidase by FOT in different solvents

指标	石油醚相	乙酸乙酯相	正丁醇相	剩余水相	α-葡萄糖苷酶抑制率
石油醚相	1				
乙酸乙酯相	0.812 7	1			
正丁醇相	0.813 2	0.957 7*	1		
剩余水相	0.759 3	0.865 3	0.887 4	1	
α-葡萄糖苷酶抑制率	0.857 4	0.926 4**	0.901 8**	0.854 8	1

注：* 表示组间在 $P<0.05$ 水平上统计学显著性，** 表示组间在 $P<0.01$ 水平上统计学显著性。

经过回归方程拟合可得乙酸乙酯(IC_{50}=1.01 mg/mL)<正丁醇 (IC_{50}=1.25 mg/mL)<阿卡波糖(IC_{50}=1.47 mg/mL)<残余水相 (IC_{50}=1.77 mg/mL)<石油醚(IC_{50}=2.12 mg/mL)。

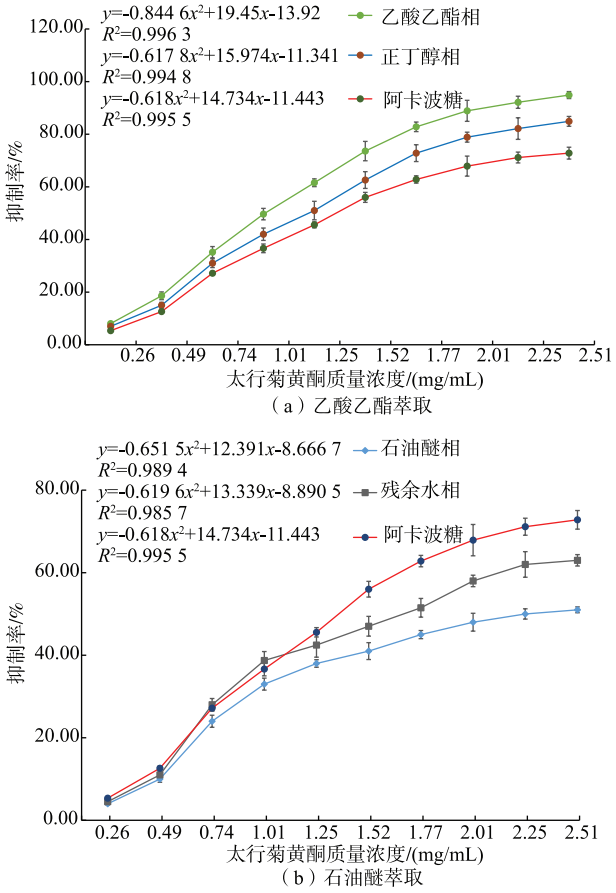


图 2　太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制曲线

Fig. 2　Inhibition curve of α-glucosidase by FOT

2.4　太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制作用类型

依据酶与抑制剂结合反应特点，抑制分为可逆与不可逆 2 种类型。当可逆抑制剂加入酶促反应体系中时，回归直线截距为 0，且斜率随着抑制剂质量浓度增加而变小。当不可逆抑制剂加入酶促体系时，回归直线截距不等于 0[19]。太行菊黄酮质量浓度对 α-葡萄糖苷酶的抑制动力学曲线见图 3，向酶促反应体系中添加(0、2、4、6 mg/mL)太行菊黄酮后得到 4 条截距为 0 的回归直线，且直线的斜率与黄酮质量浓度成反比。据此，太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制类型属于可逆抑制。

2.5　太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制作用动力学特征

可逆抑制酶促反应分为非竞争性、竞争性、反竞争性和混合型 4 种类型。混合类型有竞争与非竞争的混合型、竞争与反竞争的混合型 2 种。如图 4 所示，当 α-葡萄糖苷酶浓度固定不变，而调整反应体系中太行菊黄酮和 PNPG 的质量浓度，测定酶促抑制体系反应速率 V，依据 Lineweaver-Burk 法绘制 V 对[S]的双倒数曲线。

