

轮型钼簇对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用

户晶晶, 王瑞芳, 王 力, 丁小梅, 李 月

(集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021)

[摘要] 通过酶动力学方法考察了轮型钼簇(Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$)对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果、抑制机理和抑制类型。结果表明: Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶均有较好的抑制效果,其中 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最好,其 $\text{IC}_{50} = (0.0259 \pm 0.000328) \text{ mmol/L}$; Mo_{36} 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用为可逆竞争型抑制, $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 的抑制作用为可逆混合型抑制。

[关键词] α -葡萄糖苷酶; 轮型钼簇; 抑制剂; 酶动力学

[中图分类号] O 611.6

Study on the Inhibition of α -Glucosidase by Wheel-type Molybdenum Clusters

HU Jingjing, WANG Ruifang, WANG Li, DING Xiaomei, LI Yue

(College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The inhibitory effect, inhibition mechanism and inhibition type of α -glucosidase by wheel-type molybdenum clusters(Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 , $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$) were studied by enzyme kinetics. The results showed that Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 and $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ had good inhibitory effects on α -glucosidase. The half inhibition rate of $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ with the best inhibitory effect on α -glucosidase was $(0.0259 \pm 0.000328) \text{ mmol/L}$. The inhibitory types of Mo_{36} on α -glucosidase showed reversible competitive inhibition, and the inhibitory types of $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 and $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ on α -glucosidase were reversible mixed inhibition.

Keywords: α -glucosidase; wheel-type molybdenum clusters; inhibitors; enzyme kinetics

0 引言

糖尿病是一种严重的慢性疾病,其标志性异常是高血糖^[1]。 α -葡萄糖苷酶是治疗糖尿病的一种靶酶,它可通过抑制 α -葡萄糖苷酶的活性来降低餐后血糖水平。阿卡波糖是市面上常用的一种 α -葡萄糖苷酶抑制剂,能有效控制餐后血糖水平的升高,但长期服用会出现腹泻、恶心、呕吐等不良反应^[2-3]。近年来,通过大量科学研究,人们已筛选出多种抑制效果好、副作用低的 α -葡萄糖苷酶抑制剂,如:Zhang等^[4]从菠萝蜜(*Artocarpus heterophyllus* Lam.)果皮中提取的活性成分对 α -葡萄糖苷酶具有较强的抑制作用;Yang等^[5]从何首乌(*Polygonum multiflorum*)根中提取具有抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分物质;Wang等^[6]合成的新型色酮-靛红衍生物对酵母 α -葡萄糖苷酶活性具有抑制

[收稿日期] 2019-09-03

[基金项目] 国家自然科学基金项目(21871110)

[作者简介] 户晶晶(1993—),女,硕士生,从事食品科学与工程方向研究。通信作者:王瑞芳(1976—),女,副教授,从事酶动力学研究。E-mail:ruifangwang@126.com

作用; Nguyen 等^[7]从发酵营养肉汤中分离并鉴定出 5 种新型 α -葡萄糖苷酶抑制剂——腺嘌呤、3-羟基脯氨酸、肌酐、烟酸和烟酰胺,且 3-羟基脯氨酸和烟酸对大鼠 α -葡萄糖苷酶的活性抑制强度大于阿卡波糖。上述研究的都是有机化合物抑制剂,而关于无机化合物抑制剂的研究鲜见报道。本实验组 CHI 等^[8]考察了 Keggin 型多金属氧酸盐对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用,发现过渡金属取代的 Keggin 型磷钼酸中 $\text{Na}_4\text{PMo}_{11}\text{VO}_{40}$ 抑制效果最好,此研究为设计有效的 α -葡萄糖苷酶抑制剂提供了一个新视角。

多金属氧酸盐 (polyoxometalates, POMs) 是一类高价多阴离子的金属氧化物^[9], 种类丰富多样, 性质独特, 在催化化学^[10]、药物化学^[11]、材料化学^[12]等领域均有研究。轮型钼簇是一种纳米尺寸的高核化多金属氧酸盐, 在分子磁体、生物仿生及纳米功能材料领域^[13-14]具有可观的应用前景, 是多酸研究的新热点。此外, 王川^[15]研究发现 3 种球型高核钼簇对 HUVECs 细胞的增殖、迁移起到抑制作用, 这为治疗阿尔莫兹海默症提供了实验基础。本实验室小组曾研究纯钼簇和有机-无机钼簇对酪氨酸酶的抑制作用^[16], 并将其应用于对虾和苹果的保鲜, 而高核化轮型钼簇的生物活性研究鲜见报道。

