张璐, 罗语诗, 阎莹莹, 等. 沙棘提取物对 α-淀粉酶的抑制机制及其与阿卡波糖和酪蛋白的相互作用研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(11): 175−184. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060167

ZHANG Lu, LUO Yushi, YAN Yingying, et al. Investigation of the Inhibitory Mechanisms of Sea Buckthorn Extract against α-Amylase and Its Interactions with Acarbose and Casein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(11): 175−184. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060167

·研究与探讨·

沙棘提取物对 α-淀粉酶的抑制机制及其与阿卡波糖和酪蛋白的相互作用研究

张　璐[1], 罗语诗[1], 阎莹莹[2,*], 钟政昌[1,*]

（1.西藏农牧大学食品科学学院, 西藏林芝 860000;
2.西藏自治区农牧科学院农产品开发与食品科学研究所, 西藏拉萨 850000）

摘　要: 为探讨沙棘提取物（sea buckthorn extract，SBE）对 α-淀粉酶的抑制作用及机制，并评估阿卡波糖和酪蛋白对其抑制效果的影响。采用超声辅助提取制备 SBE，通过酶抑制率分析、酶动力学分析、荧光猝灭试验及分子对接等方法，系统研究 SBE 对 α-淀粉酶的体外抑制活性及作用机制，并结合联合抑制试验和酪蛋白-SBE 相互作用分析，评估其在与阿卡波糖联合使用及酪蛋白存在条件下的抑制活性变化。结果表明，SBE 对 α-淀粉酶具有显著抑制作用，IC_{50} 为 88.9±1.2 μg/mL，抑制类型为混合型抑制（包括竞争性抑制和非竞争性抑制），其抑制效果优于阿卡波糖。荧光猝灭试验显示，SBE 可与酶自发形成复合物，引起酶发色团微环境的变化并导致内源性荧光猝灭，从而抑制其活性。分子对接试验结果进一步验证了 SBE 中的活性成分可与 α-淀粉酶氨基酸残基形成稳定相互作用。联合抑制实验表明，SBE 与阿卡波糖对 α-淀粉酶的抑制具有相加效应；此外，酪蛋白可对 SBE 的抑制作用产生可逆性干扰。上述研究结果为 SBE 作为天然 α-淀粉酶抑制剂的开发提供了初步理论依据。

关键词: α-淀粉酶, 沙棘, 抑制机理, 阿卡波糖, 酪蛋白

中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)11−0175−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060167

本文网刊:

Investigation of the Inhibitory Mechanisms of Sea Buckthorn Extract against α-Amylase and Its Interactions with Acarbose and Casein

ZHANG Lu[1], LUO Yushi[1], YAN Yingying[2,*], ZHONG Zhengchang[1,*]

（1.College of Food Science, Xizang Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000, China;
2.Institute of Agricultural Products Processing and Food Science, Xizang Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lasa 850000, China）

Abstract: To investigate the inhibitory effect and mechanism of sea buckthorn extract (SBE) on α-amylase, and to evaluate the influence of acarbose and casein on its inhibitory activity, SBE was prepared using ultrasound-assisted extraction. The inhibitory activity and underlying mechanism were systematically studied through enzyme inhibition assays, enzyme kinetics analysis, fluorescence quenching spectroscopy, and molecular docking, and were complemented by combined inhibition assays and casein-SBE interaction analyses to assess its performance when used with acarbose and under the presence of casein.The results showed that SBE exhibited significant inhibitory activity against α-amylase, with an IC_{50} value of 88.9±1.2 μg/mL. The inhibition type was identified as mixed-type, involving both competitive and non-competitive modes,

收稿日期: 2025−06−16

基金项目: 西藏自治区科技计划项目（XZ202201ZD0001N）; 西藏农牧学院林学博士点（一期）（533325001）。

作者简介: 张璐（2000−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬加工, E-mail: 1924480876@qq.com。

*** 通信作者:** 钟政昌（1975−）, 男, 硕士, 教授, 研究方向: 果蔬加工, E-mail: 350649726@qq.com。

阎莹莹（1993−）, 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 西藏特色资源基础与应用研究, E-mail: 764836036@qq.com。

and the inhibitory effect of SBE was superior to that of acarbose. Fluorescence quenching analysis revealed that SBE spontaneously formed a complex with α-amylase, altering the microenvironment of the enzyme's chromophores and leading to intrinsic fluorescence quenching, thereby reducing enzymatic activity. Molecular docking further confirmed that the active compounds in SBE could form stable interactions with amino acid residues of α-amylase. Combined inhibition experiments indicated an additive effect between SBE and acarbose. Moreover, casein was found to reversibly interfere with the inhibitory activity of SBE. These findings provide a theoretical basis for the potential development of SBE as a natural α-amylase inhibitor.

Key words: α-amylase; sea buckthorn; inhibitory mechanism; acarbose; casein

近年来, 随着人们生活方式和饮食结构的改变, 糖尿病的发病率逐年上升, 已成为全球最常见的慢性疾病之一。研究表明, 餐后高血糖是 2 型糖尿病的重要特征。而餐后高血糖升高的主要原因之一是淀粉类碳水化合物在小肠中被 α-淀粉酶迅速水解[1]。因此, 通过抑制 α-淀粉酶的活性以延缓碳水化合物的消化吸收, 已成为控制餐后血糖水平、延缓糖尿病发生发展的重要策略[2−5]。当前虽有如阿卡波糖等临床药物用于抑制上述酶活性, 但其常伴有胃肠道不良反应等多种副作用, 限制了患者的长期依从性[6−8]。因此, 为了预防和治疗 2 型糖尿病, 有必要从毒副作用较低的食物和传统药用植物中寻找碳水化合物水解酶抑制剂。

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)是一种药食同源的植物资源, 其果实富含黄酮类[9−10]、多酚类[11]、有机酸类[12−13] 等多种生物活性成分, 已被证实具有抗氧化[14−16]、抗炎[17−18]、调节血糖血脂[19−20] 等多种生理功能。然而, 目前关于沙棘提取物(sea buckthorn extract, SBE)对 α-淀粉酶抑制作用的研究较为零散, 抑制机制尚不清晰。

此外, 两种药物直接作用于同一靶点或疾病的组合可以提高药物的治疗效果[21], 许多研究表明天然提取物和阿卡波糖之间的相互作用可以协同增强降血糖活性, 此类协同效应不仅有助于增强天然提取物对 α-淀粉酶的抑制活性, 也可以在一定程度上降低阿卡波糖的使用剂量, 从而缓解其因长期使用所引发的胃肠道不良反应[22−23]。同时, 还有研究表明[24−25], 富含蛋白质的环境会明显影响药物的生物利用度, 例如研究发现当人血清白蛋白存在时, 胆碱能抑制剂的抑制能力急剧降低[26]; 而 ZHONG 等[27] 的研究则表明某些多肽能增强多酚类化合物对 α-淀粉酶的抑制活性, 因此, 在评估天然提取物的功能活性时, 有必要考虑富含蛋白质的环境可能对其抑酶能力产生的调控作用。然而, 目前关于 SBE 与阿卡波糖之间的相互作用及膳食蛋白对其抑酶活性的调控研究仍较为有限。

因此, 本研究以沙棘果为原料, 采用超声辅助提取方法制备 SBE, 系统评估其对 α-淀粉酶的体外抑制作用及机制, 并进一步探讨其与阿卡波糖联用的效应, 以及酪蛋白对其抑制活性的影响。研究结果有助于深入理解 SBE 对 α-淀粉酶的抑制机制, 并为其在功能食品或糖尿病辅助干预产品中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

