

基于多光谱法的 3 种黄酮类化合物与胰脂肪酶的结合作用研究

潘佳逸, 张 炎, 闫 焕, 张瀛心, 周素珍*, 范金波

(渤海大学食品科学与工程学院, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术
国家地方联合工程研究中心, 锦州 121013)

摘要: 目的 研究黄芩素(baicalein, Bai)、槲皮素(querctetin, Que)和漆黄素(fisetin, Fis) 3 种黄酮类化合物与胰脂肪酶(pancreatic lipase, PL)的结合作用。**方法** 采用紫外-可见光谱法、三维荧光光谱法和傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)研究 3 种黄酮类化合物与 PL 的相互作用机制, 采用差示热量扫描法(differential scanning calorimetry, DSC)考查复合物中 PL 的稳定性, 计算配体的保留率。**结果** 紫外-可见吸收光谱表明 3 种黄酮类化合物与 PL 通过静态猝灭形成复合物, 结合常数分别为 5.06×10^3 、 4.86×10^3 和 3.83×10^3 L/mol。三维荧光光谱表明, 3 种黄酮类化合物诱导了 PL 的微环境和构象变化。FTIR 表明 Bai、Que 和 Fis 改变了 PL 多肽骨架网络结构和氢键相互作用。同时复合物的形成稳定了 PL 的结构并提高了热稳定性, PL 变性温度 T_m 从 77.91°C 升高至 79.50、78.29、79.06°C。热稳定性表明 PL 增加 3 种黄酮化合物的保留率, 减少活性成分的损失。**结论** Bai、Que 和 Fis 能改变 PL 的构象变化, 并且复合物的形成提高了 PL 的稳定性。

关键词: 黄芩素; 槲皮素; 漆黄素; 多光谱

Study on the binding effects of 3 kinds of flavonoids with pancreatic lipase based on multi-spectroscopy

PAN Jia-Yi, ZHANG Yan, YAN Huan, ZHANG Ying-Xin, ZHOU Su-Zhen*, FAN Jin-Bo

(College of Food Science and Technology, Bohai University, National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Jinzhou 121013, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the binding effects of baicalein (Bai), quercetin (Que) and fisetin (Fis) with pancreatic lipase (PL). **Methods** The interaction mechanisms of the 3 kinds of flavonoids with PL were studied by ultraviolet-visible absorption spectroscopy, three-dimensional fluorescence spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), differential scanning calorimetry (DSC) was used to investigate the stability of PL in the complexes and calculate the retention rates of the ligands. **Results** The ultraviolet-visible absorption

基金项目: 辽宁省科技厅项目(2022JH5/10400062)、教育部中外语言交流合作中心项目(21YH009CX5)

Fund: Supported by the Science and Technology Department of Liaoning Province (2022JH5/10400062), and the Center for Language Education and Cooperation of the Chinese Ministry of Education (21YH009CX5)

*通信作者: 周素珍, 硕士, 实验师, 主要研究方向为食品加工及分子营养。E-mail: 59491377@qq.com

*Corresponding author: ZHOU Su-Zhen, Master, Engineer, College of Food Science and Technology, Bohai University, National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Jinzhou 121013, China. E-mail: 59491377@qq.com

spectroscopy showed that the 3 kinds of flavonoids formed compounds with PL through static quenching, and the binding constants were 5.06×10^3 , 4.86×10^3 and 3.83×10^3 L/mol, respectively. Three-dimensional fluorescence spectra showed that the microenvironment and conformational changes of PL were induced by the 3 kinds of flavonoids. FTIR showed that Bai, Que and Fis changed the skeleton network structure and hydrogen bond interaction of PL polypeptide. At the same time, the formation of complex stabilized the structure of PL and improved the thermal stability. The denaturation temperatures of PL increased from 77.91°C to 79.50, 78.29, 79.06°C. Thermal stability showed that PL increased the retention rates of 3 kinds of flavonoid compounds and reduced the loss of active ingredients. **Conclusion** Bai, Que and Fis can change the conformational change of PL, and the formation of complex can improve the stability of PL.

KEY WORDS: baicalein; quercetin; fisetin; multi-spectroscopy

0 引言

肥胖定义为食物摄入过多和低能量消耗导致的体内脂肪过度蓄积。如今,肥胖正在成为一种全球性的流行病^[1-2]。脂质代谢异常是引起肥胖的主要因素^[3]。因此,维持脂质代谢平衡对预防和治疗肥胖具有重要意义。目前,预防肥胖的实用策略之一是减少脂肪在消化器官中的消化吸收,而胰脂肪酶(pancreatic lipase, PL)是脂质吸收的关键酶^[4]。在临床上,治疗肥胖症的常用药物为胰脂肪酶抑制剂奥利司他,然而,长期服用可能会引起各种不良反应,如血压升高、食欲不振和表现抑郁症状^[5-6]。相比之下,人们更加关注有效和安全的治疗方法,尤其是具有潜在抗肥胖活性的天然产品。