本文拟合成 4 种高核化的轮型钼簇 $\{(\text{NH}_4)_{12}[\text{Mo}_{36}\text{O}_{108}(\text{NO})_4(\text{H}_2\text{O})_{16}] \cdot 33\text{H}_2\text{O}, \text{Na}_5(\text{NH}_4)_{16}[\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6(\text{NO})_6\text{O}_{174}(\text{OH})_3(\text{H}_2\text{O})_{24}] \cdot 44\text{H}_2\text{O}, (\text{NH}_4)_{21}[\text{H}_3\text{Mo}_{57}\text{V}_6(\text{NO})_6\text{O}_{183}(\text{H}_2\text{O})_{18}] \cdot 65\text{H}_2\text{O}, \text{Na}_3(\text{NH}_4)_{12}[\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6(\text{NO})_6\text{O}_{174}(\text{OH})_3(\text{H}_2\text{O})_{24}] \cdot 76\text{H}_2\text{O}\}$ (以下分别简写为 Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$) , 并考察其对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用, 为开发新型的 α -葡萄糖苷酶抑制剂提供了理论参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

酿酒酵母的 α -葡萄糖苷酶 (EC 3. 2. 1. 20) 购自 Singma - Aidrich 公司 (St. Louis, MO, USA); 阿卡波糖购自上海麦克莱恩生化科技有限公司 (中国上海); 对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (pNPG) 和对硝基苯 (pNP) 购自北京百灵威科技有限公司 (中国北京); 二甲基亚砜、无水碳酸钠、钼酸钠、偏钒酸铵、盐酸、氯化羟胺购自西陇化工股份有限公司; 用于化合物合成和酶动力学测试系统的试剂均为分析级, 水为超纯水。

Synergy H1 全功能酶标记仪器 (United States BioTek Instrument Co., Ltd., USA); pH211C 型酸度计 (北京 Hanake Technology Co., Ltd.); HWS-24 电热恒温水浴 (上海恒世仪器有限公司, 中国上海)。

1.2 实验方法

1.2.1 轮型钼簇化合物的合成及表征

化合物 Mo_{36} 的合成参考文献 [17] 稍作修改: 11. 92 g 钼酸钠、7. 68 g 盐酸羟胺、4. 36 g 氯化铵、15. 2 mL 3. 5% (质量分数) 盐酸和 150 mL 水于 300 mL 锥形瓶中混合均匀, 70 ~ 75 °C 下水浴 16 h 后, 反应液趁热过滤, 红色滤液冷却后于 20 °C 下静置一周, 有红色的晶体析出。化合物 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 的合成参考文献 [18] 稍作修改: 2. 43 g 钼酸钠、3. 68 g 醋酸锰和 0. 347 g 盐酸羟胺溶于 100 mL 水中混合均匀, 调 pH 值至 3. 0 ~ 3. 5。室温下搅拌反应 3 ~ 4 h 后, 过滤反应液, 滤液 20 °C 下静置半个月, 有深红色块状晶体析出。化合物 Mo_{57}V_6 的合成根据文献 [17] 稍作修改: 7. 46 g 钼酸钠、1. 19 g 偏钒酸铵、12. 83 g 盐酸羟胺、9. 5 mL 3. 5% (质量分数) 盐酸和 200 mL 水于 300 mL 锥形瓶中混合均匀, 90 °C 下水浴 20 h 后, 过滤反应液, 滤液 20 °C 下静置一周, 有蓝紫色晶体析出。化合物 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 的合成根据文献 [19] 稍作修改: 12. 00 g 钼酸钠、9. 50 g 硝酸铁、16. 00 g 盐酸羟胺、12. 5 mL 3. 5% (质量分数) 盐酸和 250 mL 水搅拌均匀, 回流加热, 直至冷凝管中有棕色蒸汽回流。反应液趁热过滤, 将米色-棕色沉淀物分离出去, 滤液保存于敞口的 400 mL 烧杯中, 2 d 后再次过滤, 滤液于锥形瓶中 5 °C 下密封保存, 3 ~ 4 d 后析出褐色晶体。通过红外和紫外/可见光谱对合成的 4 种轮型钼簇进行结构表征。

