



ویژگی‌های ضد اکسایشی و ممانعت‌کنندگی آنزیم آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز پلی ساکاریدهای سولفات خالص‌سازی شده از گیاه آب شیرین *Myriophyllum spicatum* L.

سیده مریم علوی^۱، مهدی طبرسا^{۲*}، حسن احمدی گاولیقی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه فراآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.

۲- دانشیار، گروه فراآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.

۳- دانشیار، گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۲۵

کلمات کلیدی:

پلی ساکارید سولفات،

Myriophyllum spicatum

ضد اکسایشی،

ضد دیابتی.

DOI: 10.52547/fsct.18.116.81

* مسئول مکاتبات:

m.tabarsa@modares.ac.ir

پلی ساکاریدهای سولفات موجود در دیواره سلولی جلبک‌ها و گیاهان آبی به دلیل ساختار ویژه شیمیایی و مولکولی از فعالیت‌های زیستی متنوعی برخوردار هستند. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی پتانسیل پلی ساکاریدهای سولفات گیاه آب شیرین *Myriophyllum spicatum* L. در جلوگیری از واکنش‌های اکسایشی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز است. پس از حذف رنگ‌دانه‌ها و ترکیبات با وزن مولکولی پایین، پلی ساکاریدها توسط آب مقطر در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت دو ساعت استخراج شدند. تخلیص پلی ساکاریدها بر روی ستون حاوی ژل DEAE Sepharose FF منجر به تولید دو فراکسیون F1 و F2 با بارالکتریکی متفاوت شد. پلی ساکاریدهای به دست آمده به میزان قابل توجهی قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۶۲/۶۲-۲۰/۸۱) درصد) و احیاء یون Fe^{3+} (جذب ۰/۲۴-۰/۵۰) با بیشترین فعالیت در فراکسیون F1 بودند. بازدارندگی پلی ساکاریدهای بر فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز متفاوت (۲۲/۵۰-۶۳/۲۰ درصد) بود و کمترین IC_{50} برابر با ۱/۳۱ میلی گرم بر میلی لیتر در فراکسیون F2 مشاهده شد. فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز مخمری نیز توسط پلی ساکاریدها در سطوح مختلفی نسبت به کنترل کاهش یافت (۱/۳۰-۸۹/۵ درصد) و کمترین IC_{50} برابر با ۱۰/۰ میلی گرم بر میلی لیتر در پلی ساکارید خام مشاهده شد. به طور کلی، نتایج نشان داد که بسته به ساختار شیمیایی و مولکولی پلی ساکاریدهای سولفات *M. spicatum* L. دارای پتانسیل ضد اکسایشی و بازدارندگی آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز بوده و می‌تواند به عنوان ترکیبات ضد اکسایشی و ضد دیابتی مورد توجه قرار گیرند.

۱- مقدمه

پلی ساکاریدها بخش اصلی ساختاری دیواره سلولی جلبک‌ها و گیاهان آبی را تشکیل می‌دهند و ترکیبات زیست فعالی هستند که به‌تازگی موردتوجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند [۱ و ۲]. پلی ساکارید پلیمری از قندهای ساده (مونوساکاریدها) هست که توسط پیوند گلیکوزیدی به هم متصل شده‌اند و از هیدرولیز آن‌ها مونوساکاریدهای گلوکز، گالاکتوز، مانوز، فروکتوز، گزیزوز، فوکوز و آرابینوز حاصل می‌شود [۳ و ۴]. برخی از پلی ساکاریدهای رایج و شناخته‌شده جلبک‌ها و گیاهان آبی عبارت‌اند از اولون^۱، فوکوئیدان^۲، آلژینات^۳ و لامینارین^۴، کاراگینان^۵ و آگار [۵-۷]. پلی ساکاریدها به دلیل خواص زیستی مختلف مانند جلوگیری از انعقاد خون، کنترل فرآیند التهاب، سرکوب رشد تومور، کاهش تکثیر و پراکندگی سلول‌های سرطانی، تنظیم سیستم ایمنی و ضدویروسی شناخته‌شده می‌باشند [۸ و ۷]. گیاهان آبی و جلبک‌های دریایی یکی از غنی‌ترین منابع ضد اکسیدانی طبیعی به شمار می‌روند که از مهمترین آنها می‌توان به توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها، پلی فنول‌ها و پلی ساکاریدها اشاره کرد [۹-۱۱]. تاکنون سطوح مختلفی از فعالیت ضد اکسایشی پلی ساکاریدهای گوناگون نظیر فوکوئیدان، آلژینات و اولون گزارش شده است [۱۲-۱۴].

دیابت قندی شایع‌ترین بیماری غدد درون‌ریز بوده که در جریان آن به علت فقدان نسبی یا کامل انسولین و یا کاهش حساسیت بافت‌های هدف نسبت به تأثیرات آن اختلالاتی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها صورت می‌گیرد [۱۵]. دیابت قندی نوع دو غالباً در افراد بالغ خصوصاً افراد چاق بروز می‌کند که در این افراد هاپیرگلیسمی، تحمل به گلوکز، چاقی، وضعیت غیرطبیعی لیپید، افزایش انسولین خون و مقاومت به انسولین دیده می‌شود. جهت درمان دیابت داروهای شیمیایی سنتتیک تجویز می‌شود که مصرف طولانی مدت این داروها عوارض جانبی بسیاری برای بیماران به همراه دارد. ازجمله این عوارض جانبی می‌توان به آسیب و مرگ سلولی، بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان اشاره کرد [۱۶-۱۸]. لذا، در سال‌های اخیر توجه به درمان‌های جایگزین

و یا مکمل با استفاده از ترکیبات طبیعی بیش‌ازپیش موردتوجه قرار گرفته است. تاکنون، ویژگی‌های ضد دیابتی فوکوئیدان گونه‌های متعددی از جمله *Cucumaria frondosa*، *Acaudina molpadioides* و *Undaria pinnatifida* از طریق مهار آنزیم‌های آلفا-آمیلازی و آلفا-گلوکوزیدازی در هر دو محیط درون تنی و برون تنی گزش شده است [۱۷-۱۹]. گالاکتان جلبک سبز *Codium fragile* نیز در موش نر ویستار توانست سبب کاهش معنی‌دار قند خون از طریق کاهش سطوح آمیلاز روده شود [۲۰].