黄酮类化合物是一类广泛存在于自然界的化合物,通常以糖基化或酯化形式存在,由 C6-C3-C6 环组成^[7],即 A 环和 B 环通过三碳环 C 连接(图 1)^[8],其普通人群日摄入量在 20~500 mg 之间,主要来源于茶、红酒、洋葱和西红柿等膳食补充剂^[9-10]。研究表明,黄酮类化合物对预防和治疗肥胖及其相关代谢紊乱具有有益作用^[11]。例如,LI 等^[12]研究发现,芹菜素以竞争方式可逆地抑制 PL 活性,并且与奥利司他组合显示出协同效应。HUANG 等^[13]对 8 种具有代表性的柑橘皮提取物进行了 PL 抑制能力和机制研究,发现橙皮苷、柚皮苷、新橙皮苷、柚皮苷和圣草次苷是柑橘皮提取物的主要黄酮类化合物,其中橙皮苷是主要的 PL 抑制剂,其可通过氢键和范德华力与 PL 相互作用。

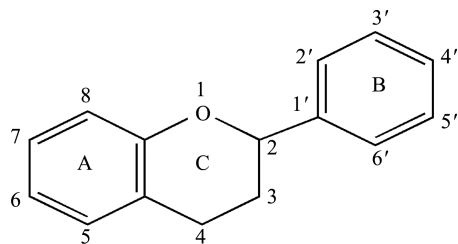


图 1 黄酮类化合物的基本骨架^[8]
Fig.1 Basic skeleton of flavonoids^[8]

研究显示,与黄酮类化合物等配体的结合过程中,蛋白质结构和功能会发生改变,通过研究结合过程中蛋白质和小分子结构、性质的变化,可以从分子层面阐明二者相互作用的具体原理及其结合机制^[14]。多光谱法是探究黄酮类化合物与蛋白质的相互作用的有效手段, YANG 等^[15]采用多光谱法研究洛伐他汀与 3 种消化酶(胃蛋白酶、胰蛋白酶和 α -糜蛋白酶)的相互作用,紫外光谱表明在远紫外区的峰加强,略有红移,胃蛋白酶的肽链展开,结构变得松散,氨基酸残基微环境的疏水性降低;三维荧光光谱表明洛伐他汀改变了胃蛋白酶、胰蛋白酶和 α -糜蛋白酶的构象。HUANG 等^[16]在紫外光谱图中发现吸收峰在添加抑制剂之后发生不同程度的红移,表明 3 种多甲氧基化黄酮与 PL 形成新的复合物,改变了 PL 的结构构象。在前期研究中发现,黄芩素(baicalein, Bai)、槲皮素(quercetin, Que)和漆黄素(fisetin, Fis)对 PL 的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})均大于阳性对照奥利司他,为更深入理解 PL 与配体相互作用时的构象变化,本研究采用 3 种光谱法以不同角度分析 3 种黄酮类化合物与 PL 的相互作用及机制,通过差示热量扫描法(differential scanning calorimetry, DSC)考查复合物中 PL 的稳定性,为指导降脂功能食品的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

胰脂肪酶(猪胰腺, 15~35 units/mg, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); Bai、Que、Fis(纯度 98%, 上海源叶生物科技有限公司); 无水乙醇、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠(分析纯, 天津市北辰方正试剂厂)。

1.2 仪器与设备

F-7000 荧光分光光度计(日本日立高新技术公司); Evolution 201 紫外-可见分光光度计(美国 Thermo 公司); IRTracer-100 傅里叶变换红外光谱仪[岛津企业管理(中国)有限公司]; SCIENTZ-10N/A 冷冻干燥机(宁波新芝生

物科技股份有限公司); Q 2000 差示扫描量热仪(美国 TA 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 紫外荧光光谱法

参考褚盼盼等^[17]方法并稍作修改。取 7 支规格为 5 mL 的离心管, 将一定体积的 PL (5 mL/mg) 分别加入到不同浓度(0、6.67、13.33、20.00、26.67、33.33、40.00 $\mu\text{mol/L}$) 的 Bai、Que、Fis 溶液中, 用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)稀释至 3 mL。在常温条件下测定样品吸光度, 记录 200~600 nm 的紫外吸收光谱, 测量之前使用 PBS 进行基线校正。

根据 Benesi-Hildebrand 方程^[18]估算 298 K 时复合物的基态结合常数(K_a), 协同度(h)由 Hill 方程(1)~(2)获得:

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{K_d}{[S] \cdot \Delta A_\infty} + \frac{1}{\Delta A_\infty} \quad (1)$$

$$\lg \frac{\Delta A}{\Delta A_\infty - \Delta A} = h \lg[S] + \lg K_a \quad (2)$$

式中, $\Delta A = A - A_0$, A_0 和 A 分别为无或有黄酮类化合物时 PL 的吸光度; $[S]$ 是 3 种黄酮类化合物浓度, mol/L; ΔA_∞ 是 PL 完全饱和时吸收的变化; K_d 是解离常数, mol/L。