沙棘果　采摘自西藏林芝, 经西藏农牧学院罗建教授鉴定为云南沙棘品种; α-淀粉酶(50 U/mg)、阿卡波糖、酪蛋白　上海源叶生物科技有限公司; 甲醇、乙腈　HPLC 纯, 德国默克公司; 其他试剂均为分析纯, 均购自天津市致远化学试剂有限公司。

MFJ-W317 研磨机　北京利仁科技股份有限公司; LC-MUC-220 超声波清洗机　上海力辰仪器科技有限公司; TF-FD-1 真空冷冻干燥机　上海拓纷机械设备有限公司; Orbitrap Exploris 120 质谱仪(配有电喷雾离子源(ESI)及 Xcalibur1.2 数据处理系统)、Vanquish 超高效液相色谱仪、Micro17R 台式高速冷冻离心机　赛默飞世尔科技公司; ReadMax 1900 光吸收全波长酶标仪　上海闪谱生物科技有限公司; LS45 荧光光谱仪　珀金埃尔默(上海)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1　SBE 的制备　本研究所用 SBE 的制备方法参考前期研究方法[28], 简述如下: 将新鲜沙棘果清洗后, 置于真空冷冻干燥机中冻干 72 h 以去除水分。冻干后的果实去籽, 经研磨机粉碎后过 700 μm 筛网筛分, 得到细粉备用。称取 10 g 沙棘粉置于 1 L 锥形瓶中, 加入 400 mL 体积分数 60% 的乙醇溶液, 并在超声波清洗器中以 300 W、60 ℃ 超声提取 30 min。提取液以 10000 r/min、4 ℃ 条件离心 30 min, 收集上清液。随后, 使用氮吹仪浓缩, 并经冷冻干燥获得 SBE。其主要成分已在前期研究中通过 UPLC-MS/MS 进行鉴定与定性分析, 主要包括黄酮类(如木犀草素-7-O-新橙皮苷、芦丁、6-羟基木犀草素-7-葡萄糖苷、杜鹃黄素)、有机酸(如马来酸、苹果酸、抗坏血酸、柠檬酸、衣康酸)化合物等[28]。为避免重复发表, 本研究不再重复展示分析数据。

1.2.2　SBE 对 α-淀粉酶的抑制试验

1.2.2.1　SBE 对 α-淀粉酶抑制率试验　α-淀粉酶用 0.1 mol/L pH6.8 磷酸缓冲盐溶液(PBS)配制(后续试验中的 α-淀粉酶溶液均用 0.1 mol/L pH6.8 PBS 配制)。将 60 μL 不同质量浓度 SBE 溶液(10、100、

150、200、250 μg/mL）分别与 60 μL 5 U/mL α-淀粉酶混匀，于室温预孵育 10 min，再加入 120 μL 质量分数 0.5% 的可溶性淀粉，混匀，在室温下反应 15 min，最后加入 240 μL DNS 试剂终止反应，于沸水浴 15 min 后冷却至室温。移取 300 μL 于 96 孔板中，于波长 540 nm 处测定吸光值。以阿卡波糖（10、50、100、200、250 μg/mL）为阳性对照。按公式（1）计算 α-淀粉酶的抑制率，计算出样品的抑制率之后，使用 Origin 软件（LOGIT 法）计算酶的半数抑制浓度（IC_{50} 值）。

$$抑制率(\%)=\left(1-\frac{A_1-A_2}{A_3-A_0}\right)\times 100 \qquad 式（1）$$

式中：A_1 为样品组的吸光度；A_2 为用 PBS 溶液代替酶溶液的吸光度；A_3 为只添加酶溶液的吸光度；A_0 为只有 PBS 溶液的吸光度。

1.2.2.2　α-淀粉酶的体外抑制可逆性分析　参考李瑶等[29] 的方法并略作调整，以探究 SBE 对 α-淀粉酶抑制的可逆性。固定底物浓度（质量分数 0.5% 可溶性淀粉），分别设置不同浓度的酶溶液（0.15、0.3、0.6、0.9、1.2 mg/mL）和 SBE 溶液（0、0.1、0.5、1.0、1.5 mg/mL）。取不同浓度的 SBE 溶液 200 μL 分别加入等体积的 α-淀粉酶溶液，室温下反应 10 min 后，加入 1000 μL 质量分数 0.5% 淀粉溶液充分混匀，继续反应 10 min，加入 400 μL DNS 溶液，沸水浴 20 min 后冷却至室温。在 540 nm 下测吸光度值（OD 值）。以酶解初始速率（ΔOD/min）为纵坐标，酶浓度（mg/mL）为横坐标绘图并进行线性拟合。根据所拟合的直线相交或者平行情况，判断提取物对 α-淀粉酶抑制作用的可逆性。

1.2.2.3　α-淀粉酶的体外抑制动力学分析　对 α-淀粉酶的体外抑制动力学测定参考 SUN 等[30] 的方法，并略微调整。固定酶浓度（0.9 mg/mL），分别设置不同浓度的底物溶液（2、3、4、5 mg/mL 可溶性淀粉）和 SBE 溶液（0、0.1、0.5、1.0 mg/mL）。反应体系同上。分别通过对 Dixon 方程（式（2））、Cornish-Bowden 方程（式（3））作双倒数图，以及对 Lineweaver-Burk 方程（式（4））作图，计算得到竞争性抑制常数（K_{ic}）、非竞争性抑制常数（K_{in}）、米氏常数（K_m）以及最大反应速率（V_{max}）。根据所得到的 K_{ic}、K_{in}、K_m、V_{max} 判断提取物对酶的抑制类型[31−32]。

Dixon 方程为：

$$v=\frac{V_{max}[S]}{K_m\left(1+\frac{[I]}{K_{ic}}\right)+[S]\left(1+\frac{[I]}{K_{in}}\right)} \qquad 式（2）$$

Cornish-Bowden 方程为：

$$\frac{v}{[S]}=\frac{V_{max}}{K_m\left(1+\frac{[I]}{K_{ic}}\right)+[S]\left(1+\frac{[I]}{K_{in}}\right)} \qquad 式（3）$$

Lineweaver-Burk 方程为：

$$\frac{1}{v}=\frac{1}{V_{max}}+\frac{K_m}{V_{max}}\frac{1}{[S]} \qquad 式（4）$$

式中：v 为酶解初始速率，ΔOD/min；V_{max} 为最大反应速率，ΔOD/min；S 为底物添加量，mg/mL；I 为抑制剂（即 SBE）质量浓度，mg/mL；K_m 为米氏常数，mg/mL；K_{ic} 为竞争抑制常数，mg/mL；K_{in} 为非竞争抑制常数，mg/mL。

