

锁阳原花青素对葡萄糖/甘氨酸模拟体系糖基化终产物的抑制效果

张喜峰^{1,2*}, 徐莹¹, 尚琪³, 马银山¹, 陈雨迪¹, 罗光宏⁴

¹河西学院农业与生物技术学院; ²甘肃省河西走廊特色资源利用重点实验室, 张掖 734000;

³渭南市产品质量监督检验所, 渭南 714000; ⁴河西学院凯源生物技术开发中心, 张掖 734000

摘要:为探究锁阳原花青素对葡萄糖/甘氨酸模拟体系中形成的晚期糖基化终产物(advanced glycation end-product, AGEs)的抑制效果。本实验考察了不同温度,不同反应时间下锁阳原花青素对体系中 AGEs 抑制的影响,同时探讨了多种金属离子对抑制效果的作用。结果表明:在 80 °C 下加热 75 min,锁阳原花青素的质量浓度为 1 mg/mL 时,对 AGEs 的抑制效果可达 85.73% ± 1.57%,而 100 °C 下加热 30 min 时抑制率达到 74.01% ± 1.45%。当加入金属离子(Al³⁺、Cu²⁺、Fe²⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Zn²⁺)时,对 AGEs 的形成既有抑制作用也有促进作用;与仅有锁阳原花青素存在时相比,金属离子在低浓度时减弱了锁阳原花青素对 AGEs 的抑制作用,高浓度差异显著。此结果可为天然 AGEs 抑制剂的开发和在食品中应用提供参考价值。

关键词:锁阳原花青素;葡萄糖/甘氨酸模拟体系;晚期糖基化终产物

中图分类号:R284.2;R961

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)4-0682-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.4.020

Inhibition of the formation of glycation end-products by procyanidins from *Cynomorium songaricum* Rupr. in glucose/glycine model system

ZHANG Xi-feng^{1,2*}, XU Ying¹, SHANG Qi³, MA Yin-shan¹, CHEN Yu-di¹, LUO Guang-hong⁴

¹College of Agriculture and Biotechnology, Hexi University;

²Key Laboratory of Hexi Corridor Resources Utilization of Gansu Zhangye, Zhangye 734000, China;

³Weinan Supervision Inspection Institute of Product Quality, Weinan 714000, China;

⁴Key Laboratory of Hexi Corridor Resources Utilization of Gansu, Zhangye, 734000, China

Abstract: In the present study, the inhibitory effect of *Cynomorium* procyanidins on the formation of advanced glycation end products (AGEs) was explored in simulated systems consisting of glucose/glycine. *Cynomorium* procyanidins as antioxidant, was incubated in the simulated systems at different concentrations and temperature levels with or without various metal ions, which was to observe its inhibitory effect. The results showed that the inhibitory effect on AGEs was reach to 85.73% ± 1.57% at the concentration of 1 mg/mL for 75min at 80 °C, and 74.01% ± 1.45% for 30 min at 100 °C. When metal ions (Al³⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺) were added to the simulated systems, the inhibition effects of the formation of AGEs was restraining and promoting. The addition of 0.1 and 1.0 mg/L Al³⁺ promoted the formation of AGEs at 80 °C, whereas the addition of 0.1, 1.0, and 10.0 mg/L Al³⁺ suppressed the AGEs formation at 100 °C. After 1 mg/mL procyanidins was added, the inhibition ratio of the solution containing Al³⁺ with the concentration of 10.0 mg/L was the highest inhibition ratio at 80 °C. The addition of Cu²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺ with the concentration of 1.0, promoted the formation of AGEs in the glucose/glycine model system. However, after procyanidins were added, all concentrations of metal ions inhibited the formation of AGEs. The results can provide reference for the development of natural AGEs inhibitors and their application in food industry.

Key words: *Cynomorium* procyanidins; glucose/glycine model system; advanced glycation end products

收稿日期:2018-08-13 接受日期:2018-12-18

基金项目:国家自然科学基金(31660161);甘肃省高校协同创新科技团队支持计划(2017C-17)

* 通信作者 Tel:86-936-8280648; E-mail:curiouslyxsxd@163.com

晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)是指核酸、脂肪酸、蛋白质或氨基酸的氨基与还原糖的醛基之间发生重排、脱水、氧化、

缩合等一系列非酶促性反应(又称 Maillard 反应),最终形成具有活性的不可逆化合物^[1]。在食品加工、加热和贮藏过程中, Maillard 反应可以提高食品风味和色泽;然而,含 AGEs 食物的过量摄入和机体内产生过量的 AGEs 均会导致多种慢性疾病,如糖尿病^[2]、肾脏疾病^[3]、阿尔茨海默病(AD)^[4]、衰老等^[5]。