1.3.2 三维荧光光谱法

取 4 支 5 mL 离心管, 依次加入 5 mg/mL PL, 第 1 支作对照, 第 2 到第 4 支再依次加入浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ Bai、Que 和 Fis 溶液, 最后加入 PBS 稀释至 3 mL, 混合均匀后反应 30 min。发射波长(emission wavelength, E_m)范围为 230~450 nm, 初始激发波长(excitation wavelength, E_x)设置为 200 nm, 间隔 5 nm, 扫描次数为 30 次。

1.3.3 傅里叶变换红外光谱法

参照 1.3.2 样品配制方法, 4 组样品经过真空冷冻干燥机制成粉末后, 分别与溴化钾(KBr)粉末以 1:100 的比例充分混合, 压片, 分辨率 4 cm^{-1} , 记录 $400\sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ 的光谱数据。

1.3.4 差示扫描量热法

参照 1.3.2 样品配制方法, 称取约 10 mg 样品置于铝盘上并密封。空铝盘作为参比。以 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 的加热速率将温度从 0°C 加热到 100°C 后冷却到室温, 获得 DSC 图及热力学参数。

1.3.5 热稳定性

参照 1.3.2 样品配制方法, 在 37°C 水浴中加热 2.5 h, 其中 3 种黄酮类化合物作为对照组。每隔 0.5 h 在 Bai、Que 和 Fis 最大吸收波长测定紫外吸光度。按照公式(3)计算保留率:

$$\text{保留率}/\% = A/B \times 100\% \quad (3)$$

其中, A 为不同时间段吸光度, B 为 0 h 吸光度。

1.4 数据分析

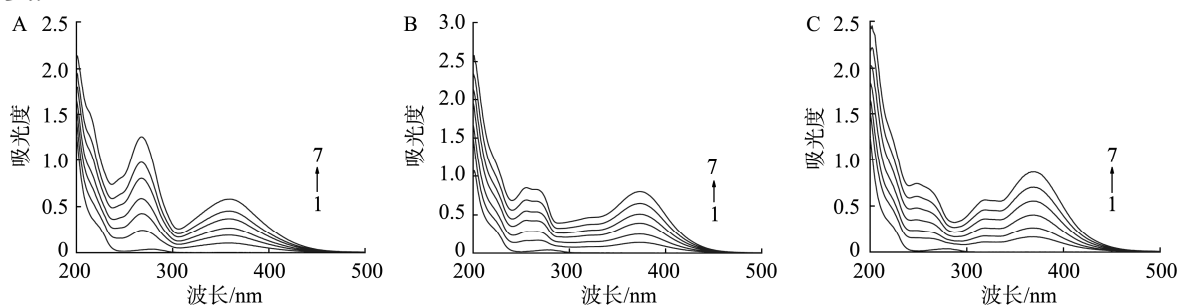
本研究实验均重复 3 次, 结果表示为平均值 \pm 标准偏差。运用 Excel 2304 进行数据处理, 使用 Origin 2018 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 紫外-可见吸收光谱

紫外吸收光谱用于评价分子间的构象变化和相互作用, 以及鉴别主要猝灭机制^[19-20]。如图 2 所示, PL 的吸收光谱在 210 nm 和 280 nm 左右处有两个吸收峰, 分别对应肽键和芳香族氨基酸。Bai、Que 和 Fis 3 种黄酮类化合物的加入使紫外吸收强度增加, 在 280 nm 附近分别出现明显的蓝移(280 nm \rightarrow 268 nm, 280 nm \rightarrow 263 nm, 280 nm \rightarrow 248 nm), 表明复合物改变了 PL 的结构构象, 从而影响了色氨酸和酪氨酸残基周围的微环境^[16]。PL 不存在芳香环, 如果 PL 和 Bai、Que、Fis 3 种黄酮类化合物相互结合, PL 结构中会引入多酚特有的芳香环^[21], 由图 2 可知, 360、376、370 nm 附近为 3 种黄酮化合物苯环和羰基共轭体系的特征谱带, 表明 3 种黄酮化合物与 PL 之间存在相互结合作用。Bai、Que 和 Fis 在与 PL 相互作用时引起了吸收光谱发生变化, 说明复合物之间存在静态猝灭并在基态下形成络合物^[22]。

根据 $1/\Delta A$ 与 $1/[S]$ 的拟合曲线, 可以确定复合物的结合常数(K_a), 由表 1 可知, Bai、Que 和 Fis 分别在最大吸光度值 268、263、248 nm 处测得 K_a 为 5.06×10^3 、 4.86×10^3 和 $3.83 \times 10^3 \text{ L/mol}$, 表明 3 种黄酮类化合物均能与 PL 结合, 其结合能力最强的为 Bai, 其次是 Que 和 Fis。Bai、Que 和 Fis 与 PL 复合物之间的协同度均大于 0.99, 推测配体的相互作用位点的最小数目为 1^[23]。



注: 配体(Bai、Que 和 Fis)浓度 1 \rightarrow 7 依次为 0、6.67、13.33、20.00、26.67、33.33、40.00 $\mu\text{mol/L}$ 。

图 2 Bai (A)、Que (B) 和 Fis (C) 与 PL 相互作用的紫外-可见吸收光谱

Fig.2 Ultraviolet-visible absorption spectra of Bai (A), Que (B) and Fis (C) binding to PL