1.2.3　SBE 对 α-淀粉酶的荧光猝灭分析　分别移取 50 μL α-淀粉酶溶液（0.12 mg/mL）、50 μL 不同浓度 SBE 溶液（0、0.05、0.25、0.50、0.75、1.00、1.25、1.50、1.75、2.00 μg/mL）、10 mL 超纯水于同一试管中，混匀，静置反应 10min。用荧光分光光度计，设置激发波长为 287 nm，激发和发射光的狭缝宽度均为 10.0 nm，扫描速度为 1000 nm/min，在波长 300~500 nm 测定不同浓度样品溶液反应体系的荧光发射光谱和荧光强度，利用 Stern-Volmer 方程（式（5））计算猝灭常数 K_{sv}。静态猝灭常数的计算[30] 利用式（6）。同时利用修正的 Stern-Volmer 方程（式（7））计算结合常数 K_A。

$$\frac{F_0}{F}=1+k_q\tau_0[Q]=1+K_{sv}[Q] \qquad 式（5）$$

$$\frac{F_0}{F}=e^{(K_{FQ}[Q])} \qquad 式（6）$$

$$\frac{F_0}{F_0-F}=\frac{1}{f_a}+\frac{1}{[Q]}\frac{1}{f_aK_A} \qquad 式（7）$$

式中：F_0 为没有添加 SBE 时的荧光强度；F 为添加了 SBE 后的荧光强度；k_q 为双分子猝灭速率常数，mL/(mg·s)；τ_0 为不含猝灭剂时荧光分子的平均寿命，生物大分子 $\tau_0\approx10^{-8}$ s；K_{sv} 为猝灭常数，mL/mg；Q 为猝灭剂（即 SBE）的质量浓度，μg/mL；K_{FQ} 为静态猝灭常数，mL/μg；f_a 为表示荧光分子中可被猝灭的部分（即有效结合位点占总荧光分子的比例）；K_A 为结合常数（表示猝灭剂与蛋白质结合的亲和力），mL/μg。

1.2.4　分子对接试验　从 RCSB 蛋白质数据库（http://www.rcsb.org/pdb）中下载用于分子对接的 α-淀粉酶（PDB ID:1HNY）的三维结构文件。并从 PubChem 数据库（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov）下载各种化合物的.sdf 格式文件，使用 Open Babel 将.sdf 文件转换为对应的.pdb 格式，以准备小分子配体文件。利用 AutoDockTools-1.5.6 进行分子对接，并计算不同构象的结合能。对接结果采用 PyMOL 2.6.0 进行可视化处理和分析。

1.2.5　SBE 和阿卡波糖相互作用的测定　为评估 SBE 与阿卡波糖对 α-淀粉酶活性的相互作用，参考 CAI 等[33] 的方法，分别测定单独使用各抑制剂（SBE 和阿卡波糖）及其联合使用时 α-淀粉酶的残余活性。无任何抑制剂作用下反应体系的吸光度（OD 值）

定义为 100% 酶活性。仅添加 SBE 时的相对残余活性记为 V_a，相对残余活性计算方式见式(8)；同理，仅添加阿卡波糖时的相对残余活性记为 V_b。在同时添加 SBE 和阿卡波糖条件下测得的残余酶活性记为 V_{ab}。为判断二者之间的相互作用类型，计算理论值 V_c($V_c=V_a\times V_b$)，并比较 V_{ab} 和 V_c 的差别。

$$\text{酶的残余活性}=\frac{A_4}{A_0} \qquad \text{式（8）}$$

式中：A_4 为添加了猝灭剂后的吸光度；A_0 为没有添加猝灭剂前的吸光度。

1.2.6 酪蛋白对 SBE 抑制 α-淀粉酶的影响 参考 YANG 等[34] 的方法，以分析酪蛋白对 SBE 抑制 α-淀粉酶的影响。将 60 μL 不同质量浓度 SBE 溶液（0.01、0.05、0.10、0.15 mg/mL）分别与 30 μL 不同质量浓度酪蛋白溶液（0、0.05、0.10、0.15 mg/mL）混匀，于室温预孵育 10 min，再加入 60 μL 5 U/mL α-淀粉酶室温预孵育 10 min。预孵育后，加入 120 μL 质量分数 0.5% 的可溶性淀粉，混匀，在室温下反应 15 min，最后加入 210 μL DNS 试剂终止反应，于沸水浴 15 min 后冷却至室温。移取 300 μL 于 96 孔板中，于波长 540 nm 处测定吸光值。以波长 540 nm 处测得的吸光度变化速率（ΔOD/min）作为酶反应速率指标，绘制不同 SBE 和酪蛋白浓度组合下的酶活性变化曲线，用以评估酪蛋白对 SBE 抑制 α-淀粉酶作用的影响。

1.3 数据处理

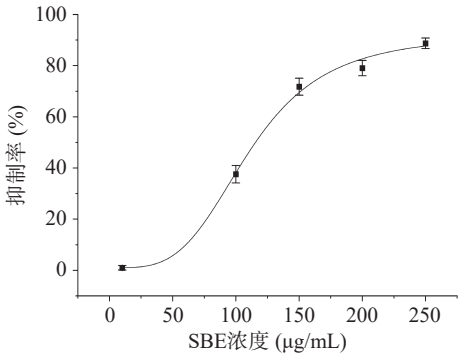
所有试验均进行 3 次重复，结果以平均值±标准差表示。组间差异采用单因素方差分析（ANOVA）进行评估，并采用 Duncan 事后检验进行多重比较。所有统计分析均使用 IBM SPSS 统计软件（版本 27）进行处理。利用 Origin 2018 软件进行绘图。

2 结果与分析

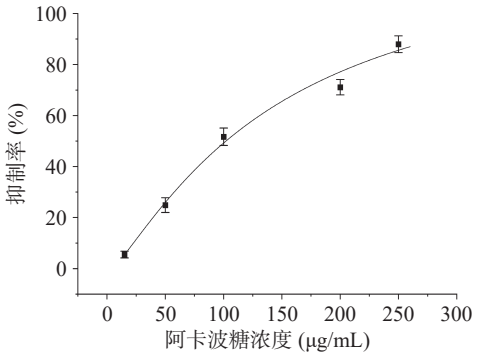
2.1 SBE 对 α-淀粉酶活性抑制率试验结果分析

SBE 和阿卡波糖对 α-淀粉酶的抑制作用如图 1 所示。由图 1 可知，SBE 对 α-淀粉酶的抑制率随浓度升高而增加，呈现典型的剂量-效应关系。具体而言，当 SBE 浓度由 10 μg/mL 升高至 250 μg/mL 时，其抑制率由 1.00%±0.90% 上升至 88.73%±2.10%。利用 Origin 软件采用 LOGIT 回归法对实验数据进行拟合，计算 SBE 和阿卡波糖对 α-淀粉酶活性的半数抑制浓度（IC_{50}）。结果表明，SBE 对 α-淀粉酶的 IC_{50} 为 88.9±1.2 μg/mL，低于阿卡波糖的 IC_{50}（133±2.1 μg/mL），表明 SBE 对 α-淀粉酶具有更强的抑制能力。

这一差异可能源于 SBE 是一种复杂的天然活性成分混合物，其中含有多种活性成分（如有机酸、黄酮、多酚等），它们可与酶的不同作用位点结合，从而以多途径抑制酶活性。相关研究亦表明，不同类型的酚类物质在一定配比下可表现出协同抑制作用，从而增强整体抑制效果。例如，RUBIO-SENENT 等[35]



(a) SBE对α-淀粉酶活性的抑制曲线



(b) 阿卡波糖对α-淀粉酶活性的抑制曲线

图 1 SBE 与阿卡波糖对 α-淀粉酶活性的抑制曲线

Fig.1 Inhibitory curves of SBE and acarbose on α-amylase activity

从橄榄油副产物中分离的两种酚类化合物在联合使用时对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶表现出显著的协同抑制效应。

