

# 溶剂极性对沙棘渣提取物组成及体外降血糖、降血脂活性的影响

王旭<sup>1</sup>, 孔志强<sup>1</sup>, 赵玉红<sup>1,2\*</sup>

(1. 东北林业大学 林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省森林食品资源利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** 采用不同极性溶剂经超声波辅助对沙棘果渣和籽渣进行了提取, 评价了沙棘渣中活性成分含量及其体外降血糖和降血脂能力, 结合超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q-Orbitrap HRMS) 对沙棘渣中活性成分进行了鉴定。结果表明, 溶剂极性对提取物得率及降血糖、降血脂能力有显著影响, 其中由体积分数为 60%乙醇水溶液 (记为 60%乙醇, 下同) 提取的提取物具有最高的提取物得率, 果渣提取物中总多酚含量 [(11.08±0.29) mg/g]、总黄酮含量 [(6.49±0.17) mg/g] 和原花青素含量 [(6.58±0.20) mg/g] 最高。籽渣的 80%乙醇提取物中总多酚含量 [(25.70±0.18) mg/g] 最高, 籽渣丙酮提取物中总黄酮含量 [(18.25±0.19) mg/g]、原花青素含量 [(26.98±0.26) mg/g] 最高。沙棘果渣和籽渣丙酮提取物具有最好的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶与  $\alpha$ -淀粉酶活性抑制能力。籽渣 80%乙醇提取物、果渣 60%乙醇提取物具有最好的甘氨酸胆酸钠和牛磺胆酸钠结合能力。原花青素是籽渣提取物体外降血脂、降血糖活性主要贡献者。果渣提取物中的总多酚与降血脂能力显著相关。从沙棘渣提取物中共鉴定出 37 种化合物, 主要为黄酮和萜类成分。

**关键词:** 沙棘渣; 活性成分; 降血糖作用; 降血脂作用; 中药现代化技术

中图分类号: TQ460.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2022) 10-2060-09

## Effect of solvent polarity on composition, *in vitro* hypoglycemic and hypolipidemic activities of extracts from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) residue

WANG Xu<sup>1</sup>, KONG Zhiqiang<sup>1</sup>, ZHAO Yuhong<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China; 2. Key Laboratory of Forest Food Resources Utilization of Heilongjiang Province, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Active components were extracted from seabuckthorn residue by solvents with different polarity *via* ultrasonic assistance, and identified by ultra-high performance liquid chromatography tandem quadrupole electrostatic field orbital trap high resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Orbitrap HRMS), followed by evaluation of their content and *in vitro* hypoglycemic and hypolipidemic activities to explore the influence of solvent polarity. The results showed that solvent polarity had significant effect on extraction yield of extracts, and their hypoglycemic and hypolipidemic performance. Highest yield of extract was obtained using volume fraction 60% aqueous ethanol (denoted as 60% ethanol, the same below), while extract from fruit residue by 60% ethanol had the highest total polyphenol content [(11.08±0.29) mg/g], total flavonoids content [(6.49±0.17) mg/g] and proanthocyanidin content [(6.58±0.20) mg/g]. The total polyphenol content [(25.70±0.18) mg/g] in extract from seed residue by 80% ethanol was the highest, and the total flavonoids content [(18.25±0.19) mg/g] and proanthocyanidins content [(26.98±0.26) mg/g] in

收稿日期: 2022-03-02; 定用日期: 2022-05-05; DOI: 10.13550/j.jxhg.20220176

基金项目: 黑龙江省应用技术研究及开发计划项目 (GA19C106)

作者简介: 王旭 (1997—), 女, 硕士生, E-mail: 754438679@qq.com. 联系人: 赵玉红 (1968—), 女, 副教授, E-mail: zhaoyuhong08@163.com.

extract by acetone were the highest. Extracts from seabuckthorn fruit and seed residue by acetone displayed best inhibitory activities for  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase. Extracts from seed residue by 80% ethanol and from fruit residue by 60% ethanol exhibited best binding ability to sodium glycinate and sodium taurocholate. It was also found that procyanidins were the main contributors to the *in vitro* hypoglycemic and hypolipidemic activities, and the total polyphenols in fruit residue extract were significantly correlated with hypolipidemic capacity. A total of 37 compounds, mainly flavonoids and terpenes, identified.

**Key words:** seabuckthorn residue; active ingredient; hypoglycemic; hypolipidemic; modernization technology of traditional Chinese medicines

糖尿病是一种多因素的慢性代谢紊乱疾病, 主要表现为高血糖、血脂异常、胰岛素抵抗和相对缺乏胰岛素<sup>[1]</sup>。高血脂症血脂水平与冠心病、动脉粥样硬化等心血管疾病的形成密切相关<sup>[2]</sup>。糖尿病及高血脂症已成为影响人类生命健康的两大流行疾病。医药市场上常用的降糖、降脂药物, 如双胍类和他汀类药物在长期使用后通常会产生不良反应甚至毒性。因此, 有必要不断寻找高效、低毒的替代药物和天然药物<sup>[3]</sup>。

沙棘 (*Hippophae rhamnoides* L.) 又名酸刺、醋柳等, 是胡颓子科酸刺属的小乔木或灌木, 主要分布在中国的西北、西南和华北地区<sup>[4]</sup>。沙棘果渣和籽渣作为沙棘的副产品之一, 富含多种生物活性物质, 如黄酮、多酚、不饱和脂肪酸、生育酚和植物甾醇等, 具有抗氧化、抗衰老、降血糖、免疫调节和保护心血管等多种保健功效<sup>[5]</sup>。然而, 这些沙棘残渣大部分用作饲料, 或者被丢弃, 造成了巨大的资源浪费。因而, 对沙棘残渣中有效成分进行开发利用具有重要意义。酚类化合物是沙棘残渣中重要的活性成分, 具有清除自由基、降血糖、抑菌等功效<sup>[6]</sup>。有机溶剂提取法是从植物中提取酚类化合物最常用的方法。常用的有机溶剂有甲醇、乙醇和丙酮及其水溶液等。由于不同植物中化学组成存在差异, 最适提取溶剂不同。PINTA 等<sup>[7]</sup>研究不同溶剂对葡萄渣多酚提取时发现, 乙酸乙酯比乙醇水溶液具有更高的多酚提取效率。MENESES 等<sup>[8]</sup>发现, 提取溶剂为体积分数 60% 丙酮水溶液时, 啤酒糟中多酚的提取效率最高。目前, 沙棘残渣多酚的提取溶剂主要是水、丙酮和乙醇的水溶液, 但有关溶剂极性对沙棘残渣提取物组分及降血糖、降血脂活性的影响鲜见报道。

本研究拟以沙棘果渣、籽渣为原料, 考察不同极性溶剂对沙棘残渣中生物活性成分含量的影响, 并比较提取物体外降血糖、降血脂活性的差异, 同时对两者活性成分进行鉴定, 旨在为将沙棘残渣提取物应用于糖尿病和高血脂症患者的特殊膳食和保健食品中提供理论依据, 为提高沙棘废渣资源的综合利用和产品附加值提供参考。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

沙棘果渣、籽渣, 品种为深秋红, 黑龙江省黑河市孙吴县长乐山大果沙棘开发有限公司, 置于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  贮藏; 蒸馏水、甲醇、无水乙醇, AR, 天津市津宇精细化工有限公司;  $\alpha$ -淀粉酶 (猪胰腺)、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶、4-硝基苯基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG)、甘氨酸胆酸钠、牛磺胆酸钠、胃蛋白酶、胰蛋白酶、辛伐他汀、阿卡波糖、没食子酸、芦丁、儿茶素, AR, 上海源叶生物科技有限公司。

