

Dawson型多金属氧酸盐-VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用及机制研究

黄馨怡, 阙茂梅, 李瑶, 雷珊, 林思琪, 王力

(集美大学海洋食品与生物工程学院, 厦门 361021)

摘要 合成、表征了2类(母体及铁、钴、镍3种过渡金属取代的磷钼酸)共4种Dawson型磷钼酸化合物 $H_6[P_2Mo_{18}O_{62}]$, $H_8[P_2Mo_{17}Fe(OH_2)O_{61}]$, $H_8[P_2Mo_{17}Co(OH_2)O_{61}]$ 和 $H_8[P_2Mo_{17}Ni(OH_2)O_{61}]$ (以下简称 P_2Mo_{18} , $P_2Mo_{17}Fe$, $P_2Mo_{17}Co$ 和 $P_2Mo_{17}Ni$), 进一步将Dawson型磷钼酸化合物与VC(VC)复合, 探究了复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用. 在此基础上, 通过Dawson型磷钼酸与VC以不同比例复合, 进行了相应的酶动力学实验, 考察了4种不同比例的Dawson型磷钼酸与VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果, 并选取抑制效果最优的比例进行相应的抑制机理和抑制类型研究. 结果表明, 4种不同的Dawson型磷钼酸-VC复合物均对 α -葡萄糖苷酶具有良好的抑制作用. 当 P_2Mo_{18} -VC复合比例为5:1, $P_2Mo_{17}Fe$ -VC和 $P_2Mo_{17}Ni$ -VC复合比例为3:1, $P_2Mo_{17}Co$ -VC复合比例为2:1时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最好, 4种Dawson型磷钼酸-VC复合物 $[P_2Mo_{18}, P_2Mo_{17}M-VC(M=Ni^{2+}, Co^{2+}, Fe^{2+})]$ 均表现为可逆的混合型抑制. 研究结果表明, 4种多酸与VC复合物具有开发为 α -葡萄糖苷酶抑制剂的潜力.

关键词 多金属氧酸盐; α -葡萄糖苷酶; 维生素C; 酶动力学; 酶抑制剂

中图分类号 O614; TS201.2 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20250236

Inhibition Activity and Mechanism of Dawson-type Polyoxometalate-vitamin C Complexes against α -Glucosidase

HUANG Xinyi, QUE Maomei, LI Yao, LEI Shan, LIN Siqi, WANG Li*

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

Abstract In this work, the inhibitory effects of Dawson-type polyoxometalates (POMs) complexed with vitamin C (VC) on α -glucosidase activity was investigated. Four Dawson-type phosphomolybdates were synthesized and characterized, including the parent compound $H_6[P_2Mo_{18}O_{62}]$ (P_2Mo_{18}) and three transition metal-substituted derivatives $\{H_8[P_2Mo_{17}Fe(OH_2)O_{61}]$ ($P_2Mo_{17}Fe$), $H_8[P_2Mo_{17}Co(OH_2)O_{61}]$ ($P_2Mo_{17}Co$) and $H_8[P_2Mo_{17}Ni(OH_2)O_{61}]$ ($P_2Mo_{17}Ni$)}. Enzyme kinetic studies revealed that all four POM-VC complexes exhibited significant inhibitory activity against α -glucosidase. The optimal inhibition ratios were determined to be 5:1 for P_2Mo_{18} -VC, 3:1 for $P_2Mo_{17}Fe$ -VC and $P_2Mo_{17}Ni$ -VC, and 2:1 for $P_2Mo_{17}Co$ -VC, with corresponding IC_{50} values of 0.194, 2.507, 2.809, and 5.332 mmol/L, respectively. Mechanistic studies demonstrated that these complexes functioned as reversible mixed-type inhibitors. These findings suggest the potential of Dawson-type POM-VC complexes as novel α -glucosidase inhibitors for diabetes management.

Keywords Polyoxometalates; α -Glucosidase; Vitamin C; Enzyme inhibition; Kinetic

收稿日期: 2025-08-28. 网络首发日期: 2025-11-26.

联系人简介: 王力, 女, 博士, 教授, 主要从事多酸化学及多酸型线粒体生物合成调控剂的精准合成和性能方面的研究.

E-mail: wanglimerry@jmu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 22271119)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.22271119).

近年来,我国糖尿病患病率不断增加,且呈现低龄化趋势,预计2020至2030年,中国20~79岁成年人的糖尿病患病率将从8.2%上升到9.7%^[1].而当前糖尿病治疗面临多重挑战,I型糖尿病胰岛移植受限于供体短缺及长期免疫抑制剂依赖,在目前的治疗中“功能载体+活性成分”的方案已经被证实可以有效提升治疗效能^[2].在人体小肠绒毛黏膜细胞刷状缘上存在着 α -葡萄糖苷酶(Alpha-glucosidase, AG),其主要作用是将机体无法吸收的寡糖和二糖水解为机体可吸收利用的单糖^[3],可促进体内葡萄糖的形成,是维持人体血糖平衡的重要功能性蛋白质.在临床治疗糖尿病的过程中, α -葡萄糖苷酶是有效治疗的关键靶点^[4],是维持人体血糖平衡的重要功能性蛋白质.抑制 α -葡萄糖苷酶活性是治疗糖尿病的重要手段,通过抑制其活性能够减缓葡萄糖的生成,从而能有效预防糖尿病及其并发症.近年来,多种 α -葡萄糖苷酶抑制剂在临床上已经被成功用于II型糖尿病的治疗,国际上目前对其研究主要是集中在化学合成的 α -葡萄糖苷酶抑制剂当中,而在国内主要是关注从中草药等天然成分中分离出来活性成分来合成有效的酶抑制剂^[5].但是大部分副作用大,在体内会存在对糖类不完全分解,对胃肠道造成刺激,甚至导致耐药性增强^[6].近年来,通过多条途径寻找新型高效、低毒副作用的 α -葡萄糖苷酶抑制剂,探索安全、有效且新颖的 α -葡萄糖苷酶抑制剂药物已成为预防和治疗糖尿病的研究热点.