近年来,抗糖基化一直被认为是一种有效的策略来减缓人的衰老和疾病的发生。糖基化的抑制作用可以抑制炎症激活,减少炎症反应^[6,7]。国内外学者普遍认为^[8-10],抗氧化剂对 AGEs 的生成具有良好的抑制效果;另外,食物中的成分、加工方式、加热温度、加热时间等均可影响 AGEs 的形成^[11]。原花青素(proanthocyanidins, PC)是植物中广泛存在的一大类多酚化合物的总称,其抗糖基化、抗氧化和抗炎的能力已被广泛研究^[12]。

锁阳(*Cynomorium songaricum* Rupr.),为锁阳科、锁阳属多年生肉质寄生草本,国内主要分布于新疆、甘肃、内蒙、宁夏等地;国内外研究学者主要对锁阳中多糖、皂苷、黄酮、原花青素等活性成分及其生物学活性进行了一系列研究^[13-16];锁阳原花青素研究主要集中于单体分离和动物相关试验,其作为 AGEs 抑制剂在食品加工应用中的相关报道较少。目前,已有其他类型原花青素提取物对模拟体系中 AGEs 抑制作用的相关报道,如黎超等人^[17]研究表明肉桂原花青素对高级糖基化终产物抑制活性高于阳性对照;吴茜等^[18]研究表明一定浓度范围内莲原花青素对乳糖-赖氨酸体系中晚期糖基化终产物具有一定抑制作用;荔枝皮原花青素在不同模拟体系中均对美拉德反应和晚期糖基化终末产物具有良好的抑制效果^[19]。

因此,本试验将原花青素加入可产生甜香型风味物质葡萄糖/甘氨酸模拟体系,研究其对模拟体系发生 Maillard 反应抑制效果,分别研究不同温度、反应时间、金属离子种类和浓度等参数,分析锁阳原花青素对体系中形成 AGEs 的抑制效果,为天然活性成分深度开发和在食品加工领域的应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

锁阳(*Cynomorium songaricum* Rupr)由甘肃微藻工程技术研究中心提供。

Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 标准溶液及儿茶素标准品购自成都德思特生物技术有限公司;

L-甘氨酸、 α -D-葡萄糖购于上海源叶生物科技有限公司;其它试剂均为分析纯,购自北京索莱宝科技有限公司。

AE124 电子天平,上海恒平科学仪器有限公司;JPT-10 型架盘天平,常熟市衡器厂;DD-5M 立式大容量离心机,湖南凯达科学仪器有限公司;XO-SM50 超声波微波组合反应系统,南京先欧生物科技有限公司;JRA-6 数显磁力搅拌水浴锅,金坛市杰瑞尔电器有限公司;F-7000 荧光分光光度计,日立高新技术公司。

1.2 实验方法

1.2.1 锁阳原花青素的制备

称取一定量的锁阳粉末,按照料液比 1:8 (g/mL)加入体积分数为 80% 的乙醇,在 40 °C 水浴搅拌 30 min,在功率为 100 W 条件下,超声处理 10 min;4000 rpm 离心 10 min 后,收集上清液;将离心后残渣按照上述步骤重复提取 1 次后,上清液经减压浓缩后,采用大孔树脂 XAD-7 分离纯化,采用体积分数为 60% 乙醇洗脱、浓缩、冷冻干燥后,得锁阳原花青素提取物,经香草醛-浓盐酸法测其质量分数为 90% 以上。

1.2.2 不同反应时间下,锁阳原花青素对葡萄糖/甘氨酸模拟体系中 AGEs 抑制作用的影响

参考夏秋琴之法^[20],略作改动;在葡萄糖/甘氨酸模拟体系中,加入质量浓度为 1 mg/mL 的锁阳原花青素 1 mL,充分混匀。在温度为 80 °C 条件下分别加热反应 15、30、45、60、75、90、105 min;在温度为 100 °C 条件下分别加热反应 4、6、10、15、20、30、60 min。反应结束后,在 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}/440 \text{ nm}$ 测定不同反应时间下的荧光值,确定最佳的反应时间。

1.2.3 不同浓度的锁阳原花青素对甘氨酸/葡萄糖模拟体系中 AGEs 的抑制作用的影响

实验参考 Zha 等^[21]方法并略作修改;在葡萄糖/甘氨酸模拟体系中,在温度为 80 °C 条件下,分别加入浓度为 0.025、0.05、0.15、0.3、0.5、1.0 mg/mL 原花青素各 1 mL;温度为 100 °C 条件下,分别加入质量浓度为 0.05、0.15、0.3、0.5、1.0 mg/mL 原花青素各 1 mL;根据 1.2.2 部分确定的最佳反应时间,反应结束后,在 $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 370 \text{ nm}/440 \text{ nm}$ 测定其荧光值,对照组和空白组的设置同 1.2.2。

