

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2021.02.001

多酚化合物对黄嘌呤氧化酶抑制作用的研究进展

Research progress of inhibitory effects of polyphenolic compounds on xanthine oxidase

洪鑫月 吴健妹 罗小乔 刘凯

HONG Xin-yue WU Jian-mei LUO Xiao-qiao LIU Kai

周伟杰 张国文

ZHOU Wei-jie ZHANG Guo-wen

(南昌大学食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047, China)

摘要:文章主要对近 5 年来多酚化合物抑制黄嘌呤氧化酶活性、抑制类型及相互作用研究进行了综述,并对其构效关系、结构修饰及金属配合物的开发与应用进行了展望,以期为多酚化合物作为降尿酸食品功能因子和药物的研发提供参考。

关键词:多酚化合物;黄嘌呤氧化酶;抑制活性;相互作用

Abstract: The inhibitory activities and types of polyphenolic compounds on xanthine oxidase and their interactions in the past five years was summarized in this review, and the structure-activity relationship, the structural modification and its development and application of metal complex were also prospected. This will provide some references for the research and development of polyphenolic compounds as lowering uric acid food functional factors and drugs.

Keywords: polyphenolic compounds; xanthine oxidase; inhibitory activity; interaction

黄嘌呤氧化酶(Xanthine Oxidase, XOD)是体内核酸代谢中重要的酶,能催化次黄嘌呤氧化生成黄嘌呤,再将黄嘌呤氧化产生尿酸^[1]。由于人体内缺乏尿酸氧化酶,不能将尿酸进一步分解成可溶性的尿囊素,因此,当体内

XOD 活性异常增高时,会造成尿酸生成增多,尿酸的积累或排泄不畅将导致高尿酸血症,长期的高尿酸血症会导致尿酸钠晶体在关节、组织等处沉积,引发痛风等症状。据统计^[2],约有 5%~12%的高尿酸血症最终可发展为痛风。高尿酸血症不仅是痛风的生化基础,还与代谢综合征、糖尿病、慢性肾病、高血压、冠心病等疾病的发生发展密切相关^[3]。随着生活水平的提高和饮食结构的改变,人们对高嘌呤类食物的摄入量也日益增加,高尿酸血症发病率在中国逐年上升,目前已达 1.2 亿人,且发病年龄呈现低龄化的趋势^[4],高尿酸血症已成为危害人民健康的严重代谢性疾病。

XOD 是人体产生尿酸的限速酶,同时也是治疗高尿酸血症药物的作用靶点,抑制 XOD 的催化活性,减少黄嘌呤向尿酸转化,已成为临床缓解和治疗高尿酸血症的主要途径之一^[5]。别嘌呤醇(Allopurinol)和非布索坦(Febuxostat)等是目前临床最常用的 XOD 抑制剂,前者通过抑制黄嘌呤与 Mo-pt 中心的配位作用^[6],后者通过占据酶的疏水空腔阻止与黄嘌呤的结合以抑制酶催化活性,从而达到降尿酸的目的^[7],然而这些化学合成抑制剂在临床使用中常引起发热、皮疹、腹痛、腹泻、白细胞与血小板减少以及肝肾损伤等不良反应^[8],从而使其应用受到限制。因此,寻找活性高、毒副作用小且作用机制明确的新型 XOD 抑制剂已成为亟待解决的重要课题之一。

多酚化合物是许多天然植物的主要有效成分,具有抗氧化、抗动脉粥样硬化、抗高血压、降血糖、抗炎抑菌、抗病毒、抗癌等广谱药理活性和低毒性,是食品功能因子和新药研发的重要资源。近年来,多酚化合物对 XOD 的抑制作用受到国内外学者的广泛关注,已有较多的报道。

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:22078143);江西省自然科学基金项目(编号:20202BAB205005);食品科学与技术国家重点实验室项目(编号:SKLF-ZZB-201914, SKLF-ZZA-201912)

作者简介:洪鑫月,女,南昌大学在读硕士研究生。

通信作者:张国文(1966—),男,南昌大学教授,博士生导师,博士。E-mail: gwzhang@ncu.edu.cn

收稿日期:2020-11-21

文章拟重点对近 5 年来多酚化合物抑制 XOD 活性及其相互作用研究进行综述, 以期对多酚类化合物作为降尿酸食品功能因子或药物的研发提供依据。

1 黄嘌呤氧化酶

XOD 是一个二聚体, 拥有两个完全对称且具有独立催化活性的亚基, 每个亚基包括 3 个结构域, 分别为含有 2 个 [2Fe-2S] 簇中心的 N 端域、含有 1 个黄素腺嘌呤二核苷酸 (Flavin adenine dinucleotide, FAD) 中心的中间域和含有 1 个钼蝶呤 (Molybdopterin, Mo-pt) 中心的 C 端域, 三者共同构成 XOD 的催化活性中心, 其中 Mo-pt 中心是 XOD 催化底物黄嘌呤生成尿酸的活性中心, FAD 是分子氧反应转化为超氧阴离子 (O_2^-) 或过氧化氢 (H_2O_2) 的场所, [2Fe-2S] 则在反应过程中起到传递分子间电子的桥梁作用^[9]。位于 Mo-pt 中心的 Glu802, Glu1261 和 Arg880 等残基在氧化黄嘌呤过程中发挥关键作用, 而位于疏水空腔入口处的其他氨基酸残基如 Leu648、Phe649、Phe914、Phe1009、Val1011 和 Phe1013 主要调节底物黄嘌呤或抑制剂进入 Mo-pt 中心^[9-10]。

2 多酚化合物对 XOD 的抑制作用

多酚化合物是广泛存在于植物中的一类含有酚基团的次生代谢产物, 目前在自然界中已经发现 8 000 多种多酚类化合物, 其结构复杂, 有的可以与单糖或多糖结合成苷, 还有的以衍生物的形式存在。多酚化合物按照其结构式和化学基团的不同主要分为黄酮类、酚酸类、单宁类、香豆素类和二苯乙烯类。研究^[11-12]表明, 多酚化合物具有抗氧化、降血糖、降血脂、抗动脉粥样硬化、抗炎抑菌、抗病毒、抗癌等生理活性。近年来, 多酚化合物尤其是黄酮类和酚酸类化合物对 XOD 的抑制作用受到国内外学者的高度关注, 显示出该类化合物具有进一步发展成为高效 XOD 抑制剂的潜能。