2.2 SBE 对 α-淀粉酶抑制类型的结果分析

酶促反应的抑制类型分为可逆性抑制和不可逆性抑制，这两种抑制类型的区分在于抑制物与酶的结合方式是否为非共价键结合，即是否可以通过物理方法使酶恢复活性[36−37]。不同 SBE 浓度下，以 α-淀粉酶浓度（mg/mL）和酶解初始速率（ΔOD/min）为横纵坐标作图。结果如图 2 所示，所有直线均经过原点（0, 0），说明只有当 α-淀粉酶浓度为 0 mg/mL 时，酶解初始速率才为 0 ΔOD/min，即 SBE 对 α-淀粉酶的抑制作用是可逆性的。而在不可逆性抑制中，只有酶浓度大于抑制剂浓度后，酶解初始速率才会随着酶浓

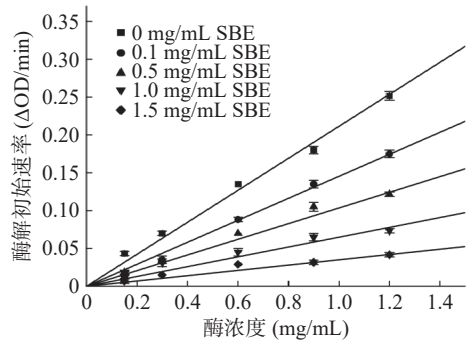
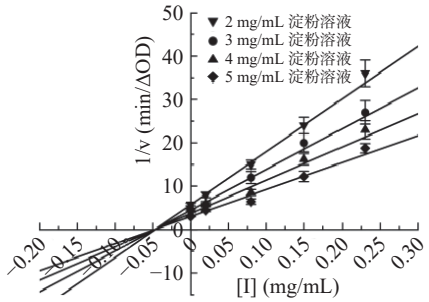


图 2 SBE 对 α-淀粉酶抑制作用的可逆性分析

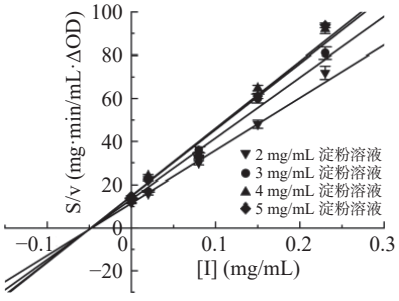
Fig.2 Reversibility of α-amylase inhibition by SBE

度的增加而逐渐增加，即不同抑制剂浓度下的各个拟合曲线应该呈现平行关系[38]。

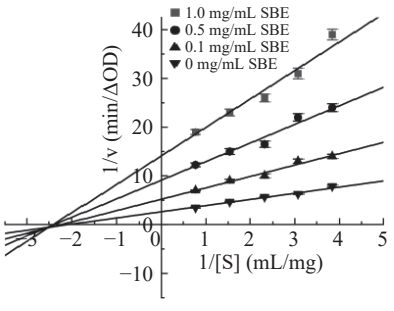
而可逆性抑制的酶促反应类型又可分为竞争性抑制、非竞争性抑制及反竞争性抑制 3 种类型。在酶促反应动力学中，随着抑制剂质量浓度的增加，竞争性抑制剂 V_{max} 值不变，K_m 值增大；非竞争性抑制剂 V_{max} 值降低，酶促反应动力学 K_m 值不变；反竞争性抑制剂 V_{max} 降低，K_m 减小，据此可以推断抑制剂的抑制类型[39]。SBE 对 α-淀粉酶的酶促反应动力学试验结果见图 3 和表 1。由图 3 和表 1 可知，不存在 SBE 时，α-淀粉酶的酶促反应 K_m 为 0.50 mg/mL、V_{max} 为 0.38 ΔOD/min。随着 SBE 的质量浓度由 0 mg/mL 上升至 1.0 mg/mL，α-淀粉酶的酶促反应 V_{max} 由 0.38 ΔOD/min 下降至 0.07 ΔOD/min，K_m 则从 0.50 mg/mL 略微下降至 0.41 mg/mL，呈一定下降趋势但变化幅度相对较小。不同浓度 SBE 浓度下的 Lineweaver-Burk 图相交于第 3 象限，且当 SBE 的浓度增大时，酶促反应的 V_{max} 减小、K_m 基本保持不变，由 Dixon、Cornish-Bowden 方程计算的竞争性抑制常数 K_{ic} 为 0.05 mg/mL、非竞争性抑制常数 K_{in} 为 0.04 mg/mL。由于 K_m>K_{ic}>K_{in}，即底物与酶的结合能力<SBE 与酶的竞争性结合能力<SBE 与酶的非竞争性结合能力，表明 SBE 对 α-淀粉酶的抑制类型为以非竞争性为主的混合型抑制。



(a) 不同底物浓度下的Dixon双倒数图



(b) 不同底物浓度下的Cornish-Bowden双倒数图



(c) 不同SBE浓度下的Lineweaver-Burk图

图 3　SBE 对 α-淀粉酶抑制作用的酶促动力学图

Fig.3　Enzyme kinetic plots of the inhibitory effect of SBE on α-amylase

表 1　SBE 对 α-淀粉酶酶促动力学参数的影响

Table 1　Effects of SBE on α-amylase kinetic parameters

样品	浓度（mg/mL）	V_{max}（ΔOD/min）	K_m（mg/mL）	K_{ic}（mg/mL）	K_{in}（mg/mL）
SBE	0	0.38	0.50	0.05	0.04
	0.1	0.19	0.44		
	0.5	0.11	0.42		
	1.0	0.07	0.41		

本研究表明，SBE 对 α-淀粉酶的抑制类型为以非竞争性为主的混合型抑制。这一模式与部分植物来源提取物的作用特征相似，例如紫苏（*Perilla frutescens*）[40] 和蓝莓（*Vaccinium* spp.）[41] 提取物也被报道对 α-淀粉酶表现出非竞争性或混合型抑制。结合成分特性推测，SBE 中的酚酸类、有机酸类和多酚类化合物可能通过氢键、疏水作用等非共价相互作用结合于 α-淀粉酶的别构位点（远离底物结合位点的疏水区域或含极性氨基酸残基区域），诱导酶构象改变并降低催化效率[42]。此外，SBE 作为对 α-淀粉酶具有以非竞争性为主的混合型抑制作用的抑制剂，其优势在于抑制效应不依赖底物浓度，即使在高碳水摄入条件下亦能保持稳定活性。

2.3　SBE 对 α-淀粉酶的荧光猝灭试验结果分析

荧光测定提供了有关发色团分子附近微观环境的信息。蛋白质的荧光主要来自色氨酸残基，因此酶分子中色氨酸残基的荧光强度及其变化能够直接反映出蛋白质空间结构的变化[43]，通过测定 α-淀粉酶在抑制剂作用下的荧光变化可以了解抑制剂对酶结构的影响。由图 4 可知，随着 SBE 质量浓度的增加，α-淀粉酶的荧光强度下降，且最大荧光发射波长发生轻微的红移，表明 SBE 可引起 α-淀粉酶的疏水键、氢键等维持构象的作用力减弱，导致酶分子中的色氨酸等非极性氨基酸残基逐渐暴露于极性环境中，发生了分子空间结构的变化，从而使酶的内源性荧光被猝灭[5]。