TDL-40B 离心机, 湖南星科科学仪器有限公司; 722S 紫外-可见分光光度计, 上海第三分析仪器厂; RE-52 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器公司; KQ-500DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; ELx800 酶标仪, 美国 BioTek 公司; Vanquish 型超高效液相色谱联用 Q Exactive Focus 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪 (UPLC-Q-Orbitrap HRMS), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 沙棘果渣、籽渣不同溶剂提取物的制备

沙棘果渣 (去籽)、籽渣烘干粉碎后, 过 60 目筛, 准确称取 30.0 g 沙棘渣干粉, 用滤纸包好, 置于索氏提取器中, 以料液比 1:10 (g:mL, 下同) 加入石油醚 (沸程为  $30\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ),  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴加热回流 8~12 h, 除去其中的脂溶性物质, 得到脱脂后的沙棘果渣、籽渣粉末。准确称取脱脂后的沙棘果渣、籽渣粉末, 每份 15.0 g, 以料液比 1:15 分别与蒸馏水、甲醇、无水乙醇、丙酮、正丁醇、乙酸乙酯及体积分数为 20%、40%、60% 和 80% 的乙醇水溶液 (分别简称为 20% 乙醇、40% 乙醇、60% 乙醇和 80% 乙醇, 下同) 混合, 在  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  下, 恒温超声强化提取 30 min, 超声功率为 320 W, 重复 2 次, 合并上清液, 过滤, 使用旋转蒸发器浓缩至膏状,  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  干燥 24 h, 备用。按式 (1) 计算提取物得率:

$$\text{提取物得率}/\% = m/m_0 \times 100 \quad (1)$$

式中:  $m$  为提取物干燥后的质量, g;  $m_0$  为用于提取的脱脂后的沙棘渣质量, g。

后续测试样品的蒸馏水提取物以蒸馏水为溶剂,其余各提取物以无水乙醇为溶剂,将样品配制到需要的质量浓度,现用现配。

### 1.2.2 活性物质含量的测定

以没食子酸为标准品,采用福林酚法<sup>[9]</sup>测定总多酚含量,得到没食子酸质量浓度  $x$  (g/L) 与吸光度  $y$  的标准曲线方程为  $y=1.3065x-0.0148$  (相关系数  $R^2=0.9993$ )。以芦丁为标准品,采用 UV 法测定总黄酮含量<sup>[10]</sup>,得到芦丁质量浓度  $x$  (g/L) 与吸光度  $y$  的标准曲线方程为  $y=3.0829x+0.0008$  ( $R^2=0.9995$ )。以儿茶素为标准品,采用盐酸-香草醛法<sup>[11]</sup>测定原花青素含量,得到儿茶素质量浓度  $x$  (g/L) 与吸光度  $y$  的标准曲线方程为  $y=1.9236x-0.0243$  ( $R^2=0.9992$ )。总多酚、总黄酮和原花青素含量以每克沙棘渣不同极性溶剂提取物中含有标准品的质量 (mg/g) 表示。

### 1.2.3 体外降血糖能力的测定

#### 1.2.3.1 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制能力的测定

采用 ZHANG 等<sup>[12]</sup>描述的方法略作修改。先在 96 孔板内加入 250  $\mu$ L 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 6.8) 和 50  $\mu$ L 0.01776 mol/L PNPG (PNPG 和酶溶液均以 pH 6.8 的 0.05 mol/L PBS 配制),再加入 50  $\mu$ L 不同梯度质量浓度的样品和 50  $\mu$ L 0.10 U/mL  $\alpha$ -葡萄糖苷酶溶液,37  $^{\circ}$ C 水浴 20 min 后,加入 100  $\mu$ L 1.0 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  水溶液终止反应,在 405 nm 波长下测定混合物的吸光度。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率按式 (2) 进行计算:

$$\text{抑制率}/\% = \left[ 1 - \frac{A_2 - A_4}{A_1 - A_3} \right] \times 100 \quad (2)$$

式中:  $A_2$  为混合物的吸光度;  $A_4$  为使用 PBS 代替酶溶液的混合物吸光度;  $A_1$  为使用 PBS 代替样品的混合物吸光度;  $A_3$  为使用 PBS 代替样品和酶溶液的混合物吸光度。

#### 1.2.3.2 $\alpha$ -淀粉酶活性抑制能力的测定

根据 PODSEDEK 等<sup>[13]</sup>描述的方法稍加修改。将 20  $\mu$ L 质量分数为 0.2% 可溶性淀粉水溶液、20  $\mu$ L 不同梯度质量浓度的样品或 0.1 mol/L PBS (pH 6.9) 与 20  $\mu$ L 1.0 U/mL  $\alpha$ -淀粉酶混合溶于 96 孔板开始酶反应。在 37  $^{\circ}$ C 下水浴 10 min 后,加入 80  $\mu$ L 0.4 mol/L 盐酸水溶液终止反应。最后加入 100  $\mu$ L 5 mmol/L  $\text{I}_2$ -KI 溶液,并在 600 nm 波长下测定混合物的吸光度。 $\alpha$ -淀粉酶抑制率按式 (3) 计算:

$$\text{抑制率}/\% = \left[ 1 - \frac{A'_2 - A'_4}{A'_1 - A'_3} \right] \times 100 \quad (3)$$

式中:  $A'_2$  为混合物的吸光度;  $A'_4$  为使用 PBS 代替酶溶液的混合物吸光度;  $A'_1$  为使用 PBS 代替样品的混合物吸光度;  $A'_3$  为使用 PBS 代替样品和酶溶液的混合物吸光度。

### 1.2.4 体外降血脂能力测定

#### 1.2.4.1 胆酸盐标准曲线的绘制

参考文献[14]方法测定,略作修改。分别取 2 mL 不同质量浓度的两种胆酸盐溶液于具塞试管中,加入 6 mL 质量分数 60% 的硫酸,70  $^{\circ}$ C 水浴 20 min,冷却至室温,在波长 387 nm 处测定其吸光度,得到胆酸盐浓度  $x$  (mmol/L) 与吸光度  $y$  的标准曲线方程为:牛磺胆酸钠,  $y=1.5042x+0.087$  ( $R^2=0.9996$ ); 甘氨酸胆酸钠,  $y=1.9141x+0.1021$  ( $R^2=0.9993$ )。

#### 1.2.4.2 胆酸盐结合率的测定

参考文献[15]方法,略作修改。在 100 mL 具塞三角瓶中加入 3 mL 质量浓度为 5 g/L 的样品,再加入 3 mL 10 g/L 胃蛋白酶(酶溶液和胆酸盐溶液均以 pH 6.3 的 0.1 mol/L PBS 配制)和 1 mL 0.01 mol/L 的盐酸,模拟胃环境,在 37  $^{\circ}$ C 恒温振荡消化 1 h;用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 6.3,随后加入 4 mL 质量浓度为 10 g/L 胰蛋白酶,模拟肠道环境,在 37  $^{\circ}$ C 恒温振荡消化 1 h。最后分别加入 4 mL 1 mmol/L 甘氨酸胆酸钠和牛磺胆酸钠溶液,在 37  $^{\circ}$ C 恒温振荡 1 h 后,将反应溶液在 4000 r/min 离心 15 min,对上清液中的胆酸盐含量进行分析,并按式 (4) 计算胆酸盐结合率:

$$\text{胆酸盐结合率}/\% = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100 \quad (4)$$