2.1 黄酮类化合物对 XOD 的抑制作用

黄酮类化合物是由 $C_6-C_3-C_6$ 骨架构成的一系列化合物的总称, 由两个苯环 (A 环和 B 环) 通过 3 个碳 (C) 相互连接而成, 该类化合物根据 B 环连接位置及 3 碳链氧化程度和是否成环等可分为黄酮、黄酮醇、异黄酮、二氢黄酮、黄烷酮、花青素和查尔酮等^[13]。针对 XOD 的抑制作用, 黄酮类化合物目前已有较多的报道, 是多酚化合物中研究最多的一类化合物。

2.1.1 黄酮 Lin 等^[14]报道白杨素、芹菜素均有较强的 XOD 抑制活性, 白杨素的半抑制浓度 (IC_{50}) 为 $1.26 \mu\text{mol/L}$, 低于阳性对照别嘌呤醇的 IC_{50} ($2.93 \mu\text{mol/L}$), 其抑制 XOD 的能力强于芹菜素 ($IC_{50} = 3.57 \mu\text{mol/L}$), 是一种可逆的竞争型抑制剂。闫家凯^[15]采用酶促动力学方法研究了木犀草素对 XOD 的抑制作用, 发现木犀草素能够有效地抑制 XOD 活性, 是一种可逆的竞争型 XOD 抑

制剂, 其 IC_{50} 为 $4.79 \mu\text{mol/L}$, 抑制常数 K_i 为 $2.38 \mu\text{mol/L}$ 。Orsolya 等^[16]报道香叶木素对 XOD 的抑制能力比木犀草素更强, 二者的 IC_{50} 分别为 0.53 , $0.84 \mu\text{mol/L}$ 。马文涛^[17]报道芹菜素、木犀草素、木犀草苷的 IC_{50} 分别为 0.060 , 0.022 , 0.047 mmol/L , 三者均可以较好地抑制 XOD 活性, 且抑制率均 $>50\%$, 对 XOD 的抑制类型属于可逆性抑制。芹菜素、苜蓿素属于混合型 XOD 抑制剂, 对游离酶的抑制作用强于对酶-底物复合物的抑制作用, 且苜蓿素的 IC_{50} 为 $4.13 \mu\text{mol/L}$ ^[18]。笔者团队^[19]发现黄芩素有较强的 XOD 抑制能力, 而黄芩苷的抑制活性较弱, 均为混合型可逆抑制剂, 在抑制 50% 和 70% XOD 活性水平时, 黄芩素与别嘌呤醇联用具有一定的协同抑制作用, 而黄芩苷与别嘌呤醇的联合使用仅在抑制 50% XOD 活性时存在协同效应, 在抑制 30% 和 70% XOD 活性时, 二者联用显示出拮抗作用, 而黄芩素与黄芩苷联用在抑制 30% , 50% 和 70% XOD 活性时均有较好的协同作用。还有文献^{[20]35-37}报道异泽兰黄素、泽兰黄酮、高车前素、棕矢车菊素及半齿泽兰素均表现出较好的 XOD 抑制效果, 其 IC_{50} 分别为 0.72 , 3.98 , 7.53 , 16.00 , $42.20 \mu\text{mol/L}$, 其中泽兰黄酮只能与游离酶结合, 属于竞争型 XOD 抑制剂, 其他 4 种化合物均为混合型抑制剂。

2.1.2 黄酮醇 与黄酮相比, 黄酮醇分子结构在 C-3 位的氢被羟基取代, 有研究^[14]认为化合物 C-3 位的羟基化不利于对 XOD 活性的抑制。山奈酚和高良姜素属于黄酮醇化合物, 二者具有很强的 XOD 抑制能力, 其抑制活性与别嘌呤醇相当, 且山奈酚强于高良姜素^[21]。Wang 等^[22]也发现山奈酚是一种活性很强的竞争型 XOD 抑制剂 (IC_{50} 为 $2.18 \mu\text{mol/L}$), 其抑制能力强主要是由于该化合物的 C-5 和 C-7 位羟基发挥了重要作用, 而且在低浓度下, 木犀草素与山奈酚有明显的协同抑制作用。Zhang 等^[23-24]报道高良姜素、杨梅素均有良好的 XOD 抑制活性, 其 IC_{50} 分别为 3.38 , $8.66 \mu\text{mol/L}$, 高良姜素主要通过竞争方式抑制尿酸的形成, 降低 O_2^- 生成量, 抑制作用符合乒乓机制, 而杨梅素主要通过还原 XOD, 造成反应中间体 EII 催化 O_2 生成 H_2O_2 , 从而减少 O_2^- 的生成。槲皮素具有一定的 XOD 抑制能力, IC_{50} 为 $11.09 \mu\text{g/mL}$, 抑制类型为可逆的混合型抑制, 当其质量浓度 $>50 \mu\text{g/mL}$ 时对 XOD 的抑制率最高可达 90% ^{[25]35-56}, 但配糖体会大大降低槲皮素的 XOD 抑制活性^{[26]30-31}^[27]。通过比较山奈酚与芹菜素、高良姜素与白杨素、槲皮素与木犀草素的结构及其对 XOD 的抑制活性, 发现前者比后者在 C-3 位多一个羟基, C-3 位的羟基化降低了其对 XOD 的抑制能力^[14]。王亚杰^{[28]42-43}报道桑色素是一种可逆的混合型 XOD 抑制剂, 其 IC_{50} 为 $13.5 \mu\text{mol/L}$, 抑制常数 K_i 为

12.1 $\mu\text{mol/L}$,当体系中桑色素浓度为 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 、山奈酚浓度为 2.0 $\mu\text{mol/L}$ 或 8.0 $\mu\text{mol/L}$ 时,它们对 XOD 具有良好的协同抑制效应。坦布林、普鲁登菌素均具有与别嘌呤醇 (IC_{50} 值为 3.38 $\mu\text{mol/L}$) 相当的 XOD 抑制活性,其 IC_{50} 分别为 5.62、6.73 $\mu\text{mol/L}$,并且坦布林的抑制类型为混合型^[29]。芦丁是一种竞争性占优势的混合型 XOD 抑制剂, IC_{50} 为 48.66 $\mu\text{mol/L}$,其较弱的 XOD 抑制能力主要归因于 C-3 位糖基化后增加了分子体积,空间位阻效应阻碍了芦丁与酶活性位点的结合^[30]。

