

中药对酪氨酸酶活性的影响

闫 军

(济南市皮肤病防治院, 山东 济南 250001)

摘 要: 酪氨酸酶是皮肤黑色素生物合成的关键酶, 限速酶, 其活性与某些色素障碍性皮肤病有关。综述了中药对酪氨酸酶活性的影响研究现状。

关键词: 中药; 酪氨酸酶; 黑色素

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)04-0378-03

Effects of TCM on tyrosinase activity

YAN Jun

(Ji nan Hospital of Skin Diseases Prevention and Treatment, Ji nan Shandong 250001, China)

Key words TCM; tyrosinase; melanin

酪氨酸酶 (tyrosinase) 是皮肤黑色素生物合成的关键酶^[1], 不仅决定黑色素合成的速率, 还是黑色素细胞分化成熟的特征性标志^[2]。酪氨酸酶是一种含铜的金属酶, 每个亚基含 2 个金属铜离子, 2 个铜离子分别与蛋白质分子中组氨酸结合, 另有 1 个内源桥基将 2 个铜离子联系在一起, 构成酪氨酸酶催化氧化反应活性中心。酪氨酸等物质与酶形成过渡态络合物时, 主要是羟基与酶的活性中心上的原子键合而发生作用^[3]。

1 中药对酪氨酸酶的作用

1.1 激活作用: 酪氨酸酶的活性与黑色素合成量相关, 控制其活力即可控制黑色素生成量^[4]。已知白癜风患者的酪氨酸酶活性降低; 抑制酪氨酸酶的活性可治疗黄褐斑。中药对酪氨酸酶活性的影响, 可作为治疗某些色素障碍性皮肤病的一个指标。单味中药补骨脂、桃仁、玉竹等能有明显提高酪氨酸酶活性, 使黑色素生成的速度与数量增加^[5-7]。补骨脂中的提取物 8-甲氧补骨脂素 (8-MOP) 是一种呋喃香豆素类光敏物, 内服或外用结合长波紫外线照射 (PUVA) 能使白癜风色素减退, 皮损复色, 50 或 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 8-MOP 处理 B16F10 细胞 48 h 后, 其树状突明显增多延长, 胞浆内出现较多的棕褐色颗粒; 并能浓度依赖性提高酪氨酸酶活性和黑色素含量^[8]。许爱娥等^[9]测定 48 味常用中药对酪氨酸酶的活性, 结果有 13 味对酪氨酸酶有激活作用, 按作用强弱依次为墨旱莲、无花果、牡丹皮、沙苑子、蛇床子、补骨脂、地肤子、桃仁、白鲜皮、白术、紫草、肉桂、白芍。前 6 种是治疗白癜风的常用药。刘之力等^[10]通过拆方分析, 从文献报道的治疗白癜风常用中药中选出 56 味, 测定其乙醇提取物对酪氨酸酶活性的影响, 结果鸡血藤、夏枯草、女贞子、薄荷、沙苑子、生姜、墨旱莲、黄芩、泽兰、甘草、毛慈菇、白鲜皮、独活、苦参、黑芝麻、紫苏叶、蒺藜、何首乌、紫荆皮、桃仁、白芨、北沙参、菟丝子、大

芩、紫苏梗、补骨脂、茵陈 27 味中药对酪氨酸酶有激活作用, 其中前 11 味对酪氨酸酶的激活率与可激活酪氨酸酶活性的单体化合物补骨脂素无统计学差异 ($P > 0.05$)。还测定了 19 味中药和补骨脂素的酶动力学曲线, 7 种对酪氨酸酶具有竞争性激活作用, 6 种具有非竞争性激活作用, 7 种具有混合型激活作用。雷铁池等^[11]对中医治疗白癜风的 74 首方剂进行计算机拆方排序, 筛选出中药 89 味, 观察这些中药乙醇提取物对蘑菇酪氨酸酶和无细胞系统多巴色素自动氧化生成黑色素量的影响。结果显示赤芍、川芎、黄芩、女贞子、乌梅、降香、茵陈、蒺藜、白鲜皮、菟丝子、无花果叶、补骨脂、薄荷、丹参、羌活、蛇床子、川乌、地肤子、夏枯草 19 味中药对酪氨酸酶活性呈剂量依赖性激活。其中前 6 味对酪氨酸酶活性激活率与单体化合物补骨脂素无统计学差异 ($P > 0.05$)。已证实赤芍、川芎、菟丝子、补骨脂、蒺藜等 5 味上调酪氨酸酶活性的中药乙醇提取液对棕黄色豚鼠背部皮肤有增色作用^[12]。

1.2 抑制作用: 酪氨酸酶具有多种特征性催化活性, 既可作为酪氨酸羟化酶、多巴氧化酶, 又可作为 5, 6-二羟基吲哚氧化酶, 在黑色素生成过程中起着至关重要的作用^[13]。国内外学者常利用抑制酪氨酸酶活性试验, 研究筛选治疗皮肤色素沉着症的药物, 并将一些酪氨酸酶抑制剂应用到增白美容化妆品中。1988 年日本学者 Akiu 等从杜鹃花科植物熊果 *Arc-tostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. 的叶中分离到一种具有脱色作用的单体物质熊果苷 (arbutin), 自此从微生物和植物药中分离天然酪氨酸酶抑制剂引起人们的兴趣。熊果苷是氢醌的一种天然存在形式, 氢醌 β -D-葡萄糖吡喃糖苷 (hydro-quinone- β -D-glucopyranoside) 其脱色作用推测可能与分子结构中存在的氢醌基团有关。通过比较观察 18 α -甘草酸双胺盐、熊果苷及氢醌对体外培养 B16F10 鼠黑色素瘤细胞形态、酪氨酸酶活性、黑色素含量和细胞增殖率的影响, 结果 3 种化