表 1 Bai、Que 和 Fis 与 PL 相互作用的结合参数

Table 1 Binding parameters of Bai, Que and Fis interaction with PL from ultraviolet-visible absorption spectroscopy

T/K	配体	$K_d/(\text{mol/L})$	$K_a/(\text{L/mol})$	h
298	Bai	1.98×10^{-4}	5.06×10^3	0.9988
	Que	2.06×10^{-4}	4.86×10^3	0.9988
	Fis	2.61×10^{-4}	3.83×10^3	0.9979

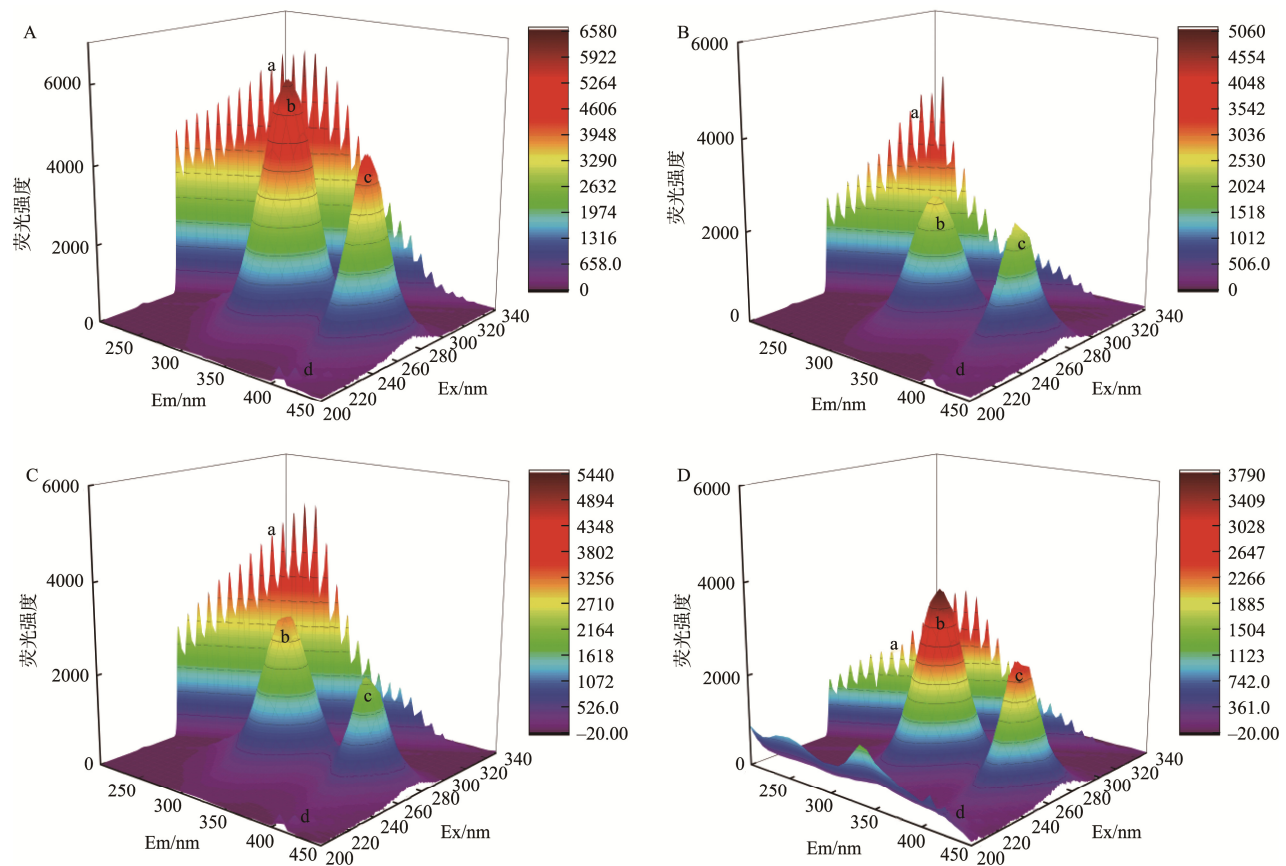
2.2 三维荧光光谱

三维荧光光谱测量灵敏度高,用于探索配体相互作用后蛋白质结构微环境和构象的变化。由图 3A 所示,PL 主要有 4 个不同的光谱峰值。峰 a 对应于瑞利散射,其特征为 $\lambda_{em}=\lambda_{ex}$; 峰 b, 中心波长为 280 nm/334 nm ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$), 主要代表 PL 的 Trp 和 Tyr 残基涉及 π - π 跃迁的光谱特征; 峰 c, 中心波长为 220 nm/333 nm ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}$), 主要表现为多肽骨架结构 C=O 微环境的光谱特征,与 PL 二级结构的修饰有关^[24]。从表 2 中各峰强度变化分析,加入 3 种黄酮类化合物后,峰强度均有不同程度的降低。其中 Bai、Que 和 Fis 峰 b 的荧光强度分别从 6075 降低到 2669、3202 和 3787(下降约 56.07%、47.29%和 37.66%),峰 c 的荧光强度

