

• 实验研究 •

## 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶的抑制作用

王昊<sup>1</sup>, 郝谜谜<sup>1</sup>, 刘园园<sup>1</sup>, 庄朋伟<sup>1</sup>, 李红艳<sup>2</sup>, 王艳<sup>1\*</sup>, 张艳军<sup>1\*</sup>

1. 天津中医药大学, 天津 300193
2. 天津嘉氏堂科技有限公司, 天津 300457

**摘要:** **目的** 研究氧化白藜芦醇对酪氨酸酶抑制的作用机制。**方法** 将 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸代替酪氨酸作为底物, HPLC 动态监测氧化白藜芦醇对酶催化生成多巴醌的影响; 将对苯醌代替多巴醌, HPLC 动态监测其对非酶催化生成多巴色素的影响; 分别以左旋酪氨酸和左旋多巴为底物, 在 pH 6.8 的磷酸盐缓冲体系反应后测定 475 nm 吸光度值, 研究氧化白藜芦醇对酪氨酸酶催化反应进程和酶活性抑制的影响, 计算酶的抑制动力学参数。**结果** 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶催化过程有抑制作用, 对非酶催化过程有促进作用。对酪氨酸酶单酚酶、二酚酶均有抑制作用, 半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)分别为 2.48 μmol/L、0.020 mmol/L。**结论** 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶的抑制类型为可逆抑制中的非竞争性抑制。

**关键词:** 氧化白藜芦醇; 酪氨酸酶; 酶动力学; 抑制作用

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2018)04-0717-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.04.001

## Inhibitory effect of oxyresveratrol for tyrosinase

WANG Hao<sup>1</sup>, HAO Mi-mi<sup>1</sup>, LIU Yuan-yuan<sup>1</sup>, ZHUANG Peng-wei<sup>1</sup>, LI Hong-yan<sup>2</sup>, WANG Yan<sup>1</sup>, ZHANG Yan-jun<sup>1</sup>

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
2. Tianjin Joystar Technology Co., Ltd., Tianjin 300457, China

**Abstract: Objective** To explore the inhibitory mechanism of oxyresveratrol on tyrosinase. **Methods** Using *N*-acetyl-*L*-tyrosine as a substrate instead of tyrosinase to block nonenzymatic process, the effect of oxyresveratrol on tyrosinase involving dopaquinone enzyme catalyzed reaction process was studied with HPLC dynamic monitoring analysis. Using *p*-benzoquinone as a substrate instead of dopaquinone, the effect of oxyresveratrol on the tyrosinase involving dopachrome nonenzyme catalyzed reaction process was studied with HPLC dynamic monitoring analysis. Using *L*-tyrosine and *L*-dopa as substrate, absorbance was measured at 475 nm after reacted in phosphate buffer solution (pH 6.8). The effect of oxyresveratrol on the catalytic reaction of tyrosinase and inhibition of enzyme activity were studied, and kinetic parameters of enzyme inhibition were calculated. **Results** Oxyresveratrol can inhibit the catalytic process of tyrosinase. Oxyresveratrol could efficiently inhibit monophenolase and diphenolase activity of tyrosinase, and their half inhibitory concentrations were 2.48 μmol/L and 0.020 mmol/L. **Conclusion** The inhibitory type of oxyresveratrol on tyrosinase is a non competitive inhibition in reversible inhibition.

**Key words:** oxyresveratrol; tyrosinase; enzyme kinetics; inhibition mechanism

氧化白藜芦醇是一种天然酚类化合物, 又称为 4-[(*E*)-2-(3,5-二羟基苯基)乙烯基]苯-1,3-二醇, 是白藜芦醇的羟化衍生物, 主要来源于如桑科、百合科、桃金娘科、买麻藤科等植物<sup>[1-4]</sup>。近年来氧化白藜芦

醇广泛的药理活性逐渐被发现, 其中就包括抑制酪氨酸酶活性<sup>[6-7]</sup>、皮肤色素沉着<sup>[8-9]</sup>等作用。化合物抑制酪氨酸酶的类型主要有可逆和不可逆抑制, 其中可逆抑制又可以细分为竞争性、非竞争性、反竞争