2.1.3 异黄酮 异黄酮具有 3-苯基色原酮基本骨架,其 B 环连接位置与黄酮有所不同,因主要存在于豆科植物特别是大豆中,也被称为大豆异黄酮。染料木素属于异黄酮, IC_{50} 为 1.73 $\mu\text{mol/L}$,抑制常数 K_i 为 1.39 $\mu\text{mol/L}$,是一种活性很强的可逆竞争型 XOD 抑制剂。染料木素与芹菜素互为同分异构体,二者仅 B 环的连接位置不同(染料木素 B 环连接在 C-3 位,芹菜素为 C-2 位)。染料木素的 B 环可以插入 XOD 的疏水空腔,与氨基酸残基之间存在的 $\pi-\pi$ 相互作用使其能稳定在空腔内而具有更强的抑制活性^[31]⁴⁶⁻⁴⁸。葛根素对 XOD 的抑制活性较弱, IC_{50} 为 555.2 $\mu\text{g/mL}$,当其质量浓度 $>60 \mu\text{g/mL}$ 时,抑制率也仅有 18%,造成抑制能力不强的原因很可能是结构中存在较大体积的取代基团使其不易与酶的活性位点结合^[25]⁵⁴⁻⁵⁵^[32-33]。

2.1.4 二氢黄酮 与其他含色原酮结构的类黄酮(黄酮、黄酮醇、异黄酮)相比,二氢黄酮结构中 C 环上的 C-2=C-3 双键氢化。郭丙花^[34]报道橙皮素是一种混合型 XOD 抑制剂, IC_{50} 为 16.48 $\mu\text{mol/L}$,具有较强的抑制活性,其既与底物竞争酶的活性位点,又与酶-底物复合物结合^[35]。柚皮素也有较好的 XOD 抑制能力,其 IC_{50} (129.3 mg/L) 接近阳性对照别嘌呤醇 (116.7 mg/L),且橙皮素和柚皮素(苷元)相对于其糖苷具有更强的抑制活性^[36]。有文献报道黄酮 C 环上的 C-2=C-3 双键氢化会降低黄酮类化合物对 XOD 的抑制活性。例如柚皮素的 XOD 抑制活性远小于芹菜素,可能是由于二氢黄酮中 4 位上的 C=O 基团无法与 C-2—C-3 形成共轭体系,使其刚性平面结构稳定性降低^[31]⁸⁶。乔松素是一种混合型抑制剂, $IC_{50} > 200 \mu\text{mol/L}$,与白杨素相比其 C-2=C-3 被氢化而导致对 XOD 的抑制能力减弱,但与乔松素-7-O- β -D-呋喃葡萄糖苷、光甘草宁相比具有更好的 XOD 抑制活性,可能是由于后者 C-7 位的糖苷、C-8 位的异戊二烯结构产生明显的空间位阻效应,不利于化合物与酶的活性中心结合^[37]。

此外,越来越多的动物试验^[38-39] 也表明,富含黄酮类物质的食物可显著抑制动物体内 XOD 活性,降低模型动物体内的尿酸生成。近年来,作为潜在的酶抑制剂,黄酮类化合物的合成与生物活性研究日益增多,研究也更

加倾向于其药用价值的开发。

2.2 酚酸类化合物对 XOD 的抑制作用

酚酸类化合物是指在一个苯环上有多个酚羟基取代的芳香羧酸类化合物^[40],它们在自然界特别是水果、蔬菜、茶和咖啡等食物中广泛存在,现阶段对 XOD 的抑制作用研究主要集中在咖啡酸、绿原酸、阿魏酸、没食子酸等酚酸类化合物。Lin 等^[41]报道几种酚酸对 XOD 的抑制能力,其 IC_{50} 值依次为:咖啡酸 (7.16 mmol/L) $>$ 绿原酸 (6.49 mmol/L) $>$ 对香豆酸 (5.58 mmol/L) $>$ 丁香酸 (4.36 mmol/L) $>$ 阿魏酸 (3.45 mmol/L) $>$ 芥子酸 (2.88 mmol/L) $>$ 别嘌呤醇 (8.50 $\mu\text{mol/L}$),显示出相对温和的 XOD 抑制活性,且均为混合非竞争型抑制剂,也有文献^[42-43]报道咖啡酸、绿原酸和阿魏酸的抑制类型均为竞争型。Masuda 等^[44]发现咖啡酸氧化物对 XOD 的抑制作用远强于咖啡酸,为别嘌呤醇的 18 倍。迷迭香酸的水溶性较差,溶液中溶解度仅有 5%,其抑制 XOD 活性的能力 ($IC_{50} = 14.78 \text{ mg/mL}$) 比咖啡酸 ($IC_{50} = 2.82 \text{ mg/mL}$) 更弱,是一种竞争型 XOD 抑制剂^[45-46]。没食子酸是一种可逆的偏竞争型的混合型 XOD 抑制剂, IC_{50} 为 183.61 $\mu\text{g/mL}$ ^[33]。单一的没食子酸抑制能力较弱,在维生素 C 的协同下其抑制率达到 40.96%,比同浓度的没食子酸提高了近 15%,这可能与维生素 C 的强还原性阻止没食子酸被氧化降解有关^[30]。没食子酸衍生物(辛基、癸基和十二烷基没食子酸)均为 XOD 的竞争型抑制剂,对 XOD 的抑制作用会随烷基碳链的增长而增强^[47]。张婧妍等^[48]报道丹酚酸 A 通过与底物竞争结合于酶的活性中心从而抑制 XOD 活性,抑制类型为竞争型, IC_{50} 为 65.49 $\mu\text{mol/L}$, K_i 值为 28.5 $\mu\text{mol/L}$ 。杜洪芳等^[49]测得原儿茶酸抑制 XOD 的 IC_{50} 值为 0.38 mmol/L,其抑制能力与杨梅素相当 ($IC_{50} = 0.32 \text{ mmol/L}$)。