1.2.2 α -葡萄糖苷酶测活体系的建立

α -葡萄糖苷酶测活体系的制备参考文献 [20] 稍作修改: 取 10 μL 配制于磷酸盐缓冲液中的酶液加入 133 μL 0. 1 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH = 6. 8) 中, 再加入溶于 DMSO 的效应物 7 μL , 混合均匀后,

37 ℃下孵育 10 min。然后加入 20 μ L 溶于磷酸盐缓冲液(pH = 6.8)的 5 mmol/L 底物 pNPG, 37 ℃下再孵育 20 min 后, 用 170 μ L 的 0.1 mmol/L Na_2CO_3 淬灭反应, 反应液于 405 nm 波长下测定吸光度值。

1.2.3 4 种轮型钼簇对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果

效应物(Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 , $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$)对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果是在测活体系中, 固定 α -葡萄糖苷酶为 5 U/mL, 底物 pNPG 浓度为 5 mmol/L, 测定效应物在不同浓度下对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果。每个实验重复 5 次, 测定效应物在不同浓度下对应的相对剩余酶活力。以效应物浓度为横坐标、相对剩余酶活力为纵坐标作图, 当相对酶活力为 50% 时, 所对应的抑制剂浓度即为 IC_{50} 值。剩余酶活力随抑制剂浓度变化的计算公式为: 抑制 / % = $(A_b - A_s) / A_b \times 100$ 。式中: A_b 为空白组没有添加抑制剂时反应体系测得的吸光度值; A_s 为样品组不同浓度抑制剂下反应体系测得的吸光度值。

1.2.4 4 种轮型钼簇对 α -葡萄糖苷酶的抑制机理

效应物(Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 , $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$)对 α -葡萄糖苷酶抑制机理研究是在上述 α -葡萄糖苷酶测活系统中, 以 5 mmol/L pNPG 作为底物, 将 α -葡萄糖苷酶的浓度分别配制为 5, 4, 3, 2, 1 U/mL, 监测不同浓度的效应物对 α -葡萄糖苷酶和底物的水解反应的影响。

1.2.5 4 种轮型钼簇对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型

效应物(Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 , $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$)对 α -葡萄糖苷酶抑制类型研究, 同样在上述的 α -葡萄糖苷酶测活体系中, 固定酶为 5 U/mL, 将底物 pNPG 的浓度分别配制为 5, 3.9, 2.8, 1.7, 1.1 mmol/L, 监测不同浓度的效应物对 α -葡萄糖苷酶和底物的水解反应的影响。

1.2.6 数据处理

数据的统计及处理采用 SPSS Statistics 17.0 软件, 图形的绘制采用 Origin Pro 8.5 软件。

2 结果与分析

2.1 4 种轮型钼簇的表征结果

4 种轮型钼簇的红外光谱数据如表 1 所示。由表 1 可知, 4 种化合物在 1 000 ~ 500 cm^{-1} 均出现了多酸 $\nu(\text{Mo}=\text{O})$ 和 $\nu(\text{Mo}-\text{O}-\text{Mo})$ 的特征吸收峰^[21], 3 427 ~ 3 418、1 622 ~ 1 619 为 $\nu(\text{H}_2\text{O})$ 的特征峰, 3 151 ~ 3 139、1 404 ~ 1 402 cm^{-1} 为 $\nu(\text{NH}_4^+)$ 的特征峰。

表 1 化合物(Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 , $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$)的红外表征数据
Tab. 1 IR vibration wave numbers of the compounds (Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 , $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$)

官能团 Functional group	化合物 Compound			
	Mo_{36}	$\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$	Mo_{57}V_6	$\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$
$\nu(\text{H}_2\text{O})$	3 427, 1 622	3 418, 1 619	3 423, 1 619	3 420, 1 620
$\nu(\text{NH}_4^+)$	3 139, 1 404	3 151, 1 403	3 149, 1 402	3 142, 1 404
$\nu(\text{Mo}=\text{O})$	948, 873	947, 876	941, 876	942, 873
$\nu(\text{Mo}-\text{O}-\text{Mo})$	781, 619, 559	691, 614, 576	787, 611, 579	785, 612, 569

紫外光谱测定结果显示, 4 种化合物在 209 nm 和 232 nm 波长处均出现了多金属氧酸盐特征峰, 这符合杂多酸化合物约在 200 nm 和 260 nm 处有特征吸收峰的特点。

4 种钼簇化合物的三维晶体结构以 Polyhedral 结构形式显示^[17,19], 如图 1 所示。4 种轮型钼簇化合物分别有不同的结构形式, Mo_{36} 是同核簇, $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 是异核簇。