多金属氧酸盐(Polyoxometalates, POMs),简称多酸,是一系列介于无机与有机功能分子之间的金属氧化物簇.多酸结构明确、功能多样,具有空间结构多样性、高溶解性、良好的热稳定性和选择性,且成本低廉、易于合成,在生物医药领域展现出巨大的应用潜力,是开发新一代多功能材料的关键策略^[7].由于其具有较好的抗菌、抗病毒和抗肿瘤等特性^[8,9],是潜在的抗癌候选药物^[10].此外,多酸化合物在尺寸、核性和形状等方面表现出的多样性,使其被广泛应用于催化^[11]、医药、磁性、光致变色和材料等多个领域^[12],如可作为新型磁共振成像对比剂^[13].近年来,其研究已从单一的簇结构修饰发展到将其作为建筑单元进行精准的超分子组装^[14],从对经典结构的宏观性质探索发展到对特定结构基元的精深设计与功能开发^[15].在近期的研究中,多酸及其衍生物在生物传感、肿瘤诊疗方面也发挥了重要作用^[16].研究发现,多酸能够调控线粒体的生物合成^[17],还可用于治疗阿尔兹海默症^[18],丰富了多酸在生物医药领域的应用.随着纳米技术与合成生物学的深度融合,已有大量研究展示了多酸在构建从简单到复杂、从单一功能到协同治疗的多功能纳米平台中的应用,标志着该领域研究正不断走向深入^[19,20].多酸固有的酶抑制活性早已引起关注,如 α/β - $K_6P_2W_{18}O_{62} \cdot 10H_2O$ (Wells-Dawson型磷钨酸)可通过与蘑菇酪氨酸酶活性中心结合,显著抑制其催化活性^[21].Shuai等^[22]研究发现,具有Keggin型过渡金属钒取代的磷钼酸盐对蘑菇酪氨酸酶具有抑制效果,为酶抑制剂的开发提供了新依据.而Dawson型多酸及其有关的衍生物具有良好的生物活性,且对人体的毒副作用低,可以开发成为酶抑制剂.Zhu等^[23]发现,Dawson型有机-无机杂化化合物具有新的应用,可能是一种优秀的酶固定化载体并可应用于酶催化反应.Li等^[24]研究表明,2种过渡金属取代的Dawson型磷钼酸 $P_2Mo_{17}Fe$ 和 $P_2Mo_{17}Ni$ 具有成为 α -葡萄糖苷酶抑制剂的潜质.且在此前的研究中发现,亚纳米级聚烷氧基钒酸盐(PAOV)在治疗糖尿病相关生理过程中具有直接生物活性^[25].

维生素C(VC),又称L-抗坏血酸,是一种常见的水溶性维生素、抗氧化剂和多种酶的必需辅助因子,是人体营养、生长所必需的微量有机化合物,对机体的新陈代谢、生长发育和健康有极为重要的作用,如长期缺乏会引起生理机能障碍而发生某些疾病^[26].VC有抗氧化^[27]、抗肿瘤^[28,29]和预防疾病的功效,是多种酶的辅助因子.

本文利用多酸的结构和VC的特点,探索多酸与VC的复合物作为 α -葡萄糖苷酶抑制剂的潜在能力.以多酸为基础,研究了磷钼酸盐和VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用,揭示其潜在的应用价值和机制,为医药和食品工业领域的发展提供新的思路和可能性.探讨了4个Dawson型多酸-VC复合物: $H_8[P_2Mo_{17}Fe(OH_2)O_{61}]$ -VC, $H_8[P_2Mo_{17}Co(OH_2)O_{61}]$ -VC, $H_8[P_2Mo_{17}Ni(OH_2)O_{61}]$ -VC和 $H_6[P_2Mo_{18}O_{62}]$ -VC(以下简称为 $P_2Mo_{17}Fe$ -VC, $P_2Mo_{17}Co$ -VC, $P_2Mo_{17}Ni$ -VC和 P_2Mo_{18} -VC)对 α -葡萄糖苷酶抑制剂的抑制效果、抑制机理和抑制类型,期望能为其成为酶抑制作用的研究提供新的思路.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

七水合硫酸铁、二水合钼酸钠、十二水合磷酸氢二钠、二水合磷酸二氢钠、无水乙醚、浓硫酸、L-抗坏血酸(VC)、碳酸钠、钼酸钠、磷酸、盐酸和溴化钾,分析纯,西陇科学有限公司;硫酸钴和二甲基亚砷(DMSO),分析纯,麦克林生物有限公司;硫酸镍,分析纯,江苏范道化工厂;对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(*p*NPG)和 α -葡萄糖苷酶,分析纯,源叶生物有限公司;氯化铜,分析纯,上海化学试剂总厂;氯化锰,分析纯,中国金山县兴塔化工厂;氯化铵,分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

CP214型电子天平,美国OHAUS有限公司;pH211C型酸度计,北京哈纳科仪器有限公司;Lambda-265型紫外-可见分光光度计,美国PerkinElmer公司;Synergy H1MF型多功能酶标仪,美国BioTek公司;Alpha型傅里叶变换红外光谱仪,美国Bruker公司。

数据计算及所有酶动力学数据的线性拟合均使用SPSS及Origin Pro(Version 2020)软件完成。

1.2 实验过程

1.2.1 Dawson型磷钼酸母体的合成 Dawson型磷钼酸母体(P_2Mo_{18})参照文献[30,31]方法合成,不同过渡金属取代的磷钼酸参照文献[31]方法合成。

1.2.2 多酸化合物的表征 分别取少量合成的多酸样品,通过傅里叶变换红外光谱仪(扫描范围400~4000 cm^{-1})和紫外-可见分光光度计进行全范围扫描,保存数据和谱图,通过Origin Pro 2020绘制红外、紫外光谱图,确定不同化合物特征吸收峰与文献报道的峰值一致,以确定所合化合物是否具有Dawson型结构。