2.3 其他类多酚化合物对 XOD 的抑制作用

研究^[50-51]表明,其他的多酚化合物如儿茶素类、二苯乙烯类等也有一定的 XOD 抑制活性。表儿茶素没食子酸酯 (ECG, $IC_{50} = 0.90 \text{ mmol/L}$) 和表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG, $IC_{50} = 0.49 \text{ mmol/L}$) 均具有一定的 XOD 抑制活性,而儿茶素 (C)、表儿茶素 (EC) 和表没食子儿茶素 (EGC) 无明显的 XOD 抑制能力。Tang 等^[52]研究几种二苯乙烯类化合物对 XOD 的抑制作用,发现白皮杉醇是竞争型 XOD 抑制剂,土大黄苷、白藜芦醇和异丹叶大黄素属于非竞争型抑制剂,其 IC_{50} 分别为 6.440、5.997、3.880、46.750 $\mu\text{mol/L}$,显示出良好的体外抑制能力。Dong 等^[37]发现短叶松素在不同的底物下对 XOD 的抑制作用有所差异,底物为次黄嘌呤时,低浓度 (15 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$) 短叶松素才对 XOD 有抑制作用, IC_{50} 为 125.10 $\mu\text{mol/L}$;底物为黄嘌呤时,短叶松素为混合型抑制

剂,其 IC_{50} 为 $137.32 \mu\text{mol/L}$ 。Liu 等^[53]发现 2',4'-二甲氧基-4,5',6'-三羟基查耳酮是一种混合型 XOD 抑制剂, IC_{50} 为 $0.21 \mu\text{mol/L}$ (别嘌呤醇为 $2.07 \mu\text{mol/L}$), 有很强的体外 XOD 抑制活性。孙永丽等^[54]报道 7,3',4'-三羟基-3-苄基-2-氢-苯并吡喃、3-去氧苏木酮 B、苏木查耳酮和原苏木素 A 均有一定的 XOD 抑制活性。刘雪梅^[55]发现姜黄素对 XOD 的抑制能力与乔松素相当,但弱于山奈酚和高良姜素。异甘草素也有良好的 XOD 抑制能力($IC_{50} = 19.32 \mu\text{mol/L}$),其抑制活性呈浓度依赖性^[56]。

2.4 多酚类金属配合物对 XOD 的抑制作用

多酚类化合物与金属离子形成配合物,不仅能提高水溶性、稳定性和生物利用率,而且还可以增强多酚类化合物的药理活性。Dong 等^[57]报道木樨草素—锰(II)配合物体外抑制 XOD 活性比相同浓度的母体木樨草素高出 18.6%。邢志华等^[58]报道芹菜素—钼(III)配合物能显著降低高尿酸血症小鼠血清中 XOD 的活性和血清尿酸水平,且其促进尿酸排泄和清除超氧自由基能力均优于芹菜素。笔者团队^[59]前期研究发现白杨素—铜(II)配合物对 XOD 的抑制能力比母体白杨素提高了 1.5 倍,主要是由于 Cu^{2+} 发挥了桥梁作用使白杨素更容易结合到 XOD 的 Mo-pt 中心,占据了酶活性中心,导致酶结构紧缩,阻碍底物黄嘌呤与活性中心的作用,从而导致白杨素—Cu(II)配合物有更强的抑制能力。尽管目前多酚类金属配合物对 XOD 抑制作用的研究还比较少,但已有的报道表明多酚金属配合物可能是一类有良好前景的潜在 XOD 抑制剂。

3 多酚化合物与黄嘌呤氧化酶的相互作用

研究多酚化合物与 XOD 之间的相互作用,分析二者的结合常数、结合位点数、主要作用力、结合位点及参与作用的主要氨基酸残基,研究多酚化合物诱导 XOD 结构的变化对酶催化底物的影响,对于从分子水平上阐明多酚化合物抑制 XOD 的分子机制具有重要的意义。

3.1 黄酮类化合物与 XOD 的相互作用

绝大多数黄酮类化合物能与 XOD 结合形成复合物,结合常数在 $10^4 \sim 10^5 \text{ L/mol}$,为中等强度的结合亲和力,结合位点数为 1,对 XOD 的荧光猝灭机制大多为静态猝灭。Lin 等^[60-61]报道染料木素和白杨素对 XOD 的猝灭类型为静态猝灭,二者有一个结合位点,结合常数分别为 5.24×10^4 , $7.98 \times 10^5 \text{ L/mol}$,氢键和疏水作用力为染料木素与 XOD 结合的主要驱动力,白杨素与 XOD 的结合则主要由氢键和范德华力驱动。Zhang 等^[23-24,62]研究了 3 种黄酮类化合物槲皮素、高良姜素和杨梅素与 XOD 的相互作用,发现它们的结合常数大小为: $4.28 \times 10^4 \text{ L/mol}$ (槲皮素) $>3.60 \times 10^4 \text{ L/mol}$ (高良姜素) $>3.24 \times 10^4 \text{ L/mol}$

(杨梅素),杨梅素、槲皮素与 XOD 的结合过程主要由范德华力和氢键驱动,氢键和疏水相互作用主导了高良姜素与 XOD 的结合,它们都通过静态方式猝灭 XOD 的内源荧光。王亚杰等^[63]报道桑色素通过疏水作用力与 XOD 结合形成复合物静态猝灭 XOD 的荧光,结合常数为 $2.32 \times 10^4 \text{ L/mol}$ 。而橙皮苷和 EGCG 由于自身含有较多的羟基,与氨基酸残基之间也可能存在静电作用^[64]。曾霓^{[65]27-31}报道黄芩素、漆黄素、橙皮素对 XOD 均为静态猝灭,而黄芩苷对 XOD 的猝灭则同时存在静态与动态两种类型,其在 XOD 上都只有一个结合位点和中等强度的结合亲和力,结合常数从大到小依次为黄芩素($9.10 \times 10^4 \text{ L/mol}$) $>$ 黄芩苷($8.93 \times 10^4 \text{ L/mol}$) $>$ 橙皮素($8.27 \times 10^4 \text{ L/mol}$) $>$ 漆黄素($5.97 \times 10^4 \text{ L/mol}$),氢键和疏水作用力是这些黄酮类化合物与 XOD 作用的主要驱动力。