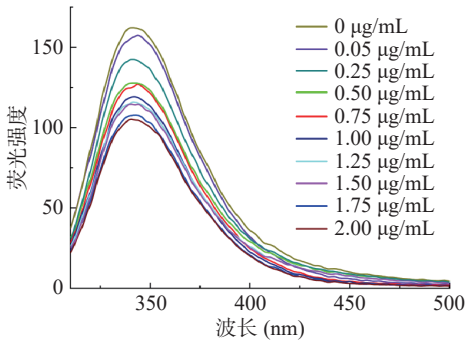
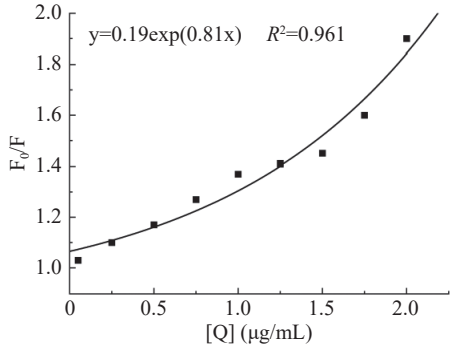


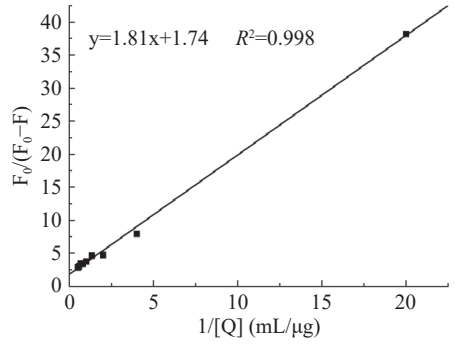
图 4　不同 SBE 浓度下 α-淀粉酶的荧光发射光谱

Fig.4　Fluorescence emission spectra of α-amylase at varying SBE concentrations

通过 SBE 对 α-淀粉酶荧光猝灭的 Stern-Volmer 动力学方程分析，可深入阐明猝灭机制。图 5 显示了在荧光发射波长 345 nm 处，SBE 对酶的荧光猝灭 Stern-Volmer 动力学方程的影响。由图 5a 可知，SBE 对 α-淀粉酶的荧光猝灭 Stern-Volmer 方程曲线并非线性，而是凹面弯曲向 y 轴，表明 SBE 对 α-淀粉酶的荧光猝灭既包括动态猝灭也包括静态猝灭[31]。由 α-淀粉酶的荧光猝灭动力学试验结果可知，静态猝灭常数 K_{FQ} 为 0.81 mL/μg。根据荧光寿命 τ_0（生物大分子 $\tau_0 \approx 10^{-8}$ s）计算，获得的猝灭速率常数 k_q 为 8.0×10^{10} mL/(mg·s)，显著高于扩散控制极限（约为 10^{10} mL/(mg·s)），表明 SBE 与 α-淀粉酶之间存在较强的相互作用，即该过程可能主要由静态猝灭机制主导。此外，基于静态猝灭模型拟合得到的结合常数 K_A 为 0.96 mL/μg，进一步支持了两者之间存在相互结合作用。



(a) α-淀粉酶荧光猝灭的经典Stern-Volmer曲线



(b) α-淀粉酶荧光猝灭的修正Stern-Volmer曲线

图 5 α-淀粉酶的荧光猝灭 Stern-Volmer 曲线

Fig.5 Stern-Volmer plot of α-amylase fluorescence quenching

静态猝灭通常由猝灭剂在激发前与荧光基团形成稳定复合物引起，反映两者间存在较强的非共价相互作用，如氢键、疏水作用或静电吸引等。SBE 中富含的黄酮类与有机酸类等成分可能作为猝灭剂，与 α-淀粉酶分子形成复合物，从而掩蔽其内源性荧光基团（如色氨酸或酪氨酸残基），并诱导酶分子构象发生变化，进而干扰其催化功能。这一结合模式与其他研究所报道的 α-淀粉酶作用特征表现出一定的相似性[44−45]，其特征在于同样通过静态猝灭机制结合 α-淀粉酶，并涉及氢键和疏水相互作用等非共价方式，从而诱导酶构象重排并抑制活性。

2.4 分子对接试验结果分析

分子对接作为一种直观的可视化方法，可用于表征配体与受体之间的相互作用。为评估 SBE 中的活性成分与 α-淀粉酶的相互作用，本研究利用 AutoDockTools-1.5.6 对 SBE 中 32 种主要化合物进行了分子对接分析，所有配体均在统一参数设置下完成对接，并以所得最低结合能作为亲和力评估指标。结合能越低通常意味着与酶的亲和力越强，因而潜在抑制活性更高；同时考虑到若对所有化合物对接结果进行可视化，工作量较大。故仅选取上述分子对接实验结果中结合能最低的三种化合物——木犀草素-7-O-新橙皮苷（−5.49 kcal/mol）、衣康酸（−5.36 kcal/mol）和杜鹃黄素（−5.31 kcal/mol）作为代表，进行分子对接结果的可视化分析，以揭示其与 α-淀粉酶的结合模式及关键相互作用位点，可视化结果见图 6。

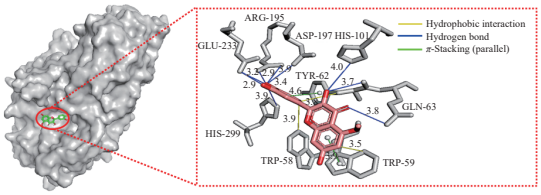
α-淀粉酶的活性位点由三个高度保守的催化残基 Asp-197、Glu-233 和 Asp-300 构成。

如图 6(a)所示，杜鹃黄素结合于酶表面接近活性位点的一个口袋状结构中，并与 Tyr-62、Gln-63、His-101、Arg-195、Asp-197、Glu-233 和 His-299 等残基形成 9 个氢键（键长范围 1.89~3.50 Å）。此外，还与 Trp-58、Trp-59 和 Tyr-62 发生疏水相互作用，并与 Trp-59、Tyr-62 形成平行型（P 型）π-堆积作用，共同稳定复合物结构。这些相互作用表明杜鹃黄素可能通过与活性位点周围残基多位点结合，竞争性阻碍底物进入催化中心。相比之下，如图 6(b)所示，衣康酸结合于远离活性位点的一个口袋区域，并与 Tyr-2、Ser-3、Pro-228 和 Ile-230 等残基形成 5 个氢键（键长范围 1.94~2.16 Å），并与 Lys-227 形成疏水相互作用。结合位点位置及相互作用特征提示，衣康酸可能通过诱导构象变化间接影响酶活性，从而表现为非竞争性抑制作用。同样地，图 6(c)显示，木犀草素-7-O-新橙皮苷结合于非催化区域，并与 Ala-50、Tyr-52、Gln-63、Ala-106、Ser-108、Ser-112 和 Asp-147 等残基形成 9 个氢键（键长范围 1.87~3.13 Å），并与 Asn-53 和 Ala-106 形成疏水相互作用。这些氢键和疏水作用协同稳定其结合构象，可能通过阻断底物通道或调节酶构象发挥抑制作用。

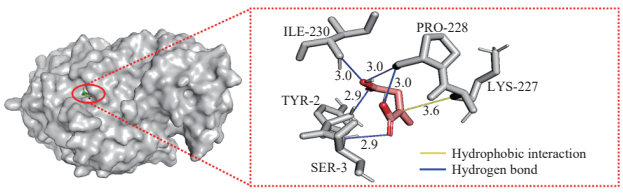
综上，分子对接结果显示 SBE 中既包含可能竞争性结合于 α-淀粉酶活性位点的成分（如杜鹃黄素），也包含作用于非催化位点、表现为非竞争性抑制的成分（如衣康酸和木犀草素-7-O-新橙皮苷）。这一现象与前述酶促动力学分析结果相一致，进一步支持 SBE 对 α-淀粉酶的抑制机制属于混合型抑制。