2.2 效应物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用

以 Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 为效应物, 随效应物浓度的增加相对剩余酶活力逐渐下降。 Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 值分别为 $(0.229 \pm 0.002\ 48)$, $(0.212 \pm 0.001\ 07)$, $(0.039\ 4 \pm 0.001\ 67)$, $(0.025\ 9 \pm 0.000\ 328)$ mmol/L, 阿卡波糖的 $\text{IC}_{50} = 64.309$ mmol/L, 故 4 种效应物对 α -葡萄糖苷酶均表现为高效, 且对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果依次为 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6 > \text{Mo}_{57}\text{V}_6 >$

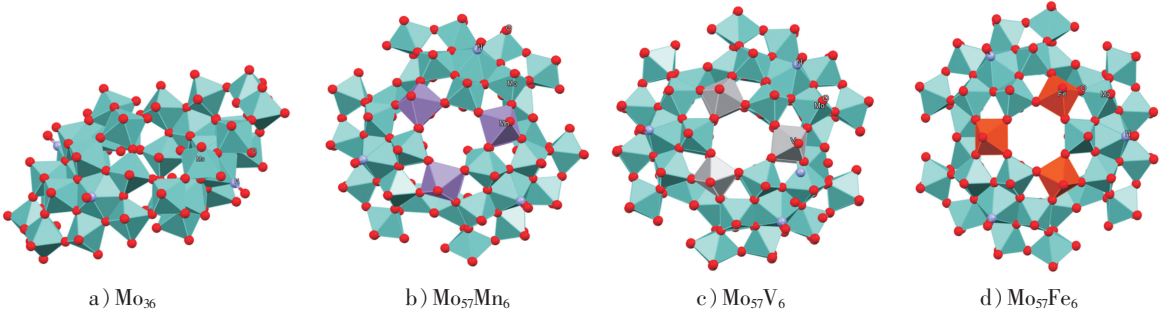


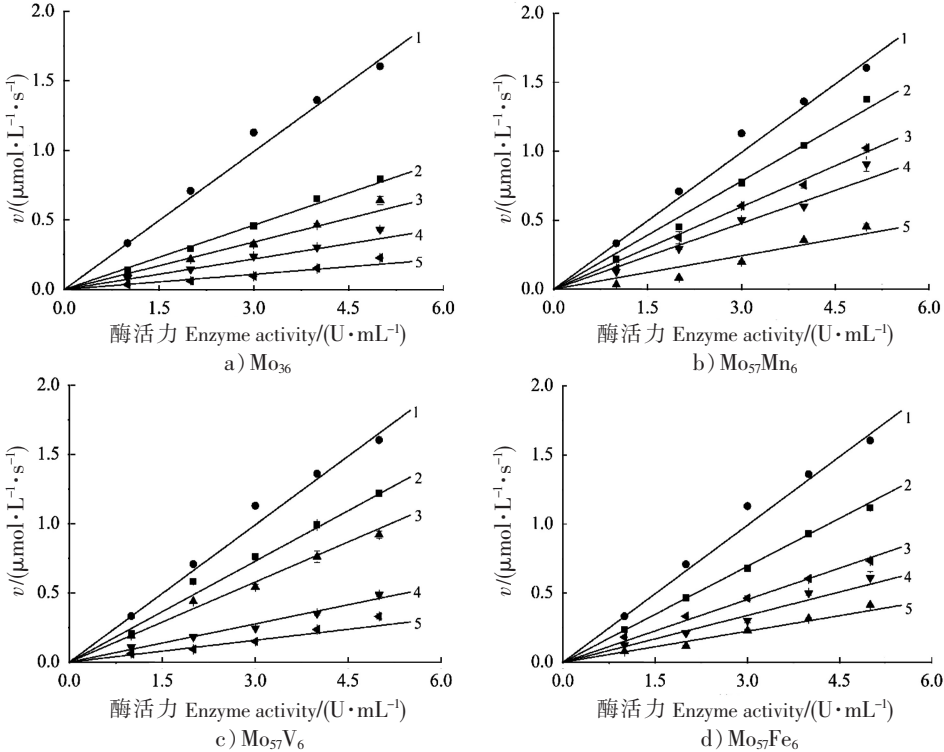
图 1 Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 的三维晶体结构图

Fig.1 Three-dimensional crystal structure diagram of Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 , $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$