Wang 等^[66]采用分子对接技术考察了芹菜素和木犀草素与 XOD 的结合位点,发现芹菜素和木犀草素均通过占据 XOD 的 Mo-pt 中心,与周围的氨基酸残基发生相互作用,芹菜素的苯环结构与周围的芳香族氨基酸 Phe649/1009/1013 之间存在 $\pi-\pi$ 堆积作用,且与 Leu873、Phe649 形成氢键,其刚性双环结构嵌入 XOD 的疏水空腔被疏水氨基酸 Leu648/873/1014, Phe649/1009/1013 所包围^[67],而木犀草素的 A、B 环与 XOD 的氨基酸残基 Phe914 和 Phe1009 之间形成分子间 $\pi-\pi$ 效应,A 环的一个羟基和 C 环的醚基与 XOD 活性中心的氨基酸残基 Thr1010、Arg880 形成氢键^[68]。王亚杰^{[28]53-55}报道山奈酚插入 XOD 的疏水腔中结合于 Mo-pt 中心,与氨基酸残基 Phe914 和 Phe1009 发生共轭效应,与 XOD 上的 Asn768 和 Mo 原子的辅酶因子 Luz1 形成氢键,还与 Phe1013、Pro1076、Glu802、Leu1014、Leu648 和 Ser1075 等残基发生疏水相互作用。Dong 等^[37]报道高良姜素和短叶松素结合在 XOD 疏水口袋的 Mo-pt 活性中心,最低结合能分别为 -33.07 , -33.91 kJ/mol 。高良姜素 C-3 和 C-7 位的羟基分别与 XOD 的 Ser876 和 Asn768 氨基酸残基形成氢键,短叶松素 C 环上的氧原子和 C-7 位的羟基与氨基酸残基 Ser876、Glu1261 和 Thr1010 共形成 4 个氢键,二者的 B 环皆与 XOD 活性位点周围的氨基酸残基 Phe914 之间形成 $\pi-\pi$ 共轭。与短叶松素相比,高良姜素存在的 C-2=C-3 结构有助于分子内形成 $\pi-\pi$ 相互作用,这可能是二者与 XOD 相互作用产生能量差异的原因。槲皮素 3-O-鼠李糖苷插入到 XOD 活性中心区域的 Glu802 残基附近以阻止 XOD 与底物黄嘌呤结合,并通过氢键与 XOD 的 Agr912、Ala1087、Ser1080 等氨基酸残基作用^{[26]37-38}。这些研究表明黄酮类化合物可以通过占据底物进入 XOD 催化中心的通道或与底物竞争结合活性位点而抑制 XOD 的催化活性。

除 Mo-pt 活性中心以外,黄酮类化合物还可以结合

于XOD的黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)活性中心,阻碍 O_2^- 的扩散,导致 O_2^- 进一步得到电子生成 H_2O_2 。曾霓^[65]³⁷⁻⁴¹报道橙皮素通过竞争方式结合到XOD的Mo-pt活性中心,而黄芩素、漆黄素、黄芩苷则插入到XOD的FAD活性中心。黄芩素与活性中心周围的Arg1222、Asp429、Ile266、Arg426、Arg394和Glu263残基相互作用,与其中的Arg462、Glu263和Arg394残基形成氢键,而黄芩苷和XOD残基之间形成更多的氢键,如Leu807、Val654、Ile835、Asn869、Arg804、His665和Thr653,这可能是黄芩苷因C-7位的糖苷而具有比黄芩素更多的羟基,有利于氢键的形成。此外,黄芩苷还与疏水残基Phe775、Leu807、Ile666、Val654和Ile835相互作用。槲皮素和杨梅素也结合于XOD的FAD中心,槲皮素A环上C-5和C-7位羟基与氨基酸残基Glu263、Arg394形成氢键,杨梅素B环C-5'位与C环C-3位的羟基与Arg394、Ser1225形成氢键^[69]。异泽兰黄素进入酶的疏水空腔,与XOD上的Ser1080、Ser1082和Gln1194形成氢键,与Gln767、Gln1040、Glu1261和Gly799等发生疏水相互作用^[20]⁴⁴⁻⁴⁵。

同步荧光光谱研究表明,黄酮类化合物与XOD相互作用常常会引起XOD酪氨酸和色氨酸残基周围的微环境发生改变。李梦荣^[20]⁴⁰⁻⁴²报道异泽兰黄素的存在会导致XOD色氨酸残基周围极性增加和疏水性降低,而对酪氨酸残基周围的微环境则无明显影响。槲皮素能引起XOD酪氨酸残基周围的疏水性增强,色氨酸残基周围的疏水性降低和极性增加^[62]。利用同步荧光猝灭比率(RFSQ)可以评估色氨酸和酪氨酸残基对XOD荧光猝灭的贡献大小。Zhang等^[23]报道高良姜素 $\Delta\lambda=60$ nm处的RFSQ值 $>\Delta\lambda=15$ nm处的值,色氨酸对XOD内源荧光猝灭的贡献大于酪氨酸,认为高良姜素与XOD的结合位点更靠近色氨酸残基。

黄酮类化合物与XOD结合往往导致XOD结构发生改变,影响酶活性中心的形成及其与底物作用,从而降低酶的活性。叶素梅^[67]报道芹菜素与XOD的结合会引起XOD的 α -螺旋和 β -折叠含量增加, β -转角和无规则卷曲的含量降低,使得XOD的二级结构更加紧密,不利于酶形成活性中心。Zhang等^[24]报道杨梅素与XOD结合会引起XOD的 α -螺旋和无规则卷曲含量增加, β -折叠和 β -转角的含量减少,更加紧缩的酶结构削弱了XOD的催化活性。而山奈酚则使XOD二级结构中 α -螺旋和无规则卷曲的含量降低, β -折叠和 β -转角的含量增加,山奈酚破坏了XOD的氢键网络,导致酶多肽部分伸展,稳定性降低,从而影响酶的活性^[22]。