2.5 SBE 与阿卡波糖在 α-淀粉酶抑制中的相互作用

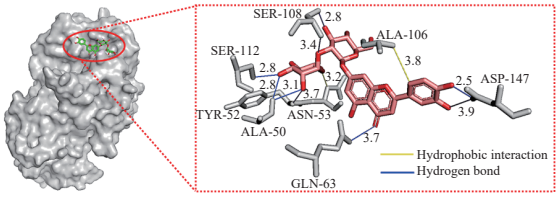
单一药物，尤其是在高剂量下使用，常常伴随着不良反应。相比于单纯地提高单一药物的剂量，通过联合使用两种药物以增强抑制效果，是药物治疗中的一种重要策略[46]。因此，为评估 SBE 与阿卡波糖在不同浓度下联合抑制 α-淀粉酶活性的效果，选取了



(a) 杜鹃黄素与α-淀粉酶的分子对接结果



(b) 衣康酸与α-淀粉酶的分子对接结果



(c) 木犀草素-7-O-新橙皮苷与α-淀粉酶的分子对接结果

图 6　结合能最低的三种 SBE 活性成分与 α-淀粉酶的分子对接结果

Fig.6　Molecular docking results of the three most active SBE components with the lowest binding energies to α-amylase

表 2　SBE 与阿卡波糖对 α-淀粉酶活性抑制的联合效应

Table 2　Combined effects of SBE and acarbose on the inhibition of α-amylase activity

样品浓度	阿卡波糖(150 μg/mL)			阿卡波糖(125 μg/mL)			阿卡波糖(100 μg/mL)		
	V_{ab}	V_c	$V_{ab}-V_c$	V_{ab}	V_c	$V_{ab}-V_c$	V_{ab}	V_c	$V_{ab}-V_c$
SBE(150 μg/mL)	0.23	0.19	0.04(AD)	0.21	0.24	−0.03(AD)	0.26	0.27	−0.01(AD)
SBE(100 μg/mL)	0.29	0.32	−0.03(AD)	0.39	0.41	−0.02(AD)	0.43	0.46	−0.03(AD)
SBE(50 μg/mL)	0.44	0.45	−0.01(AD)	0.55	0.57	−0.02(AD)	0.60	0.65	−0.05(AD)

两者 IC_{50} 值附近的三个浓度水平进行组合试验，相关结果见表 2。如表 2 所示，V_{ab} 表示同时加入 SBE 和阿卡波糖时 α-淀粉酶的残余活性，其中无抑制剂对照组的酶活性设为 100%。V_c 为基于 Bliss 独立模型预测的理论残余活性，按公式 $V_c=V_a\times V_b$ 计算，其中 V_a 和 V_b 分别为 SBE 和阿卡波糖单独作用时的残余活性。$V_{ab}-V_c$ 的数值反映了实测效应与理论独立效应之间的偏差，可用于判定两者的相互作用类型。具体判定标准为：$V_{ab}-V_c<-0.1$ 表示协同作用(SY)，$-0.1\leqslant V_{ab}-V_c\leqslant 0.1$ 表示相加作用(AD)，$V_{ab}-V_c>0.1$ 表示拮抗作用(AN)[33]。本研究中，所有测试浓度组合下 $V_{ab}-V_c$ 均处于−0.1 至 0.1 范围内，表明 SBE 与阿卡波糖在 α-淀粉酶抑制中主要表现为相加效应。对于 α-淀粉酶，阿卡波糖被认为是一种混合型抑制剂[47]，同时具有竞争性和非竞争性抑制作用，而根据前述试验结果，SBE 亦表现出混合型抑制特征。因此，二者可能通过同时结合 α-淀粉酶的相同位点而产生相加作用。本研究结果与 YANG 等[34]和 ZHANG 等[47] 关于植物提取物与阿卡波糖联合抑制 α-淀粉酶呈相加效应的报道一致。尽管如此，已有研究[48] 表明部分天然物质在与阿卡波糖联合应用时可能产生拮抗作用，因此在评估 SBE 与阿卡波糖的联合策略时，应结合其成分特征和作用机制进行针对性判断，以确保获得预期的协同或相加效果。

2.6　酪蛋白对 SBE 抑制作用的影响

研究发现，天然化合物在蛋白质存在的条件下会影响其生物利用度[26,49−50]。所以，在评价新型抑制剂活性之前，有必要充分考虑其与蛋白质的结合倾向。因此，为探讨膳食蛋白是否会影响 SBE 对 α-淀粉酶的抑制活性，选取了牛奶中的主要蛋白(酪蛋白)作为代表性蛋白进行相互作用分析，试验结果如图 7 所示。

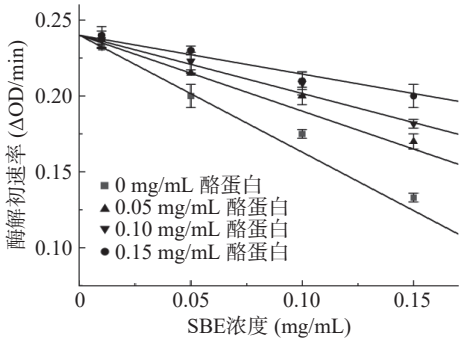


图 7　不同酪蛋白浓度对 SBE 抑制 α-淀粉酶活性的影响

Fig.7　Influence of different casein concentrations on the α-amylase inhibition by SBE

由图 7 可见，在相同 SBE 浓度下，随着酪蛋白浓度的增加，α-淀粉酶的酶解初速率逐渐升高，表明酪蛋白会干扰 SBE 对 α-淀粉酶的抑制作用。各组不同酪蛋白浓度下的拟合曲线在坐标点(0, 0.24)处相交，说明仅在 SBE 浓度为 0 mg/mL 时 α-淀粉酶活性可达最大水平，即不存在抑制作用，提示酪蛋白与 SBE 之间的相互作用具有可逆性。若该相互作用为不可逆，则仅当 SBE 浓度超过酪蛋白浓度时，SBE 对 α-淀粉酶的抑制效果才会随着 SBE 浓度的增加而增强，即不同酪蛋白浓度下的拟合曲线应呈平行分布。综上结果推测，酪蛋白可削弱 SBE 对 α-淀粉酶

的抑制活性，但该作用为可逆，表明在酪蛋白经蛋白酶水解后，SBE 的抑制活性可部分恢复。

SBE 富含多种酚类、黄酮类等生物活性成分，其对 α-淀粉酶的抑制活性在膳食系统中可能受到其他营养组分（如蛋白质组分）的影响。上述研究结果显示，随着酪蛋白浓度的升高，SBE 对 α-淀粉酶的抑制作用逐渐减弱，提示酪蛋白可能通过与 SBE 发生非共价相互作用，从而干扰其对靶酶的结合能力。同时，YANG 等[34] 的研究也表明酪蛋白的存在会降低活性物质对 α-淀粉酶活性的抑制作用。

3 结论

本研究以沙棘果为原料，采用超声辅助提取法制备 SBE，并通过酶抑制率测定、酶动力学分析、荧光猝灭实验及分子对接技术，系统探讨了 SBE 对 α-淀粉酶的体外抑制活性及其作用机制。结果表明，SBE 对 α-淀粉酶的 IC_{50} 为（88.9±1.2）μg/mL，显著低于阿卡波糖的 IC_{50} 值（（133±2.1）μg/mL），表明其具有更强的抑制效果。酶动力学分析显示，SBE 通过混合型抑制机制作用于 α-淀粉酶，兼具竞争性和非竞争性抑制特征。荧光光谱结果表明，SBE 能够与 α-淀粉酶自发形成复合物，导致酶内源性荧光猝灭，并引起酶构象的改变，从而影响其活性。分子对接结果进一步验证了 SBE 中活性成分可与 α-淀粉酶关键残基形成稳定相互作用。联合抑制实验表明，SBE 与阿卡波糖对 α-淀粉酶的抑制具有相加效应；此外，酪蛋白可对 SBE 的抑制作用产生可逆性干扰。