$\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6 > \text{Mo}_{36}$ 。4 种化合物中的轮型 Mo_{57} 钼簇外部框架相对于 Mo_{36} 较大，这可能是导致 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶抑制效果好于 Mo_{36} 的原因之一。Prudent 等^[22] 研究发现，多金属氧酸盐对蛋白激酶 CK2 抑制作用主要取决于 POM 结构，随着 POM 大小和电荷的增大，抑制效果增加；同时指出，属于同一 POM 家族的化合物具有类似的活性，此结论与本实验结果具有相似性。然而，过渡金属取代的 3 种轮型钼簇表现不同的抑制效果，可能是金属离子对 α -葡萄糖苷酶的活性具有一定的影响。

2.3 效应物对 α -葡萄糖苷酶的抑制机理

4 种钼簇化合物（ Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ ）对 α -葡萄糖苷酶抑制机理的判定是以体系中反应速率为纵坐标，酶活力为横坐标作图，结果如图 2 所示。可见 4 种效应物的机理图具有高度



说明：a 图中直线 1~5 分别为浓度 0, 0.1, 0.15, 0.2 和 0.25 mmol/L 的 Mo_{36} ；b 图中直线 1~5 分别为浓度 0, 0.05, 0.09, 0.12 和 0.24 mmol/L 的 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ ；c 图中直线 1~5 分别为浓度 0, 0.008, 0.015, 0.025 和 0.03 mmol/L 的 Mo_{57}V_6 ；d 图中直线 1~5 分别为浓度 0, 0.008, 0.015, 0.02 和 0.025 mmol/L 的 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 。

Notes: The concentrations of Mo_{36} for curves 1~5 of figure a were 0, 0.1, 0.15, 0.2 and 0.25 mmol/L, respectively; the concentrations of $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ for curves 1~5 of figure b were 0, 0.05, 0.09, 0.12 and 0.24 mmol/L, respectively; the concentrations of Mo_{57}V_6 for curves 1~5 of figure c were 0, 0.008, 0.015, 0.025 and 0.03 mmol/L, respectively; the concentrations of $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ for curves 1~5 of figure d were 0, 0.008, 0.015, 0.02 and 0.025 mmol/L.

图 2 Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶的抑制机理

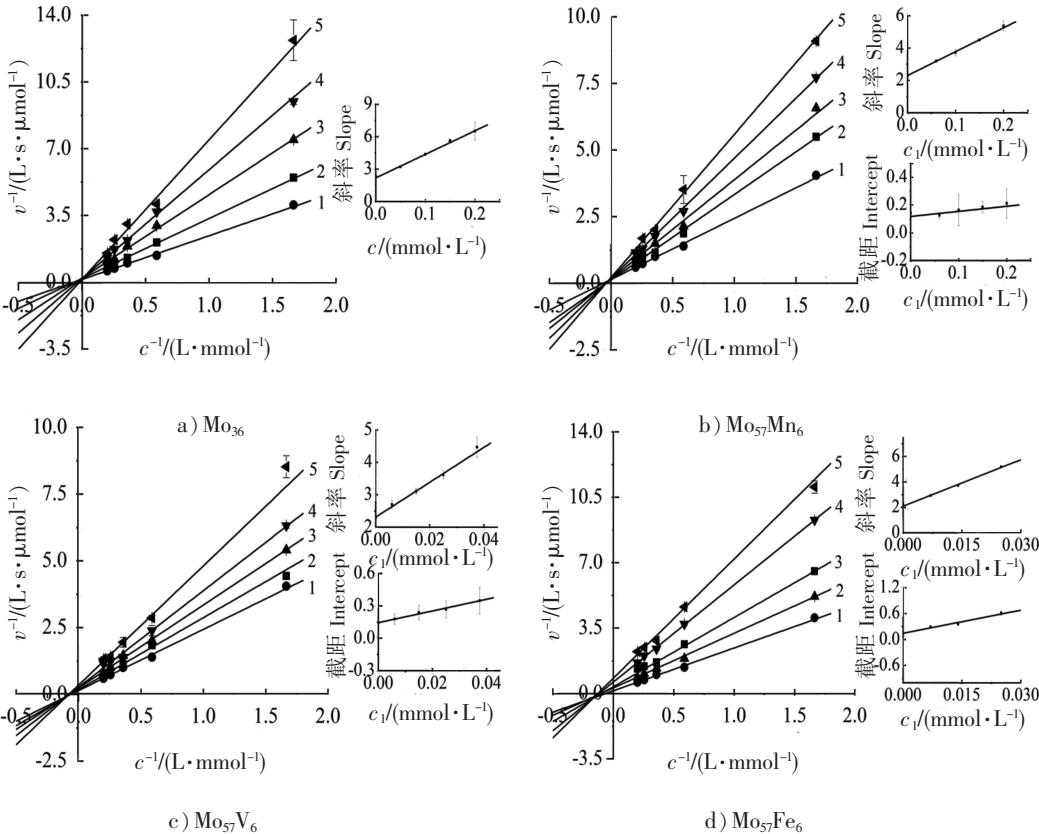
Fig.2 Inhibition mechanism of Mo_{36} , $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$, Mo_{57}V_6 , $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ on α -glucosidase