1.2.3 酶动力学的测定 反应体系的建立:参照文献[32]进行多次预实验,最终确立酶动力学的反应体系。向离心管中加入133 μ L磷酸盐缓冲溶液、10 μ L 5 U/mL α -葡萄糖苷酶溶液和7 μ L效应物溶液并混合均匀,在37 $^{\circ}C$ 恒温箱中预热10 min,然后加入已经预热10 min的20 μ L 5 mmol/L *p*NPG,混合均匀后于37 $^{\circ}C$ 下进行酶促反应20 min。反应结束后,溶液颜色变成黄绿色,加入相同体积的0.1 mol/L Na_2CO_3 溶液以终止反应。用酶标仪在405 nm下测定吸光度。在 α -葡萄糖苷酶的作用下,底物*p*NPG被分解成黄色物质*p*NG(对硝基苯酚),以此测定吸光值(OD)并计算相应结果。

4种Dawson型多酸对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果测定:以4种Dawson型多酸作为效应物,配制不同浓度的溶液(0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4和1.6 mmol/L)加入反应体系,以不加效应物为空白,每组实验平行重复3次,取平均值,通过下式计算不同浓度的多酸溶液对 α -葡萄糖苷酶的抑制率(Inhibition rate, %). 体系中各溶液加入量列于表1。

$$\text{Inhibition rate} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 和 A_1 分别为空白体系和样品体系的吸光度。

Table 1 Amount of solution added in the reaction system

Name	V(PBS)/ μ L	V(α -glucosidase)/ μ L	V(Effector)/ μ L	V(<i>p</i> NPG)/ μ L	V(Na_2CO_3)/ μ L
Control	266	20	14(DMSO)	40	340
Sample	266	20	14	40	340

VC对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果测定:以VC作为效应物,配制不同浓度的效应物溶液(0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4和1.6 mmol/L)加入反应体系,每组实验平行重复3次,按下式计算不同浓度的VC溶液对 α -葡萄糖苷酶的抑制率(Inhibition rate, %),取平均值。反应体系中各溶液加入量同表1。

$$\text{Inhibition rate} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 和 A_1 分别为不加效应物的体系和效应物体系的吸光度。

1.2.4 多酸-VC复合物对 α -葡萄糖苷酶抑制效果的测定 以多酸-VC复合物作效应物,配制不同浓度(0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4和1.6 mmol/L)及不同体积比(1:1, 2:1, 3:1, 4:1和5:1)的效

应物溶液, 加入反应体系, 每组实验平行重复5次, 取平均值, 采用式(2)计算不同浓度、不同比例的复合物溶液对 α -葡萄糖苷酶的抑制率. 运用SPSS软件分析效应物 IC_{50} 值. 反应体系各溶液加入量同表1.

1.2.5 多酸-VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制机理研究 基于上述抑制效果, 选取抑制效果最好的复合比例, 在同一反应体系中保持酶溶液的添加量20 μ L不变, 调整酶浓度为0.7, 1.1, 1.6, 2.3和3 U/mL. 同时, 反应中底物 p NPG的浓度及添加量保持不变, 在不同效应物浓度下(0, 0.2, 4, 8和16 mmol/L)测定整个反应体系的吸收值. 计算酶促反应速率, 将酶促反应速率作为酶活性的函数绘制图, 以图中的抑制曲线的交点是否过原点来判断 α -葡萄糖苷酶的抑制.

1.2.6 多酸-VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型研究 基于上述抑制效果, 在4种复合物 P_2Mo_{18} -VC, $P_2Mo_{17}Fe$ -VC, $P_2Mo_{17}Co$ -VC和 $P_2Mo_{17}Ni$ -VC中分别选取一种抑制效果最好的复合比例, 进行抑制类型的实验探究. 在同一反应体系中, 保持酶的浓度为5 U/mL, 添加量保持20 μ L不变, 调整底物 p NPG浓度为0.3, 0.6, 1.2, 2.4和5 mmol, 添加量保持不变, 在不同效应物浓度下(0, 0.2, 4, 8, 12和16 mmol/L)测定整个反应体系的吸收值. 绘制双倒数图(Lineweaver-Burk图), 由此判断效应物对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型, 并通过Dixon图计算抑制常数 K_i 和 K_{is} , 计算公式如下:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_{is}} \right) \quad (3)$$

式中: v ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) 为反应速率; $[S]$ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 为底物浓度; $[I]$ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 为抑制剂浓度; K_m ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 为米氏常数; V_{max} ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) 为最大反应速率; K_i ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 为竞争性抑制常数; K_{is} ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 为反竞争性抑制常数.

以“Slope”为纵坐标, $[I]$ 为横坐标, 将多组数据点进行线性拟合, 得到直线方程[式(4)], 计算该直线与横轴的交点, 交点的绝对值即为 K_{is} .

$$\text{Slope} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_{is}} \right) \quad (4)$$

以“Y-intercept”为纵坐标, $[I]$ 为横坐标, 将多组数据点进行线性拟合, 得到直线方程[式(5)], 计算该直线与横轴的交点, 交点的绝对值即为 K_i .

$$\text{Intercept} = \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \quad (5)$$

通过Lineweaver-Burk图的斜率和对Y轴截距的变化, 可以确定抑制类型. 在混合型抑制中, 双倒数图是一组相交于第三象限的直线. 通过绘制不同抑制剂浓度下的双倒数图, 由斜率对抑制剂浓度作图(Dixon图)的再处理, 可以求得 K_i 和 K_{is} .