收稿日期: 2018-01-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81602773)

作者简介: 王昊, 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向为中药学。Tel: 13920000655 E-mail: 13920000655@139.com

\*通信作者 张艳军, 教授, 医学博士, 研究方向为中药新药研发。Tel: 18622988818 E-mail: zyjsunye@163.com

王艳, 副教授, 医学博士, 研究方向为中药新药研发。Tel: 13323497398 E-mail: paozhijiaoxue@126.com

性和混合型 4 种抑制类型<sup>[10]</sup>。不同类型抑制剂对酪氨酸酶的抑制机制不同,而氧化白藜芦醇抑制酪氨酸酶的类型鲜见报道。因此本实验对氧化白藜芦醇抑制酪氨酸酶的机制进行研究,为氧化白藜芦醇作为酪氨酸酶抑制剂的深入研究和开发美白祛斑产品提供参考。

## 1 材料

HHS 型电热恒温水浴锅(天津市华北实验仪器有限公司);BP121S 精密分析天平(瑞士托雷斯);LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);Alpha-1900S 紫外可见分光光度计(上海谱元仪器有限公司);FA1004 型万分之一分析天平(上海精密科学仪器有限公司);KQ-300B 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);Infinite 200 PRO 多功能微孔板检测仪(上海肯帝贸易有限公司);微孔板振荡器(STS-2 型脱色摇床,上海亚荣生化仪器厂)。

*N*-乙酰-*L*-酪氨酸(质量分数 $\geq 98\%$ ,批号 2221)、对苯醌(质量分数 $\geq 99\%$ ,批号 P1105418)均购自阿达玛斯试剂有限公司;氧化白藜芦醇(质量分数 98%,陕西康盛生物技术有限公司,批号 100401);酪氨酸酶(比活力 25 kU/mL,上海拜力生物科技有限公司,批号 33K14431);左旋酪氨酸(质量分数 $\geq 99\%$ ,上海宝曼生物科技有限公司);左旋多巴(质量分数 98%,北京索莱宝科技有限公司,批号 L8220);二甲基亚砜等其他试剂均为分析纯(天津康科德技术有限公司);蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 供试液的配制

**2.1.1 磷酸缓冲溶液** 精密量取 0.2 mol/L 磷酸二氢钾溶液 250 mL,加 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液 118 mL,蒸馏水定容至 1 L 量瓶中,摇匀,即得 pH 6.8 磷酸缓冲溶液(PBS)。精密称定磷酸氢二钾 5.59 g、磷酸二氢钾 0.41 g,蒸馏水定容至 1 L 量瓶中,摇匀,即得 pH 8.0 PBS 溶液,于 0~4 °C 保存备用。

**2.1.2 酪氨酸酶溶液** 用 pH 6.8 PBS 定容 100 kU 酪氨酸酶至 250 mL 量瓶中,即得 400 U/mL 酪氨酸酶溶液,于 -20 °C 保存备用。

**2.1.3 氧化白藜芦醇溶液** 精密称定一定量氧化白藜芦醇,溶解于 PBS-DMSO 溶液(9:1),配成一系列质量浓度的溶液。

**2.1.4 左旋酪氨酸和左旋多巴溶液** 精密称定左旋酪氨酸 5.4 mg,加入 2%稀盐酸 220  $\mu$ L 溶解,并用 pH 8.0 PBS 溶液稀释到 10 mL,配制成 2.98

mmol/L 左旋酪氨酸溶液。精密称定左旋多巴 10 mg,加 0.2%稀盐酸 220  $\mu$ L 溶解,并用 pH 8.0 PBS 溶液稀释到 10 mL,制成 5.1 mmol/L 左旋多巴溶液。

**2.1.5 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸对照品储备液** 精密称定 10 mg *N*-乙酰-*L*-酪氨酸粉末,用 pH 6.8 PBS 定容至 10 mL,备用。