式中:  $C_1$  为反应溶液中初始胆酸盐的浓度, mmol/L;  $C_2$  为反应溶液中剩余胆酸盐的浓度, mmol/L。

### 1.2.5 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 测定

称取一定量干燥的沙棘渣提取物,用甲醇配制质量浓度为 0.1 g/L 的溶液,过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜后用于 HPLC-MS/MS 测定,在森林植物生态学教育部重点实验室——液质平台进行检测。液相色谱条件: Hyperil Gold 柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm $\times$ 1.9  $\mu$ m); 流动相 A 为体积分数 0.1% 的甲酸水溶液,流动相 B 为甲醇,梯度洗脱程序的时间和流动相 B 体积分数如下: 0~1 min, 2% B; 1~12 min, 2%~98% B; 12~15 min, 98%~2% B; 流速 0.35 mL/min, 柱温 40  $^{\circ}$ C, 自动进样 1  $\mu$ L。

质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI); 扫描方式为正负离子同时扫描; 喷雾电压 3800/3000 V(+/-); 鞘气流速 40 psi; 辅助气流速 10 psi; 毛细管温度 320  $^{\circ}$ C, 探头加热器温度 350  $^{\circ}$ C; S-Lens 分辨率为 60。扫描模式为全扫描,一级分辨率 70000,二级分辨率 17500,  $m/Z$  扫描范围: 70~1000。

### 1.3 数据分析

每组实验重复 3 次,结果以  $\bar{x} \pm s$  (平均值 $\pm$ 标准偏差) 表示,采用 Origin 2018 软件绘图,采用 SPSS 26.0 对数据进行统计学分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物得率及活性成分分析

沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物的得率、总多酚、总黄酮和原花青素含量见表 1。由表 1 可知, 在果渣、籽渣不同溶剂提取物中, 随着乙醇体积分数的增大, 其提取物得率呈先升高后下降的趋势, 60%乙醇提取物具有最高的提取物得率, 分别为

37.65%±1.86%和 29.60%±0.47%, 其次是蒸馏水提取物。无论采用哪种提取溶剂, 果渣提取物得率都高于籽渣提取物得率。这是由于果渣和籽渣化学成分的种类、数量、极性以及在溶剂中的溶解性不同, 提取物得率有所差异<sup>[17]</sup>。总体上, 随着提取溶剂极性的降低, 提取物得率呈下降趋势。ZAIDAN 等<sup>[18]</sup>研究了不同极性溶剂对甜菊提取物体外降血糖活性的影响, 结果发现, 提取物得率也随提取溶剂极性的降低而呈下降趋势。

表 1 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物得率、总多酚、总黄酮和原花青素含量

Table 1 Extraction yield, total polyphenols, total flavonoids and proanthocyanidin contents of seabuckthorn fruit and seed residue with different solvents

溶剂	提取物得率/%		总多酚含量/(mg/g)		总黄酮含量/(mg/g)		原花青素含量/(mg/g)	
	果渣	籽渣	果渣	籽渣	果渣	籽渣	果渣	籽渣
蒸馏水	28.73±1.26 <sup>Bf</sup>	25.30±0.34 <sup>Bi</sup>	4.88±0.16 <sup>Ac</sup>	14.14±0.11 <sup>Bc</sup>	1.75±0.26 <sup>Ac</sup>	6.19±0.09 <sup>Ba</sup>	4.88±0.16 <sup>Ac</sup>	7.27±0.17 <sup>Bb</sup>
甲醇	29.67±0.23 <sup>Bf</sup>	11.21±0.15 <sup>Af</sup>	9.53±0.20 <sup>Ag</sup>	24.28±1.20 <sup>Bf</sup>	3.69±0.53 <sup>Ac</sup>	13.67±0.45 <sup>Bg</sup>	5.97±0.23 <sup>Ade</sup>	15.40±0.32 <sup>Bf</sup>
20%乙醇	20.53±0.84 <sup>Bd</sup>	7.86±0.14 <sup>Ad</sup>	5.73±0.56 <sup>Ad</sup>	16.98±0.45 <sup>Bd</sup>	3.40±0.29 <sup>Ac</sup>	7.30±0.24 <sup>Bb</sup>	5.73±0.17 <sup>Ad</sup>	7.03±0.15 <sup>Bb</sup>
40%乙醇	26.07±1.04 <sup>Be</sup>	22.20±0.26 <sup>Ah</sup>	8.02±0.98 <sup>Af</sup>	18.89±0.14 <sup>Bc</sup>	5.38±0.14 <sup>Af</sup>	12.81±0.33 <sup>Bg</sup>	6.13±0.14 <sup>Ac</sup>	9.82±0.14 <sup>Bd</sup>
60%乙醇	37.65±1.86 <sup>Bg</sup>	29.60±0.47 <sup>Aj</sup>	11.08±0.29 <sup>Ah</sup>	24.24±0.26 <sup>Bf</sup>	6.49±0.17 <sup>Ab</sup>	14.23±0.11 <sup>Bf</sup>	6.58±0.20 <sup>Af</sup>	16.87±0.42 <sup>Bh</sup>
80%乙醇	29.30±1.52 <sup>Bf</sup>	13.60±0.15 <sup>Ag</sup>	6.41±0.54 <sup>Ac</sup>	25.70±0.18 <sup>Bg</sup>	4.13±0.07 <sup>Aa</sup>	9.92±0.14 <sup>Bc</sup>	5.21±0.17 <sup>Ac</sup>	16.13±0.28 <sup>Bg</sup>
无水乙醇	17.63±0.95 <sup>Bc</sup>	10.63±0.27 <sup>Ac</sup>	5.41±0.57 <sup>Ad</sup>	9.78±0.37 <sup>Bb</sup>	1.78±0.12 <sup>Ac</sup>	7.91±0.10 <sup>Bc</sup>	4.46±0.13 <sup>Ab</sup>	13.24±0.20 <sup>Be</sup>
丙酮	15.56±1.16 <sup>Bc</sup>	1.67±0.17 <sup>Ac</sup>	8.58±0.16 <sup>Af</sup>	23.86±0.29 <sup>Bf</sup>	2.56±0.15 <sup>d</sup>	18.25±0.19 <sup>Bh</sup>	5.98±0.15 <sup>Ade</sup>	26.98±0.26 <sup>Bi</sup>
正丁醇	13.00±0.76 <sup>Bb</sup>	1.33±0.09 <sup>Ab</sup>	1.82±0.42 <sup>Aa</sup>	4.17±0.15 <sup>Ba</sup>	1.13±0.19 <sup>Aa</sup>	9.34±0.21 <sup>Bd</sup>	4.14±0.13 <sup>Aa</sup>	6.57±0.14 <sup>Ba</sup>
乙酸乙酯	9.20±0.88 <sup>Ba</sup>	0.93±0.18 <sup>Aa</sup>	2.05±0.14 <sup>Ab</sup>	4.50±0.08 <sup>Ba</sup>	2.75±0.12 <sup>Ad</sup>	14.98±0.54 <sup>Bg</sup>	6.18±0.12 <sup>Ac</sup>	8.39±0.16 <sup>Bc</sup>