2 结果与讨论

2.1 多酸的表征

多酸化合物的红外光谱中不同的特征频率分别对应着样品内不同类型的氧键振动, 在700~1100 cm^{-1} 之间会出现与Dawson型多酸有关的特征振动频率. 通过傅里叶红外光谱仪检测获得了样品表征数据, 使用Origin软件绘制了相关谱图(图1). 所得结果文献[33, 34]报道一致. 紫外-可见光谱可显示氧原子与配位金属原子之间的电荷转移, 关于Dawson型多酸的紫外吸收峰位于210 nm处. 图2(A)示出了 $P_2Mo_{17}Fe$, $P_2Mo_{17}Co$, $P_2Mo_{17}Ni$ 和 P_2Mo_{18} 4种多酸的紫外光谱, 与文献[32]结果一致. 图2(B)为400~800 nm波长范围的局部放

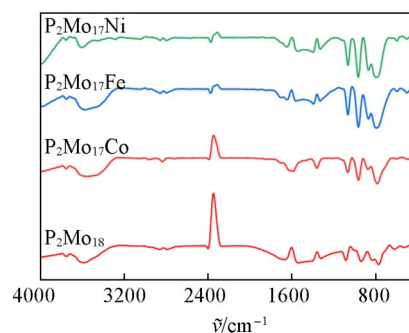


Fig. 1 Infrared spectra of four types of polyoxometalates

大谱图, 该区域是过渡金属离子 $d-d$ 跃迁的特征光谱区间, 反映金属离子的电子构型与配位环境. P_2Mo_{18} 的吸收峰位置和吸光度与其它 3 条曲线存在明显差异, 说明未引入过渡金属. 而 $P_2Mo_{17}Fe$, $P_2Mo_{17}Co$ 和 $P_2Mo_{17}Ni$ 这 3 条谱线整体趋势更接近, 说明引入过渡金属 Fe, Co 和 Ni 后, 杂多化合物的电子结构有共性, 但吸光度和峰仍有细微差异, 反映出不同过渡金属对电子跃迁的影响不同. $P_2Mo_{17}Co$ 在 540 和 620 nm 处显示出 2 个宽而弱的吸收带, 归属于八面体配位场中 Co^{2+} 的典型 $d-d$ 跃迁. $P_2Mo_{17}Ni$ 在 400 和 730 nm 处也观察到弱的 $d-d$ 跃迁吸收带, 对应八面体场中 Ni^{2+} 的跃迁. 以上结果证实了金属离子的掺杂.

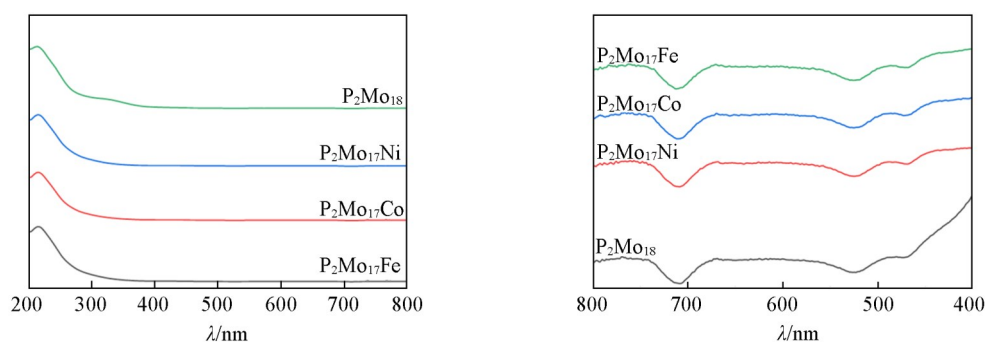


Fig. 2 UV spectra of four types of polyoxometalates
(A) 200—800 nm; (B) 400—800 nm.

2.2 酶动力学

2.2.1 磷钼酸、VC 及其复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果 分别以 4 种磷钼酸 $P_2Mo_{17}Fe$, $P_2Mo_{17}Co$, $P_2Mo_{17}Ni$ 和 P_2Mo_{18} , VC 及其对应的复合物为效应物, 以 $pNPG$ 为底物, 研究了其对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果, 底物在 α -葡萄糖苷酶的作用下会生成黄色产

物对硝基苯酚 (pNP). 图 3 示出了 4 种多酸和抗坏血酸对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果, 可见随着效应物浓度的增加, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果提升. 测试样品对 α -葡萄糖苷酶抑制效果的强弱顺序为 $P_2Mo_{18} > P_2Mo_{17}Co > P_2Mo_{17}Fe > P_2Mo_{17}Ni > VC$. 基于此, 以不同体积比 (1:1, 2:1, 3:1, 4:1 和 5:1) 多酸-VC 复合物作为效应物探究了对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果. 如图 4 所示, 多酸-VC 复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果比纯多酸好, 此现象与文献 [35] 报道的多酸-环糊精超分子体系类似. 推测这可能是由于 VC 与多酸之间通过非共价键形成超分子结构, 优化了多酸与酶活性中心的相互作用模式. 此外, 研究 [36] 表明多酸因其高电荷密度, 表现出强烈的“超离液效应”, 这种效应可有效破坏水合层, 让多酸能够自发地穿透脂质双分子层, 进入细胞, 从而更高效地与酶分子发生相互作用; 或者 VC 的抗氧化特性与多酸的抑制特性产生了协同效应, 从而导致了抑制率的显著提升; 并且随着效应物浓度的升高, 复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果上升. 当 P_2Mo_{18} -VC 复合比例为 5:1 时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳, 相应的 IC_{50} 值为 0.194 mmol. 当 $P_2Mo_{17}Fe$ -VC 复合比例为 3:1 时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳, 最高可达 45.51%, IC_{50} 值为 2.507 mmol. 当 $P_2Mo_{17}Co$ -VC 复合比例为 2:1 时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳, 最高可达 45.90%, IC_{50} 值是 5.332 mmol. 当 $P_2Mo_{17}Ni$ -VC 复合比例为 3:1 时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳, 最高可达 44.12%, IC_{50} 值为 2.809 mmol. 可以看出, 多酸与 VC 复合后, 可能由于 VC 的抗氧化作用, 使多酸对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果得到提升. 不同多酸与 VC 复合物对 α -葡萄糖苷酶的最佳抑制比例不同, 可能与多酸的结构、金属离子的种类以及 VC 的协同作用有关. 过渡金属的电子构型、离子半径和配位环境也可能影响多酸与 VC 之间的相互作用, 从而影响复合物与酶活性中心的结合能力. 此外, VC 的抗氧化性可能对不同的多酸产生不同程度的协同抑制效果.