**2.1.6 对苯醌对照品储备液** 精密称定 10 mg 对苯醌,用 pH 6.8 PBS 定容至 10 mL,备用。

### 2.2 氧化白藜芦醇对多巴色素形成的影响

根据预试验,左旋酪氨酸(2.4 mL, 2.98 mmol/L)在 30 °C 保温 5 min 后,加入 PBS(800  $\mu$ L, pH 6.8)/氧化白藜芦醇溶液(8  $\mu$ mol/L)和酪氨酸酶溶液(800  $\mu$ L, 200 U/mL)。恒温条件下,在紫外-可见光波长范围 250~600 nm 扫描,扫描时间为 12 min,扫描频率为 2 min<sup>[11]</sup>。紫外-可见光谱见图 1。可见 12 min 内,空白溶液中酪氨酸酶不断催化左旋酪氨酸形成多巴醌和多巴色素。氧化白藜芦醇溶液(8  $\mu$ mol/L)中,随着时间延长,多巴醌和多巴色素含量增加,但反应速度明显变慢,提示氧化白藜芦醇对多巴色素的形成有抑制作用。

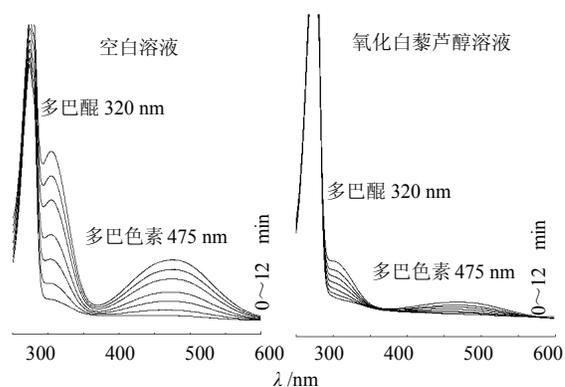


图 1 酪氨酸酶催化酪氨酸反应的时间-紫外-可见光谱  
Fig. 1 UV-Vis spectroscopy of tyrosinase catalyzed tyrosine reactions with time

### 2.3 氧化白藜芦醇对多巴色素产生的酶催化过程的影响

**2.3.1 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸溶液的制备** 取 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸对照品储备液,分别加入适量 PBS(pH 6.8),得到一系列 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸溶液。

**2.3.2 色谱条件<sup>[6]</sup>** Thermo ODS Hypersil 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m),流动相为磷酸水(pH 2.5)-乙腈(85:15),检测波长 275 nm,柱温 30 °C,进样量 5  $\mu$ L,体积流量 1 mL/min。

**2.3.3 回归方程的制备** 以质量浓度为横坐标,峰

面积为纵坐标, 进行线性回归, 得到回归方程  $Y=1\ 596\ 615.769\ 1 X+9\ 056.649\ 8$ ,  $R^2=0.999\ 7$ , 结果在  $0.025\sim 1\ \text{mg/mL}$  线性关系良好。

**2.3.4 测定** 水系针头式过滤器 ( $0.22\ \mu\text{m}$ ) 滤过所有的溶液。根据预试验, 测活体系为  $800\ \mu\text{L}$ : 将 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸溶液  $640\ \mu\text{L}$  与 pH 6.8 PBS/氧化白藜芦醇溶液 ( $0.1\ \mu\text{mol/L}$ )  $80\ \mu\text{L}$  混匀后,  $30\ ^\circ\text{C}$  保温 5 min, 加入  $80\ \mu\text{L}$  酪氨酸酶溶液混匀,  $0\sim 60\ \text{min}$  内, 10 min 取  $5\ \mu\text{L}$  混合溶液, 检测含量变化。结果见图 2。可见不加入氧化白藜芦醇, 只加入 PBS 溶液,  $0\sim 60\ \text{min}$  *N*-乙酰-*L*-酪氨酸由  $0.29\ \text{mg/mL}$  下降到  $0.12\ \text{mg/mL}$ , 说明反应体系中酪氨酸酶催化了 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸, 发生了转化。而加入氧化白藜芦醇后,  $0\sim 60\ \text{min}$  内 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸终浓度不变, 依然为  $0.31\ \text{mg/mL}$ , 说明反应体系中 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸含量基本没有变化。表明氧化白藜芦醇能够抑制酶催化生成多巴醌, 是酪氨酸酶的抑制剂。