1.2.4 金属离子对锁阳原花青素抑制葡萄糖/甘氨酸模拟体系 AGEs 的影响

将 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 标准溶液均稀

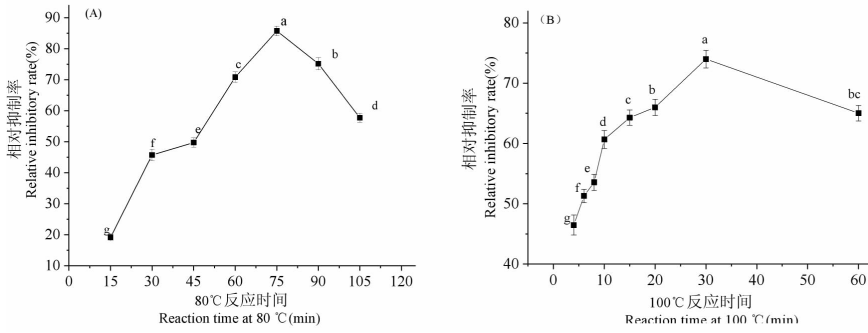


图1 不同温度、不同反应时间下锁阳中的原花青素对 AGEs 的抑制效果

Fig. 1 The inhibition effects of the formation of AGEs at different temperature levels

释为 50.0、10.0、1.0、0.1 mg/L 四个梯度；配制 10.0、1.0、0.1 mg/L 的 Al^{3+} 溶液。在葡萄糖/甘氨酸模拟体系中，取不同种类、不同浓度的金属离子溶液各 0.5 mL，锁阳原花青素提取液 0.5 mL，加入 pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲液补足至 5 mL。在 $\lambda_{ex}/\lambda_{em} = 370\text{ nm}/440\text{ nm}$ 测定其荧光值，研究不同种类、不同浓度金属离子对原花青素抑制甘氨酸/葡萄糖模拟体系 AGEs 的影响。

1.2.5 相对抑制率的计算

依据上述步骤测定不同条件下荧光值，按以下公式计算锁阳原花青素对葡萄糖/甘氨酸模拟体系 AGEs 相对抑制率。

$$\text{相对抑制率} = \frac{F_{\text{对照}} - F_{\text{样品}}}{F_{\text{对照}} - F_{\text{空白}}} \times 100\%$$

$F_{\text{样品}}$ 为加入锁阳原花青素提取液而且加热的反应液的荧光值；

$F_{\text{对照}}$ 为不添加原花青素但加热的模拟体系的荧光值；

$F_{\text{空白}}$ 为不添加原花青素也不加热的模拟体系的荧光值。

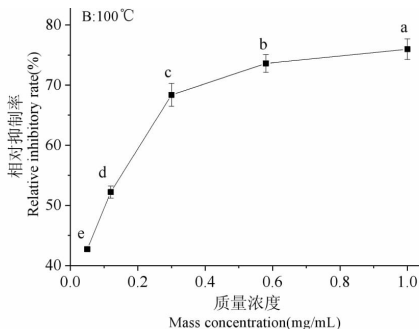
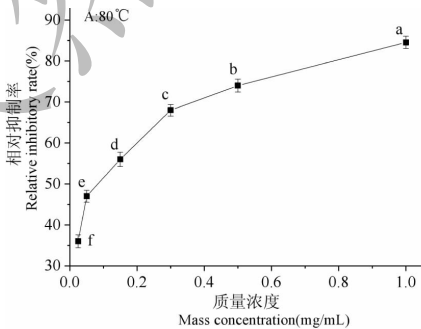


图2 不同温度、不同浓度的锁阳原花青素对 AGEs 的抑制效果

Fig. 2 The inhibition effects of the formation of AGEs at different concentrations

2 结果与分析

2.1 不同反应时间下锁阳中的原花青素对葡萄糖/甘氨酸模拟体系 AGEs 的抑制效果

由图 1A 可知，将锁阳原花青素加入葡萄糖/甘氨酸模拟体系中，在 80 °C 下反应不同时间后，原花青素对该体系产生 AGEs 具有一定的抑制效果；其随着加热反应时间的不断延长，相对抑制率逐渐增加，当加热反应时间为 75 min 时，达到最大值 ($85.73\% \pm 1.57\%$)；且与其它反应时间相比，差异显著 ($P < 0.05$)；当反应时间超过 75 min 后，抑制率呈现下降趋势；原因可能是加热时间过长时，影响原花青素的稳定性，导致其发生降解；