注: 同列小写字母不同表示不同溶剂提取物间差异显著 ( $P<0.05$ ); 同行大写字母不同表示相同溶剂果渣和籽渣提取物间差异显著 ( $P<0.05$ ), 下同。

沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物中总多酚含量为(2.05±0.14)~(25.70±0.18) mg/g, 其中以 80%乙醇为溶剂时, 籽渣提取物中的总多酚含量最高, 为(25.70±0.18) mg/g, 果渣 60%乙醇提取物中总多酚含量最高, 为(11.08±0.29) mg/g。对比不同溶剂提取物中总多酚含量, 60%乙醇是提取多酚类化合物的最佳溶剂, 其次是甲醇、丙酮, 乙酸乙酯和正丁醇对多酚类化合物的提取能力较差。可以得出, 高极性溶剂比低极性溶剂更能有效地从沙棘中提取多酚类化合物。

沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物中总黄酮含量为(1.13±0.19)~(18.25±0.19) mg/g, 不同溶剂提取物中, 含量最高的是籽渣的丙酮提取物, 为(18.25±0.19) mg/g, 其次是乙酸乙酯、60%乙醇和甲醇, 果渣 60%乙醇提取物中总黄酮含量为(6.49±0.17) mg/g。甲醇、无水乙醇提取物中总黄酮含量均明显高于其他有机溶剂, 表明甲醇、乙醇及其水溶液等强极性溶剂更适合沙棘黄酮类成分的提取, 同时乙酸乙酯也是提取黄酮类成分的有效溶剂。

不同溶剂对原花青素的提取表现出与总多酚和总黄酮不同的规律。籽渣丙酮提取物具有最高的原花青素含量 [(26.98±0.26) mg/g], 其次为 60%乙醇

[(16.87±0.42) mg/g]。而对于果渣来说, 60%乙醇提取物的原花青素含量最高, 为(6.58±0.20) mg/g。本研究发现, 丙酮对原花青素具有较高的提取效果, 说明沙棘籽渣中的原花青素在丙酮中有较好的溶解性, 周玮婧等<sup>[19]</sup>发现, 与甲醇和乙醇相比, 丙酮作为提取溶剂时, 荔枝皮原花青素提取得率更高。

### 2.2 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物体外降血糖能力测定

食物中碳水化合物的消化主要发生在小肠内,  $\alpha$ -淀粉酶产生线性麦芽糖和异麦芽糖寡糖链。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶进一步水解葡萄糖, 释放到血液中并被吸收, 导致餐后血糖升高。因此, 可以通过抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和  $\alpha$ -淀粉酶活性, 延缓小肠对葡萄糖的吸收, 达到最终降低血糖水平的目的<sup>[20]</sup>。

#### 2.2.1 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制作用分析

考察了沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率的影响, 结果见图 1。从图 1 可以看出, 当样品质量浓度在 0.2~1.0 g/L 之间, 所有提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶均有一定的抑制作用, 并具有质量浓度依赖性。当质量浓度为 1.0 g/L 时, 果渣和

籽渣的丙酮提取物的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率均为最高, 分别为 44.85%和 92.68%, 抑制率最低的是果渣蒸馏水提取物 (12.82%), 丙酮提取物的抑制率显著高于其他溶剂提取物的抑制率。

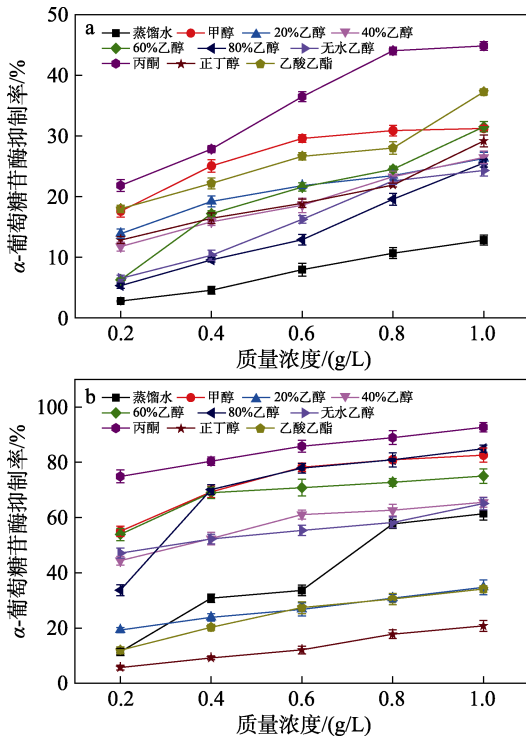


图 1 沙棘果渣 (a) 和籽渣 (b) 不同溶剂提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率的影响

Fig. 1 Effect of different solvent extracts from seabuckthorn fruit residue (a) and seed residue (b) on the inhibition rate of  $\alpha$ -glucosidase

2.2.2 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物的  $\alpha$ -淀粉酶活性抑制作用分析

考察了沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物对  $\alpha$ -淀粉酶抑制率的影响, 结果见图 2。由图 2 可知,  $\alpha$ -淀粉酶抑制实验也显示出与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶类似的趋势。所有提取物对  $\alpha$ -淀粉酶均有一定的抑制作用, 且当样品质量浓度在 0.5~2.5 g/L 之间, 质量浓度与  $\alpha$ -淀粉酶抑制作用呈量效关系。当提取物质量浓度为 2.5 g/L, 丙酮作为提取溶剂时, 果渣和籽渣提取物对  $\alpha$ -淀粉酶的抑制率最大, 分别达到 51.82%和 93.94%, 其次是甲醇提取物, 最低的是蒸馏水提取物。

沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和  $\alpha$ -淀粉酶活性抑制能力的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 见表 2。由表 2 可知, 籽渣提取物总体上对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性 [(0.06±0.01)~(4.17±0.10) g/L] 更高。在溶剂提取方面, 高极性溶剂提取物比低极性溶剂提取物的  $IC_{50}$  更小。其中, 丙酮提取物的抑制活性最强, 果渣和籽渣丙酮提取物的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶

$IC_{50}$  分别为(1.27±0.01)和(0.06±0.01) g/L, 而阿卡波糖的  $IC_{50}$  为(0.05±0) g/L。沙棘籽渣丙酮提取物的  $IC_{50}$  与阿卡波糖相差不大, 这表明沙棘籽渣提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶有较强的抑制作用。极性较强的丙酮提取物中含有较高含量的总多酚、总黄酮, 这些活性化合物通过与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶表面的氨基酸残基结合, 从而改变  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的构象, 扭曲活性部位并降低酶活性<sup>[21]</sup>。LI 等<sup>[22]</sup>发现, 沙棘籽渣提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有明显的抑制活性, 表明该提取物在 2 型糖尿病的管理和治疗中可能具有积极的作用。