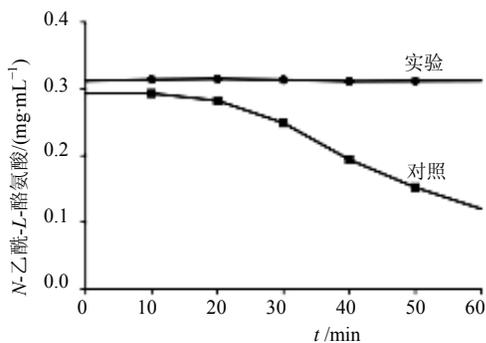


图 2 酶催化过程中 *N*-乙酰-*L*-酪氨酸的变化  
Fig. 2 Changes of *N*-acetyl-*L*-tyrosine in enzyme catalyzed process

**2.4 氧化白藜芦醇对多巴色素产生非酶催化过程的影响**

**2.4.1 对苯醌溶液的制备** 取对照品储备液, 分别加入 PBS (pH 6.8), 得到一系列对苯醌溶液。

**2.4.2 色谱条件**<sup>[6]</sup> Thermo ODS Hypersil 色谱柱 ( $250\ \text{mm}\times 4.6\ \text{mm}$ ,  $5\ \mu\text{m}$ ), 流动相乙腈-0.4%醋酸水 (10:90), 检测波长  $245\ \text{nm}$ , 柱温  $35\ ^\circ\text{C}$ , 进样量  $10\ \mu\text{L}$ , 体积流量  $1\ \text{mL/min}$ 。

**2.4.3 回归方程的制备** 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得到回归方程  $Y=29\ 925\ 836.376\ 6 X-98\ 320.990\ 0$ ,  $R^2=0.999\ 3$ , 结果在  $0.000\ 8\sim 0.11\ \text{mg/mL}$  线性关系良好。

**2.4.4 测定** 水系针头式过滤器 ( $0.22\ \mu\text{m}$ ) 滤过所有的溶液。根据预试验, 测活体系为  $420\ \mu\text{L}$ : 将对

苯醌溶液  $200\ \mu\text{L}$  与 pH 6.8 的 PBS/氧化白藜芦醇溶液 ( $0.1\ \mu\text{mol/L}$ )  $200\ \mu\text{L}$  混匀后, 立即加入  $20\ \mu\text{L}$  多巴溶液混匀,  $0\sim 30\ \text{min}$  内, 10 min 取  $10\ \mu\text{L}$  混合溶液, 检测含量变化。结果见图 3。可见不加入抑制剂,  $0\sim 30\ \text{min}$  内, 对苯醌由  $0.12\ \text{mg/mL}$  下降到  $0.03\ \text{mg/mL}$ , 说明反应体系中对苯醌发生了转化。加入抑制剂后, 在  $0\sim 30\ \text{min}$  内对苯醌浓度由  $0.12\ \text{mg/mL}$  下降到  $0.03\ \text{mg/mL}$ , 与空白变化一样, 这表明氧化白藜芦醇的加入对非酶催化没有影响。

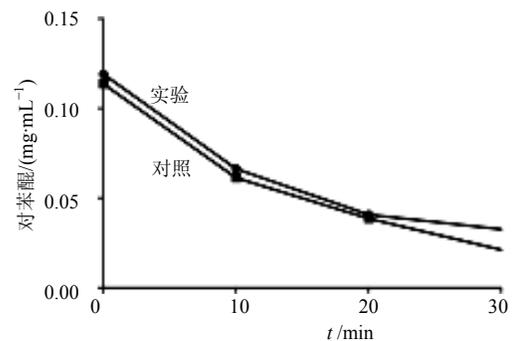


图 3 非酶催化过程中对苯醌的变化  
Fig. 3 Changes of *p*-benzoquinone in the non enzyme catalyzed process

**2.5 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶的影响**

将  $30\ ^\circ\text{C}$  预保温的氧化白藜芦醇溶液 ( $0.1\ \mu\text{mol/L}$ )  $200\ \mu\text{L}$  与酶液 ( $400\ \text{U/mL}$ )  $800\ \mu\text{L}$  混匀, 在  $0\sim 40\ \text{min}$  采用 HPLC 法检测混合溶液中的氧化白藜芦醇浓度的变化, 来监测酪氨酸酶是否会对加入的样品产生影响。结果见图 4。结果氧化白藜芦醇含量没有变化, 说明药物与酶并不发生任何作用。