3.2 酚酸类化合物与XOD的相互作用

现阶段咖啡酸、绿原酸等酚酸类化合物与XOD之间

相互作用受到更多的关注。Wan等^[42]报道咖啡酸会使XOD分子结构变得无序而影响其催化活性,具体表现为 α -螺旋含量降低, β -折叠、 β -转角和不规则性含量增加。分子模拟结果表明,咖啡酸作用于XOD的Mo-pt中心的疏水空腔,并与氨基酸残基Glu802、Arg880、Thr1010形成氢键,其在XOD上结合区域与黄嘌呤相同。绿原酸能够通过静态和动态复合猝灭方式猝灭XOD的荧光,结合常数为 2.39×10^5 L/mol,氢键和范德华力是二者作用的主要驱动力,绿原酸与XOD结合导致XOD的 α -螺旋含量增高, β -折叠含量降低,XOD的结构变得更加紧缩,影响酶与底物作用从而降低酶的活性^[70-71]。朱大帅^[72]报道绿原酸与XOD上的氨基酸残基Glu1016、Asn1073形成氢键,与咖啡酸相比,绿原酸在化学结构上多一个六元环,分子体积过大使其不能进入XOD的活性口袋而暴露在外,且不能与XOD通过网格状氢键结合,导致绿原酸与XOD的结合不够牢固,影响了其对XOD的抑制活性。王雪洁等^[73]发现异绿原酸B(3,4-二咖啡酰奎宁酸)结合到XOD的疏水口袋,其三咖啡酰基上的酚羟基与Glu802和Mos3004形成氢键,酰基与Ser876形成氢键,四咖啡酰基上的酚羟基与Glu879形成氢键,且与Ala1079、Ala1078、Arg880、Phe914、Leu873、Thr1010、Leu648、Lys771、Leu1014、Phe1013、Phe649、Val1011、His875和Phe1009等残基产生疏水作用。张婧妍等^[48]报道丹酚酸进入XOD的活性口袋,其1,2-二芳基乙烯基团伸入位于Mo-pt结构域的疏水性区域,3,4-二羟基芳基丙酸基团游离于活性口袋袋口处,其结构中的游离羟基与氨基酸残基Gln767、Asn768、Arg880、Thr1010形成氢键,且苯环结构还与氨基酸残基Phe914、Phe1009产生 $\pi-\pi$ 效应。

3.3 其他多酚化合物与XOD的相互作用

除黄酮类和酚酸类化合物之外,目前其他多酚化合物与XOD相互作用的研究还比较少。李昕卓等^[64]报道白藜芦醇能够与XOD相互作用形成复合物,二者有中等强度的结合亲和力,氢键和疏水作用力是其结合的主要驱动力。白藜芦醇结合于XOD活性中心Mo-pt结构域附近,与钼喋呤Mos3004活性中心附近的Thr1010、Ala1079形成氢键,并与氨基酸残基Leu648、Phe649、Glu802、Leu873、Ser876、Phe914、Phe1009、Val1011、Leu1014、Ala1078及钼喋呤Mos1334活性中心间存在疏水相互作用,其结合区域与底物相同,而EGCG结合在XOD的FAD活性中心附近,被氨基酸残基Gly46/350、Leu74/305、Glu263、Ile266、Phe337、Ala346、Asn351和Asp360包围,并与氨基酸残基Glu45、Ser347、Thr262、Ile358、Arg426和Lys433形成氢键。Zhang等^[74]报道矢车菊素-3-槐苷-5-葡萄糖苷与XOD的氨基酸残基Asn768、Glu802、Ser876和Gln1122形成7个氢键。矢车

菊素-3-(6'-咖啡酰基-6"-阿魏酸槐苷)-5-葡萄糖苷与活性位点周围的 Leu648、Agr871、Glu879、Agr880、Thr1010 和 Gln1122 残基形成 5 个氢键,其 6'-咖啡酰基插入疏水空腔与 Arg880 和 Thr1010 形成氢键,花色苷的酰化基团插入 XOD 的疏水口袋后通过与底物竞争而占据酶的催化中心可能是其抑制 XOD 活性的主要原因。

4 结论与展望

多酚化合物作为具有广泛药理活性的植物活性成分,近年来,其对 XOD 抑制活性和相互作用的研究已有较多的文献报道,取得了较好的研究进展,为该类化合物作为降尿酸食品功能因子和药物的研发提供了科学依据,但多酚化合物的结构与其抑制 XOD 活性之间关系的研究还比较欠缺,对 XOD 抑制机制的认识也较为有限,还需要采用更加有效的策略进行深入探讨。此外,由于多酚类化合物存在稳定性弱和溶解性差等不足而使其作为功能因子的生物利用率受到影响,因此,以天然多酚为先导化合物,对其结构进行修饰、改造或合成金属配合物,开发出高效、安全且水溶性和稳定性更好的新型降尿酸化合物,是值得进一步探索的研究方向。

参考文献

[1] 周洁, 孙超, 李飞. 中药活性成分降尿酸作用机制研究进展[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(1): 19-22.

[2] KUWABARA M. Hyperuricemia, cardiovascular disease, and hypertension[J]. Pulse, 2016, 3(3/4): 242-252.

[3] 万强, 高艳霞, 吴燕升, 等. 高尿酸血症与心血管疾病关系的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(1): 54-56.

[4] PEREZ-RUIZ F, DALBETH N, BARDIN T. A review of uric acid, crystal deposition disease, and gout[J]. Advances in Therapy, 2015, 32(1): 31-41.

[5] ZHAO Mou-ming, ZHU Da-shuai, SUN-WATERHOUSE Dong-xiao, et al. In vitro and in vivo studies on adlay-derived seed extracts: Phenolic profiles, antioxidant activities, serum uric acid suppression, and xanthine oxidase inhibitory effects[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(31): 7 771-7 778.

[6] JAMES J T, KARSTEN T, SILKE L, et al. Crystal structures of the active and alloxanthine-inhibited forms of xanthine dehydrogenase from rhodobacter capsulatus [J]. Structure, 2002, 10(1): 115-125.

[7] OKAMOTO K, EGER B T, NISHINO T, et al. An extremely potent inhibitor of xanthine oxidoreductase. Crystal structure of the enzyme-inhibitor complex and mechanism of inhibition[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(3): 1 848-1 855.

[8] ARELLANO F, SACRISTAN J A. Allopurinol hypersensi-

tivity syndrome: A review[J]. Annals of Pharmacotherapy, 1993, 27(3): 337-343.

[9] OKAMOTO K, MATSUMOTO K, HILLE R, et al. The crystal structure of xanthine oxidoreductase during catalysis: Implications for reaction mechanism and enzyme inhibition[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(21): 7 931-7 936.

[10] YAMAGUCHI Y, MATSUMURA T, ICHIDA K, et al. Human xanthine oxidase changes its substrate specificity to aldehyde oxidase type upon mutation of amino acid residues in the active site: Roles of active site residues in binding and activation of purine substrate[J]. Journal of Biochemistry, 2007, 141(4): 513-524.

[11] ROMANO B, PAGANO E, MONTANARO V, et al. Novel insights into the pharmacology of flavonoids[J]. Phytotherapy Research, 2013, 27(11): 1 588-1 596.

[12] CHEN Xiu-min, TAIT A R, KITTS D D. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 15-21.

[13] 赵静, 秦艳, 左巍, 等. 植物来源的黄酮类化合物抗体的制备和应用研究进展[J/OL]. 食品与发酵工业. [2021-01-08]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.025784>.