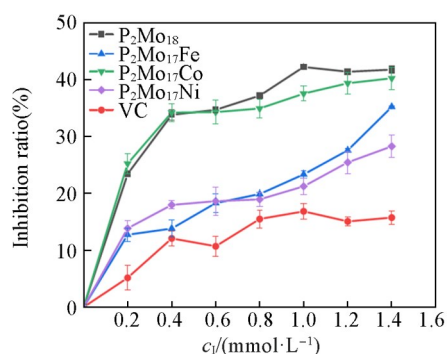


Fig. 3 Inhibitory effects of four types of polyoxometalates and ascorbic acid on α -glucosidase

物对硝基苯酚 (pNP). 图 3 示出了 4 种多酸和抗坏血酸对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果, 可见随着效应物浓度的增加, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果提升. 测试样品对 α -葡萄糖苷酶抑制效果的强弱顺序为 $P_2Mo_{18} > P_2Mo_{17}Co > P_2Mo_{17}Fe > P_2Mo_{17}Ni > VC$. 基于此, 以不同体积比 (1:1, 2:1, 3:1, 4:1 和 5:1) 多酸-VC 复合物作为效应物探究了对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果. 如图 4 所示, 多酸-VC 复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果比纯多酸好, 此现象与文献 [35] 报道的多酸-环糊精超分子体系类似. 推测这可能是由于 VC 与多酸之间通过非共价键形成超分子结构, 优化了多酸与酶活性中心的相互作用模式. 此外, 研究 [36] 表明多酸因其高电荷密度, 表现出强烈的“超离液效应”, 这种效应可有效破坏水合层, 让多酸能够自发地穿透脂质双分子层, 进入细胞, 从而更高效地与酶分子发生相互作用; 或者 VC 的抗氧化特性与多酸的抑制特性产生了协同效应, 从而导致了抑制率的显著提升; 并且随着效应物浓度的升高, 复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果上升. 当 P_2Mo_{18} -VC 复合比例为 5:1 时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳, 相应的 IC_{50} 值为 0.194 mmol. 当 $P_2Mo_{17}Fe$ -VC 复合比例为 3:1 时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳, 最高可达 45.51%, IC_{50} 值为 2.507 mmol. 当 $P_2Mo_{17}Co$ -VC 复合比例为 2:1 时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳, 最高可达 45.90%, IC_{50} 值是 5.332 mmol. 当 $P_2Mo_{17}Ni$ -VC 复合比例为 3:1 时, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果最佳, 最高可达 44.12%, IC_{50} 值为 2.809 mmol. 可以看出, 多酸与 VC 复合后, 可能由于 VC 的抗氧化作用, 使多酸对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果得到提升. 不同多酸与 VC 复合物对 α -葡萄糖苷酶的最佳抑制比例不同, 可能与多酸的结构、金属离子的种类以及 VC 的协同作用有关. 过渡金属的电子构型、离子半径和配位环境也可能影响多酸与 VC 之间的相互作用, 从而影响复合物与酶活性中心的结合能力. 此外, VC 的抗氧化性可能对不同的多酸产生不同程度的协同抑制效果.

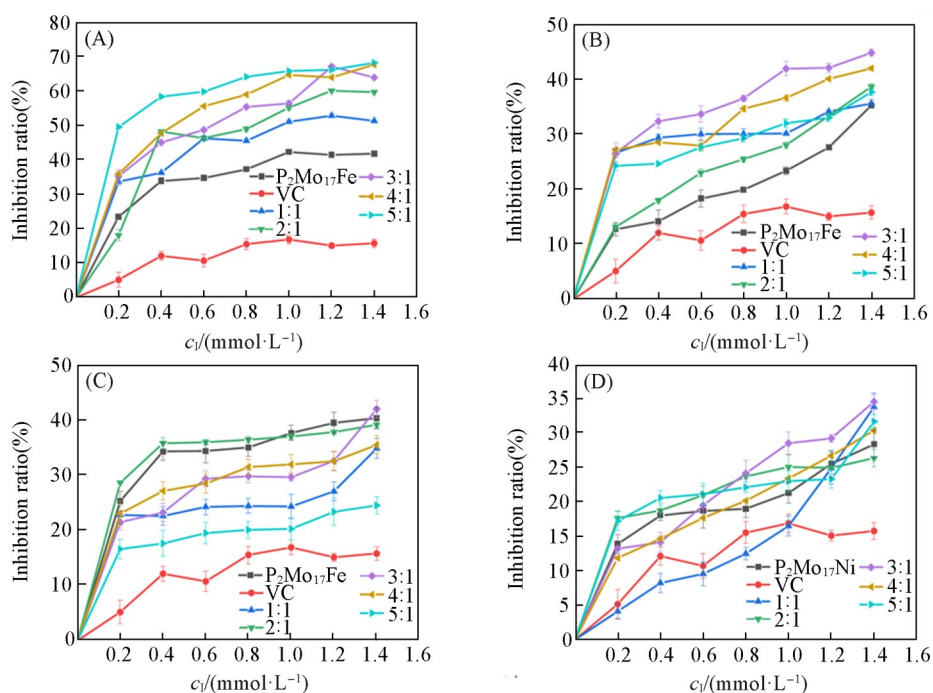


Fig. 4 Inhibitory effect of four polyoxometalates-VC complexes on α -glucosidase

(A) Inhibitory effect of P_2Mo_{18} -VC complexes with different ratios on α -glucosidase; (B) the inhibitory effect of different proportions of $P_2Mo_{17}Fe$ -VC complexes on α -glucosidase; (C) the inhibitory effect of $P_2Mo_{17}Co$ -VC complexes with different ratios on α -glucosidase; (D) the inhibitory effect of $P_2Mo_{17}Ni$ -VC complexes with different proportions on α -glucosidase.