分别从 4608 降低到 2508、2292 和 2624(下降约 45.57%、50.26%和 43.06%)。LU 等^[25]通过三维荧光光谱解释了没食子酸的加入使猪胰 α 淀粉酶(porcine pancreatic α -amylase, PPA)峰 b 和峰 c 荧光强度均下降的原因,主要是 PPA 和没食子酸的相互作用引起了 PPA 多肽链的严重失稳,增加了之前被埋藏的疏水区域的暴露,疏水基团和侧链被迫折叠,将疏水残基嵌入分子内形成疏水腔。由此可推断 PL 的两个峰的荧光强度的降低,可能是 PL 与 3 种黄酮类化合物的相互作用诱导 PL 构象发生变化并改变结合位点疏水微环境的极性。此外,峰 a 强度的降低可能是由于蛋白质直径的减小,其表现为降低的瑞利散射效应^[26]。

2.3 傅里叶变换红外光谱

FTIR 可深入了解蛋白质的二级结构及其与不同配体的相互作用。酰胺 I 谱带($1600\sim 1800\text{ cm}^{-1}$)通常由 C=O 伸缩振动引起,酰胺 II 区域($1470\sim 1570\text{ cm}^{-1}$)的峰归因于 C-N 伸缩或 N-H 弯曲,酰胺 III 谱带($1250\sim 1350\text{ cm}^{-1}$)对应于 N-H 弯曲和 C-N 拉伸平面振动,酰胺 A ($3300\sim 3500\text{ cm}^{-1}$)代表 N-H 键的伸展和氢键。与酰胺 II 带相比,酰胺 I 带对配体与蛋白结合诱导的构象变化敏感^[27-28]。如图 4 所示,



注: A: PL; B: PL-Bai; C: PL-Que; D: PL-Fis。

图 3 PL 和 3 种复合物的三维荧光光谱图

Fig.3 Three-dimensional fluorescence spectra of PL and 3 kinds of compounds

表 2 PL 和 3 种复合物的三维光谱参数
Table 2 Three-dimensional spectral parameters of PL and 3 kinds of compounds

样品	峰 b	$\Delta\lambda/\text{nm}$	荧光强度	峰 c	$\Delta\lambda/\text{nm}$	荧光强度
	($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$)			($\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$)		
PL	280/334	54	6075	230/333	103	4608
PL+Bai	280/331	51	2669	230/331	101	2508
PL+Que	280/335	55	3202	230/335	105	2292
PL+Fis	280/332	52	3787	230/334	104	2624

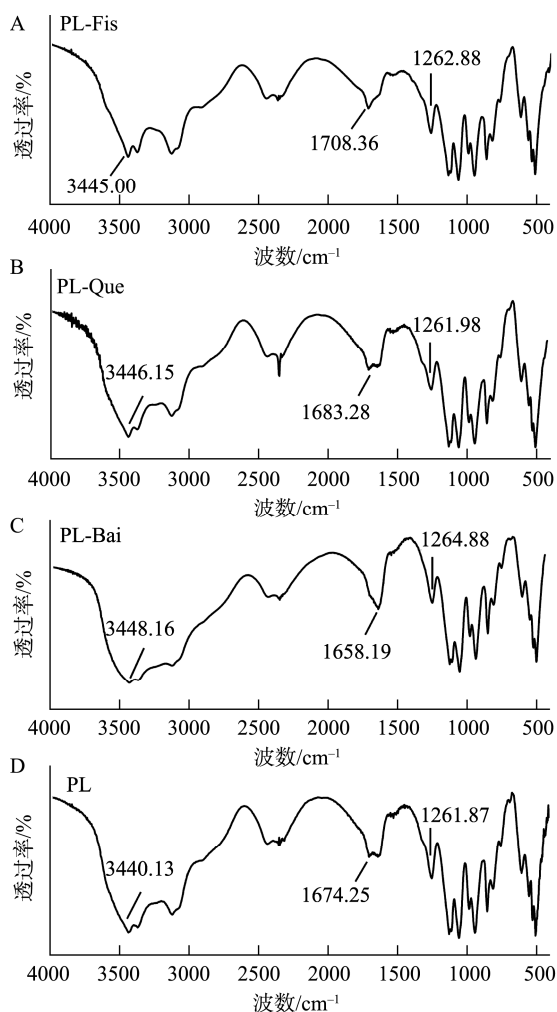


图 4 PL 和 3 种复合物的 FTIR 图

Fig.4 FTIR diagrams of the 3 kinds of compounds and PL

PL 中的酰胺 I、酰胺 III 和酰胺 A 带分别位于 1674.25、1261.87 和 3440.13 cm^{-1} 。向 PL 中加入 Bai、Que 和 Fis 后, 酰胺 I 带从 1674.25 cm^{-1} 移动到 1658.19 cm^{-1} (PL-Bai)、1683.28 cm^{-1} (PL-Que)、1708.36 cm^{-1} (PL-Fis), 酰胺 III 带从 1261.87 cm^{-1} 移动到 1264.88 cm^{-1} (PL-Bai)、1261.98 cm^{-1} (PL-Que)、1262.88 cm^{-1} (PL-Fis); 表明 PL 与 3 种黄酮类的结合会引起酰胺 I 带 C=O 键和酰胺 III 带中的 N-H 和 C-N 键发生变化。酰胺 A 带从 3440.13 cm^{-1} 移动到 3448.16 cm^{-1} (PL-Bai)、3446.15 cm^{-1} (PL-Que)、3445.00 cm^{-1} (PL-Fis), 两种聚合物之间的氢键在 3440.13 cm^{-1} 处移动, 对应于强 O-H 伸缩振