从图 1B 可看出，在 100 °C 加热反应条件下，锁阳原花青素对该体系 AGEs 抑制作用随反应时间延长呈现先增加后减小的趋势；当加热反应 30 min 时，相对抑制率达到最大值，为 $74.01\% \pm 1.45\%$ ；且差异显著 ($P < 0.05$)；当反应时间大于 30 min 后，相对抑制率逐渐下降，可能是由于温度较高，原花青素较长时间加热促使其热降解速度加快。

2.2 不同浓度锁阳原花青素对葡萄糖/甘氨酸模拟体系中 AGEs 的抑制效果

由图 2A 可知,在 80 °C 的反应条件下,当锁阳原花青素质量浓度为 0.025 ~ 0.5 mg/mL 时,其对模拟体系中产生 AGEs 的相对抑制率也不断增加,当其原花青素浓度继续增加为 1.0 mg/mL 时,抑制率可达到最大值,且与其它浓度下对 AGEs 相对抑制差异显著 ($P < 0.05$);原因可能是在较低浓度原花青素对模拟体系中 AGEs 的利用效果较好。

表 1 不同温度下 Al^{3+} 和锁阳原花青素对 AGEs 的抑制效果

Table 1 Inhibition of Al^{3+} and *Cynomorium* procyanidins on AGEs at Different Temperatures

Al^{3+} 浓度 Al^{3+} concentration (mg/L)	80 °C 时的抑制率 Inhibitory rate at 80 °C (%)		100 °C 时的抑制率 Inhibitory rate at 100 °C (%)	
	Al^{3+}	Al^{3+} + 原花青素 Al^{3+} and <i>Cynomorium</i> procyanidins	Al^{3+}	Al^{3+} + 原花青素 Al^{3+} and <i>Cynomorium</i> procyanidins
0	0 ^b	43.71 ± 3.63 ^b	0 ^d	70.87 ± 3.71 ^a
0.1	-86.5 ± 2.45 ^d	31.08 ± 2.19 ^d	17.18 ± 2.94 ^a	54.13 ± 4.21 ^d
1.0	-14.3 ± 1.79 ^c	40.54 ± 3.76 ^c	15.55 ± 2.79 ^b	55.27 ± 2.85 ^c
10.0	7.72 ± 3.47 ^a	62.84 ± 1.95 ^a	8.5 ± 3.42 ^c	61.2 ± 3.42 ^b

注:小写字母不同表示显著性差异 ($P < 0.05$),以下同。

Note: The different letters on the same list mean significant difference ($P < 0.05$), the same as in the following tables.

从表 1 Al^{3+} 组可以看出,反应温度为 80 °C, Al^{3+} 的质量浓度为 0.1 和 1.0 mg/L,均可促进甘氨酸/葡萄糖模拟体系 AGEs 的形成,二者间具有显著性差异;相反,在 100 °C 时条件,不同浓度的 Al^{3+} 对 AGEs 的形成均表现一定的抑制作用,均呈现显著性差异;当 Al^{3+} 质量浓度为 10.0 mg/L 时,在不同温度的反应条件下,均对 AGEs 形成具有抑制效果。

从 Al^{3+} + 原花青素组可以看出,不同浓度的 Al^{3+} 在不同温度的反应条件下都对 AGEs 的生成具有抑制作用,均呈现显著性差异。在 80 °C 下 Al^{3+}

在 100 °C 的反应条件下,随着锁阳原花青素质量浓度逐渐增加,其对体系中 AGEs 抑制效果呈现先增加后逐渐趋于稳定的趋势,可能是原花青素对体系中 AGEs 抑制效果趋于饱和;在高温环境中,受原花青素稳定性的影响,其结构可能受到破坏,影响其抑制效果。

2.3 金属离子对锁阳原花青素抑制 AGEs 的影响

2.3.1 Al^{3+} 对锁阳原花青素抑制 AGEs 的影响

的质量浓度为 10.0 mg/L 时抑制率可达到 62.84% ± 1.95%;在 100 °C 时, Al^{3+} 不存在时锁阳原花青素对生成 AGEs 的抑制率达到最大值 (70.87% ± 3.71%)。结果表明,在不同浓度的 Al^{3+} 单独存在时,对葡萄糖/甘氨酸模拟体系中 AGEs 的生成既有促进也有抑制作用,而在 Al^{3+} 和锁阳原花青素共同作用时,在不同浓度,不同反应温度的条件下,均表现对 AGEs 的形成起抑制作用。