2.2.2 磷钼酸、VC及其复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制机理 选取抑制效果最佳的复合比例的磷钼酸-VC复合物作为效应物(P_2Mo_{18} -VC复合比为5:1, $P_2Mo_{17}Fe$ -VC复合比为3:1, $P_2Mo_{17}Co$ -VC复合比为2:1, $P_2Mo_{17}Ni$ -VC复合比为3:1), 探究了该类复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制机理. 对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制机理图为反应速率-酶浓度曲线. 酶的抑制机理主要分为可逆抑制和不可逆抑制. 由图5可

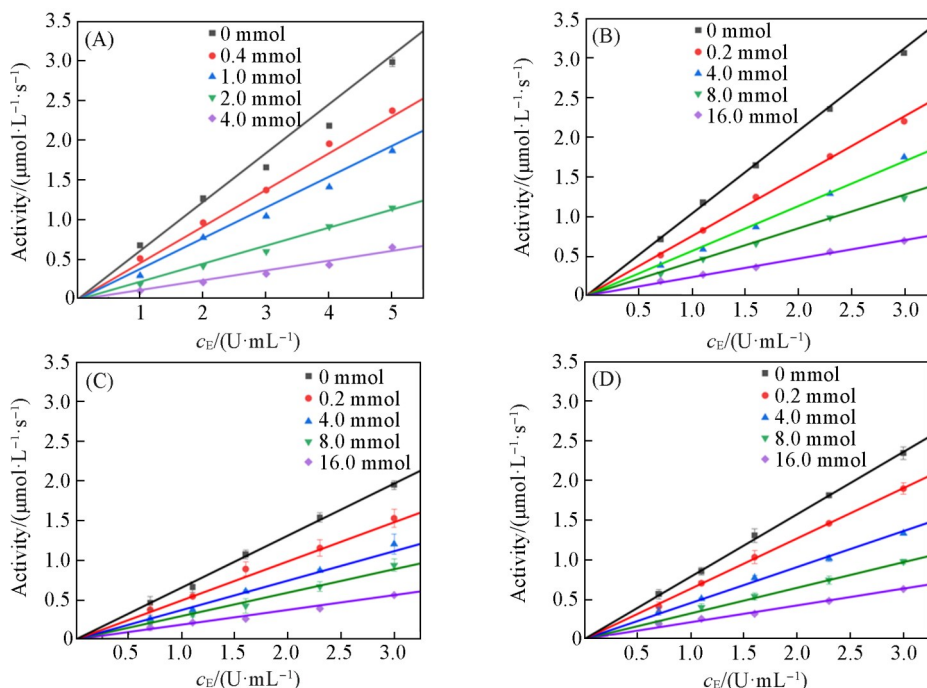


Fig. 5 Inhibitory mechanism of four polyoxometalates-VC complexes on α -glucosidase

(A) Inhibitory mechanism of P_2Mo_{18} -VC complexes with different ratios on α -glucosidase; (B) the inhibitory mechanism of different proportions of $P_2Mo_{17}Fe$ -VC complexes on α -glucosidase; (C) the inhibitory mechanism of $P_2Mo_{17}Co$ -VC complexes with different ratios on α -glucosidase; (D) the inhibitory mechanism of $P_2Mo_{17}Ni$ -VC complexes with different proportions on α -glucosidase.

见,在同一复合物浓度下,随着酶浓度的升高,整个体系的酶促反应速率加快;在同一酶浓度下,随着复合物浓度的升高,整个体系反应速率的增加减缓,即变化曲线的斜率随着复合物浓度的增加而减小. 5条不同浓度的变化曲线相交于原点,表明4种多酸-VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制是可逆的. 因此,从可逆性抑制的结果可以推断,多酸-VC复合物与 α -葡萄糖苷酶之间的相互作用可能是通过氢键、静电作用和范德华力等非共价相互作用实现的,而非形成共价键. 这有利于抑制剂的解离,从而表现为可逆抑制.

2.2.3 Dawson型磷酸-VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型 以 $P_2Mo_{17}M$ -VC($M=Ni^{2+}, Co^{2+}, Fe^{2+}$)复合物作为效应物,探究了其对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型. 对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制类型图是反应速率倒数-底物浓度倒数的双倒数变化曲线(Lineweaver-Burk图),其中: K_i 为抑制剂与游离酶的结合常数, K_i 值越小,表示抑制剂与游离酶的亲和力越强; K_{is} 为抑制剂与酶-底物复合物的结合常数, K_{is} 值越小,表示抑制剂与酶-底物复合物的亲和力越强. 在混合型抑制中, K_i 和 K_{is} 值不同,表明抑制剂既影响酶与底物的结合,也影响酶-底物复合物的催化反应. 如图6所示,4种复合物的抑制曲线均既不相交于X轴,也不相交于Y轴,而是相交于第三象限,表明4种复合物对于 α -葡萄糖苷酶都是混合型抑制. P_2Mo_{18} -VC对 α -葡萄糖苷酶结合的 K_i 值为13.97 mmol,与酶-底物复合物结合的 K_{is} 值为0.12 mmol. 表明该复合物与酶-底物复合物的结合能力远强于与游离酶的结合能力. 图6(A)为 $P_2Mo_{17}Fe$ -VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型图,进一步二次作图,计算得出 $P_2Mo_{17}Fe$ -VC复合物结合 α -葡萄糖苷酶的 K_i 值为75.73 mmol,其与酶-底物复合物结合的 K_{is} 值为14.06 mmol. 图6(B)为 $P_2Mo_{17}Co$ -VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型图,计算得出 $P_2Mo_{17}Co$ -VC复合物结合 α -葡萄糖苷酶的 K_i 值为66.88 mmol,与酶-底物复合物结合的 K_{is} 值为4.04 mmol. 图6(C)为 $P_2Mo_{17}Ni$ -VC复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型图,计算得出 $P_2Mo_{17}Ni$ -VC复合物结合 α -葡萄糖苷酶的 K_i 值为77.12 mmol,与酶-底物复合物结合的 K_{is} 值为