[14] LIN Su-yun, ZHANG Guo-wen, LIAO Yi-jing, et al. Dietary flavonoids as xanthine oxidase inhibitors: structure-affinity and structure-activity relationships[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2015, 63(35): 7 784-7 794.

[15] 闫家凯. 木犀草素对黄嘌呤氧化酶, α -葡萄糖苷酶抑制机理的探讨[D]. 南昌: 南昌大学, 2014: 15-17.

[16] ORSOLYA R, ANA M, JUDIT H, et al. Flavonoids from cyclopia genistoides and their xanthine oxidase inhibitory activity[J]. Planta Medica, 2016, 82(14): 1 274-1 278.

[17] 马文涛. 黄嘌呤氧化酶、脂氧化酶和环氧化酶抑制剂的筛选及其体外抗肿瘤活性研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2016: 7-8.

[18] 郭丙花, 刘小红, 霍立娜, 等. 柑橘属药材乙酸乙酯提取物抑制黄嘌呤氧化酶作用的谱效关系研究[J]. 国际中医中药杂志, 2016, 38(1): 57-62.

[19] ZENG Ni, ZHANG Guo-wen, HU Xing, et al. Inhibition mechanism of baicalein and baicalin on xanthine oxidase and their synergistic effect with allopurinol[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 50: 172-182.

[20] 李梦荣. 取代苯甲醛缩氨基硫脲及车前草中黄酮化合物抑制黄嘌呤氧化酶活性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.

[21] OU Rong-rong, LIN Lian-zhu, ZHAO Mou-ming, et al. Action mechanisms and interaction of two key xanthine oxidase inhibitors in galangal: Combination of in vitro and in silico molecular docking studies[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 1 526-1 535.

- [22] WANG Ya-jie, ZHANG Guo-wen, PAN Jun-hui, et al. Novel insights into the inhibitory mechanism of kaempferol on xanthine oxidase[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 62(2): 526-534.
- [23] ZHANG Cen, ZHANG Guo-wen, PAN Jun-hui, et al. Galangin competitively inhibits xanthine oxidase by a ping-pong mechanism[J]. *Food Research International*, 2016, 89: 152-160.
- [24] ZHANG Cen, ZHANG Guo-wen, LIAO Yi-jing, et al. Myricetin inhibits the generation of superoxide anion by reduced form of xanthine oxidase[J]. *Food Chemistry*, 2017, 221: 1 569-1 577.
- [25] 申启荣. 中药黄嘌呤氧化酶抑制剂的筛选及抑制动力学研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- [26] 金伟丽. 菝葜中黄嘌呤氧化酶抑制剂的筛选、结构鉴定及其抑制机理初探[D]. 南昌: 江西农业大学, 2018.
- [27] 林恋竹, 刘雪梅, 赵谋明. 神秘果树叶提取物降尿酸作用及其有效成分鉴定[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(1): 270-277.
- [28] 王亚杰. 桑色素对酪氨酸酶, 黄嘌呤氧化酶抑制机理的探讨[D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- [29] RANJAN A, ZULFA N, UMME B, et al. Standardization and xanthine oxidase inhibitory potential of *Zanthoxylum armatum* fruits[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, 230: 1-8.
- [30] 陈雨潆, 王莹莹, 杜若童, 等. 槲皮素、芦丁、没食子酸抑制黄嘌呤氧化酶的活性及动力学特性[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(12): 118-124.
- [31] 林苏芸. 白杨素、染料木素对黄嘌呤氧化酶的抑制机理及构效关系研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.
- [32] 史坤, 常伟, 尚小玉, 等. 几种天然产物对黄嘌呤氧化酶的抑制作用[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(7): 138-143.
- [33] 赵守涣, 杨慧, 史冠莹, 等. 响应面法优化三种天然产物对黄嘌呤氧化酶的抑制作用[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(5): 230-234, 318.
- [34] 郭丙花. 草木樨属与柑橘属药材抑制黄嘌呤氧化酶物质基础研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2016: 43-47.
- [35] LIU Kun, WANG Wei, GUO Bing-hua, et al. Chemical evidence for potent xanthine oxidase inhibitory activity of ethyl acetate extract of *Citrus aurantium* L. dried immature fruits [J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2016, 21(3): 302.
- [36] KIM D S, LIM S B. Semi-continuous subcritical water extraction of flavonoids from citrus unshiu peel: Their antioxidant and enzyme inhibitory activities [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(5): 360.
- [37] DONG Yi, HUANG Hui-hua, ZHAO Mou-ming, et al. Mechanisms underlying the xanthine oxidase inhibitory effects of dietary flavonoids galangin and pinobanksin[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 24: 26-36.
- [38] HAIDARI F, RASHIDI M R, ESHRAGHIAN M R. Hypouricemic and antioxidant activities of *Allium cepa* Liliaceae and quercetin in normal and hyperuricemic rats[J]. *Saudi Medical Journal*, 2008, 29: 1 573-1 579.
- [39] CHEN C H, CHAN H C, CHU Y T, et al. Antioxidant activity of some plant extracts towards xanthine oxidase, lipoxygenase and tyrosinase[J]. *Molecules*, 2009, 14(8): 2 947-2 958.
- [40] 邹琳, 冯凤琴. 食品中降尿酸活性物质及其作用机理研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(13): 352-357, 364.
- [41] LIN Lian-zhu, YANG Qing-yun, ZHAO Kun, et al. Identification of the free phenolic profile of Adlay bran by UPLC-QTOF-MS/MS and inhibitory mechanisms of phenolic acids against xanthine oxidase[J]. *Food Chemistry*, 2018, 253: 108-118.
- [42] WAN Yin, WANG Fen, ZOU Bin, et al. Molecular mechanism underlying the ability of caffeic acid to decrease uric acid levels in hyperuricemia rats[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 57: 150-156.
- [43] URSZULA G D, DARIUSZ D, MICHA S, et al. Mechanism of action and interactions between xanthine oxidase inhibitors derived from natural sources of chlorogenic and ferulic acids[J]. *Food Chemistry*, 2017, 225: 138-145.
- [44] MASUDA T, SHINGA Y, TAKAHASHI C, et al. Identification of a potent xanthine oxidase inhibitor from oxidation of caffeic acid[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2014, 69: 300-307.
- [45] 孙影. 猫须草酚酸的提取及其对高尿酸血症的影响[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2018: 19-20.
- [46] 尚雁君, 黄才国, 蒋三好, 等. 迷迭香酸对黄嘌呤氧化酶的抑制作用[J]. *第二军医大学学报*, 2006(2): 189-191.
- [47] MASUOKA N, NIHEI K, KUBO I. Xanthine oxidase inhibitory activity of alkyl gallates[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2006, 50(8): 725-731.
- [48] 张婧妍, 刘亚婷, 唐红进. 天然产物 Salvianolic Acid A 与黄嘌呤氧化酶相互作用的酶动力学和分子对接研究[J]. *安徽工程大学学报*, 2019(3): 1-5, 60.
- [49] 杜洪芳, 贾献慧, 赵焕新, 等. 土荆皮化学成分及其抗黄嘌呤氧化酶活性研究[J]. *食品与药品*, 2019, 21(6): 444-450.
- [50] 金红娜, 宋烨威, 崔卫波, 等. 儿茶素单体对小鼠急性高尿酸血症的作用[J]. *茶叶科学*, 2016, 36(4): 347-353.
- [51] 金红娜. 儿茶素类单体的降尿酸功效研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016: 31-32.
- [52] TANG Xiao-sheng, TANG Ping, MA Lei, et al. Screening and evaluation of xanthine oxidase inhibitors from *Gnetum parvifolium* in China[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 2019, 24(14): 2 671.