由图 4(a)和(b)酶促反应体系中添加不同质量浓度梯度太行菊黄酮时，乙酸乙酯相和正丁醇相反应方程直线与空白对照组直线于第二象限相交，随着太行菊黄酮质量浓度的增加，K_m 逐渐升高，而 V_{max} 却在逐渐降低，这种变化趋势特征是混合抑制类型中竞争与非竞争的关系，即正丁醇相和乙酸乙酯相中太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶是竞争与非竞争的混合抑制类型。酶促体系中添加不同质量浓度梯度太行菊黄酮时，残余水相(图 4(c))和石油醚相(d) 反应方程直线与空白组直线于第三象限相交，随着太行菊黄酮质量浓度的增加，K_m 和 V_{max} 都逐渐降低(表 4)，这种变化趋势特征符合混合抑制中竞争与反竞争的关系[20]，即残余水相和石油醚相中太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶是竞争与反竞争的混合抑制类型。由于太行菊黄酮与 α-葡萄糖苷酶二者结合位点的多样性，导致太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制类型的复杂性。

依据 Lineweaver-Burk 法绘制 V 对[S]的双倒数

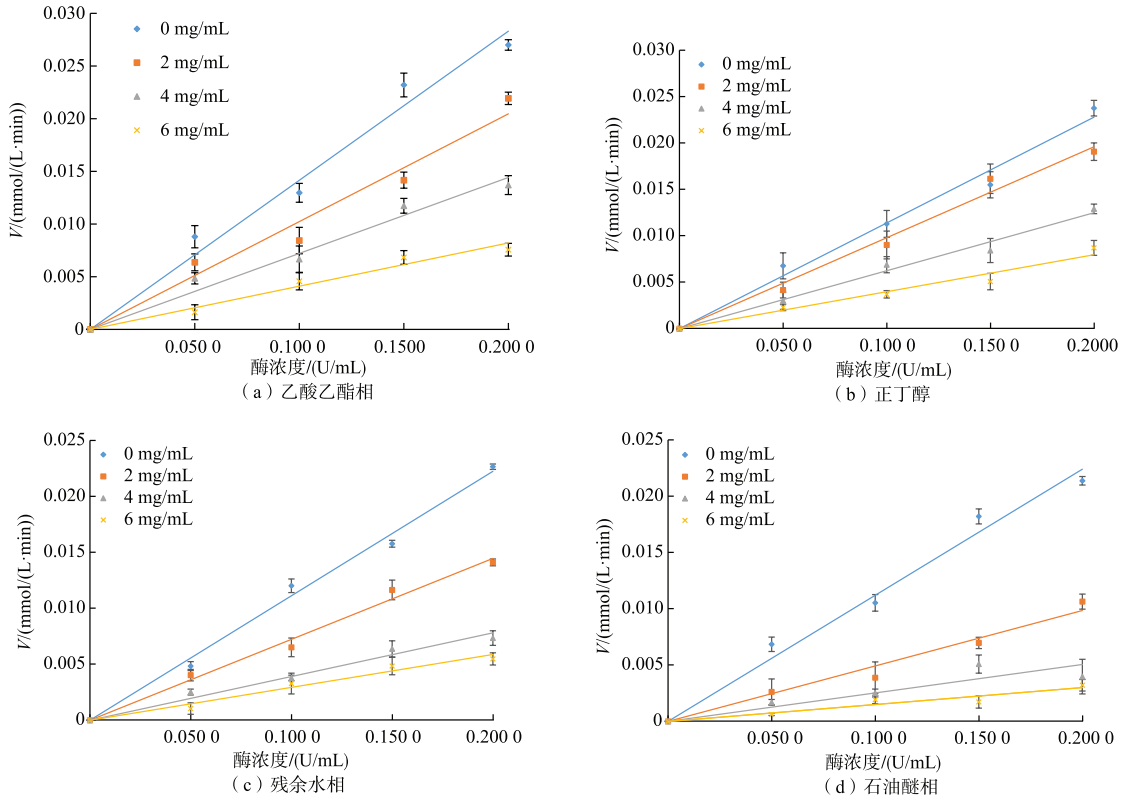


图 3　太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制作用类型

Fig. 3　Kinetics curves of inhibition on α-glucosidase by FOT

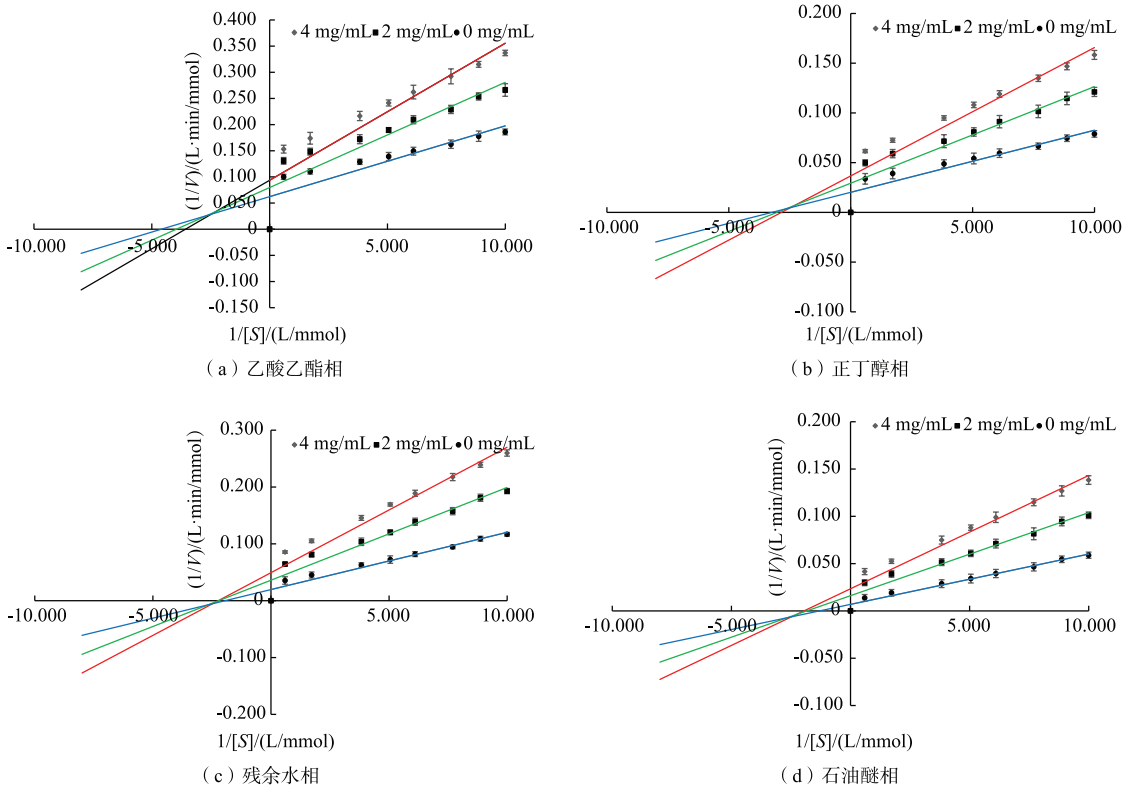


图 4　太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制作用 Lineweaver-Burk 动力学曲线

Fig. 4　Lineweaver-Burk curve of inhibition of α-glucosidase by FOT

曲线，通过方程组联立计算太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶抑制反应体系中 K_m 和 V_{max}，比较 2 个关键参数的变化特征趋势，由此推断酶促反应可逆抑制类型，见表 4。