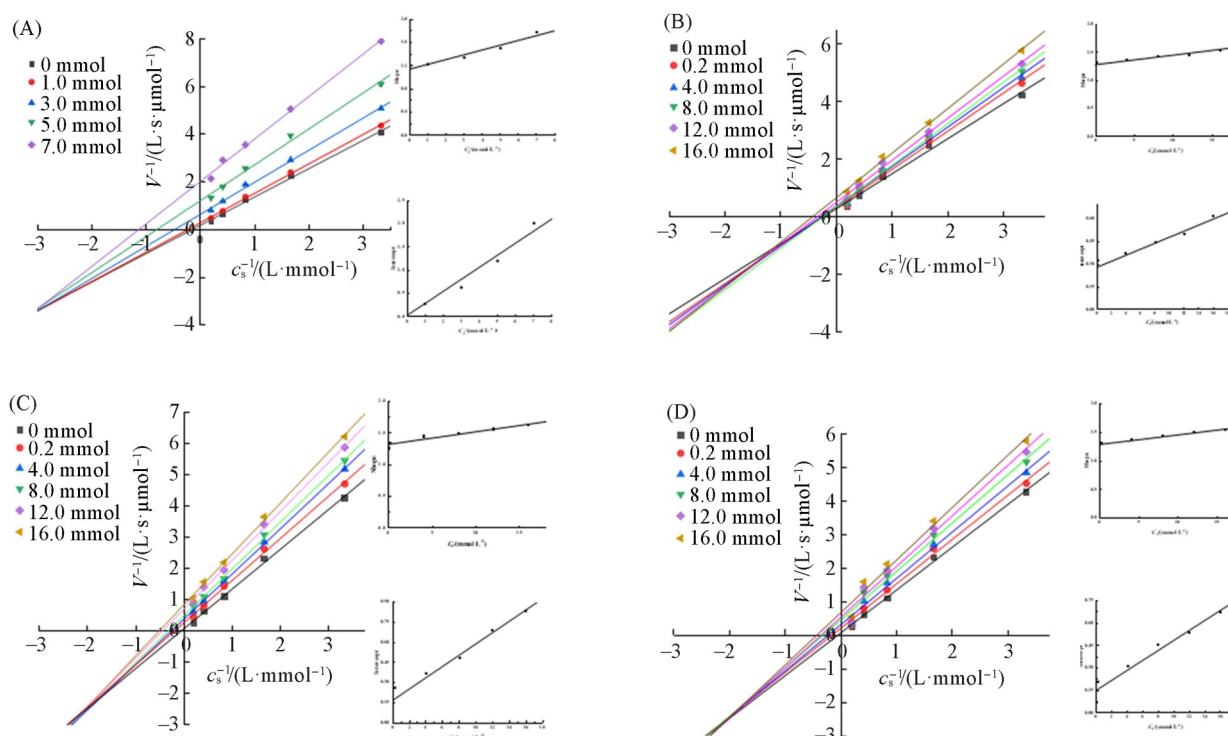


Fig. 6 Inhibitory types of four polyoxometalates-VC complexes on α -glucosidase

Double reciprocal change curve of reciprocal of reaction rate-reciprocal of substrate concentration (Lineweaver-Burk). The quadratic plotting of Lineweaver-Burk is Dixon plot, Calculate K_{is} using Slope-[1] and Intercept-[1] calculates K_i . (A) The inhibitory type of P_2Mo_{18} -VC complexes with different ratios on α -glucosidase; (B) the inhibitory type of different proportions of $P_2Mo_{17}Fe$ -VC complexes on α -glucosidase; (C) the inhibitory type of $P_2Mo_{17}Co$ -VC complexes with different ratios on α -glucosidase; (D) the inhibitory type of $P_2Mo_{17}Ni$ -VC complexes with different proportions on α -glucosidase.

4.59 mmol. 表2列出了4种复合物分别结合 α -葡萄糖苷酶的抑制常数. 混合型抑制表明, 抑制剂既能与游离酶结合, 也能与酶-底物复合物结合. 这种结合可能通过多酸阴离子与酶活性位点的阳离子残基之间的静电作用, 以及VC与酶之间的氢键等分子间作用力实现.

Table 2 Inhibition constants of four Dawson type polyoxometalates-VC complexes on α -glucosidase

Effector	K_i /mmol	K_{is} /mmol
P ₂ Mo ₁₈ -VC	13.97	0.12
P ₂ Mo ₁₇ Fe-VC	75.73	14.06
P ₂ Mo ₁₇ Co-VC	66.88	4.04
P ₂ Mo ₁₇ Ni-VC	77.12	4.59

3 结 论

以Dawson型磷钼酸对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用为基础, 合成了4种Dawson型磷钼酸(母体和3种过渡金属取代的磷钼酸), 并将其与VC进行复合, 研究了复合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果、抑制机理和抑制类型. 结果表明, 4种Dawson型磷钼酸-VC复合物对 α -葡萄糖苷酶有抑制作用; 对不同复合比例的抑制效果研究发现, P₂Mo₁₈-VC的最佳复合比例是5:1, P₂Mo₁₇Co-VC的最佳复合比例是2:1, P₂Mo₁₇Fe-VC和P₂Mo₁₇Ni-VC的最佳复合比例是3:1. 对抑制效果最佳的复合比例进行了抑制机理和抑制类型研究, 发现5:1的P₂Mo₁₈-VC、3:1的P₂Mo₁₇Fe-VC和P₂Mo₁₇Ni-VC以及2:1的P₂Mo₁₇Co-VC对 α -葡萄糖苷酶的抑制机理是可逆的, 其抑制类型是混合型. 研究结果表明, 4种磷钼酸-VC复合物(P₂Mo₁₈-VC, P₂Mo₁₇Co-VC, P₂Mo₁₇Fe-VC和P₂Mo₁₇Ni-VC)在 α -葡萄糖苷酶抑制剂方面具有良好的应用前景.