Myriophyllum spicatum L. از گیاهان غوطه‌ور از جنس میریوفیلوم و خانواده *Haloragaceae* بومی اروپا، آسیا و شمال آفریقا است [۲۱]. این گیاه در آب دارای حرکت آهسته هست. در دریاچه‌ها و یا دیگر مناطق آبی که در آن گیاهان آبی بومی ندارد، این گیاه به‌سرعت می‌تواند گسترش یابد. این گیاه به‌صورت انبوه در تالاب انزلی و منابع آب شیرین داخلی رشد می‌کند و به‌عنوان گونه رقابتی و مقاوم به تخریب محسوب می‌شود [۲۱]. مطالعه پیشین گروه حاضر نشان داد که *Myriophyllum spicatum* L. دارای یک پلی ساکارید سولفات متشکل از مونومرهای عمده گلوکز و گالاکتوز هست که از طریق پیوندهای $(1\rightarrow4)\text{-Glcp}$ ، $(1\rightarrow6)\text{-Glcp}$ ، $(1\rightarrow4,6)\text{-Galp}$ ، $(1\rightarrow3,4)\text{-Galp}$ ، $(1\rightarrow2,3)\text{-Galp}$ ، زنجیره اصلی پلیمر را تشکیل می‌دهند [۲۲]. نتایج نشان داد که این پلی ساکارید فاقد سمیت سلولی بوده و به دلیل قابلیت تحریک سلول‌های ماکروفاژ رده RAW264.7 از طریق مسیرهای سیگنالینگ NF- κ B و MAPKs می‌تواند به‌عنوان یک تقویت‌کننده سیستم ایمنی مدنظر قرار گیرد. بر طبق بررسی‌ها، علیرغم فراوانی و دسترسی آسان به این گیاه تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با پلی ساکاریدهای آن و امکان استفاده در صنایع غذایی و دارویی انجام‌نشده است. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی امکان استفاده از پلی ساکاریدهای آن در صنایع غذایی به‌عنوان یک افزودنی با ویژگی‌های تغذیه‌ای و درمانی هست. درنتیجه با توجه به مطالب بیان‌شده در بالا، مطالعه حاضر در پی آن خواهد بود که به بررسی ویژگی‌های ضد اکسایشی و ممانعت کنندگی آنزیم آلفا-آمیلاز پلی ساکاریدهای دیواره سلولی گیاه آبی *M. spicatum* L. بپردازد.

1. Ulvan
2. Fucoidan
3. Alginate
4. Laminaran
5. Carrageenans

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه

گیاه *M. spicatum* L. از سر آب جابری شهرستان روانسر کرمانشاه جمع‌آوری شد. سپس جهت حذف شن و ماسه‌ی چسبیده، نمونه‌ها با آب شیرین شست‌وشو داده شد. پس از آبکشی، در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد آون (Memmert-UFE-400، آلمان) به مدت ۴ روز قرار گرفت تا کاملاً خشک شوند. نمونه‌های خشک‌شده در یک دستگاه آسیاب (Arshia BL110-1458، ایران) تا حد امکان پودر، الک شده ($<0.5\text{ mm}$) و به‌وسیله ترازوی دیجیتال توزین و تا زمان انجام آزمایش در کیسه‌های پلاستیکی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲-۲- استخراج پلی ساکارید خام

ابتدا ۱۵۰ گرم از نمونه آسیاب شده به‌منظور حذف رنگ‌دانه‌ها، متابولیت‌های ثانویه و چربی در اتانول ۸۰٪ و در دمای اتاق به مدت ۴ ساعت قرار داده شد. فاز جامد با استفاده از سانتریفیوژ ($6080 \times g$ ، ۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه) (Universal 320R، آلمان) از فاز مایع جدا گردیده و فرایند رنگ‌بری تا زمان بی‌رنگ شدن اتانول اضافی تکرار شد. در انتها نیز فاز جامد به‌منظور خشک شدن در چندین نوبت با اتانول و استون شست‌وشو شد. در این مرحله ۱۰ گرم از نمونه جلبکی را در آب مقطر مخلوط کرده (۸۰ دور در دقیقه) و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد استخراج پلی‌ساکاریدها به انجام رسید. در پایان، مایع روماند پس از سانتریفیوژ ($6080 \times g$ ، ۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ دقیقه) جمع‌آوری و تغلیظ شده و با استفاده از اتانول ۹۹٪ به میزان چهار برابر مایع روماند، پلی ساکاریدهای استخراج‌شده بازیابی شدند [5].

۲-۳- تخلیص پلی‌ساکاریدها

به‌منظور تخلیص هر چه بیشتر پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده و دستیابی به پلیمرهای همگن‌تر، از سیستم کروماتوگرافی تبادل یونی با ژل DEAE Sepharose Fast Flow استفاده شد. همچنین جهت شست‌وشوی پلیمرها از ستون از سطوح مختلف نمک NaCl در غلظت‌های ۰/۵ تا ۰/۲٪ استفاده شد. درنهایت نمونه‌های به‌دست‌آمده با استفاده از کیسه دیالیز ۳۰۰۰ دالتون از نمک و دیگر ناخالصی‌ها جدا شد.