动。这意味着氢键在 PL 酰胺基团和黄酮类化合物羟基之间的相互作用中具有影响。综上所述, FTIR 峰值的变化和位移提示 PL 结构因复合物的形成而发生变化。

2.4 相互作用对 PL 热稳定性的影响

DSC 可以提供与蛋白质折叠相关的各种热力学参数, 如变性温度(T_m)和变性焓值(ΔH)等^[29]。PL 的 T_m 值代表其自身构象的稳定性, 加热可通过热力学可逆或不可逆过程的解折叠改变 PL 的天然构型。由图 5 和表 3 数据可知 PL 的 T_m 为 77.91 $^{\circ}\text{C}$, 使酶变性所需的 ΔH 为 27.08 J/g。加入 Bai、Que 和 Fis 后, PL 的 T_m 从 77.91 $^{\circ}\text{C}$ 升高至 79.50、78.29、79.06 $^{\circ}\text{C}$, Bai、Que 和 Fis 稳定了 PL 的结构并提高了其热稳定性。SHI 等^[30]发现乳清蛋白(whey protein, WP)与海藻酸丙二醇酯(propylene glycol alginate, PGA)形成复合物后, WP 的热稳定性提高, 这可能与 WP 的氨基和 PGA 的羧基之间的静电相互作用及 WP 和 PGA 之间形成络合物之后的结构重排^[30]有关。由此推测 PL 热稳定性提高可能是由于 PL 和 Bai、Que、Fis 之间键的相互作用形成结构重排。而加入 Bai 和 Fis 后, 使酶变性所需的 ΔH 从 27.08 J/g 升高至 70.98 J/g 和 31.19 J/g; 反之, 加入 Que 后酶变性所需的 ΔH 从 27.08 J/g 降至到 24.30 J/g。说明 Bai 和 Fis 的结合使得 PL 的酶变性所需的 ΔH 升高, 所提供的热量更多。PL-Bai 复合物的 ΔH 值与其他两组相比, 差异明显, 可能是 Bai 导致空间结构改变较大, 增加了变性难度^[31]。

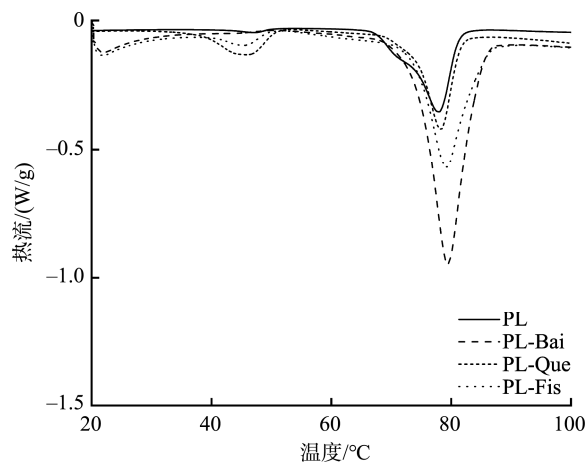


图 5 PL 和 3 种复合物的 DSC 图

Fig.5 DSC diagrams of the 3 kinds of compounds and PL

表 3 PL 和 3 种复合物的热变性温度和焓值

Table 3 Thermal denaturation temperature and enthalpy of the 3 kinds of compounds and PL

样品	$T_m/^\circ\text{C}$	$\Delta H/(\text{J/g})$
PL	77.91	27.08
PL+Bai	79.50	70.98
PL+Que	78.29	24.30
PL+Fis	79.06	31.19

2.5 相互作用对配体热稳定性的影响

Bai、Que 和 Fis 的稳定性是发挥抑制作用的关键,其含有的敏感基团易受光和热等物理因素影响,而加速生物活性损失^[32]。由图 6 可知,在 37°C 加热 2.5 h 后, Bai 的保留率与 PL-Bai 复合物增加数据基本保持一致。推断 Bai 在此温度下,生物活性不受温度的影响,与结构中连苯三酚部分羟基的糖基化略微增强了稳定性有关^[33]。在加热 0.5~2.5 h 后, Que 和 Fis 的保留率分别从 95.00%→61.70%, 96.51%→77.50%。XIAO 等^[33]通过对比芹菜素、毛地黄黄酮与 B 环上具有羟基的黄酮醇山奈酚和槲皮素,发现在 B 环上具有羟基的黄酮的 C 环上的羟基化可降低其稳定性。推测 Que 和 Fis 的不稳定性可能与自身的结构有关,其主要来自于羟基和吡喃酮结构(C 环)。与 PL 结合反应 2.5 h 后, Que 和 Fis 的保留率分别从 61.70%→65.39%, 77.50%→81.55%, 相比于 Que, Fis 的保留率稍高,可能是由于 PL 的疏水腔对 Que 和 Fis 的有效保护减少了温度对 Bai、Que 和 Fis 降解的影响。