相似性。然而, 在每组图中, 5 条曲线对应的效应物浓度随效应物对 α -葡萄糖苷酶抑制效果的不同而改变。图 2 中的曲线均经过原点, 随着效应物浓度的增加, 每组曲线的斜率均逐渐减小。综上所述, Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶均是可逆抑制机理, 此结果与谢乐芳等^[23]报道的 Dawson 型多金属氧酸盐对酪氨酸酶的机理型研究结果具有一致性。效应物分别与 α -葡萄糖苷酶以非共价形式结合, 从而降低酶的活性。此外, 可以通过透析、过滤等物理方法除去效应物, 从而使酶的活性恢复^[24]。

2.4 效应物对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型

酶反应速率倒数对底物 pNPG 浓度倒数作 Lineweaver-Burk 双倒数图, 通过 Lineweaver-Burk 图测定每种测试效应物对酶的抑制类型。 Mo_{36} 对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型如图 3a 所示, 直线 1-5 相交于 Y 轴, 随着 Mo_{36} 浓度变大, 米氏常数 (K_m) 变大, 最大反应速率 (v_{\max}) 不变, 表明效应物 Mo_{36} 对 α -葡萄糖苷酶是竞争型抑制。效应物 Mo_{36} 和底物 (pNPG) 竞争型地与 α -葡萄糖苷酶的结合部位结合, 从而影响了底物和酶的正常结合^[25]。通过绘制 Dixon 图计算抑制常数 $K_i = 0.100 \text{ mmol/L}$ 。

$\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶的双倒数图以及 Dixon 图如图 3b 所示。图 3 中的曲线相交于第 II 象限, 随着 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 浓度的增加, 曲线的斜率逐渐增大。同时, 曲线相交于 Y 轴的纵向截距 ($1/v_{\max}$) 逐渐增加, 相交于 X 轴的横向截距 ($1/K_m$) 逐渐减少。表明 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶是混合型抑制, 通过计算得



说明: a 图中直线 1~5 分别为浓度 0, 0.05, 0.1, 0.15 和 0.2 mmol/L 的 Mo_{36} ; b 图中直线 1~5 分别为浓度 0, 0.06, 0.1, 0.15 和 0.2 mmol/L 的 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$; c 图中直线 1~5 分别为浓度 0, 0.006, 0.015, 0.025 和 0.037 5 mmol/L 的 Mo_{57}V_6 ; d 图中直线 1~5 分别为浓度 0, 0.007, 0.014, 0.025 和 0.032 mmol/L 的 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 。

Notes: The concentrations of Mo_{36} for curves 1~5 of figure a were 0, 0.05, 0.1, 0.15 and 0.2 mmol/L, respectively; the concentrations of $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ for curves 1~5 of figure b were 0, 0.06, 0.1, 0.15 and 0.2 mmol/L, respectively; the concentrations of Mo_{57}V_6 for curves 1~5 of figure c were 0, 0.006, 0.015, 0.025 and 0.037 5 mmol/L, respectively; the concentrations of $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ for curves 1~5 of figure d were 0, 0.007, 0.014, 0.025 and 0.032 mmol/L.