۲-۴- قابلیت مهارکنندگی رادیکال آزاد دی

فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

جهت ارزیابی قابلیت پلی‌ساکارید خام و فراکسیون‌ها در مهار رادیکال آزاد DPPH از روش Brand-Williams همکاران [۲۳] با کمی تغییر استفاده شد. به‌طور خلاصه، ۱۰۰ میکرو لیتر از غلظت‌های مختلف نمونه‌های پلی‌ساکارید (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱/۰ میلی گرم بر میلی لیتر) یا اسید آسکوربیک (۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر) به عنوان کنترل مثبت به ۱۰۰ میکرو لیتر محلول DPPH اضافه شد. سپس ترکیب حاصل در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب محلول در ۵۱۷ نانومتر توسط طیف‌سنجی UV-Vis با استفاده دستگاه خوانشگر میکروپلیت (Epock، آمریکا) خوانده شد. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH مطابق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{DPPH}\% = \frac{\text{فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد}}{\text{کنترل}} \times 100$$

کنترل - نمونه

کنترل

۲-۵- قدرت کاهندگی یون آهن Fe^{3+}

جهت اندازه‌گیری قدرت کاهندگی آهن پلی‌ساکارید خام و فراکسیون‌ها از روش Oyaizu [۲۴] استفاده شد. حجم ۵۰۰ میکرو لیتر از محلول پلی‌ساکارید خام و فراکسیون‌ها با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱/۰ میلی گرم بر میلی لیتر یا هیدروکسی بوتیل تولوئن (BHT) با غلظت ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر با ۵۰۰ میکرو لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۲ مولار، pH ۶/۶ و ۵۰۰ میکرو لیتر از فری سیانات پتاسیم ۱٪ مخلوط شد. آسکوربیک اسید (۱۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر) به‌عنوان ضد اکسیدان تجاری استفاده شد. انکوباسیون نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور (Comecta-100-Spania) انجام شد و ۵۰۰ میکرو لیتر از TCA ۱۰٪ اضافه شد و مخلوط حاضر به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه، ۱ میلی لیتر آب مقطر و ۲۰۰ میکرو لیتر کلرید آهن ۰/۱٪ به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. درنهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد.

۲-۶- قابلیت بازدارندگی آنزیم آلفا-آمیلاز

میزان بازدارندگی پلی ساکاریدها نسبت به آنزیم آلفا-آمیلاز بر اساس روش Apostolidis و همکاران [۲۵] انجام شد. ابتدا غلظت‌های ۱ و ۳ میلی گرم بر میلی لیتر از پلی ساکاریدها یا ۰/۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر آکاربوز در بافر فسفات (۰/۰۲) مول بر لیتر که حاوی ۰/۰۷ مول بر لیتر NaCl و pH=۶/۸ تهیه شد. در مرحله اول، ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه با ۱۰۰ میکرو لیتر آنزیم (۰/۵ U/ml) مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد (حمام آب گرم) گرمخانه گذاری شد؛ سپس ۱۰۰ میکرو لیتر محلول نشاسته ۰/۵ درصد به آن اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد مجدد گرمخانه گذاری شد. پس از گذشت مدت زمان مذکور، جهت غیر فعال سازی آنزیم، نمونه‌ها به همراه کنترل منفی (بافر جایگزین نمونه) در دستگاه بلوک اختلاط (دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۱۰ دقیقه) قرار گرفتند. پس از خنک شدن، به منظور جداسازی نشاسته هضم نشده، نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند (۳ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه) و روماند به عنوان نمونه برای مرحله دوم مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله دوم، نمونه‌ها رقیق و سپس ۲۰ میکرو لیتر از نمونه رقیق شده با ۱ میلی لیتر از محلول رنگی (PAHBAH) مخلوط و در دستگاه بلوک اختلاط (دمای ۷۰ درجه سانتی گراد، ۱۰ دقیقه) حرارت دهی شد. پس از خنک شدن جذب در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت شد. درصد مهار کنندگی از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\% \text{فعالیت مهار کنندگی آلفا-آمیلاز} = 100 \times \frac{(\text{پیش زمینه} - \text{نمونه})}{\text{کنترل}}$$

۲-۷- قابلیت بازدارندگی آنزیم

آلفا-گلوکوزیداز

میزان بازدارندگی پلی ساکاریدها نسبت به آنزیم آلفا-گلوکوزیداز بر اساس روش Apostolidis و همکاران [۲۵] انجام خواهد شد. میزان ۲۵۰ میکرو لیتر از نمونه پلی ساکاریدی (غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۲ میلی گرم بر میلی لیتر) یا آکاربوز (۰/۰۶۶ میلی گرم بر میلی لیتر) با میزان ۱۵۰ میکرو لیتر از آنزیم آلفا-گلوکوزیداز مخمر سایکرومایسس سرروزیه (۰/۴ واحد در هر میلی لیتر) به محلول اضافه و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری خواهد

شد. سپس به میزان ۱۰۰ ماکرو لیتر p-۵ فنل α-D-گلیکوپیرانوزید (۰/۰۱ مول بولی تر) به مخلوط واکنش اضافه و جذب نمونه واکنش را در ۴۱۰ نانومتر اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیمی به صورت مقدار آنزیم مورد نیاز برای آزاد شدن یک ماکرو مول p- نیترو فنل تعریف شد. میزان بازدارندگی از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\% \text{فعالیت مهار کنندگی آلفا-گلوکوزیداز} = 100 \times \frac{\text{شیب خط نمونه} - \text{شیب خط کنترل}}{\text{شیب خط کنترل}}$$

۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایش‌ها، در ابتدا تأثیر غلظت‌های مختلف پلی ساکارید بر فعالیت زیستی با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه بررسی شد. در صورت معنی دار بودن، از آزمون دانکن به منظور مقایسه میانگین‌ها استفاده و بهترین غلظت انتخاب شد. به منظور مقایسه بین گروه‌های مختلف در آزمون بازدارندگی آنزیمی از آزمون T مستقل استفاده شد. جهت انجام تحلیل‌های آماری نرم افزار SPSS و جهت رسم نمودارها از نرم افزار ۱۲ Sigmaplot بکار گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی مهار رادیکال آزاد DPPH