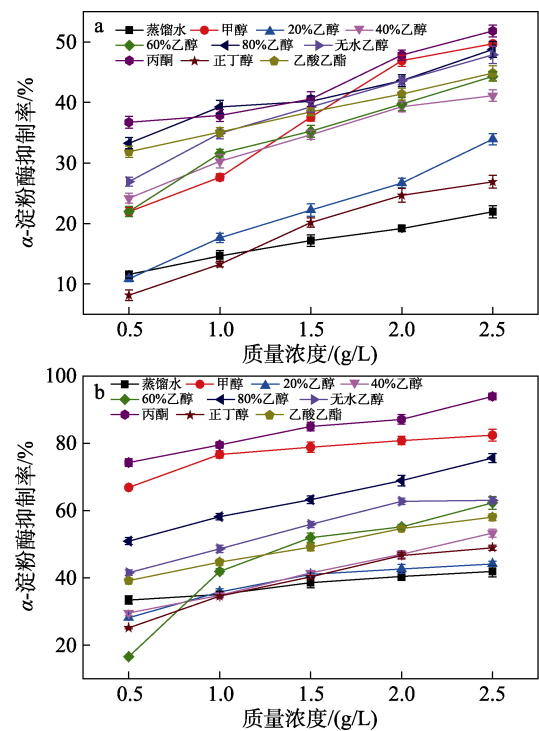


图 2 沙棘果渣 (a) 和籽渣 (b) 不同溶剂提取物对  $\alpha$ -淀粉酶抑制率的影响

Fig. 2 Effect of different solvent extracts from seabuckthorn fruit residue (a) and seed residue (b) on the inhibition rate of  $\alpha$ -amylase

由表 2 还可知, 籽渣丙酮提取物对  $\alpha$ -淀粉酶具有最强的抑制作用, 其  $IC_{50}$  为(0.18±0.03) g/L, 其次为甲醇提取物 [(0.20±0.01) g/L]。对果渣来说, 丙酮提取物对  $\alpha$ -淀粉酶抑制活性最高, 其次为 80%乙醇和甲醇。如前所述, 籽渣提取物对  $\alpha$ -淀粉酶有很强的抑制活性, 其中, 丙酮提取物  $IC_{50}$  为(0.18±0.03) g/L 与阿卡波糖  $IC_{50}$  [(0.07±0.01) g/L] 相当。总多酚、总黄酮和原花青素类活性物质在丙酮和甲醇提取物中含量较高, 这些活性物质可以通过疏水相互作用与活性位点/酶分子结合抑制  $\alpha$ -淀粉酶活性, 这与对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用相似<sup>[23]</sup>。LASANO 等<sup>[24]</sup>发现, 芒果果皮和种仁的丙酮提取物对  $\alpha$ -淀粉酶抑制活性最强, 这与本研究结果一致。



表 2 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和  $\alpha$ -淀粉酶活性抑制能力的  $IC_{50}$

Table 2  $IC_{50}$  of inhibitory activity of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase of different solvent extracts from seabuckthorn fruit and seed residue

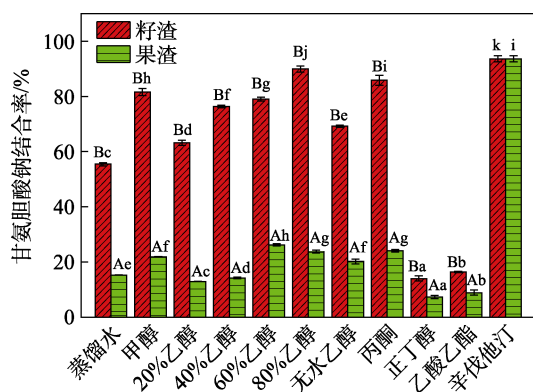
溶剂	$\alpha$ -葡萄糖苷酶 $IC_{50}/(g/L)$		$\alpha$ -淀粉酶 $IC_{50}/(g/L)$	
	果渣	籽渣	果渣	籽渣
蒸馏水	5.78±0.09 <sup>Bi</sup>	0.74±0.06 <sup>Ad</sup>	13.54±0.13 <sup>Bi</sup>	9.65±0.09 <sup>Bi</sup>
甲醇	3.62±0.05 <sup>Bg</sup>	0.16±0.01 <sup>Ab</sup>	2.75±0.06 <sup>Bc</sup>	0.20±0.01 <sup>Ab</sup>
20%乙醇	9.08±0.06 <sup>Bj</sup>	4.04±0.07 <sup>Af</sup>	5.60±0.19 <sup>Bh</sup>	2.96±0.03 <sup>Ah</sup>
40%乙醇	5.48±0.04 <sup>Bh</sup>	0.31±0.03 <sup>Ac</sup>	4.11±0.21 <sup>Bg</sup>	1.90±0.14 <sup>Af</sup>
60%乙醇	2.04±0.02 <sup>Bc</sup>	0.13±0.02 <sup>Ab</sup>	3.76±0.05 <sup>Bf</sup>	1.49±0.05 <sup>Ac</sup>
80%乙醇	2.66±0.04 <sup>Bd</sup>	0.29±0.03 <sup>Ac</sup>	2.60±0.12 <sup>Bbc</sup>	0.52±0.08 <sup>Ac</sup>
无水乙醇	2.90±0.03 <sup>Be</sup>	0.30±0.05 <sup>Ac</sup>	3.03±0.06 <sup>Bd</sup>	0.96±0.01 <sup>Ad</sup>
丙酮	1.27±0.01 <sup>Bb</sup>	0.06±0.01 <sup>Aa</sup>	2.41±0.11 <sup>Bb</sup>	0.18±0.03 <sup>Ab</sup>
正丁醇	5.43±0.03 <sup>Bh</sup>	4.17±0.10 <sup>Ag</sup>	5.59±0.15 <sup>Bh</sup>	2.80±0.09 <sup>Ag</sup>
乙酸乙酯	3.22±0.07 <sup>Bf</sup>	2.14±0.09 <sup>Ac</sup>	3.31±0.07 <sup>Bc</sup>	1.58±0.03 <sup>Ac</sup>
阿卡波糖	0.05±0 <sup>a</sup>		0.07±0.01 <sup>a</sup>	

### 2.3 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物体外降血脂能力测定

研究发现, 一些食品中的功能性成分能在肠道内与胆汁酸结合, 将胆汁酸排出体外, 为维持胆汁酸的动态平衡, 胆固醇转化为胆汁酸速度加快, 从而降低血液中胆固醇含量<sup>[25]</sup>。在体外通过模拟人体胃肠环境进行胆酸盐结合实验可以初步分析沙棘残渣提取物的降血脂效果, 本研究选取甘氨酸胆酸钠和牛磺胆酸钠作为结合对象。

#### 2.3.1 结合甘氨酸胆酸钠能力测定分析

沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物对甘氨酸胆酸钠的结合能力如图 3 所示。



注: 样品质量浓度为 5 g/L, 辛伐他汀质量浓度为 0.5 g/L; 小写字母不同表示不同溶剂提取物间差异显著 ( $P < 0.05$ ); 大写字母不同表示相同溶剂果渣和籽渣提取物间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

图 3 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物对甘氨酸胆酸钠结合能力的影响

Fig. 3 Effect of different solvent extracts from seabuckthorn fruit and seed residue on the binding ability of sodium glycocholate

由图 3 可知, 各提取物对甘氨酸胆酸钠均有一定的结合能力。同一溶剂提取时, 籽渣提取物结合甘氨酸胆酸钠的能力更强。当样品质量浓度为 5 g/L 时, 80%乙醇提取物明显优于其他几种提取溶剂, 其对甘氨酸胆酸钠的结合率为 89.96%, 其次是丙酮、甲醇、60%乙醇提取物。与籽渣不同, 果渣 60%乙醇提取物结合甘氨酸胆酸钠的能力最强, 结合率为 26.25%。这可能是由于具有降血脂能力的活性成分在乙醇水溶液中溶解度更高。辛伐他汀质量浓度为 0.5 g/L 时, 结合率达到 93.67%, 结合能力远远高于沙棘籽渣提取物。结合率越高, 说明其降胆固醇效果越好, 降血脂活性越强, 因为胆酸盐结合能力越强, 胆固醇转化胆汁酸的速度越快, 从而达到降低胆固醇、降脂的目的<sup>[15]</sup>。