表 4　太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制动力学回归方程参数

Table 4　Kinetic inhibition parameters of α-glucosidase by FOT

样品	黄酮质量浓度/(mg/mL)	回归方程	R^2	K_m/(mmol/L)	V_{max}/(mmol/L·min)
乙酸乙酯相	0	$1/V=0.009\ 4/[S]+0.092\ 6$	0.997 4	0.186	48.17
	2	$1/V=0.014\ 8/[S]+0.118\ 6$	0.996 0	0.193	36.53
	4	$1/V=0.019\ 8/[S]+0.140\ 3$	0.999 8	0.25	28.33
正丁醇相	0	$1/V=0.004\ 9/[S]+0.029\ 7$	0.997 4	0.199	34.72
	2	$1/V=0.007\ 8/[S]+0.043\ 4$	0.996 0	0.254	36.55
	4	$1/V=0.010\ 4/[S]+0.054\ 9$	0.999 8	0.283	21.66
剩余水相	0	$1/V=0.008\ 9/[S]+0.028\ 3$	0.997 4	0.421	33.56
	2	$1/V=0.014/[S]+0.052\ 9$	0.996 0	0.313	30.21
	4	$1/V=0.018\ 7/[S]+0.073\ 5$	0.999 8	0.129	19.8
石油醚相	0	$1/V=0.004\ 9/[S]+0.009\ 7$	0.997 4	0.378	32.7
	2	$1/V=0.007\ 8/[S]+0.023\ 4$	0.996 0	0.216	25.4
	4	$1/V=0.010\ 4/[S]+0.034\ 9$	0.999 8	0.188	18.5

3 结　语

作者采用体外筛选模型，考察太行菊醇提物的乙酸乙酯相、正丁醇相、残余水相和石油醚相中黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制活性，发现太行菊不同极性萃取相黄酮对 α-葡萄糖苷酶均显示出不同程度抑制作用，而且抑制效果与黄酮质量浓度之间呈现明显的剂量效应关系。其中由乙酸乙酯相和正丁醇相的黄酮质量分数对 α-葡萄糖苷酶抑制活性均显著高于其他萃取相，高于阳性对照阿卡波糖，而残余水相和石油醚相中黄酮对 α-葡萄糖苷酶的抑制效果低于阳性对照阿卡波糖。经过回归方程拟合可得乙酸乙酯（IC_{50}=1.01 mg/mL）<正丁醇（IC_{50}=1.25 mg/mL）<阿卡波糖（IC_{50}=1.47 mg/mL）<残余水相（IC_{50}=1.77 mg/mL）<石油醚（IC_{50}=2.12 mg/mL）。初步确定太行菊醇提物乙酸乙酯相和正丁醇相中太行菊黄酮为抑制 α-葡萄糖苷酶活性的有效活性物质。通过酶抑制动力学实验分析太行菊黄酮抑制 α-葡萄糖苷酶作用类型。其中乙酸乙酯相和正丁醇相中太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶活性是竞争与非竞争的混合抑制类型。残余水相和石油醚相中太行菊黄酮对 α-葡萄糖苷酶活性是混合抑制类型中竞争与反竞争的关系。综上所述，研发太行菊黄酮降血糖药品或保健品具有巨大的市场潜力，有望将乙酸乙酯相和正丁醇相太行菊黄酮开发为新型 α-葡萄糖苷酶抑制剂。但太行菊醇提物黄酮成分复杂，需要在单体分析鉴别的基础上进一步做药理药代的深入分析。本研究结果为太行菊黄酮抑制 α-葡萄糖苷酶提供了科学依据，对于提升太行菊的附加值和太行菊食药资源的高效利用具有指导意义。

参考文献：

[1] 国际糖尿病联合会. IDF 糖尿病地图集第 8 版[R]. 布鲁塞尔：国际糖尿病联合会，2017.

[2] SELEEM D，PARDI V，RAMIRO M M. Review of flavonoids：A diverse group of natural compounds with anti-Candida albicans，activity *in vitro*[J]. **Archives of Oral Biology**，2017，76：76-83.