به منظور مقایسه نتایج حاصل از آزمایش‌های ضد اکسایشی مختلف و سنجش اعتبار آن‌ها، نیاز به یک آزمایش استاندارد می باشد. یکی از روش‌های معمول و محبوب برای سنجش فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات طبیعی ارزیابی قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH است [۲۶]. این سنجش برای بررسی توانایی عملکرد ترکیبات ضد اکسایشی اهداکننده هیدروژن استفاده می شود. DPPH به عنوان یک رادیکال آزاد پایدار است و زمانی که رادیکال DPPH با یک ترکیب ضد اکسیدانی مواجه می شود، یک اتم هیدروژن دریافت می نماید و رنگ بنفش خود را از دست می دهد [۲۷]. قابلیت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط پلی ساکارید خام و فراکسیون‌های F1 و F2 گیاه *M. spicatum* L. در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می شود قدرت مهار کنندگی پلی ساکارید خام در محدوده ۳۲/۷۴ - ۴۵/۴۵

وجود دارد [۲۸]. ارزیابی کاهندگی آهن، آزمون دیگری است که به طور گسترده جهت اندازه گیری فعالیت ضد کسایشی به کار می رود که در طی آن حضور کاهنده ها در حلال باعث کاهش کمپلکس Fe^{3+}/Fe^{2+} فری سیانید به شکل Fe^{2+} / فرس می گردد [۲۹]. قدرت احیا کنندگی در حقیقت توانایی الکترون دهنده گی یک ترکیب ضد اکسایشی را نشان می دهد. چنانچه ترکیبی دارای این ویژگی باشد می تواند باعث کاهش میزان ترکیبات حد واسط اکسید ساخته شده طی مراحل اکسیداسیون چربی شود. به این ترتیب باعث شکستن زنجیره واکنش می شود و می تواند به عنوان آنتی اکسیدان اولیه و ثانویه عمل کند [۳۰]. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود پتانسیل کاهندگی آهن Fe^{3+} در پلی ساکارید خام و فراکسیون ها با افزایش غلظت افزایش معناداری را نشان می دهد ($p < 0.05$). در این میان در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر، فراکسیون F_1 با ۰/۵۰ بیشترین و فراکسیون F_2 با جذب ۰/۳۵ کمترین میزان کاهندگی آهن Fe^{3+} را نشان دادند. استفاده از هیدروکسی بوتیل تولوئن در غلظت ۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر نیز توانست در مقایسه با پلی ساکاریدهای مورد مطالعه میزان کاهندگی آهن بیشتری (جذب ۰/۶) را نشان دهد. پتانسیل احیاء Fe^{3+} در پلی ساکاریدهای سولفاته به دست آمده از *S. angustifolium* نسبت به پلی ساکاریدهای *M. spicatum* ضعیف تر (جذب ۰/۲۳ در غلظت ۱/۰ میلی گرم بر میلی لیتر) گزارش شد [۱۳].

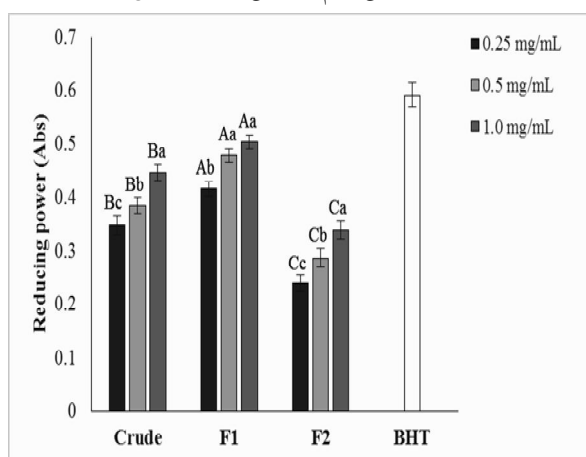


Fig 2 Fe^{3+} reducing power of crude polysaccharide and F1 and F2 fractions. Butylated hydroxytoluene (BHT) was used at 0.05 mg/mL as a positive control. The small letters indicate a significant difference ($p < .05$) between the concentrations of the polysaccharides, and different capital letter indicate a significant difference ($p < .05$) between the polysaccharides at each concentration.

درصد سنجش شد که این میزان در فراکسیون های به دست آمده بین ۶۲/۶۲-۶۴/۸۱ درصد بود. بررسی مهار فعالیت رادیکال در فراکسیون های مختلف نشان داد که غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر دارای بالاترین اثر ضد اکسیدانی بوده است. همچنین میزان مهار کنندگی رادیکال آزاد در فراکسیون F_1 وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت ارتباط مستقیمی با درصد مهار کنندگی مشاهده شد ($p < 0.05$). فراکسیون F_1 با مهار ۶۴/۸۱ درصد رادیکال آزاد بیشترین و F_2 کمترین قابلیت مهار رادیکال آزاد را به نمایش گذاشت. میزان مهار رادیکال آزاد DPPH توسط آسکوربیک اسید در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر ۷۱/۸ درصد بود. در مقایسه با مطالعه حاضر، میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در پلی ساکارید سولفاته استخراج شده از *Sargassum angustifolium* کمتر و در غلظت ۳/۰ میلی گرم بر میلی لیتر تنها ۳۵/۰ درصد گزارش شده است [۱۳]. سطح مهار رادیکال آزاد DPPH توسط پلی ساکارید سولفاته اولوان که از جلبک سبز *Ulva intestinalis* استخراج شده بود در غلظت ۱/۰ میلی گرم بر میلی لیتر ۴۲/۰ درصد گزارش شده است که بیشتر از پلی ساکارید خام و کمتر از فراکسیون F_1 در مطالعه حاضر می باشد [۱۴].