2.3.2 Cu^{2+} 对锁阳原花青素抑制 AGEs 的影响

表 3 不同温度下 Cu^{2+} 和锁阳原花青素对 AGEs 的抑制效果

Table 3 Inhibitory effect of Cu^{2+} and *Cynomorium* procyanidins on AGEs at different temperatures

Cu^{2+} 浓度 Cu^{2+} concentration (mg/L)	80 °C 时的抑制率 Inhibitory rate at 80 °C (%)		100 °C 时的抑制率 Inhibitory rate at 100 °C (%)	
	Cu^{2+}	Cu^{2+} + 原花青素 Cu^{2+} and <i>Cynomorium</i> procyanidins	Cu^{2+}	Cu^{2+} + 原花青素 Cu^{2+} and <i>Cynomorium</i> procyanidins
0	0 ^e	53.71 ± 2.84 ^a	0 ^e	70.87 ± 3.09 ^a
0.1	-53.5 ± 5.24 ^e	22.93 ± 3.58 ^e	29.76 ± 3.46 ^a	49.74 ± 2.63 ^e
1.0	-1.04 ± 3.07 ^d	39.23 ± 2.84 ^c	19.67 ± 1.77 ^c	56.57 ± 3.46 ^c
10.0	20.62 ± 2.59 ^a	42.35 ± 3.09 ^b	21.23 ± 2.80 ^b	52.79 ± 2.78 ^d
50.0	16.65 ± 3.46 ^b	28.59 ± 4.11 ^d	13.09 ± 3.42 ^d	58.29 ± 1.85 ^b

由表2 Cu²⁺组可知,在80℃的条件下Cu²⁺的质量浓度为0.1和1.0 mg/L时,其对AGEs的生成有促进作用;且0.1 mg/L Cu²⁺的促进效果较强。在100℃时不同浓度的Cu²⁺对AGEs的生成均有抑制作用,且抑制效果差异显著($P < 0.05$)。质量浓度为10.0、50.0 mg/L时,80℃和100℃条件下对AGEs的生成均表现为抑制作用。在80℃时Cu²⁺可达到的最高抑制率为20.62% ± 2.59%,在100℃时为29.76% ± 3.46%。

从Cu²⁺ + 原花青素组可以看出,加入不同浓度的Cu²⁺,在不同温度的反应条件下锁阳原花青素对

AGEs的生成均有抑制作用,均呈现显著性差异。不同浓度的Cu²⁺存在时,锁阳原花青素对体系中AGEs的形成的抑制效果均比Cu²⁺不存在时的抑制效果小,且差异显著。在80、100℃下,Cu²⁺存在时锁阳原花青素对体系中形成的AGEs抑制率分别为53.71% ± 2.84%和70.87% ± 3.09%;结果表明,在不同浓度的Cu²⁺单独存在时,其对体系中AGEs的生成既有促进也有抑制作用,而在Cu²⁺和锁阳原花青素共同反应时,在不同浓度,不同温度的反应条件下,对AGEs的生成均表现为显著性抑制效果。

2.3.3 Fe²⁺对锁阳原花青素抑制AGEs的影响

表3 不同温度下Fe²⁺和锁阳原花青素对AGEs的抑制效果

Table 3 Inhibitory effect of Fe²⁺ and *Cynomorium* procyanidins on AGEs at different temperatures

Fe ²⁺ 浓度 Fe ²⁺ concentration (mg/L)	80℃时的抑制率 Inhibitory rate at 80℃ (%)		100℃时的抑制率 Inhibitory rate at 100℃ (%)	
	Fe ²⁺	Fe ²⁺ + 原花青素 Fe ²⁺ and <i>Cynomorium</i> procyanidins	Fe ²⁺	Fe ²⁺ + 原花青素 Fe ²⁺ and <i>Cynomorium</i> procyanidins
0	0 ^a	29.1 ± 2.35 ^d	0 ^a	66.65 ± 2.09 ^a
0.1	-0.37 ± 0.05 ^b	17.13 ± 4.08 ^e	-0.23 ± 1.26 ^b	55.82 ± 3.04 ^e
1.0	-13.41 ± 1.45 ^d	33.89 ± 5.21 ^e	-11.22 ± 2.34 ^d	61.29 ± 2.76 ^e
10.0	-14.7 ± 2.15 ^e	45.28 ± 5.34 ^b	-16 ± 2.85 ^e	53.69 ± 2.57 ^d
50.0	-5.03 ± 3.01 ^e	45.59 ± 2.86 ^a	-9.28 ± 2.79 ^e	64.26 ± 3.47 ^b