- [53] LIU Yang, HOU Yu-xue, SI Yue-yue, et al. Isolation, characterization, and xanthine oxidase inhibitory activities of flavonoids from the leaves of *Perilla frutescens* [J]. *Natural Product Research*, 2020, 34(18): 2 566-2 572.
- [54] 孙永丽, 赵焕新, 白虹. HPLC 法体外筛选黄嘌呤氧化酶抑制剂[J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(8): 1 391-1 396.
- [55] 刘雪梅. 具有 XO1 活性的食源性植物多酚提取物的筛选、降尿酸活性评价及功效因子靶向鉴定[D]. 广州: 华南理工大学, 2019: 77.
- [56] 张瑞城, 钟良宝, 梁海琴, 等. 异甘草素对黄嘌呤氧化酶抑制的影响及机制[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(17): 4 757-4 759.
- [57] DONG Hao, YANG Xiao-cui, HE Jia-peng, et al. Enhanced antioxidant activity, antibacterial activity and hypoglycemic effect of luteolin by complexation with manganese (II) and its inhibition kinetics on xanthine oxidase[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(84): 53 385-53 395.
- [58] 刑志华, 姜婧雯, 王淑静, 等. 芹菜素-钼配合物的合成及其抗小鼠高尿酸血症研究[J]. *中国稀土学报*, 2019, 37(1): 114-120.
- [59] LIN Su-yun, ZENG Li, ZHANG Guo-wen, et al. Synthesis, characterization and xanthine oxidase inhibition of Cu (II)-chrysin complex [J]. *Spectrochimica Acta A*, 2017, 178: 71-78.
- [60] LIN Su-yun, ZHANG Guo-wen, PAN Jun-hui, et al. Deciphering the inhibitory mechanism of genistein on xanthine oxidase in vitro[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2015, 153: 463-472.
- [61] LIN Su-yun, ZHANG Guo-wen, LIAO Yi-jing, et al. Inhibition of chrysin on xanthine oxidase activity and its inhibition mechanism[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 81: 274-282.
- [62] ZHANG Cen, WANG Rui, ZHANG Guo-wen, et al. Mechanistic insights into the inhibition of quercetin on xanthine oxidase[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 112: 405-412.
- [63] 王亚杰, 张国文. 桑色素对黄嘌呤氧化酶活性的抑制作用[J]. *食品科学*, 2014, 35(13): 143-146.
- [64] 李昕卓, 郑丽丽, 艾斌凌, 等. 黄嘌呤氧化酶多酚抑制剂的筛选及其作用机制[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(9): 12-19, 97.
- [65] 曾觉. 四种黄酮类化合物对黄嘌呤氧化酶的抑制作用及机制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2020: 27-31, 37-41.
- [66] WANG Zhi-qiang, KWON S H, HWANG S H, et al. Competitive binding experiments can reduce the false positive results of affinitybased ultrafiltration-HPLC: A case study for identification of potent xanthine oxidase inhibitors from *Perilla frutescens* extract[J]. *Journal of Chromatography B*, 2017, 1 048: 30-37.
- [67] 叶素梅. 芹菜素对黄嘌呤氧化酶活性的抑制机理研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(21): 67-71.
- [68] YAN Jia-kai, ZHANG Guo-wen, HU Yu-ting, et al. Effect of luteolin on xanthine oxidase: Inhibition kinetics and interaction mechanism merging with docking simulation[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(4): 3 766-3 773.
- [69] 张岑. 黄酮化合物抑制黄嘌呤氧化酶活性的分子机制及其包埋物的理化性质研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2017: 33-34.
- [70] 李美娟. 苦丁茶冬青化学成分及生物活性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2018: 55-59.
- [71] 杨清韵. 薏苡仁麸皮游离型多酚分离纯化, 结构鉴定及抗氧化作用机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2017: 113-118.
- [72] 朱大帅. 薏仁中多酚类化合物降尿酸活性及其作用机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015: 58-60.
- [73] 王雪洁, 林志健, 张冰, 等. 菊苣小分子化合物对黄嘌呤氧化酶抑制作用的分子对接研究[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(19): 3 818-3 825.
- [74] ZHANG Zi-cheng, WANG Hong-bin, ZHOU Qing, et al. Screening of effective xanthine oxidase inhibitors in dietary anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Cultivar Eshu No. 8) and deciphering of the underlying mechanisms in vitro [J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 36: 102-111.

信息窗

韩国将对特殊用途食品强制进行履历追溯管理

2月3日,韩国食品药品安全部(MFDS)发表消息称:韩国食品药品安全部为了对孕妇、哺乳期妇女、患者等食用的特殊用途食品进行安全管理,从今年12月开始,对销售额超过1亿韩元的特殊用途食品生产、进口企业强制进行履历追溯管理,进行登记。

特殊用途食品:配方乳类、婴幼儿配方食品、成长期用配方食品、婴幼儿辅食(登记完毕)、孕妇和哺乳期

妇女用食品、特殊医学用途食品、体重调节用配方食品(正在扩大登记范围)。

食品履历追踪管理是指从食品的生产、加工到销售,记录各个阶段的信息,当食品安全事故等问题发生时,追踪查明原因,采取召回等必要措施管理。

(来源: <http://news.foodmate.net>)