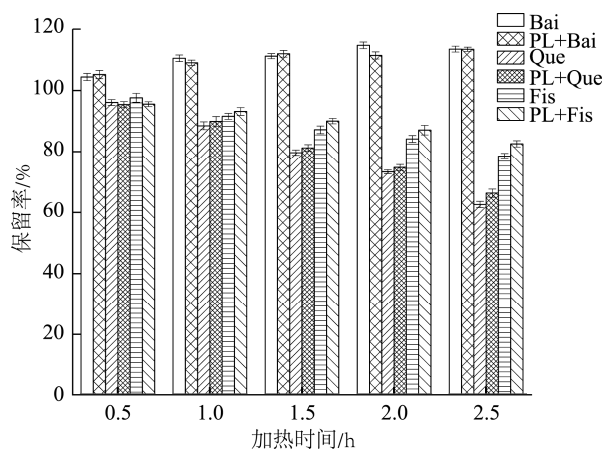


图 6 加热处理后配体的保留率

Fig.6 Retention rates of ligand under heating treatment

3 结论

本研究通过多光谱法全面探索了 Bai、Que 和 Fis 与 PL 的相互作用,结果发现 Bai、Que 和 Fis 3 种黄酮类化合物与 PL 复合物之间存在静态猝灭,结合能力最强的为 Bai,其次是 Que 和 Fis。三维荧光结果表明,PL 构象发生变化

并改变了结合位点疏水微环境的极性。FTIR 中 PL 酰胺 A、酰胺 I 和酰胺 III 带受到 Bai、Que 和 Fis 的影响,发生不同程度的移动,其中酰胺 I 带对配体与蛋白结合诱导的 C=O 键构象变化相比于酰胺 I 和酰胺 III 带键的变化敏感。DSC 数据表明 Bai、Que 和 Fis 与 PL 形成复合物后,PL 变性温度 T_m 升高, Bai、Que 和 Fis 稳定了 PL 的结构并提高了其热稳定性。热稳定研究表明 PL 与 Bai、Que 和 Fis 的结合减少了物理因素加速生物活性降解的可能性。本研究基于多光谱法分析了 3 种黄酮类化合物分子与 PL 之间的相互作用及对 PL 构象的影响,为开发新型 PL 抑制剂提供新的思路。

参考文献

- MENTEŞE E, YILMAZ F, EMIRIK M, *et al.* Synthesis, molecular docking and biological evaluation of some benzimidazole derivatives as potent pancreatic lipase inhibitors [J]. *Bioorg Chem*, 2018, 76: 478–486.
- FAN QJ, XU FR, LIANG B, *et al.* The anti-obesity effect of traditional Chinese medicine on lipid metabolism [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 696603.
- WANG HN, XIANG JZ, QI Z, *et al.* Plant extracts in prevention of obesity [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 62(8): 1–14.
- HOU XD, GE GB, WENG ZM, *et al.* Natural constituents from Cortex Mori Radicis as new pancreatic lipase inhibitors [J]. *Bioorg Chem*, 2018, 80: 577–584.
- LI X, ZHANG Y, WANG SX, *et al.* A review on the potential use of natural products in overweight and obesity [J]. *Phytother Res*, 2022, 36(5): 1990–2015.
- SONG D, CHENG L, ZHANG X, *et al.* The modulatory effect and the mechanism of flavonoids on obesity [J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(8): 12954.
- WANG TY, LI Q, BI KS. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2018, 13(1): 12–23.
- KUMAR S, PANDEY AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview [J]. *Sci World J*, 2013, 2013: 1–16.
- RAKERS C, SCHWERTFEGGER SM, MORTIER J, *et al.* Inhibitory potency of flavonoid derivatives on influenza virus neuraminidase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(17): 4312–4317.
- GIULIANI C, BUCCI I, SANTO S, *et al.* The flavonoid quercetin inhibits thyroid-restricted genes expression and thyroid function [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 66: 23–29.
- MARRANZANO M, RAY S, GODOS J, *et al.* Association between dietary flavonoids intake and obesity in a cohort of adults living in the Mediterranean area [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2018, 69(8): 1020–1029.
- LI S, HU X, PAN JH, *et al.* Mechanistic insights into the inhibition of pancreatic lipase by apigenin: Inhibitory interaction, conformational change and molecular docking studies [J]. *J Mol Liq*, 2021, 335: 116505.
- HUANG R, ZHANG Y, SHEN S, *et al.* Antioxidant and pancreatic lipase inhibitory effects of flavonoids from different citrus peel extracts: An *in vitro* study [J]. *Food Chem*, 2020, 326: 126785.