[3] MA Y Q，WANG X，GAO S. Hypoglycemic activity of polysaccharides from sweet corncob on streptozotocin-induced diabetic rats[J]. **Journal of Food Science**，2017，82(1)：1-6.

[4] 沈伟,宋磊,李赫宇. 蕨类植物黄酮类化学成分及生物活性研究进展[J]. 食品研究与开发,2015,36(17):186-188.

[5] 郭颖,辛念,戴荣继. 天然黄酮类化合物治疗2型糖尿病的机制研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2017(10):175-181.

[6] FAN M,SUN X,QIAN Y,et al. Effects of metal ions in tea polysaccharides on their *in vitro* antioxidant activity and hypoglycemic activity[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2018,113:418-426.

[7] 蔡红蝶,宿树兰,陶伟伟,等.黄蜀葵花中5种黄酮类化合物对肠道L细胞AGEs/RAGE/p38MAPK/NF-κB信号通路的调节作用[J].中国药理学通报,2017,33(6):798-805.

[8] 马利华,郁曼曼. 槐花醇提物对α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 食品工业,2019,40(4):161-164.

[9] 赵焕新,景援朝,白虹,等. 分心木中的化学成分及抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2016(7):54-57.

[10] BALAMURUGAN R,VENDAN S E,ARAVINTHAN A,et al. Isolation and structural characterization of 2R,3R taxifolin 3-O-rhamnoside from ethyl acetate extract of *Hydnocarpus alpine* and its hypoglycemic effect by attenuating hepatic key enzymes of glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. **Biochimie**,2015,111:70-81.

[11] 宋菲,张玉锋,郭玉如,等.槟榔提取物对α-葡萄糖苷酶的抑制作用研究[J]. 食品研究与开发,2019,40(13):78-83.

[12] 宋昱,黎玉梅,史丽颖,等.金花茶种子对α-葡萄糖苷酶活性的抑制作用研究[J]. 时珍国医国药,2019,30(6):1292-1294.

[13] KRUTZKAYA J R,FERNANDO B,OMAR N M C,et al. Hypoglycemic,antihyperglycemic and antioxidant effects of the edible plant *Anoda cristata*[J]. **Journal of Ethnopharmacol**,2015,161:36-45.

[14] LIU D M,CHEN J,SHI Y P. Screening of enzyme inhibitors from traditional Chinese medicine by magnetic immobilized α-glucosidase coupled with capillary electrophoresis[J]. **Talanta**,2017,164:548-555.

[15] 冯学珍,覃慧逢,赵丽婷,等.食用海藻中α-葡萄糖苷酶抑制剂的筛选及抑制动力学[J]. 食品工业,2019,40(6):195-198.

[16] 赖小燕,姜泽东,倪辉,等.茶花粉黄酮对α-葡萄糖苷酶抑制作用的研究[J]. 食品工业科技,2016,37(5):353-357.

[17] LIU Q,HU H J,LI P F,et al. Diterpenoids and phenylethanoid glycosides from the roots of *Clerodendrum bungei* and their inhibitory effects against angiotensin converting enzyme and α-glucosidase[J]. **Phytochemistry**,2014,103:196-202.

[18] ZHU J,CHEN C,ZHANG B,et al. The inhibitory effects of flavonoids on α-amylase and α-glucosidase[J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**,2020,60(4):695-708.

[19] ADO M A,MEDIANI A,MAULIDIANI,et al. Flavonoids from *Cynometra cauliflora* and their antioxidant,α-glucosidase,and cholinesterase inhibitory activities[J]. **Chemistry of Natural Compounds**,2019,55(1):112-114.

[20] KE L,FAN Y,QIANG X,et al. Inhibitory effects against α-glucosidase and α-amylase of the flavonoids-rich extract from *Scutellaria baicalensis* shoots and interpretation of structure-activity relationship of its eight flavonoids by a refined assign-score method[J]. **Chemistry Central Journal**,2018,12(1):82-93.