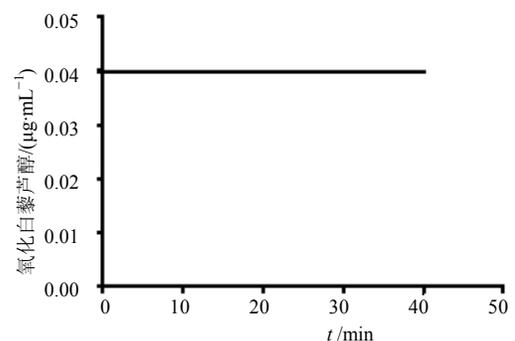


图 4 酪氨酸酶对氧化白藜芦醇的影响  
Fig. 4 Effect of tyrosinase on contents of oxyresveratrol

**2.6 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶单酚酶活性的抑制作用**

左旋酪氨酸溶液 ( $2.98\ \text{mmol/L}$ ,  $40\ \mu\text{L}$ ) 为底物, 将样品分别配制成  $2$ 、 $4$ 、 $6$ 、 $8$ 、 $10\ \mu\text{mol/L}$  的

溶液，加样 40 μL 于 96 孔板。37 °C 水浴 10 min，每孔加入 40 μL 活力为 200 U/mL 的酪氨酸酶，各反应体系用 PBS 缓冲液补至 200 μL。室温避光下混匀水浴 20 min，迅速置于多功能微孔板检测仪中，测定 475 nm 处吸光度 (*A*) 值，计算抑制率<sup>[12]</sup>。重复上述操作，平行测定 3 次。用 SPSS17.0 软件计算半抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 值。结果见表 1，样品的 IC<sub>50</sub> 为 2.48 μmol/L

$$\text{抑制率} = \frac{(A_{\text{空白 } 20 \text{ min}} - A_{\text{空白 } 0 \text{ min}}) - (A_{\text{样品 } 20 \text{ min}} - A_{\text{样品 } 0 \text{ min}})}{(A_{\text{空白 } 20 \text{ min}} - A_{\text{空白 } 0 \text{ min}})}$$

*A*<sub>空白 20 min</sub> 为空白溶液在 20 min、475 nm 处的吸光度值；*A*<sub>空白 0 min</sub> 为空白溶液在 0 min、475 nm 处的吸光度值；*A*<sub>样品 20 min</sub> 为空白溶液在 20 min、475 nm 处的吸光度值；*A*<sub>样品 0 min</sub> 为空白溶液在 0 min、475 nm 处的吸光度值

**表 1 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶单酚酶活性的抑制作用**  
**Table 1 Inhibition of oxyresveratrol on activities of tyrosinase monophenolase**

氧化白藜芦醇/(μmol·L <sup>-1</sup> )	抑制率/%
2	40.05 ± 0.14
4	71.77 ± 0.09
6	81.83 ± 0.04
8	89.38 ± 0.04
10	92.78 ± 0.03

**2.7 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶二酚酶活性的抑制作用**

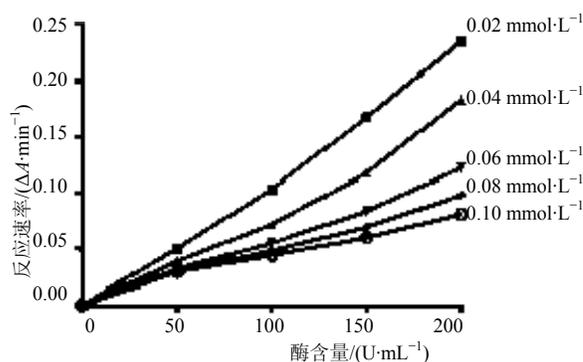
左旋多巴溶液 (5.1 mmol/L, 40 μL) 为底物，将样品分别配制成 0.005、0.010、0.020、0.040、0.060 mmol/L 的溶液，加样 40 μL 于 96 孔板。37 °C 水浴 10 min，每孔加入 40 μL 活力为 100 U/mL 的酪氨酸酶，各反应体系用 PBS 缓冲液补至 200 μL。室温避光下混匀水浴 20 min，迅速置于多功能微孔板检测仪中，测定 475 nm 处 *A* 值，计算抑制率<sup>[12]</sup>。重复上述操作，平行测定 3 次，采用 SPSS 软件计算 IC<sub>50</sub> 值，结果见表 2。样品的 IC<sub>50</sub> 为 0.020 mmol/L。