- [14] 仪淑敏, 吴琪, 李学鹏, 等. 食品中蛋白质力学性质的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(7): 2814–2821.
YI SM, WU Q, LI XP, *et al.* Research progress on the mechanical properties of protein in food [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(7): 2814–2821.
- [15] YANG L, NAN G, MENG X, *et al.* Study on the interaction between lovastatin and three digestive enzymes and the effect of naringin and vitamin C on it by spectroscopy and docking methods [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 155: 1440–1449.
- [16] HUANG X, ZHU JX, WANG L, *et al.* Inhibitory mechanisms and interaction of tangeretin, 5-demethyltangeretin, nobiletin, and 5-demethylnobiletin from citrus peels on pancreatic lipase: Kinetics, spectroscopies, and molecular dynamics simulation [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164: 1927–1938.
- [17] 褚盼盼, 门玉倩, 孔令悦, 等. 黑豆红色素抑制胰脂肪酶催化反应动力学研究[J]. 食品科技, 2018, 43(5): 302–307.
CHU PP, MEN YQ, KONG LY, *et al.* Inhibition of the black beans red pigment on pancreatic lipase by catalysis reaction dynamics [J]. *Food Sci Technol*, 2018, 43(5): 302–307.
- [18] ALAM MM, QAIS FA, AHMAD I, *et al.* Multi-spectroscopic and molecular modelling approach to investigate the interaction of riboflavin with human serum albumin [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2018, 36(3): 795–809.
- [19] WANG BL, KOU SB, LIN ZY, *et al.* Investigation on the binding behavior between BSA and levatinib with the help of various spectroscopic and in silico methods [J]. *J Mol Struct*, 2020, 1204: 127521.
- [20] KOU SB, LIN ZY, WANG BL, *et al.* Evaluation of the binding behavior of olmutinib (HM61713) with model transport protein: Insights from spectroscopic and molecular docking studies [J]. *J Mol Struct*, 2021, 1224: 129024.
- [21] 郑佳. 果酒中蛋白质、多糖、多酚的相互作用及其澄清初步研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2019.
ZHENG J. A preliminary study on the interaction and clarification of protein, polysaccharide and polyphenol in fruit wine [D]. Chongqing: Chongqing University, 2019.
- [22] SHI RJ, CHEN W, PAN F, *et al.* Characterization of the binding behavior, structure and foaming properties of bovine α -lactalbumin combined with saponin by the multi-spectroscopic and silico approaches [J]. *Food Hydrocolloid*, 2022, 124: 107259.
- [23] AHMAD E, RABBANI G, ZAIDI N, *et al.* Stereo-selectivity of human serum albumin to enantiomeric and isoelectronic pollutants dissected by spectroscopy, calorimetry and bioinformatics [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e26186.
- [24] DING F, DIAO JX, SUN Y, *et al.* Bioevaluation of human serum albumin-hesperidin bioconjugate: Insight into protein vector function and conformation [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(29): 7218–7228.
- [25] LU Q, CHEN CY, ZHAO SL, *et al.* Investigation of the interaction between gallic acid and α -amylase by spectroscopy [J]. *Int J Food Prop*, 2016, 19(11): 2481–2494.
- [26] AMEEN F, SIDDIQUI S, JAHAN I, *et al.* A detailed insight into the interaction of memantine with bovine serum albumin: A spectroscopic and computational approach [J]. *J Mol Liq*, 2020, 303: 112671.
- [27] JI Y, YANG XL, JI Z, *et al.* DFT-calculated IR spectrum amide I, II, and III band contributions of N-methylacetamide fine components [J]. *ACS Omega*, 2020, 5(15): 8572–8578.
- [28] GONZÁLEZ-MARTÍNEZ DA, CARRILLO-NAVAS H, BARRERA-DÍAZ CE, *et al.* Characterization of a novel complex coacervate based on whey protein isolate-tamarind seed mucilage [J]. *Food Hydrocolloid*, 2017, 72: 115–126.
- [29] SINDHU A, MOGHA NK, VENKATESU P. Insight into impact of choline-based ionic liquids on bovine β -lactoglobulin structural analysis: Unexpected high thermal stability of protein [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 126: 1–10.
- [30] SHI G, SHI C, LUO YK, *et al.* Interaction and phase behavior of whey protein and propylene glycol alginate complex condensates [J]. *Food Chem*, 2023, 404: 134556.
- [31] 闫馨月, 贾亦佳, 孙诗艳, 等. 大豆蛋白-黄芩素的结合机制及蛋白构象和功能变化[J]. 食品科学, 2023, 44(4): 91–98.
YAN XY, JIA YJ, SUN SY, *et al.* Binding mechanism and conformation and functional changes of soybean protein-baicalein complexes [J]. *Food Sci*, 2023, 44(4): 91–98.
- [32] IOANNOU I, HAFSA I, HAMDI S, *et al.* Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behaviour [J]. *J Food Eng*, 2012, 111(2): 208–217.
- [33] XIAO JB, HÖGGER P. Stability of dietary polyphenols under the cell culture conditions: Avoiding erroneous conclusions [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(5): 1547–1557.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介



潘佳逸, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 915196531@qq.com



周素珍, 硕士, 实验师, 主要研究方向为食品加工及分子营养。

E-mail: 59491377@qq.com