图 3 Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶抑制类型及抑制常数

Fig.3 Inhibitory type and constant of Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ on the activity of α -glucosidase

出抑制常数 K_i 值和 K_{is} 值分别为 0.156, 0.319 mmol/L。抑制常数越小, 抑制剂对酶的结合亲和力越强。结果显示 K_i 值小于 K_{is} 值, 表明效应物 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 主要是以与游离酶结合的方式与 α -葡萄糖苷酶结合^[26]。

Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 两种效应物对 α -葡萄糖苷酶的 Lineweaver-Burk 双倒数图具有相似性, 如图 3c、图 3d 所示。每组图中的 5 条曲线交点即不在 X 轴也不在 Y 轴。 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型均表现为混合型抑制。通过二次作图, 得出 Mo_{57}V_6 抑制常数分别为 $K_i = 0.0429$ mmol/L, $K_{is} = 0.0267$ mmol/L。 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 的抑制常数分别为 $K_i = 0.0172$ mmol/L、 $K_{is} = 0.00811$ mmol/L。两种效应物的 K_i 值均大于 K_{is} 值, 表明 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 主要是与酶-底物复合物结合。

3 结论

通过酶动力学研究发现: 4 种轮型钼簇 Mo_{36} 、 $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 对 α -葡萄糖苷酶均具有较好的抑制效果, 且 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 的抑制效果最好, 其 $\text{IC}_{50} = (0.0259 \pm 0.000328)$ mmol/L; 4 种轮型钼簇对 α -葡萄糖苷酶均为可逆性抑制, 其中 Mo_{36} 是可逆竞争型抑制, $\text{Mo}_{57}\text{Mn}_6$ 、 Mo_{57}V_6 、 $\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6$ 为可逆混合型抑制。在了解了 4 种轮型钼簇对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果、抑制机理及抑制类型的基础上, 接下来还需进一步研究抑制剂与酶蛋白之间的结合模式, 进而为研究开发新型的 α -葡萄糖苷酶抑制剂提供理论基础。

[参考文献]

- [1] ŚWIATONIOWSKA N, SARZYŃSKA K, SZYMAŃSKA-CHABOWSKA A, et al. The role of education in type 2 diabetes treatment [J]. Diabetes Res Clin Pr, 2019, 151: 237-246. DOI:10.1016/j.diabres.2019.04.004.
- [2] SMUSHKIN G, VELLA A. What is type 2 diabetes? [J]. Medicine, 2010, 38(11): 597-601.
- [3] SHIBAO C, GAMBOA A, DIEDRICH A, et al. Acarbose, an alpha-glucosidase inhibitor, attenuates postprandial hypotension in autonomic failure [J]. Hypertension, 2007, 50(1): 54-61. DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.091355.
- [4] ZHANG L, TU Z C, XIE X, et al. Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) peel: a better source of antioxidants and α -glucosidase inhibitors than pulp, flake and seed, and phytochemical profile by HPLC-QTOF-MS/MS [J]. Food Chem, 2017, 234: 303-313. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.05.003.
- [5] YANG J B, TIAN J Y, DAI Z, et al. α -Glucosidase inhibitors extracted from the roots of polygonum multiflorum thunb [J]. Fitoterapia, 2016, 117: 65-70.
- [6] WANG G C, CHEN M, QIU J, et al. Synthesis, *in vitro* α -glucosidase inhibitory activity and docking studies of novel chromone-isatin derivatives [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2018, 28(2): 113-116. DOI:10.1016/j.bmcl.2017.11.047.
- [7] NGUYEN V B, WANG S L. New novel α -glucosidase inhibitors produced by microbial conversion [J]. Process Biochem, 2018, 65: 228-232. DOI:10.1016/j.procbio.2017.11.016.
- [8] CHI G X, QI Y F, LI J, et al. Polyoxomolybdates as α -glucosidase inhibitors: kinetic and molecular modeling studies [J]. J Inorg Biochem, 2019(193): 173-179.
- [9] AN S, LIU J C, ZHANG H Y, et al. Recent progress on the frontiers of polyoxometalates structures and applications [J]. Sci China Chem, 2019, 62: 159-161. DOI:10.1007/s11426-018-9378-4.
- [10] 李莉莉, 陈丙年, 邓阳阳, 等. Dawson 结构的多金属氧酸盐对酪氨酸酶的抑制作用 [J]. 应用化学, 2017, 34(1): 84-89.
- [11] LI X H, CHEN W L, WEI M, et al. Polyoxometalates nanoparticles improve anti-tumor activity by maximal cellular uptake [J]. Inorg Chim Acta, 2018, 486: 104-112. DOI:10.1016/j.ica.2018.10.046.
- [12] XING R, WANG F, DONG L, et al. Inhibitory effects of $\text{Na}_7\text{PMo}_{11}\text{CuO}_{40}$ on mushroom tyrosinase and melanin formation and its antimicrobial activities [J]. Food Chem, 2016, 197: 205-211. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.10.119.
- [13] 陈琦. 新型多钼氧酸盐的合成、晶体结构及性质研究 [D]. 大连: 辽宁师范大学, 2009.
- [14] KIRAKCI K, KUBÁT P, FEJFAROVÁ K, et al. X-ray inducible luminescence and singlet oxygen sensitization by an oc-