从表3 Fe²⁺组可以看出,不同质量浓度下Fe²⁺在80℃和100℃时,均对体系中AGEs的生成具有显著性促进作用。

从Fe²⁺ + 原花青素组可以看出,在不同温度的反应条件下,不同浓度的Fe²⁺存在时,锁阳原花青素对体系中AGEs的生成具有显著性抑制作用。在80℃反应条件下,Fe²⁺的质量浓度为50.0 mg/L

时,对AGEs生成的最大抑制率为45.59% ± 2.86%,在100℃,Fe²⁺不存在时,抑制率最大为66.65% ± 2.86%。结果表明,不同浓度的Fe²⁺单独存在时,对AGEs的生成具有促进作用;在不同浓度,不同温度的反应条件下,Fe²⁺存在时,锁阳原花青素对AGEs的生成具有抑制作用。

2.3.4 Mg²⁺对锁阳原花青素抑制AGEs的影响

表4 不同温度下Mg²⁺和锁阳原花青素对AGEs的抑制效果

Table 4 Inhibition of Mg²⁺ and *Cynomorium* procyanidins on AGEs at Different Temperatures

Mg ²⁺ 浓度 Mg ²⁺ concentration (mg/L)	80℃时的抑制率 Inhibitory rate at 80℃ (%)		100℃时的抑制率 Inhibitory rate at 100℃ (%)	
	Mg ²⁺	Mg ²⁺ + 原花青素 Mg ²⁺ and <i>Cynomorium</i> procyanidins	Mg ²⁺	Mg ²⁺ + 原花青素 Mg ²⁺ and <i>Cynomorium</i> procyanidins
0	0 ^e	29.1 ± 4.08 ^d	0 ^e	62.12 ± 1.43 ^e
0.1	-4.81 ± 3.47 ^e	19.55 ± 2.18 ^e	-36.8 ± 2.58 ^d	47.74 ± 2.53 ^d
1.0	7.10 ± 2.18 ^b	30.18 ± 1.65 ^b	33.87 ± 3.01 ^a	44.47 ± 3.24 ^e
10.0	15.37 ± 1.72 ^a	29.85 ± 1.49 ^e	24.84 ± 3.66 ^b	73.48 ± 3.49 ^a
50.0	-2.73 ± 2.54 ^d	31.78 ± 2.41 ^a	-48 ± 4.17 ^e	69.22 ± 4.08 ^b

从表8 Mg^{2+} 组可以看出, Mg^{2+} 浓度为0.1和50 mg/L时, 80 °C和100 °C对AGEs的生成都有促进作用, 100 °C时质量浓度为50 mg/L的 Mg^{2+} 促进效果最好; 1.0和10 mg/L的 Mg^{2+} 对AGEs的生成有抑制作用, 在100 °C时1.0 mg/L的 Mg^{2+} 抑制效果最好, 为 $33.87 \pm 3.01\%$, 且差异显著。

在 Mg^{2+} + 原花青素组可以看出, 在80 °C的反应条件下添加1.0、10.0、50.0 mg/L Mg^{2+} 时, 锁阳原花青素对AGEs的抑制作用和无 Mg^{2+} 时相比, 差异显著; Mg^{2+} 不存在与加入0.1和50.0 mg/L的

Mg^{2+} 存在相比, 其对模拟体系利于AGEs的形成, 转变为对AGEs的抑制作用, 效果显著。在80 °C下50.0 mg/L的 Mg^{2+} 的抑制率为 $31.78 \pm 2.41\%$, 在100 °C时10.0 mg/L Mg^{2+} 的抑制率最高达到 $73.48 \pm 3.49\%$ 。结果表明, Mg^{2+} 存在条件下, 其对模拟体系中AGEs的形成, 同时兼有促进和抑制两种作用; 然而, 原花青素的加入, 使其由上述两种作用转变为仅有的抑制作用。

2.3.5 Ca^{2+} 对锁阳原花青素抑制AGEs的影响

表5 不同温度下 Ca^{2+} 和锁阳原花青素对AGEs的抑制效果

Table 5 Inhibitory effect of Ca^{2+} and *Cynomorium* procyanidins on AGEs at different temperatures