#### 2.3.2 结合牛磺胆酸钠能力测定分析

沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物对牛磺胆酸钠的结合能力如图 4 所示。

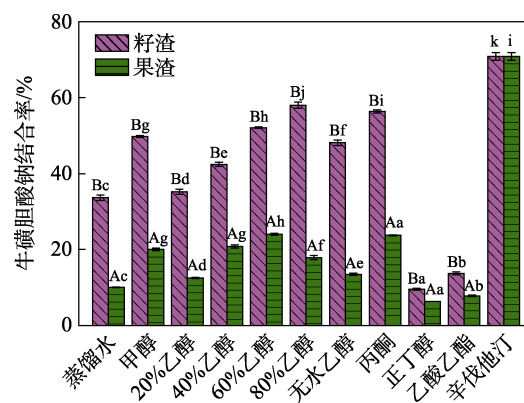


图 4 沙棘果渣和籽渣不同溶剂提取物对牛磺胆酸钠结合能力的影响

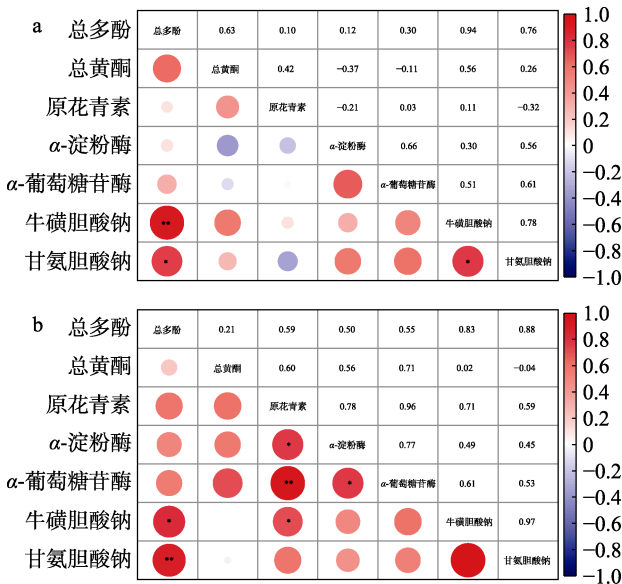
Fig. 4 Effect of different solvent extracts from seabuckthorn fruit and seed residue on the binding ability of sodium taurocholate

由图 4 可知, 所有提取物均有一定的牛磺胆酸钠结合能力。与甘氨酸胆酸钠结合实验结果相似, 籽渣的提取物通常比果渣的提取物具有更高的结合能力。对籽渣来说, 80%乙醇提取物与牛磺胆酸钠具有最强的结合能力, 其次为丙酮提取物 (56.37%)。然而对于果渣来说, 60%乙醇提取物牛磺胆酸钠结合率最高。二者相同的是, 正丁醇提取物结合能力最弱, 这可能是由于不同极性溶剂对活性成分物质提取效果不同。

这些活性成分能增强在肠道内与牛磺胆酸钠的结合能力, 促进牛磺胆酸钠在肠道中的循环, 使肝脏中胆固醇快速转化为牛磺胆酸钠, 降低体内胆固醇含量, 降血脂效果快速显著<sup>[15]</sup>。

### 2.4 活性成分与体外降血糖、降血脂活性的相关性分析

对沙棘渣提取物中总多酚、总黄酮和原花青素含量与体外降血糖、降血脂活性进行相关性分析,结果如图 5 所示。



注: \*\*表示在 ( $p=0.01$ ) 极显著相关; \*表示在 ( $p=0.05$ ) 显著相关。

图 5 沙棘果渣 (a) 和籽渣 (b) 不同溶剂提取物活性成分含量与体外降血糖、降血脂活性的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis between active ingredient content of different solvent extracts from seabuckthorn fruit (a) and seed residue (b) and their hypoglycemic and hyperlipidemia activities *in vitro*

由图 5 可知,沙棘渣中的总多酚与结合牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠的能力具有显著的相关性,是体外降血脂活性的主要贡献者,但果渣提取物中的活性物质与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和  $\alpha$ -淀粉酶抑制作用呈弱相关,这可能是由于沙棘果渣提取物对这两种酶的抑制作用较差。沙棘籽渣中原花青素与结合两种胆酸钠的能力以及两种酶抑制活性之间都具有良好的相关性,这表明沙棘籽渣中的原花青素对体外降血糖、降血脂作用有很大贡献。此外,发现降血糖与降血脂作用之间存在相关性。糖尿病导致病人体内胰岛素含量降低,酯酶分泌数量减少,活性减弱,从而

导致患者血脂异常,这可能是两者显著相关的原因<sup>[26]</sup>。

### 2.5 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 法分析沙棘渣提取物

沙棘果渣和籽渣提取物 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 检测分析总离子流图如图 6 所示。

结合 mzCloud、mzVault 和 ChemSpide 等数据库并参考相关文献进行分析,最终从沙棘籽渣提取物中鉴别出 33 个化学成分,果渣提取物中鉴别出 28 个化学成分,如表 3 所示。其中黄酮和萜类成分较为丰富。两种提取物的共有成分有 24 种,包括 6 种酚酸(莽草酸、奎宁酸、香草酸、对香豆酸、咖啡酸和没食子酸)、9 种黄酮(儿茶素、异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷、槲皮素、柚皮素、山奈酚、异鼠李素、黄豆黄苷和原花青素 A1)、9 种萜类(甘草次酸、羟基积雪草苷、积雪草酸、2A,19A-二羟基熊果酸、28-羟基-3-氧代齐墩果-12-烯-29-酸、科罗素酸、3-氧代-12-烯-28-齐墩果酸、2A-羟基齐墩果酸和齐墩果酸)化合物。

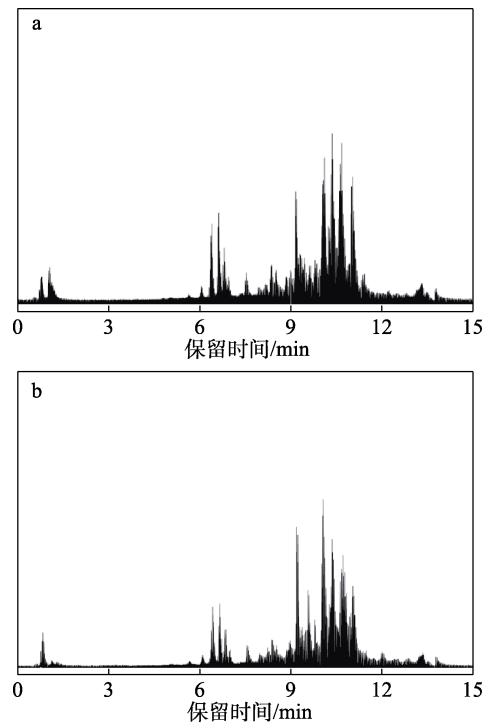


图 6 沙棘果渣 (a) 和籽渣 (b) 提取物总离子流图  
Fig. 6 Total ion flow diagrams of extracts from seabuckthorn fruit residue (a) and seed residue (b)