**2.8 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶活力的抑制作用**

固定底物左旋多巴的浓度 5.1 mmol/L，改变酶的酶含量 (50、100、150、200 U/mL) 和氧化白藜芦醇溶液的浓度 (0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mmol/L)，测定 475 nm 处吸光度 *A* 值<sup>[13]</sup>，结果见图 5。可见反应速率对酶量作图得到一组通过原点的直线，并且随着测活体系中抑制剂浓度的增加，直线的斜率下降，说明抑制剂对酶作用属于可逆得抑制过程<sup>[14]</sup>。

**表 2 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶二酚酶活性的抑制作用**  
**Table 2 Inhibition of oxyresveratrol on activities of tyrosinase diphenolase**

氧化白藜芦醇/(mmol·L <sup>-1</sup> )	抑制率/%
0.005	25.700 ± 0.087
0.010	35.350 ± 0.073
0.020	50.160 ± 0.031
0.040	63.260 ± 0.004
0.060	72.300 ± 0.020

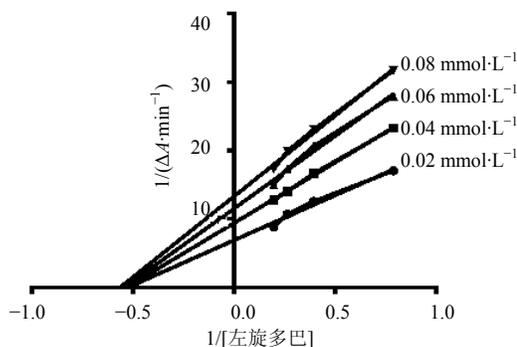


**图 5 不同浓度氧化白藜芦醇存在下酪氨酸酶用量与酶活力的关系**

**Fig. 5 Relationship between tyrosinase activity and enzyme activity under various concentrations of oxyresveratrol**

**2.9 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶二酚酶活性的抑制常数测定**

固定酶的浓度，改变底物左旋多巴的浓度，测定不同浓度样品对酶活力的影响<sup>[13]</sup>。采用 Lineweaver-Burk 即双倒数作图法<sup>[11]</sup>。结果见图 6。



**图 6 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶催化左旋多巴抑制作用的 Lineweaver-Burk 曲线**

**Fig. 6 Lineweaver-Burk plots of inhibitory effect of oxyresveratrol on L-dopa catalyzed by tyrosinase**

可以看出,随着抑制剂浓度增加,这组直线的纵截距  $1/V_{max}$  变大,各直线的斜率  $K_m/V_{max}$  变大,横截距则随着抑制剂浓度的增加而不变。说明最大反应速度  $V_{max}$  随着抑制剂浓度的增加而变小。当  $K_m=1.9$  时,随着抑制剂浓度的增大而不变,符合非竞争型抑制类型的特征<sup>[14]</sup>,见表 3。因此判断氧化白藜芦醇对酪氨酸酶的抑制类型为可逆抑制中的非竞争性抑制。

表 3 氧化白藜芦醇对酪氨酸酶二酚酶的动力学参数  
Table 3 Kinetic parameters of inhibition of diphenolase by oxyresveratrol

C/(mmol·L <sup>-1</sup> )	方程	K <sub>m</sub> /(mmol·L <sup>-1</sup> )	V <sub>max</sub>
0.02	Y=13.16 X+6.717	1.9	0.15
0.04	Y=17.69 X+9.318	1.9	0.11
0.06	Y=21.26 X+11.24	1.9	0.09
0.08	Y=23.60 X+13.13	1.9	0.08