Ca^{2+} 浓度 Concentration (mg/L)	80 °C时的抑制率 Inhibitory rate at 80 °C (%)		100 °C时的抑制率 Inhibitory rate at 100 °C (%)	
	Ca^{2+}	Ca^{2+} + 原花青素 <i>Ca^{2+}</i> and <i>Cynomorium</i> procyanidins	Ca^{2+}	Ca^{2+} + 原花青素 <i>Ca^{2+}</i> and <i>Cynomorium</i> procyanidins
0	0 ^d	62.08 ± 1.71^a	0 ^e	73.09 ± 2.01^b
0.1	15.68 ± 2.18^c	55.30 ± 3.49^c	-3.01 ± 2.47^d	70.96 ± 2.48^d
1.0	24.46 ± 1.86^b	52.85 ± 4.19^d	20.8 ± 3.14^a	62.1 ± 2.09^e
10.0	37.29 ± 3.41^a	59.34 ± 3.58^b	9.03 ± 2.74^b	71.54 ± 3.46^c
50.0	-0.4 ± 1.79^e	39.45 ± 4.18^c	-32.6 ± 3.49^e	75.31 ± 1.77^a

从表5 Ca^{2+} 组可以看出, 在80 °C反应条件下, 质量浓度为0.1、1.0和10.0 mg/L Ca^{2+} 对模拟体系产生的AGEs具有抑制作用; 10.0 mg/L的 Ca^{2+} 的存在时, 具有较好的抑制效果; 在100 °C反应条件下, 1.0和10.0 mg/L的 Ca^{2+} 可以抑制体系中AGEs的形成; 当50.0 mg/L Ca^{2+} 单独存在时, 其对体系中AGEs形成具有促进作用。

从 Ca^{2+} + 原花青素组可知, 在 Ca^{2+} 存在下, 锁阳原花青素对模拟体系中AGEs的抑制效果与无

Ca^{2+} 存在时均呈现抑制作用; 在80 °C无 Ca^{2+} 存在时, 抑制率达到 $62.08\% \pm 1.71\%$; 100 °C条件下 Ca^{2+} 的质量浓度为50.0 mg/L时抑制率达到 $75.31\% \pm 1.77\%$ 。结果表明, 在 Ca^{2+} 存在下, 其对模拟体系中AGEs的生成表现为促进和抑制两种作用, 当锁阳原花青素加入后, 可消除促进作用, 从而表现为抑制作用。

2.3.6 Zn^{2+} 对锁阳原花青素抑制AGEs的影响

表6 不同温度下 Zn^{2+} 和锁阳原花青素对AGEs的抑制效果

Table 6 Inhibitory effect of Zn^{2+} and *Cynomorium* procyanidins on AGEs at different temperatures

Zn^{2+} 浓度 Concentration (mg/L)	80 °C时的抑制率 Inhibitory rate at 80 °C (%)		100 °C时的抑制率 Inhibitory rate at 100 °C (%)	
	Zn^{2+}	Zn^{2+} + 原花青素 <i>Zn^{2+}</i> and <i>Cynomorium</i> procyanidins	Zn^{2+}	Zn^{2+} + 原花青素 <i>Zn^{2+}</i> and <i>Cynomorium</i> procyanidins
0	0 ^e	62.41 ± 1.54^a	0 ^e	72.89 ± 3.24^a
0.1	10.99 ± 3.14^c	51.75 ± 2.47^c	-36.9 ± 2.76^e	52.94 ± 2.70^d
1.0	17.47 ± 2.49^b	47.74 ± 2.28^d	35.44 ± 3.45^b	47.46 ± 2.41^e
10.0	3.83 ± 2.57^d	54.21 ± 3.71^b	41.94 ± 2.57^a	70.91 ± 1.89^b
50.0	29.87 ± 1.64^a	35.52 ± 2.58^e	-4.28 ± 2.89^d	68.38 ± 2.73^c

从表 6 Zn²⁺ 组可以看出,在 100 °C 反应条件下 Zn²⁺ 的质量浓度为 0.1 和 50.0 mg/L 时,对模拟体系生成的 AGEs 表现促进作用,且 0.1 mg/L 的 Zn²⁺ 的促进效果良好;其他均呈现抑制作用;在 80 °C 条件下 Zn²⁺ 浓度为 50.0 mg/L 时抑制率为 29.87% ± 1.64%,100 °C 时 10.0 mg/L 的 Zn²⁺ 达到 41.94 ± 2.57%。

在 Zn²⁺ + 原花青素组中,除 100 °C 时 0.1 mg/L 的 Zn²⁺ 外,其他不同水平的 Zn²⁺ 存在时,锁阳原花青素对生成 AGEs 的抑制率均低于无 Zn²⁺ 存在时的抑制率。在 80、100 °C 条件下无 Zn²⁺ 存在时,原花青素对 AGEs 的抑制率分别为 62.41% ± 1.54% 和 72.89% ± 3.24%。结果表明,不同质量浓度的 Zn²⁺ 对葡萄糖/甘氨酸模拟体系产生的 AGEs 兼有促进和抑制作用,锁阳原花青素加入后,消除了原来的促进作用,使其之后全部变为抑制作用。