参 考 文 献

- [1] Liu J. L., Liu M., Chai Z. L., Li C., Wang Y. A., Shen M. W., Zhuang G. H., Zhang L., *Lancet Reg. Health-West. Pac.*, **2023**, 33, 100700
- [2] Chendke G. S., Faleo G., Juang C., Parent A. V., Bernards D. A., Hebrok M., Tang Q. Z., Desai T. A., *Adv. Biosyst.*, **2019**, 3(9), 1900086
- [3] Chi G. X., *Functional Study of α -Glucosidase Inhibitors*, Jimei University, Xiamen, **2020**(迟国祥. α -葡萄糖苷酶抑制剂的功能性研究, 厦门: 集美大学, **2020**)
- [4] Yuan H., Wan H., Hu Y. K., Ayeni E. A., Chang Q., Ma C., Liao X., *Molecules*, **2021**, 26(19), 5840
- [5] Wang S. H., Luo C., *J. Hubei Adult Educ. Inst.*, **2019**, 25(2), 18—21(王胜红, 罗超. 湖北成人教育学院学报, **2019**, 25(2), 18—21)
- [6] Liu D. M., Chen J., Shi Y. P., *Talanta*, **2017**, 164, 548—555
- [7] Li B., Wu L. X., *Polyoxometalates*, **2023**, 2(1), 9140016
- [8] Colovic M. B., Lackovic M., Lalatovic J., Mougharbel A. S., Kortz U., Krstić D. Z., *Curr. Med. Chem.*, **2020**, 27(3), 362—379
- [9] Li X. H., Chen W. L., Li Y. G., He P., Di Y., Wei M., Wang E. B., *Inorg. Chem. Commun.*, **2019**, 104, 40—47
- [10] Bijelic A., Aureliano M., Rompel A., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58(10), 2980—2999
- [11] Chen K., Bayaguud A., Li H., Chu Y., Zhang H. C., Jia H. L., Zhang B. F., Xiao Z. C., Wu P. F., Liu T. B., Wei Y. G., *Nano Res.*, **2018**, 11(3), 1313—1321
- [12] Gu H. Z., *Design of MOFs-Derived Catalysts and Their Applications in Catalysis*, Tianjin University, Tianjin, **2023**(谷弘志. 基于MOFs衍生物的催化剂设计及其在催化领域中的应用, 天津: 天津大学, **2023**)
- [13] Kong D. L., Wei B., Zhou S. Y., Yang H. S., Jiang Y., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2013**, 29(6), 1055—1058
- [14] Chen H. P., Gong Y. R., Chu Q. Q., Pang X., Huang X. J., Tian X. D., Yang W. T., Pan Q. H., Su Z. M., Wang X. L., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2023**, 39(6), 954—959
- [15] Deng W. R., Zhu Z. H., Sun Y. J., Xu H., Liu S. J., Wen H. R., *Polyoxometalates*, **2024**, 3(4), 9140071
- [16] Liu X. Y., Cui L. M., Jiang J., Ji F., Zhao J. W., *Chin. Chem. Lett.*, **2022**, 33(5), 2630—2634
- [17] Lei S., Chen B. N., Wang L., Li J., *Polyoxometalates*, **2025**, 4(1), 9140074
- [18] Gao N., Dong K., Zhao A. D., Sun H. J., Wang Y., Ren J. S., Qu X. G., *Nano Res.*, **2016**, 9(4), 1079—1090
- [19] Fu H., Du Y. P., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2023**, 39(4), 568—579
- [20] Wang L. F., Zhang Y. J., Li Y. Y., Chen J. H., Lin W. Q., *Nano Res.*, **2021**, 14(4), 920—933
- [21] Hu X. Y., Chen B. N., Wang L., Chen F. H., *Chem. Res. Chinese Universities*, **2012**, 28(5), 862—865
- [22] Shuai D., Zhao M. J., Chen B. N., Wang L., *Chem. J. Chinese Universities*, **2021**, 42(12), 3579—3588(帅蝶, 赵美娟, 陈丙年, 王

- 力. 高等学校化学学报, 2021, 42(12), 3579—3588)
- [23] Zhu H. T., Jin M. X., Tang W. S., Su F., Li Y. G., *Chem. J. Chinese Universities*, 2022, 43(11), 20220328(朱浩天, 金美秀, 唐文思, 苏芳, 李阳光. 高等学校化学学报, 2022, 43(11), 20220328)
- [24] Li Y., Chen B. N., Luo D., Lei S., Wang L., *Acta Chim. Sinica*, 2023, 81(10), 1318—1326(李瑶, 陈丙年, 罗丹, 雷珊, 王力. 化学学报, 2023, 81(10), 1318—1326)
- [25] Chen K., Jia H. L., Liu Y., Yin P. C., Wei Y. G., *Adv. Biosyst.*, 2020, 4(5), 1900281
- [26] Jin F., *Food and Nutrition in China*, 2006, 2006(1), 47—48(金锋. 中国食物与营养, 2006, 2006(1), 47—48)
- [27] Xie J. P., Jin W. J., Zhang J. Y., *Shaanxi J. Agric. Sci.*, 2020, 66(8), 49—51(谢娟平, 靳文娟, 张佳莹. 陕西农业科学, 2020, 66(8), 49—51)
- [28] Padayatty S. J., Levine M., *Oral Dis.*, 2016, 22(6), 463—493
- [29] Carr A. C., Lykkesfeldt J., *Nutrients*, 2021, 13(4), 1102
- [30] Wang E. B., Gao L. H., Liu J. F., Liu Z. X., Yan D. H., *Acta Chim. Sinica*, 1988, 46(8), 757—762
- [31] Luo D., *Study on Antioxidant Properties of Dawson-Type Polyoxometalates and Their Interaction with α -Glucosidase*, Xiamen: Jimei University, 2022(罗丹. Dawson型多酸抗氧化性能及其与 α -葡萄糖苷酶相互作用的研究. 厦门: 集美大学, 2022)
- [32] Hu J. J., Wang R. F., Wang L., *J. Jimei Univ. Nat. Sci.*, 2020, 25(4), 265—271(户晶晶, 王瑞芳, 王力. 集美大学学报(自然科学版), 2020, 25(4), 265—271)
- [33] Chen X. S., *Study on the Regulation of Melanin Production by Dawson-Type Polyoxometalates*, Jimei University, Xiamen, 2023(陈祥松. Dawson型多金属氧酸盐对黑色素生成调控的研究. 厦门: 集美大学, 2023)
- [34] Liu X. X., Gong W. P., Luo J., Zou C. T., Yang Y., Yang S. J., *Appl. Surf. Sci.*, 2016, 362, 517—524
- [35] Wang P., Wang Z. T., Wang P. S., Chishti A. N., Zhang H. X., Shi J. H., Ni L. B., Jamil S., Wei Y. G., *Polyoxometalates*, 2024, 3(2), 9140047
- [36] Kondinski A., *Polyoxometalates*, 2024, 3(3), 9140058

(Ed.: L, V, K)