- tahedral molybdenum cluster compound: a new class of nanoscintillators [J]. *Inorg Chem*, 2015, 55(2): 803-809. DOI:10.1021/acs.inorgchem.5b02282.
- [15] 王川. 钌配合物、多钼氧酸盐纳米晶抗肿瘤血管新生及其作为 AD 抑制剂的研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2013.
- [16] 户晶晶, 陈丙年, 王力, 等. 2 种钼簇化合物对酪氨酸酶的抑制作用及对凡纳滨对虾的保鲜效果研究 [J]. *现代食品科技*, 2019(1): 44-50.
- [17] MÜLLER A, KRICKEMEYER E, DILLINGER S, et al. New perspectives in polyoxometalate chemistry by isolation of compounds containing very large moieties as transferable building blocks: $(\text{NMe}_4)_5[\text{As}_2\text{Mo}_8\text{V}_4\text{AsO}_{40}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_{21}[\text{H}_3\text{Mo}_{57}\text{V}_6(\text{NO})_6\text{O}_{183}(\text{H}_2\text{O})_{18}] \cdot 65\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_2\text{Me}_2)_{18}(\text{NH}_4)_6[\text{Mo}_{57}\text{V}_6(\text{NO})_6\text{O}_{183}(\text{H}_2\text{O})_{18}] \cdot 14\text{H}_2\text{O}$, and $(\text{NH}_4)_{12}[\text{Mo}_{36}(\text{NO})_4\text{O}_{108}(\text{H}_2\text{O})_{16}] \cdot 33\text{H}_2\text{O}$ [J]. *Z Anorg Allg Chem*, 1994, 620(4): 599-619.
- [18] 徐振和. 钼簇和钨簇多金属氧酸盐化合物的研究 [D]. 长春: 东北师范大学, 2008.
- [19] MÜLLER A, PLASS W. Spectroscopic investigations of the unusual giant cluster anion $[\text{Mo}_{57}\text{Fe}_6(\text{NO})_6\text{O}_{174}(\text{OH})_3(\text{H}_2\text{O})_{24}]^{15-}$ containing 276 non-hydrogen atoms [J]. *J Mol Struct*, 1994, 321(3): 215-223.
- [20] KHAN M, YOUSAF M, WADOOD A, et al. Discovery of novel oxindole derivatives as potent α -glucosidase inhibitors [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2014, 22(13): 3441-3448. DOI:10.1016/j.bmc.2014.04.033.
- [21] IZAROVA N V, SOKOLOV M N, SAMSONENKO D G, et al. Synthesis and structures of two new coordination polymers formed by large polyoxometalate fragments and lanthanide cations [J]. *Russ Chem Bull*, 2008, 57(1): 78-82.
- [22] PRUDENT R, MOUCADEL V, BÉATRICE LAUDET, et al. Identification of polyoxometalates as nanomolar noncompetitive inhibitors of protein kinase ck2 [J]. *Chem Biol*, 2008, 15(7): 683-692. DOI:10.1016/j.chembiol.2008.05.018.
- [23] 谢乐芳, 李莉莉, 陈丙年, 等. $\text{H}_8[\text{P}_2\text{Mo}_{17}\text{Co}(\text{OH}_2)\text{O}_{61}]$ 和 $\text{H}_8[\text{P}_2\text{Mo}_{17}\text{Ni}(\text{OH}_2)\text{O}_{61}]$ 的抑酶活性研究 [J]. *分子科学学报*, 2017, 33(5): 380-384.
- [24] YAN J K, ZHANG G W, PAN J H, et al. α -Glucosidase inhibition by luteolin: kinetics, interaction and molecular docking [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 64: 213-223. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2013.12.007.
- [25] SHUMYANTSEVA V V, KUZIKOV A V, MASAMREKH R A, et al. From electrochemistry to enzyme kinetics of cytochrome P450 [J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 121: 192-204. DOI:10.1016/j.bios.2018.08.040.
- [26] PHAN M A T, WANG J, TANG J Y, et al. Evaluation of α -glucosidase inhibition potential of some flavonoids from *epimedium brevicornum* [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2013, 53(2): 492-498. DOI:10.1016/j.lwt.2013.04.002.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)