综上所述，SBE 能有效抑制 α-淀粉酶活性，延缓淀粉类物质的消化过程，在调控血糖水平、控制餐后高血糖方面具有潜在应用价值。其与阿卡波糖联用时表现出相加效应，表明其可作为降糖药物的辅助增强成分；酪蛋白对其抑制活性具有可逆性干扰作用，提示其在复杂食品体系中的应用应考虑基质成分的影响。本研究为 SBE 作为天然 α-淀粉酶抑制剂的开发与应用提供了理论依据和实验支撑。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] RETNAKARAN R. Novel biomarkers for predicting cardiovascular disease in patients with diabetes[J]. Canadian Journal of Cardiology, 2018, 34(5): 624−631.

[2] YAN Jiakai, ZHANG Guowen, PAN Junhui, et al. α-Glucosidase inhibition by luteolin: Kinetics, interaction and molecular docking[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 64: 213−223.

[3] 乔锦莉, 张妍, 刘佩, 等. 野生蓝果忍冬多酚鉴定及其抗氧化、降血糖活性[J]. 食品科学, 2021, 42(11): 47−55. [QIAO J L, ZHANG Y, LIU P, et al. Identification of polyphenols and evaluation of antioxidant and hypoglycemic activities of wild *Lonicera caerulea*[J]. Food Science, 2021, 42(11): 47−55.]

[4] 姚芬. 柿单宁对淀粉消化特性的影响及其机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017. [YAO F. Effects of persimmon tannin on starch digestion characteristics and its mechanism[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.]

[5] SUN L J, FREDERICK J. W, MICHAEL J. G, et al. Mechanism of binding interactions between young apple polyphenols and porcine pancreatic α-amylase[J]. Food Chemistry, 2019, 283: 468−474.

[6] VICHAYANRAT A, PLOYBUTR S, TUNLAKIT M, et al. Efficacy and safety of voglibose in comparison with acarbose in type 2 diabetic patients[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2002, 55(2): 99−103.

[7] DUJIC T, CAUSEVIC A, BEGO T, et al. Organic cation transporter 1 variants and gastrointestinal side effects of metformin in patients with type 2 diabetes[J]. Diabetic Medicine, 2016, 33(4): 511−514.

[8] ASCHNER P, KATZEFF H L, GUO H, et al. Efficacy and safety of monotherapy of sitagliptin compared with metformin in patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes, Obesity and Metabolism, 2010, 12(3): 252−261.

[9] 李淑珍, 武飞, 陈月林, 等. 沙棘活性成分及功效研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(1): 51−53. [LI Shuzhen, WU Fei, CHEN Yuelin, et al. Research progress on active components and efficacy of *Hippophae rhamnoides*[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2015, 24(1): 51−53.]

[10] 李海丽. 沙棘化学成分及药用价值分析[J]. 甘肃科技纵横, 2005, 34(1): 54−100. [LI Haili. Analysis of chemical constituents and medicinal value of seabuckthorn[J]. Scientific and Technical Information of Lanzhou, 2005, 34(1): 54−100.]

[11] 雍正平, 陈雏, 张浩, 等. 中国沙棘果实的化学成分及其体外抗氧化活性研究[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(6): 633−636. [YONG Zhengping, CHEN Chu, ZHANG Hao, et al. Study on chemical constituents of the berries from *Hippophae rhamnoides* Subsp. *Sinensis rousi* and their antioxidation *in vitro*[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010, 25(6): 633−636.]

[12] 刘勇, 廉永善, 王颖莉, 等. 沙棘的研究开发评述及其重要意义[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(9): 1547−1552. [LIU Yong, LIAN Yongshan, WANG Yingli, et al. Review of research and development and significant effect of *Hippophae rhamnoides*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 39(9): 1547−1552.]

[13] 苏海兰, 魏娟, 毕阳, 等. 超声波辅助提取中国沙棘浆果多酚的工艺优化及其成分分析[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(6): 34−41. [SU Hailan, WEI Juan, BI Yang, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polyphenols from Chinese seabuckthorn berries and composition analysis[J]. Sichuan Food and Fermentation, 2017, 53(6): 34−41.]

[14] 孙玖俞. 沙棘黄酮提取物对蛋鸡脂质代谢及抗氧化的影响[D]. 晋中: 山西农业大学, 2022. [SUN J Y. Effects of sea buckthorn flavonoid extract on lipid metabolism and antioxidant capacity in laying hens[D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2022.]

[15] 高佩, 刘春霞, 唐晓荞, 等. 沙棘提取物对老龄小鼠的抗氧化作用[J]. 公共卫生与预防医学, 2017, 28(2): 25−27. [GAO Pei, LIU Chunxia, TANG Xiaoqiao, et al. Study on antioxidant effect of seabuckthorn extractin aging mice[J]. Journal of Public Health and