### 3 讨论

黑素生成是黑色素细胞在皮肤和毛囊中通过酪氨酸酶、TRP-1 和 TRP-2 等多种酶催化介导的黑色素生产过程。酪氨酸酶是黑色素的合成的关键限速酶,主要影响合成的开始两步:(1)单酚氧化酶活性:催化酪氨酸羟基化生成多巴;(2)二酚氧化酶活性:催化多巴氧化生成多巴醌。因此其抑制剂能够应用在美容产品、食品护色剂等方面。然而,由于细胞毒性、选择性、溶解性和稳定性等原因,仅有很少的抑制剂能够使用。氧化白藜芦醇是二苯乙烯类化合物<sup>[15]</sup>,相比于其他合成化合物更适于研制开发为抗黑素生成药物。

本实验中,多巴醌和多巴色素含量随着时间延长增加,但反应速度明显变慢,证明氧化白藜芦醇对多巴色素的形成有抑制作用。根据黑色素合成的酶和非酶催化过程,将 N-乙酰-L-酪氨酸和对苯醌替代酪氨酸和多巴醌为底物,模拟构建酪氨酸生成多巴醌的酶催化过程和多巴醌转变为多巴色素的非酶催化过程。加入氧化白藜芦醇后,0~60 min 内 N-乙酰-L-酪氨酸的含量不变,说明氧化白藜芦醇对酪氨酸酶催化生成多巴醌的过程有抑制作用,是酪氨酸酶抑制剂;模拟构建的非酶催化步骤,在 0~30 min 内对苯醌浓度由 0.12 mg/mL 下降到 0.03 mg/mL,与空白变化一样,表明氧化白藜芦醇的加入对非酶催化这一步没有影响;且氧化白藜芦醇与酪氨酸酶并不发生任何作用。

进一步研究酪氨酸酶催化黑色素合成开始两步的催化活性,分别以左旋酪氨酸和左旋多巴为底物,研究氧化白藜芦醇对酪氨酸酶催化反应进程和酶活性抑制的影响,计算酶的抑制动力学参数。氧化白藜芦醇对酪氨酸酶单酚酶和二酚酶均有抑制作用,半抑制浓度 IC<sub>50</sub> 分别为 2.48 μmol/L、0.020 mmol/L;且随着抑制剂浓度的增加, V<sub>max</sub> 变小, K<sub>m</sub>=1.9 时,其对酪氨酸酶二酚酶活性的抑制作用表现为可逆抑制类型中的非竞争性抑制。氧化白藜芦醇和酪氨酸分别作为抑制剂和底物结合酪氨酸酶的活性中心和其他部位,氧化白藜芦醇和酪氨酸结合酪氨酸酶没有竞争,互不影响。Satooka 等<sup>[16]</sup>研究发现白藜芦醇通过 K (CAT) 专一型不可逆抑制抑制酪氨酸酶的单酚酶活性。

综合本实验研究结果及文献报道分析,氧化白藜芦醇是酪氨酸酶的抑制剂,具有开发成天然酪氨酸酶抑制剂的潜力。虽含有大量酚羟基,氧化白藜芦醇却不是因与酪氨酸酶催化的底物存在类似的结构,竞争性抑制酶的活性。与其同系物白藜芦醇抑制酪氨酸酶生成黑色素的机制也并不相同。且二苯乙烯类化合物对外界物质如空气、光和氧化酶的敏感性严重影响其生物利用度<sup>[15]</sup>。Park 等<sup>[9]</sup>研究发现氧化白藜芦醇在溶液中,特别是在光照下时易发生氧化变色。同时,黑素生成涉及一系列复杂的酶和化学催化反应<sup>[17]</sup>。国内外研究者将体内黑素生成信号通路抑制剂和其他关键指标引入评价机制<sup>[18-19]</sup>。除了抑制酪氨酸酶活性外,氧化白藜芦醇是否通过其他途径阻止黑色素的合成、积累,是否抑制 MITF 等主要转录因子表达,是否通过多种细胞信号网络调控黑素细胞分化、代谢、增殖、转移,以及氧化白藜芦醇与白藜芦醇的抗黑素生成是否有协同机制,两者如何使用在化妆品中使用等问题有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 熊斯,周晋,唐敏,等. 桑中氧化白藜芦醇的研究进展 [J]. 中医药导报, 2017, 23(12): 101-104.
- [2] 魏小翊,周晋,李顺祥,等. 氧化白藜芦醇(昔)的植物资源分布及药用价值的研究进展 [J]. 科技导报, 2011, 29(30): 63-67.
- [3] Povichit N, Phrutivorapongkul A, Suttajit M, et al. Antiglycation and antioxidant activities of oxyresveratrol extracted from the heartwood of *Artocarpus lakoocha* Roxb [J]. Maejo Int J Sci Technol, 2010, 4(3): 454-461.