表 3 沙棘渣提取物化学成分 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析  
Table 3 UPLC-Q-Orbitrap HRMS analysis of chemical components of seabuckthorn residue extracts

类别	序号	化合物	分子式	RT/min	准分子离子峰	二级碎片(MS/MS)	果渣	籽渣
酚酸	1	莽草酸	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	0.895	174.0521[M-H] <sup>-</sup>	93.03322, 61.01736, 65.03804, 97.77923, 132.06982, 57.16842	+	+
	2	奎宁酸	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	1.154	192.0625[M-H] <sup>-</sup>	93.03325, 85.02868, 59.01222, 67.01736, 57.03307, 108.02022, 191.05440	+	+
	3	香草酸	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	4.581	168.0412[M-H] <sup>-</sup>	65.00170, 67.43186, 81.79740, 136.16858	+	+
	4	对香豆酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	5.356	164.0461[M-H] <sup>-</sup>	93.03307, 114.04916, 65.03807, 107.03333, 84.26676, 136.43622	+	+

续表 3

类别	序号	化合物	分子式	RT/min	准分子离子峰	二级碎片(MS/MS)	果渣	籽渣
酚酸	5	鼠尾草酸	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	8.866	332.1779[M+H] <sup>+</sup>	355.18390, 355.21194, 62.98235	-	+
	6	咖啡酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	9.206	180.0314[M+H] <sup>+</sup>	94.04955, 92.02609, 63.02395, 135.04405, 133.02837, 163.03899	+	+
	7	没食子酸	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	9.797	170.0215[M+H] <sup>+</sup>	125.70450	+	+
黄酮	8	儿茶素	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	4.223	290.0792[M-H] <sup>-</sup>	109.02794, 123.04398, 257.39377, 257.99954	+	+
	9	山奈酚-3-O-芸香糖-7-O-葡萄糖苷	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>20</sub>	5.161	756.5931[M+H] <sup>+</sup>	347.09424, 779.19873, 633.14276	-	+
	10	异鼠李素-3-O-葡萄糖-7-O-鼠李糖苷	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	5.869	624.1695[M-H] <sup>-</sup>	313.03497, 315.05048, 460.09946, 623.15692	-	+
	11	二氢杨梅素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub>	6.324	320.0533[M-H] <sup>-</sup>	65.00166, 73.30843, 114.72635, 63.02243	+	-
	12	异鼠李素-3-O-新橙皮糖苷	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	6.342	624.1695[M-H] <sup>-</sup>	315.05118, 299.01901, 314.04324, 300.02713, 271.02448	+	+
	13	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	6.351	478.0932[M+H] <sup>+</sup>	501.10001	+	+
	14	槲皮素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	6.973	302.0427[M-H] <sup>-</sup>	65.00182, 63.02257, 93.03322, 121.02815, 151.00186	+	+
	15	柚皮素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	7.004	272.0686[M-H] <sup>-</sup>	119.04878, 65.00184	+	+
	16	山奈酚	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	7.385	286.0479[M-H] <sup>-</sup>	285.04041, 117.03300, 93.03333, 65.00175, 136.38341, 165.27867, 257.94962	+	+
	17	异鼠李素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	7.443	316.0579[M-H] <sup>-</sup>	63.02259, 65.00185, 300.02756, 163.00281, 83.01233, 108.02029	+	+
萜类	18	黄豆黄苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	7.603	446.1029[M+H] <sup>+</sup>	469.11020	+	+
	19	原花青素 A1	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	9.295	576.1261[M+H] <sup>+</sup>	599.11505	+	+
	20	青蒿素	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	5.239	304.1286[M+H] <sup>+</sup>	305.13437, 287.12408	-	+
	21	甘草次酸	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	5.708	470.3351[M+H] <sup>+</sup>	453.34290, 114.09150, 435.33234, 209.16470, 96.08114	+	+
	22	苍耳亭	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	8.053	246.1231[M+H] <sup>+</sup>	247.17773, 64.97800, 208.88326, 117.50542, 258.04514	-	+
	23	羟基积雪草苷	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>6</sub>	8.208	504.3453[M-H] <sup>-</sup>	503.33749, 485.32697	+	+
	24	积雪草酸	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	8.886	488.3485[M+H] <sup>+</sup>	511.38396	+	+
	25	2A,19A-二羟基熊果酸	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>5</sub>	9.035	488.3486[M-H] <sup>-</sup>	487.34271, 469.33197	+	+
	26	28-羟基-3-氧代齐墩果-12-烯-29-酸	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	9.044	470.3289[M+H] <sup>+</sup>	119.08575, 201.16359, 189.16362, 107.08579, 95.08598, 145.10112	+	+
	27	科罗索酸	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	9.312	472.3535[M-H] <sup>-</sup>	471.34735, 453.33752	+	+
香豆素	28	22-羟基-3-氧代齐墩果-12-烯-29-酸	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	9.608	470.3396[M-H] <sup>-</sup>	423.32672, 469.33188	+	-
	29	3-氧代-12-烯-28-齐墩果酸	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	9.675	454.3442[M+H] <sup>+</sup>	189.16356, 95.08589, 203.17924, 409.34607, 119.08562, 107.08580	+	+
	30	甜菊醇	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	9.799	340.1987[M+H] <sup>+</sup>	341.20605	-	+
	31	2A-羟基齐墩果酸	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	9.878	472.3536[M+H] <sup>+</sup>	471.34753	+	+
	32	齐墩果酸	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	10.315	472.3535[M-H] <sup>-</sup>	455.35287	+	+
	33	3-氧代-12-烯-28-乌苏酸	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	10.474	454.3445[M-H] <sup>-</sup>	453.33673, 112.98416	+	-
	34	6-姜酚	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	8.558	294.1831[M-H] <sup>-</sup>	148.05170, 205.12248, 221.15419, 220.14639, 177.09146	-	+
甾醇	35	羟基香豆素	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	10.627	162.0315[M+H] <sup>+</sup>	91.97873, 119.30243, 122.26544, 136.48463	-	+
	36	大豆甾醇 B	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>3</sub>	9.718	458.3578[M+H] <sup>+</sup>	481.36456	+	-
	37	豆甾醇	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	12.518	412.3701[M+H] <sup>+</sup>	109.06500, 97.06516, 413.37741	-	+

注: RT 为保留时间, “+” 指检测到该成分, “-” 未检测到该成分。



张佳婵等<sup>[27]</sup>采用 UPLC-QTOF-MS/MS 技术从沙棘粕醇提物中鉴定出奎宁酸等 24 种化学成分。孙燕等<sup>[28]</sup>采用 UPLC-Q-Exactive 技术, 对沙棘果实中的化学成分进行研究, 共检测出异鼠李素等 16 种黄酮类物质, 结果与本研究相似。