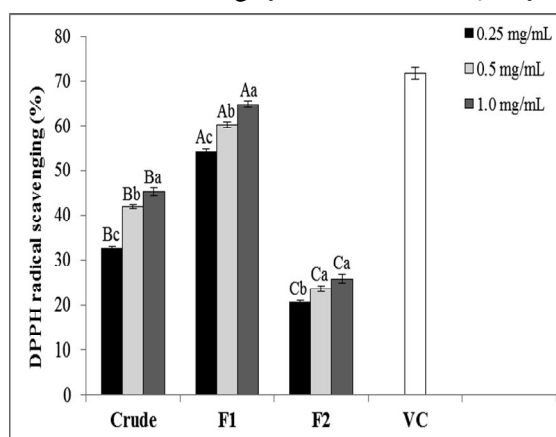


Fig 1 DPPH radical scavenging activity of crude polysaccharide and F1 and F2 fractions. Ascorbic acid (VC) was used at 0.1 mg/mL as a positive control. The small letters indicate a significant difference ($p < .05$) between the concentrations of the polysaccharides, and different capital letter indicate a significant difference ($p < .05$) between the polysaccharides at each concentration.

۲-۳- بررسی قدرت کاهندگی آهن Fe^{3+}

تحقیقات نشان داده است که بین فعالیت ضد اکسایشی و قدرت کاهندگی آهن Fe^{3+} ترکیبات طبیعی ارتباط نزدیکی

۳-۳- قابلیت مهار آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و

آلفا-گلوکوزیداز

میزان مهارکنندگی پلی ساکارید خام و فراکسیون‌های مختلف بر فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در شکل ۳ نمایش داده شده است. در غلظت‌های ۱/۰ و ۳/۰ میلی گرم بر میلی لیتر پلی ساکارید خام سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز به میزان ۳۰/۷ و ۵۹/۱ درصد شد ($p < 0.05$). کمترین سطح مهار آنزیم آلفا-آمیلاز در فراکسیون F1 (۲۲/۵ و ۴۶/۳ درصد) و بیشترین سطح در فراکسیون F2 (۴۷/۶ و ۶۳/۲ درصد) مشاهده شد ($p < 0.05$).

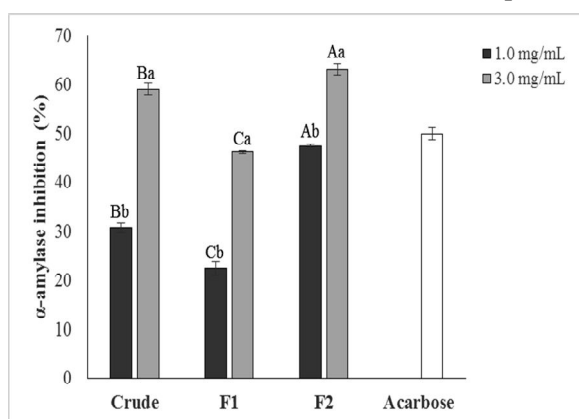


Fig 3 α-amylase activity inhibition of crude polysaccharide and F1 and F2 fractions. Acarbose was used at 0.125 mg/mL as a positive control. The small letters indicate a significant difference ($p < .05$) between the concentrations of the polysaccharides, and different capital letter indicate a significant difference ($p < .05$) between the polysaccharides at each concentration.

میزان IC_{50} برای پلی ساکارید خام و فراکسیون‌های F1 و F2 به ترتیب برابر با ۲/۳۵، ۳/۰ و ۱/۳۱ میلی گرم بر میلی لیتر بود (جدول ۱). آکاربوز که در مطالعه حاضر به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفت در غلظت ۰/۱۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر سبب کاهش ۵۰/۰ درصدی فعالیت آلفا-آمیلاز شد. شکل ۴ نیز میزان بازدارندگی پلی ساکارید خام و فراکسیون‌های F1 و F2 را بر فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز نشان می‌دهد. فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۰۲ میلی گرم بر میلی لیتر پلی ساکارید خام ۵۰/۳ و ۸۸/۴ درصد سنجش شد ($p < 0.05$). مشابه با نتایج مرتبط با آنزیم آلفا-آمیلاز، میزان بازدارندگی فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز در فراکسیون F2 (۲۵/۸ و ۸۹/۵ درصد)

بیشتر از فراکسیون F1 (۱/۳ و ۵۵/۵) بود ($p < 0.05$). میزان IC_{50} برای پلی ساکارید خام و فراکسیون‌های F1 و F2 به ترتیب برابر با ۰/۰۱، ۰/۰۱۹ و ۰/۰۱۴ میلی گرم بر میلی لیتر بود (جدول ۱). میزان ممانعت از فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز در غلظت ۰/۰۶۶ میلی گرم بر میلی لیتر آکاربوز ۵۰/۰ درصد بود. درحالی که آنزیم آلفا-آمیلاز به عنوان یکی از آنزیم‌های مهم در تجزیه کربوهیدرات‌ها سبب هیدرولیز نشاسته از جایگاه α - (1-4) و تبدیل آن به مالتوز و گلوکز می‌شود، فعالیت کاتابولیسمی آنزیم آلفا-گلوکوزیداز موجب رهایش گلوکز از مال توز و ساکارز می‌شود [۳۱]. بعلاوه آلفا-آمیلاز که در غدد بزاقی نیز یافت می‌شود، هر دو آنزیم در روده کوچک ترشح می‌شوند و مهار فعالیت آن‌ها می‌تواند منجر به کاهش قند خون و جلوگیری از علائم دیابت نوع ۲ شود. پیش‌ازین، ممانعت از فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز پلی ساکاریدهای مختلف به‌دست‌آمده از آبزیان نظیر فوکوئیدان *Undaria pinnatifida* و *Ascophyllum nodosum* و *Fucus vesiculosus* گزارش شده است [۱۸ و ۳۲].