- [4] 刘果, 杜洁, 刘飞, 等. 桑根氧化白藜芦醇的分离、稳态化包埋及其酪氨酸酶活性抑制作用研究 [J]. 现代食品科技, 2015, 31(4): 217-211.
- [5] 黄玥, 熊尧, 周黎明. 氧化白藜芦醇体内外抑制肝癌细胞增殖的研究 [J]. 中药药理与临床, 2015, (3): 34-37.
- [6] Satooka H, Kubo I. Effects of thymol on mushroom tyrosinase-catalyzed melanin formation [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(16): 8909-8914.
- [7] Kitisripanya T, Inyai C, Krittanai S, *et al*. A monoclonal antibody-based immunoassay for the determination of oxyresveratrol from *Artocarpus lacucha* Buch.-Ham [J]. *J Nat Med*, 2017, 80(1): 602-607.
- [8] Kuk E B, Jo A R, Oh S I, *et al*. Anti-Alzheimer's disease activity of compounds from the root bark of *Morus alba* L [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2017, 40(3): 338-349.
- [9] Park J, Park J H, Suh H J, *et al*. Effects of resveratrol, oxyresveratrol, and their acetylated derivatives on cellular melanogenesis [J]. *Arch Dermatol Res*, 2014, 306(5): 475-487.
- [10] 陈清西, 林建峰, 宋康康. 酪氨酸酶抑制剂的研究进展 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2007, 46(2): 274-282.
- [11] 刘先明. 桑树枝条桑皮苷 A 的制备及其抑制酪氨酸酶的机理 [D]. 苏州: 苏州大学, 2012.
- [12] Choi H K, Lim Y S, Kim Y S, *et al*. Free-radical-scavenging and tyrosinase-inhibition activities of Cheonggukjang samples fermented for various times [J]. *Food Chem*, 2008, 106(2): 564-568.
- [13] 龚盛昭, 邓相庆, 李仕梅. 对羟基肉桂酸抑制酪氨酸酶活性的动力学研究 [J]. 日用化学工业, 2006, 36(3): 159-162.
- [14] 骆从艳, 慕春海, 王园姬, 等. 光甘草定抑制酪氨酸酶及体外抗氧化活性的研究 [J]. 中药材, 2010, 33(11): 1776-1780.
- [15] Silva F, Figueiras A, Gallardo E, *et al*. Strategies to improve the solubility and stability of stilbene antioxidants: A comparative study between cyclodextrins and bile acids [J]. *Food Chem*, 2014, 145: 115-125.
- [16] Satooka H, Kubo I. Resveratrol as a kcat type inhibitor for tyrosinase: Potentiated melanogenesis inhibitor [J]. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20(2): 1090-1099.
- [17] Bonaventure J, Domingues M J, Larue L. Cellular and molecular mechanisms controlling the migration of melanocytes and melanoma cells [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2013, 26 (3): 316-325.
- [18] Kim D S, Cha S B, Park M C, *et al*. Scopoletin stimulates melanogenesis via cAMP/PKA pathway and partially p38 activation [J]. *Bio Pharm Bull*, 2017, 40(12): 2068-2074.
- [19] Jeon S, Hwang W, Hong Y, *et al*. Inhibitory effects of *Hericium erinaceus* extracts on melanin synthesis and oxidative stress [J]. *Asian J Beauty Cosmetol*, 2016, 14(4): 427-435.