Preventive Medicine, 2017, 28(2): 25−27. ］
［16］ 汪成, 王怀友, 汪蔓青, 等. 不同产地沙棘果化学成分含量及抗氧化活性的研究[J]. 华西药学杂志, 2020, 35(5): 513−517. ［WANG C, WANG H Y, WANG M Q, et al. Study on the chemical composition and antioxidant activity of *Hippophae rhamnoides* fruits from different regions[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 35(5): 513−517. ］
［17］ 付依依, 王永霞, 李月, 等. 大果沙棘中黄酮的体外抗炎及抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(10): 67−74. ［FU Y Y, WANG Y X, LI Y, et al. *In vitro* anti-inflammatory and antioxidant activities of flavonoids from large-fruited sea buckthorn[J]. China Food Additives, 2021, 32(10): 67−74. ］
［18］ 赵磊. 沙棘多糖对脂多糖诱导仔猪小肠上皮细胞炎性损伤的保护机制[D]. 长春: 吉林农业大学, 2021. ［ZHAO Lei. The protective mechanism of *Hippophae rhamnoides* polysaccharides on the inflammatory damage of intestinal porcine epithelial cells induced-by lipopolysaccharide in piglets[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2021. ］
［19］ 艾孜古丽·木拉提. 沙棘黄酮改善高热能膳食诱导小鼠糖脂代谢紊乱及认知障碍作用与机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022. ［AIZIGULI M. Effect and mechanism of seabuckthorn flavonoids on glucolipid metabolism disorder and cognitive impairment induced by high calorie diet in mice[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2022. ］
［20］ YANG Xingjing, LIU Yanru, TANG Zhishu, et al. Total flavonoids of *Hippophae rhamnoides* L. improves type 2 diabetes symptoms in rats through down-regulating of the DAG/PRKCA/MAPK10/p65/TNF-α signalling pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 318(Pt A): 116962.
［21］ CHOU Tingchao. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies[J]. Pharmacological Reviews, 2006, 58(3): 621−681.
［22］ YANG Jichen, WANG Xiaoli, ZHANG Chuanying, et al. Comparative study of inhibition mechanisms of structurally different flavonoid compounds on α-glucosidase and synergistic effect with acarbose[J]. Food Chemistry, 2021, 347: 129056.
［23］ NI Mengting, HU Xing, GONG Deming, et al. Inhibitory mechanism of vitexin on α-glucosidase and its synergy with acarbose[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105824.
［24］ GOWD V, KARIM N, XIE L H, et al. *In vitro* study of bioaccessibility, antioxidant, and α-glucosidase inhibitory effect of pelargonidin-3-O-glucoside after interacting with beta-lactoglobulin and chitosan/pectin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 154: 380−389.
［25］ LANG Yuxi, LI Bin, GONG Ersheng, et al. Effects of α-casein and β-casein on the stability, antioxidant activity and bioaccessibility of blueberry anthocyanins with an *in vitro* simulated digestion[J]. Food Chemistry, 2021, 334: 127526.
［26］ ISLAM M M, GURUNG A B, BHATTACHARJEE A, et al. Human serum albumin reduces the potency of acetylcholinesterase inhibitor based drugs for Alzheimer's disease[J]. Chemico-Biological Interactions, 2016, 249: 1−9.
［27］ ZHONG Kaicui, JIANG Meiling, CAO Wenhong, et al. Interaction between oyster peptides and anthocyanins: Stability improvement, structure changes and α-amylase and α-glucosidase inhibition effect[J]. LWT, 2025, 221: 117592.
［28］ 张璐, 罗语诗, 钟政昌. 西藏沙棘提取物作为天然抗氧化剂在 3 种食用油中的应用评估[J]. 粮食与油脂, 2025, 38(8): 30−35, 71. ［ZHANG Lu, LUO Yushi, ZHONG Zhengchang. Application evaluation of *Hippophae thibetana* extracts as natural antioxidants in three kinds of edible oils[J]. Cereals & Oils, 2025, 38(8): 30−35, 71. ］
［29］ 李瑶, 贾艺恬, 汪巾岳, 等. LMWF 对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制动力学分析及其在低 GI 乳粉中的应用[J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 101−111. ［LI Yao, JIA Yitian, WANG Jinyue, et al. Inhibition kinetics of LMWF on α-amylase and α-glucosidase and its application in low-GI milk powders[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 101−111. ］
［30］ SUN Lijun, CHEN Weiqi, MENG Yonghong, et al. Interactions between polyphenols in thinned young apples and porcine pancreatic α-amylase: Inhibition, detailed kinetics and fluorescence quenching[J]. Food Chemistry, 2016, 208: 51−60.
［31］ SOARES S, MATEUS N, de FREITAS V. Interaction of different polyphenols with bovine serum albumin (BSA) and human salivary α-amylase (HSA) by fluorescence quenching[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(16): 6726−6735.
［32］ CAI Xin, YU Jianan, XU Liman, et al. The mechanism study in the interactions of sorghum procyanidins trimer with porcine pancreatic α-amylase[J]. Food Chemistry, 2015, 174: 291−298.
［33］ CAI Shengbao, WANG Ou, WANG Mengqian, et al. *In vitro* inhibitory effect on pancreatic lipase activity of subfractions from ethanol extracts of fermented oats (*Avena sativa* L.) and synergistic effect of three phenolic acids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(29): 7245−7251.
［34］ YANG Jichen, LI Huan, WANG Xiaoli, et al. Inhibition mechanism of α-amylase/α-glucosidase by silibinin, its synergism with acarbose, and the effect of milk proteins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(36): 10515−10526.
［35］ RUBIO-SENENT F, BERMÚDEZ-ORIA A, LAMA-MUÑOZ A, et al. Synergistic inhibition of α-glucosidase and α-amylase by phenolic compounds isolated from olive oil by-products[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2025, 105(13): 7591−7597.
［36］ HAAS M J, NAEM E, ALMDALLALEH S, et al. The effect of black seed (*Nigella sativa*) extract on lipid metabolism in HepG2 cells[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2022, 1867(8): 159155.
［37］ 王茹, 袁雅倩, 曾敏, 等. 葛根总黄酮对胰岛素抵抗模型 HepG2 细胞糖代谢的改善作用及机制研究[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2023, 52(1): 43−47. ［WANG R, YUAN Y Q, ZENG M, et al. Effects and mechanisms of total flavonoids from *Pueraria lobata* on glucose metabolism in insulin-resistant HepG2 cells[J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology (Medical Sciences), 2023, 52(1): 43−47. ］
［38］ DING Huafang, WU Xiaqing, PAN Junhui, et al. New insights into the inhibition mechanism of betulinic acid on α-glucosidase[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(27): 7065−7075.
［39］ DIXON M. The determination of enzyme inhibitor constants[J]. The Biochemical Journal, 1953, 55(1): 170−171.
［40］ HUI Xiaodan, WU Gang, HAN Duo, et al. The effects of bioactive compounds from blueberry and blackcurrant powders on

the inhibitory activities of oat bran pastes against *α*-amylase and *α*-glucosidase linked to type 2 diabetes[J]. Food Research International, 2020, 138: 109756.

[41] LIU Xiaocui, LI Zhongqiao, XU Lin, et al. Optimization of polysaccharide extraction technology from *Perilla frutescens* leaves and its *α*-glucosidase inhibition activity[J]. Journal of Food Biochemistry, 2025, 2025(1): 8749940.

[42] ANDREA A, JOSE V G, JORGE S, et al. Understanding phenolic acids inhibition of *α*-amylase and *α*-glucosidase and influence of reaction conditions[J]. Food Chemistry, 2022, 372: 131231.

[43] 刘婧, 任维维, 屈佳林, 等. 青柿子提取物抑制消化酶活性与降血糖效应[J]. 中国食品学报, 2024, 24(5): 264−279. [LIU Jing, REN Weiwei, QU Jialin, et al. Inhibition activity of immature persimmon extract on digestive enzymes and research on hypolycemic effect[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(5): 264−279.]

[44] LI Y, GAO F, GAO F, et al. Study on the interaction between 3 flavonoid compounds and *α*-amylase by fluorescence spectroscopy and enzymatic kinetics[J]. Journal of Food Science, 2009, 74(3): C199−C203.

[45] SHEN H Y, WANG J, AO J F, et al. Structure-activity relationships and the underlying mechanism of *α*-amylase inhibition by hyperoside and quercetin: Multi-spectroscopy and molecular docking analyses[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, 285: 121797.

[46] ZHANG B W, LI X, SUN W L, et al. Dietary flavonoids and acarbose synergistically inhibit *α*-glucosidase and lower postprandial blood glucose[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(38): 8319−8330.

[47] ZHANG B W, XING Y, WEN C, et al. Pentacyclic triterpenes as *α*-glucosidase and *α*-amylase inhibitors: Structure-activity relationships and the synergism with acarbose[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2017, 27(22): 5065−5070.

[48] UMBERTO L, MARILISAA A, BARBARA F, et al. Investigating the hypoglycaemic potential of processed apple and acarbose combination *in vitro*, *ex vivo*, and *in vivo*: The role of quercetin-3-glucoside in steering *α*-glucosidase inhibition[J]. Food & Function, 2025, 16: 1772−1780.

[49] PROENCA C, FREITAS M, RICEIRO D, et al. The dipeptidyl peptidase-4 inhibitory effect of flavonoids is hindered in protein rich environments[J]. Food & Function, 2019, 10(9): 5718−5731.

[50] GRUSSU D, STEWART D, McDOUGALL J. Berry polyphenols inhibit *α*-amylase *in vitro*: Identifying active components in rowanberry and raspberry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(6): 2324−2331.