3 结论

锁阳原花青素对葡萄糖/甘氨酸模拟体系中 AGEs 的产生具有一定的抑制效果:在 80 °C 时,原花青素对模拟体系中 AGEs 相对抑制率会随着反应时间的延长呈现先增加后下降的趋势,当反应时间为 75 min 时,达到最大值 85.73% ± 1.57%;在 100 °C 条件下,加热反应时间为 30 min 时,达到最大值为 74.01% ± 1.45%。

80 °C 反应条件下,随着锁阳原花青素质量浓度的增加对 AGEs 的抑制率也不断增加,增长趋势较为缓慢,在锁阳原花青素的质量浓度 1.0 mg/mL 时达到最大值;在 100 °C 条件下也在 1.0 mg/mL 时抑制率最大。

在 80 °C 或 100 °C 时,在体系中加入 Al³⁺、Cu²⁺、Fe²⁺、Mg²⁺、Ca²⁺ 和 Zn²⁺,发现金属离子对 AGEs 的生成既有促进作用又有抑制作用。在加入 1.0 mg/mL 的锁阳原花青素以后,所有的促进作用被逆转为抑制作用。在加入低浓度金属离子时,锁阳原花青素对 AGEs 的抑制作用与无金属离子加入时相比稍有所降低,加入高浓度金属离子时,对锁阳原花青素抑制 AGEs 的影响不显著。

参考文献

- 1 Maillard LC. Formation of melanoidins in a methodical way [J]. *Compt Rend*,1912,154:66-68.
- 2 Peppas M, Vlassara H. Advanced glycation end products and diabetic complications: a general overview [J]. *Hormones*

- (athens),2005,4(1):28-37.
- 3 Yeh WJ, Yang HY, Pai MH, et al. Long-term administration of advanced glycation end-product stimulates the activation of NLRP3 inflammasome and sparking the development of renal injury [J]. *J Nutr Biochem*,2017,39:68-76.
- 4 Singh VP, Bali A, Singh N, et al. Advanced glycation end products and diabetic complications [J]. *Korean J Physiol Pha*,2014,18(1):1-14.
- 5 Van Puyvelde K, Mets T, Njemini R, et al. Effect of advanced glycation end product intake on inflammation and aging: a systematic review [J]. *Nutr Rev*,2014,72:638-650.
- 6 Lin JA, Wu CH, Lu CC, et al. Glycative stress from advanced glycation end products (AGEs) and dicarbonyls: an emerging biological factor in cancer onset and progression [J]. *Mol Nutr Food Res*,2016,60:1850-1864.
- 7 Nass N, Ignatov A, Andreas L, et al. Accumulation of the advanced glycation end product carboxymethyl lysine in breast cancer is positively associated with estrogen receptor expression and unfavorable prognosis in estrogen receptor-negative cases [J]. *Histochem Cell Biol*,2017,147:625-634.
- 8 Yeh WJ, Hsia SM, Lee WH, et al. Polyphenols with antiglycation activity and mechanisms of action: A review of recent findings [J]. *J Food Drug Anal*,2017,25(1):84-92.
- 9 Cai Q, Li BY, Gao H, et al. Grape seed procyanidin b2 inhibits human aortic smooth muscle cell proliferation and migration induced by advanced glycation end products [J]. *Biosci Biotech Bioch*,2011,75:1692-1697.
- 10 Shen Y, Xu Z, Sheng Z. Ability of resveratrol to inhibit advanced glycation end product formation and carbohydrate-hydrolyzing enzyme activity, and to conjugate methylglyoxal [J]. *Food Chem*,2017,216:153-160.
- 11 Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet [J]. *J Am Diet Assoc*,2010,110:911-916.
- 12 Škerget M, Kotnik P, Hadolin M, et al. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities [J]. *Food Chem*,2005,89:191-198.
- 13 Yu FR, Liu Y, Cui YZ, et al. Effects of a flavonoid extract from *cynomorium songaricum* on the swimming endurance of rats [J]. *Am J Chinese Med*,2010,38(1):65-73.
- 14 Ma SY, Zheng JC, Cheng D, et al. Mechanisms of the ethyl acetate extract of *cynomorium songaricum* on the MAPK/ERK1/2 signal pathway for the improvements in cognitive dysfunction induced by chronic stress [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发),2017,29:1381-1385.