۳-۴- ارتباط ساختار شیمیایی و فعالیت زیستی

در مطالعه پیشین، ارزیابی ساختار شیمیایی پلی ساکاریدهای *M. spicatum* L. نشان داد که فراکسیون F1 دارای ۹/۴ درصد یورونیک اسید و ۱۲/۸ درصد سولفات با وزن مولکولی ۴۷۹/۸ کیلو دالتون می‌باشد [۲۲]. فراکسیون F2 نیز با وزن مولکولی ۲۱۷/۴ کیلو دالتون دارای ۳/۷ درصد یورونیک اسید و ۱۴/۴ درصد سولفات در ساختار شیمیایی خود است [۲۲]. فعالیت ضد اکسایشی پلی ساکاریدهای سولفات به میزان قابل توجهی مرتبط با قابلیت این ترکیبات در آزاد کردن پروتون از گروه‌های عاملی سولفات و کربوکسیل مرتبط می‌باشد [۱۴]. با توجه به مجموع بارالکتریکی مشابه در هر دو فراکسیون، به نظر می‌رسد که وزن مولکولی نسبی بیشتر در فراکسیون F1 می‌تواند عامل تعیین کننده در قدرت بالاتر آن در مهار رادیکال‌های آزاد باشد. پیش از این، در مطالعه ای که بر روی پلی ساکارید استخراج شده از گونه *Ascophyllum nodosum* انجام شد نتایج نشان داد که با افزایش دمای استخراج، وزن مولکولی از ۴۰ به ۱/۳ کیلودالتون کاهش یافت که این خود سبب کاهش پتانسیل مهار رادیکال آزاد DPPH و احیاء یون آهن شد [۳۳]. برخلاف مطالعه حاضر، در *S. angustifolium* پلی ساکاریدهای با وزن مولکولی کمتر

و تخلیص شده به نظر می‌رسد که هیچ‌یک از عوامل میزان سولفات و وزن مولکولی به تنهایی فعالیت ممانعت کنندگی آنزیمی این ترکیبات را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد، بلکه ویژگی‌ها نتیجه برآیند کلی ساختار شیمیایی این پلیمرها هست. بطور کلی، ترکیبات ممانعت کننده استخراجی از منابع طبیعی با میزان فعالیت ممانعت کنندگی آلفا-آمیلازی ضعیف و فعالیت ممانعت کنندگی آلفا-گلوکوزیدازی قوی می‌تواند از عوارض جانبی مانند اتساع شکمی، نفخ شکمی و احتمال اسهال جلوگیری نماید [۳۸]. در همین راستا، مطالعه حاضر نشان داد که پلی ساکارید استخراجی از *M. spicatum* دارای فعالیت بازدارنده آمیلازی ضعیف و آلفا گلوکوزیدازی قوی بوده که می‌تواند در فرمولاسیون غذاداروها جایگزین ترکیبات سنتزی شود.

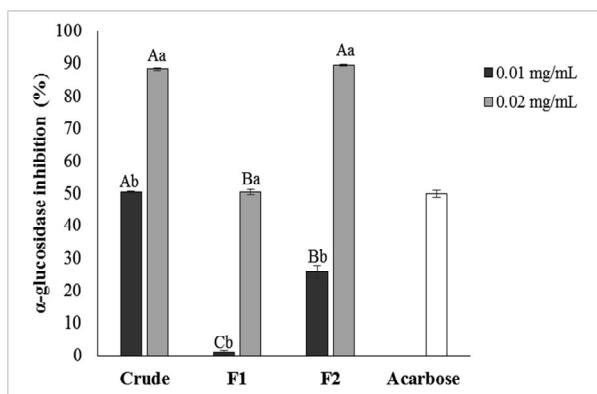


Fig 4 α-glucosidase activity inhibition of crude polysaccharide and F1 and F2 fractions. Acarbose was used at 0.066 mg/mL as a positive control. The small letters indicate a significant difference ($p < .05$) between the concentrations of the polysaccharides, and different capital letter indicate a significant difference ($p < .05$) between the polysaccharides at each concentration.

Table 1 Amount of IC_{50} of both enzymes α-amylase and α-glucosidase

IC_{50} of enzyme inhibition (mg/mL)	Crude	F1	F2
α-amylase	2.35 ± 1.1	$3.0 >$	1.31 ± 3.12
α-glucosidase	0.01 ± 0.41	0.019 ± 0.7	0.014 ± 1.13

قابلیت فراکسیون F2 در کاهش فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز قابل توجه بود اما بیشترین بازدارندگی در پلی ساکارید خام سنجش شد. به‌طورکلی می‌توان اظهار نمود که پلی ساکاریدهای سولفات‌ها این گیاه آبی‌زی قادر به مهار واکنش‌های ضد اکسایشی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی کربوهیدراتی است ولی سطح فعالیت زیستی آن‌ها توسط یک ویژگی ساختاری مشخص کنترل نمی‌شود.

(۶۳/۹ کیلودالتون) نسبت به پلی ساکاریدهای با وزن مولکولی بیشتر (۴۲۱/۰ کیلودالتون) فعالیت بیشتری در مهار رادیکال های آزاد DPPH (۳۵/۰ به ۸۶/۰ درصد) و احیاء یون Fe^{3+} (جذب ۵۵/۰ به ۰/۷۸) در غلظت ۳ میلی گرم بر میلی لیتر نشان دادند [۱۳]. البته، در مطالعه ای که در طی آن فوکوئیدان جلبک *Laminaria japonica* توسط پراکسید هیدروژن در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳ ساعت تحت هیدرولیز قرار گرفت، ارزیابی هیدرولیزات به دست آمده حاکی از آن بود که رابطه بین وزن مولکولی و فعالیت ضد اکسایش به صورت خطی نمی باشد [۳۴].