### 3 结论

溶剂极性对沙棘果渣、籽渣中活性成分含量和体外降血糖、降血脂活性有显著影响, 且果渣与籽渣提取物间存在差异。在 10 种不同极性溶剂体系中, 60%乙醇和丙酮是提取果渣和籽渣中活性成分的有效溶剂。丙酮提取物具有最强的体外降血糖活性。提取溶剂为体积分数为 60%和 80%乙醇水溶液时, 果渣和籽渣的提取物具有最强的体外降血脂活性。可以发现, 溶剂极性通过影响沙棘渣提取物中活性成分的种类和含量, 从而使体外降血糖、降血脂活性产生差异。原花青素是籽渣提取物体外降血糖活性的主要贡献者。总多酚是果渣和籽渣提取物体外降血脂活性的主要贡献者。采用高分辨率和高灵敏度的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 对沙棘渣提取物进行分析, 共鉴定出 37 种化合物, 主要为黄酮和萜类成分。研究表明, 沙棘籽渣提取物具有很强的体外降血糖、降血脂活性, 有望用于特膳食品和功能性食品基料的研发。该研究对将沙棘残渣资源进一步用于糖尿病和高血脂症的临床和日常使用具有指导作用, 为今后进一步开发功能食品和其他保健品提供了有价值的信息。本研究仅对沙棘残渣粗提物组成及体外降血糖、降血脂的能力进行了初步研究, 还需对降血糖、降血脂活性成分进行分离鉴定, 深入研究其体内降血糖、降血脂能力及其相关机制。

### 参考文献:

- CHEN T L, ZHANG M, LI J L, *et al.* Structural characterization and hypoglycemic activity of *Trichosanthes* peel polysaccharide[J]. LWT, 2016, 70: 55-62.
- ZHANG X Y, QIN J Q, ZHAO Y H, *et al.* Long-term ketogenic diet contributes to glycemic control but promotes lipid accumulation and hepatic steatosis in type 2 diabetic mice[J]. Nutrition Research, 2016, 36(4): 349-358.
- MENG J X, BAI Z Y, HUANG W Q, *et al.* Polysaccharide from white kidney bean can improve hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic rats[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2020, 24: 100222.
- LIU Y (刘勇), LIAN Y S (廉永善), WANG Y L (王颖莉), *et al.* Review on research development and significant effect of *Hippophae rhamnoides*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica (中国中药杂志), 2014, 39(9): 1547-1552.
- ZHOU H N (周浩楠), HU N (胡娜), DONG Q (董琦), *et al.* Research progress on the chemical composition and pharmacological action of *Hippophae rhamnoides*[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences (华西药科学杂志), 2020, 35(2): 211-217.
- WANG J S (王捷思), ZHANG W (张雯), WANG J Q (王洁琼), *et al.* Effects of aqueous extract of seabuckthorn seed residues on blood glucose in normal and alloxan-induced diabetic mice[J]. Natural Product Research and Development (天然产物研究与开发), 2012, 24(5): 599-604.
- PINTA D, MAJKI T, TOROVI L, *et al.* Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape pomace[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 111: 379-390.
- MENESES N, MARTINS S, TEIXEIRA J A, *et al.* Influence of extraction solvents on the recovery of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grains[J]. Separation & Purification Technology, 2013, 108: 152-158.
- DORMAN H J D, PELTOKETO A, HILTUNEN R, *et al.* Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs[J]. Food Chemistry, 2003, 83(2): 255-262.
- WANG J X (王静霞), HUANG Y F (黄艳菲), ZHAO X Y (赵小燕), *et al.* Determination of total flavonoids in buckwheat and buckwheat goods[J]. Science and Technology of Food Industry (食品工业科技), 2013, 34(2): 58-60.
- MICHEL T, DESTANDAU E, LE FLOCH G, *et al.* Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed[J]. Food Chemistry, 2012, 131(3): 754-760.
- ZHANG Y Y, YANG Z L, LIU G G, *et al.* Inhibitory effect of chestnut (*Castanea mollissima* Blume) inner skin extract on the activity of  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, dipeptidyl peptidase IV and *in vitro* digestibility of starches[J]. Food Chemistry, 2020, 324: 126847.
- PODSEDEK A, MAJEWSKA I, REDZYNIJA M, *et al.* *In vitro* inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(20): 4610-4617.
- LIU R (刘荣), WANG L (王蕾), LUAN S Y (栾淑莹), *et al.* *In vitro* binding of bile salts by water-soluble AAP[J]. Science and Technology of Food Industry (食品工业科技), 2015, 36(17): 358-361.
- LI D H (李德海), DU L J (杜令娟), KANG N (康宁), *et al.* Effect of extraction techniques on the extraction and hypolipidemic activity *in vitro* of triterpenoids from *inonotus hispidus*[J]. Food Science (食品科学), 2018, 39(10): 291-297.
- HU X S (胡湘蜀), KOU X R (寇兴然), SU J H (苏建辉), *et al.* Simultaneous determination of seventeen polyphenols in tea extract by HPLC-MS[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory (分析试验室), 2015, 34(7): 822-826.
- ATTAR U A, GHANE S G. *In vitro* antioxidant, antidiabetic, antiacetylcholine esterase, anticancer activities and RP-HPLC analysis of phenolics from the wild bottle gourd [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.] [J]. South African Journal of Botany, 2019, 125: 360-370.
- ZAIDAN U H, MOHAMAD ZEN N I, AMRAN N A, *et al.* Biochemical evaluation of phenolic compounds and steviol glycoside from *Stevia rebaudiana* extracts associated with *in vitro* antidiabetic potential[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019, 18: 101049.
- ZHOU W J (周玮婧), SUN Z D (孙智达), XIE B J (谢笔钧), *et al.* Technology optimization for extracting procyanidins from litchi pericarp[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (农业工程学报), 2009, 25(1): 175-179.
- KONG F S, DING Z D, ZHANG K, *et al.* Optimization of extraction flavonoids from *Exocarpium Citri Grandis* and evaluation its hypoglycemic and hypolipidemic activities[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2020, 262: 113178.
- WU X Q, HU M M, HU X, *et al.* Inhibitory mechanism of epicatechin gallate on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase and its combinational effect with acarbose or epigallocatechin gallate[J]. Journal of Molecular Liquids, 2019, 290: 111202.
- LI R, WANG Q, ZHANG M H, *et al.* Flavonoid glycosides from seeds of *Hippophae rhamnoides* subsp. *Sinensis* with  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity[J]. Fitoterapia, 2019, 137: 104248.
- LUO D, MU T H, SUN H N. Profiling of phenolic acids and flavonoids in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves and evaluation of their anti-oxidant and hypoglycemic activities[J]. Food Bioscience, 2021, 39: 100801.
- LASANO N F, HAMID A H, KARIM R, *et al.* Nutritional composition, anti-diabetic properties and identification of active compounds using UHPLC-ESI-Orbitrap-MS/MS in *Mangifera odorata* L. peel and seed kernel[J]. Molecules, 2019, 24(2): 320.
- DENG Z H (邓志汇), HUANG H H (黄惠华). Bile salt-binding capacity and lipid-lowering mechanisms of water extracts from fresh tea leaves and tea flowers[J]. Food Science (食品科学), 2011, 32(19): 96-99.
- RATHORE K, SINGH V K, JAIN P, *et al.* *In-vitro* and *in-vivo* antiadipogenic, hypolipidemic and antidiabetic activity of *Diospyros melanoxylon* (Roxb)[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 155(2): 1171-1176.
- ZHANG J C (张佳婵), WANG C T (王昌涛), ZHAO D (赵丹), *et al.* Qualitative and quantitative analysis of sea buckthorn seed extract and its antioxidant effect in liver of aging mice[J]. Food Science (食品科学), 2019, 40(2): 229-238.
- SUN Y (孙燕), FENG F (冯峰), HUANG T H (黄特辉), *et al.* Rapid analysis of functional components of *Hippophae rhamnoides* by UPLC-Q-Exactive and OTCLM database[J]. Natural Product Research and Development (天然产物研究与开发), 2019, 31(7): 1192-1202.