مکانیسم بازدارندگی آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز در بازدارنده‌های مختلف متفاوت گزارش شده است. فاکتور اصلی که می‌تواند فعالیت آنزیم آلفا-گلوکوزیداز را تحت تأثیر قرار دهد قابلیت به دام اندازی هیدروژن توسط بازدارنده است، چون آلفا-گلوکوزیداز با تولید یون هیدروژن سبب کاتالیز پیوند α -(1-4) می‌شود [۳۲]. جهت بازدارندگی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز تاکنون دو مکانیسم اصلی پیشنهاد شده است که عبارت‌اند از: الف) تشکیل کمپلکس بین بازدارنده و آلفا-آمیلاز و در نتیجه محدود کردن فعالیت آنزیم، ب) کاهش میزان انتشار گلوکز از بخش فعال آنزیمی، به‌طور مثال از طریق افزایش ویسکوزیته محیط، و در نتیجه تأخیر در هضم کربوهیدرات و جذب گلوکز [۳۵ و ۳۶]. در ارتباط با مکانیسم مهار کنندگی فوکوئیدان، به نظر می‌رسد که برقراری پیوند الکترواستاتیک بین گروه‌های منفی سولفات در زنجیره پلی ساکاریدی و آنزیم نقش اصلی را ایفا می‌نماید [۳۷]. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده و ساختار شیمیایی پلی ساکاریدهای خام

۴- نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت زیستی پلی ساکاریدهای سولفات‌ها *M. spicatum* L. در پلی ساکارید خام و فراکسیون‌ها متفاوت است. در این میان، فراکسیون F1 بیشترین پتانسیل را در مهار رادیکال آزاد DPPH و احیاء یون آهن Fe^{3+} را دارا هست. فراکسیون F2 نیز بالاترین توانایی مهار فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز را از خود نشان داد. اگرچه

۵- منابع

- [11] Parys, S., Rosenbaum, A., Kehraus, S., Reher, G., Glombitza, K. W., & König, G. M. (2007). Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts. *Journal of Natural Products*, 70(12), 1865-1870.
- [12] Borazjani, N. J., Tabarsa, M., You, S., & Rezaei, M. (2017). Effects of extraction methods on molecular characteristics, antioxidant properties and immunomodulation of alginates from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 703-711.
- [13] Borazjani, N. J., Tabarsa, M., You, S., & Rezaei, M. (2017). Improved immunomodulatory and antioxidant properties of unrefined fucoidans from *Sargassum angustifolium* by hydrolysis. *Journal of Food Science and Technology*, 54(12), 4016-4025.
- [14] Rahimi, F., Tabarsa, M., & Rezaei, M. (2016). Ulvan from green algae *Ulva intestinalis*: optimization of ultrasound-assisted extraction and antioxidant activity. *Journal of Applied Phycology*, 28(5), 2979-2990.
- [15] DeFronzo, R. A., & Tripathy, D. (2009). Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32(suppl 2), S157-S163.
- [16] Sugiwati, S., Kardono, L., & Bintang, M. (2006). α -Glucosidase inhibitory activity and hypoglycemic effect of *Phaleria macrocarpa* fruit pericarp extracts by oral administration to rats. *Journal of Applied Sciences*, 6(10), 2312-2316.
- [17] Wang, Y., Wang, J., Zhao, Y., Hu, S., Shi, D., & Xue, C. (2016). Fucoidan from sea cucumber *Cucumaria frondosa* exhibits anti-hyperglycemic effects in insulin resistant mice via activating the PI3K/PKB pathway and GLUT4. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 121(1), 36-42.
- [18] Koh, H. S. A., Lu, J., & Zhou, W. (2020). Structural dependence of sulfated polysaccharide for diabetes management: Fucoidan from *Undaria pinnatifida* inhibiting α -glucosidase more strongly than α -amylase and amyloglucosidase. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 831.
- [19] Hu, S., Xia, G., Wang, J., Wang, Y., Li, Z., & Xue, C. (2014). Fucoidan from sea cucumber protects against high-fat high-sucrose diet-induced hyperglycaemia and insulin resistance in mice. *Journal of Functional Foods*, 10, 128-138.
- [1] Burtin, P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electronic journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 2(4), 498-503.
- [2] Wijesekara, I., Pangestuti, R., & Kim, S. K. (2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 14-21.
- [3] McHugh, D. J. (2003). A guide to the seaweed industry FAO Fisheries Technical Paper 441. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*.
- [4] Tseng, C. K. (2001). Algal biotechnology industries and research activities in China. *Journal of Applied Phycology*, 13, 375-380.
- [5] Tabarsa, M., You, S., Dabaghian, E. H., & Surayot, U. (2018). Water-soluble polysaccharides from *Ulva intestinalis*: Molecular properties, structural elucidation and immunomodulatory activities. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 599-608.
- [6] Masarin, F., Cedeno, F. R. P., Chavez, E. G. S., De Oliveira, L. E., Gelli, V. C., & Monti, R. (2016). Chemical analysis and biorefinery of red algae *Kappaphycus alvarezii* for efficient production of glucose from residue of carrageenan extraction process. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 1-12.
- [7] Borazjani, N. J., Tabarsa, M., You, S., & Rezaei, M. (2018). Purification, molecular properties, structural characterization, and immunomodulatory activities of water soluble polysaccharides from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 793-802.
- [8] Costa, L. S., Fidelis, G. P., Cordeiro, S. L., Oliveira, R. M., Sabry, D. D. A., Câmara, R. B. G., ... & Rocha, H. A. O. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 64(1), 21-28.
- [9] Miyashita, K., & Takagi, T. (1987). Tocopherol content of Japanese algae and its seasonal variation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(11), 3115-3118.
- [10] Hosokawa, M., Okada, T., Mikami, N., Konishi, I., & Miyashita, K. (2009). Bio-functions of marine carotenoids. *Food Science and Biotechnology*, 18(1), 1-11.

- [30] Ye, H., Zhou, C., Sun, Y., Zhang, X., Liu, J., Hu, Q., & Zeng, X. (2009). Antioxidant activities in vitro of ethanol extract from brown seaweed *Sargassum pallidum*. *European Food Research and Technology*, 230(1), 101-109.
- [31] Brayer, G. D., Sidhu, G., Maurus, R., Rydberg, E. H., Braun, C., Wang, Y., ... & Withers, S. G. (2000). Subsite mapping of the human pancreatic α -amylase active site through structural, kinetic, and mutagenesis techniques. *Biochemistry*, 39(16), 4778-4791.
- [32] de Melo, E. B., da Silveira Gomes, A., & Carvalho, I. (2006). α - and β -Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, 62(44), 10277-10302.
- [33] Yuan, Y., & Macquarrie D. (2015). Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*, 129, 101-107.
- [34] Hou, Y., Wang, J., Jin, W., Zhang, H., & Zhang Q. (2012). Degradation of *Laminaria japonica* fucoidan by hydrogen peroxide and antioxidant activities of the degradation products of different molecular weights. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 153-9.
- [35] Kim, K. T., Rioux, L. E., & Turgeon, S. L. (2014). Alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibition is differentially modulated by fucoidan obtained from *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*. *Phytochemistry*, 98, 27-33.
- [36] Nahoum, V., Roux, G., Anton, V., Rougé, P., Puigserver, A., Bischoff, H., ... & Payan, F. (2000). Crystal structures of human pancreatic α -amylase in complex with carbohydrate and proteinaceous inhibitors. *Biochemical Journal*, 346(1), 201-208.
- [37] Maki, K. C., Galant, R., Samuel, P., Tesser, J., Witchger, M. S., Ribaya-Mercado, J. D., ... & Geohas, J. (2007). Effects of consuming foods containing oat β -glucan on blood pressure, carbohydrate metabolism and biomarkers of oxidative stress in men and women with elevated blood pressure. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(6), 786-795.
- [38] L. Zhang, S. Hogan, J. Li, S. Sun, C. Canning, S. J. Zheng, K. Zhou Grape skin extract inhibits mammalian intestinal α -glucosidase activity and suppresses postprandial glycemic response in streptozocin-treated mice Food Chemistry, 126 (2) (2011), pp. 466-470.
- [20] Kolsi, R. B. A., Fakhfakh, J., Sassi, S., Elleuch, M., & Gargouri, L. (2018). Physico-chemical characterization and beneficial effects of seaweed sulfated polysaccharide against oxydatif and cellular damages caused by alloxan in diabetic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 407-417.
- [21] Zarkami, R., & Khazaie, H. (2020). Assessment of habitat suitability of watermilfoil (*Myriophyllum spicatum* L.) in some aquatic ecosystems of Mazandaran and Guilan provinces. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 33(3), 705-717.
- [22] Alavi, M., Tabarsa, M., You, S., & Gavlighi, H. A. (2020). Structural characteristics, molecular properties and immunostimulatory effects of sulfated polysaccharide from freshwater *Myriophyllum spicatum* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 153, 951-961.
- [23] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [24] Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.
- [25] Apostolidis, E., Kwon, Y. I., & Shetty, K. (2007). Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(1), 46-54.
- [26] Kumar, S. P., Kekuda, T. P., Vinayaka, K. S., & Sudharshan, S. J. (2009). Anthelmintic and antioxidant efficacy of two macrolichens of Ramalinaceae. *Pharmacognosy Journal*, 1(4), 238-242.
- [27] Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.
- [28] Chandini, S. K., Ganesan, P., & Bhaskar, N. (2008). In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry*, 107(2), 707-713.
- [29] Luo, H., Wang, B., Yu, C., Qu, Y., & Su, C. (2010). Evaluation of antioxidant activities of five selected brown seaweeds from China. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(23), 2557-2565.



Antioxidant activity, α -amylase and α -glucosidase inhibition properties of sulfated-polysaccharides purified from freshwater plant *Myriophyllum spicatum* L.

Alavi, M.¹, Tabarsa, M.^{2*}, Ahmadi Gavlighi, H.³

1. M.Sc. Graduate, Department of Seafood Processing, Tarbiat Modares University, Nur, Iran

2. Associate Professor, Department of Seafood Processing, Tarbiat Modares University, Nur, Iran

3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received 2021/ 03/ 27

Accepted 2021/ 05/ 15

Keywords:

Sulfated polysaccharides,
Myriophyllum spicatum,
Antioxidant,
Anti-diabetic.

DOI: 10.52547/fsct.18.116.81

*Corresponding Author E-Mail:
m.tabarsa@modares.ac.ir

Sulfated polysaccharides presenting in the cell wall of seaweeds and aquatic plants exhibit a diverse range of biological functions mainly due to their particular structural and molecular properties. The aim of the current study was to evaluate the inhibition of oxidation reactions and activities of digestive enzymes including α -amylase and α -glucosidase by sulfated polysaccharides from aquatic plant *Myriophyllum spicatum*. After the removal of pigments and low molecular weight compounds, polysaccharides were extracted by distilled water at 60°C for 2 hours. Polysaccharide purification using DEAE Sepharose FF led to production of two fractions with different electric charges including F1 and F2. Obtained polysaccharides were considerably capable of scavenging DPPH free radicals (20.62-64.81%) and reducing Fe³⁺ ions (0.24-0.50 Abs) with F1 fraction exhibiting the greatest activity. Polysaccharides inhibitions against α -amylase activity were greatly different (22.50-63.20%) with the lowest IC₅₀ being 1.31 mg/mL for F2 fraction. Compared with control group, α -glucosidase activity was reduced to various levels (1.30-89.5%) and the lowest IC₅₀ of 10.0 mg/mL was observed for crude polysaccharide. Overall, these findings indicated that sulfated polysaccharides from *M. spicatum* L. possess promising antioxidant, α -amylase and α -glucosidase inhibition potentials depending on their chemical and molecular structure and thus could be considered as antioxidant and anti-diabetic agents.