* 收稿日期: 2001-09-10

作者简介: 闫 军 (1972-), 男, 山东济南人, 主管药师, 学士, 主要从事临床药学, 制剂开发研究, 主持完成科研成果 1 项, 发表研究论文 10 篇。 Tel (0531) 7931386 E-mail yjs@sohu.com

合物均显示有抑制黑素生成的作用,其中以 $50\mu\text{mol/L}$ 熊果苷对酪氨酸酶活性和黑素含量抑制作用最为明显,其次是 $100\mu\text{mol/L}$ 18-甘草酸双胺盐,但二者并无统计学上的差异 ($P > 0.05$)^[14]。黄芩素诱导体是多羟基黄酮化合物,对酪氨酸酶的抑制作用是竞争性抑制,其 K_i 为 0.058mmol/L 。清除作用和作为竞争性底物是黄芩诱导体竞争性抑制酪氨酸酶的两个重要机制^[15]。

尚靖等^[16]证明 7 种具有增白作用的中药对酪氨酸酶均有不同程度的抑制作用,其中茯苓、白鲜皮、蒺藜有显著抑制作用,茯苓、白鲜皮为竞争性抑制,蒺藜为混合性抑制,三者皆为可逆性抑制。王建华等^[17]测定了芦荟、熟地黄、当归、玉竹、白茅根、天花粉、五味子、桔梗、虎杖、薏苡仁、黄精、淫羊藿、胖大海、辛夷、苍术、桃仁、灵芝、川芎、白芍、决明子 20 味中药乙醇提取物对酪氨酸酶的抑制活性,除决明子外,对酪氨酸酶均呈现不同程度的抑制作用,其中以芦荟、熟地与当归的抑制作用较强。雷铁池等^[18]对中医治疗色素增加性皮肤病方剂 69 首进行计算机折方排序,选出高频次出现中药 82 味,观察这些中药乙醇提取物对蘑菇酪氨酸酶和无细胞系统多巴色素自动氧化生成黑素量的影响。结果显示白术、白僵蚕、藁本、白芨、白附子、沙苑子、六月雪、柿叶、柴胡、香附 11 味中药乙醇提取物对酪氨酸酶活性和黑素生成量呈剂量依赖性抑制,其中前 9 味对酪氨酸酶活性抑制率与单体化合物熊果苷无统计学差异 ($P > 0.05$)。

1.3 双相作用:除以上对酪氨酸酶有激活或抑制作用的中药外,还有部分中药对酪氨酸酶呈双相作用,对酶活性在高浓度时抑制,低浓度时激活的有 10 味:茯苓、甘草、白芍、细辛、苍术、商陆、桂枝、北沙参、防风、萆薢;在高浓度时激活,低浓度时抑制的有 5 味:白芷、生地黄、骨碎补、乳香、紫草^[11,18]。

2 复方中药对酪氨酸酶的影响

通过计算机排序选定应用频率较高的治疗白癜风中药方剂白驳片(紫草、降香、重楼、白药子、白薇、苍术、海螵蛸、红花、生首乌、龙胆草、蒺藜、甘草),白癜丸(补骨脂、当归、地肤子、蒺藜),柴胡疏肝汤(川芎、当归、赤芍、生地黄、柴胡、黄芩、山栀子、天花粉、防风、牛蒡子、连翘、甘草),白蚀丸(红花、牡丹皮、紫草、苍术、蒺藜、龙胆草、甘草、补骨脂、何首乌、丹参、灵芝),通窍活血汤(赤芍、川芎、桃仁、红花、生姜、老葱白、大枣、麝香)5 首和黄褐斑方剂六味地黄丸、逍遥丸、桃红四物汤、金匱肾气丸、补中益气汤 5 首,应用蘑菇酪氨酸酶多巴速率氧化法体外测定酪氨酸酶活性。结果白驳片、白癜丸、柴胡疏肝汤、白蚀丸使酪氨酸酶活性增高 ($P < 0.01$),黄褐斑方剂中六味地黄丸、补中益气汤使酪氨酸酶活性降低,桃红四物汤、逍遥丸使酪氨酸酶活性增高^[19,20]。大多数能上调酪氨酸酶活性的物质,在体外还呈现出一定的促黑素瘤细胞分化、增殖能力^[21]。复方中药对小鼠 B-16 黑素细胞株细胞增殖、黑素合成的影响,及其对细胞内酪氨酸酶的激活作用的研究发现,补肝肾为主的药物促进黑素细胞增殖和色素合成的能力高于光敏性或活血化淤药物,而光敏性药物对酶

激活能力较为稳定^[22]。

3 小结

中药处理过程中或多或少应用了乙醇,而乙醇对酪氨酸酶催化氧化左旋多巴反应呈可逆性抑制^[23],可能影响实验结果,应加以注意。除 8-MOP 熊果苷、黄芩素诱导体等少数几种为单体外,其余研究以单味中药为主。综上所述,中药治疗色素性皮肤病具有较为广阔的前景,但需进一步推进中药纯化及药理学研究的现代化进程。

致谢,承蒙山东省皮肤性病防治研究所赵天恩研究员,山东大学药学院张君仁教授审校、指导。

参考文献:

- [1] Kubo I, Yokokawa Y, Kinst-Hori I. Tyrosinase inhibitors from Bolivian medicinal plants [J]. J Nat Prod, 1995, 58 (5): 739-743.
- [2] Smith B, Selby P, Southgate J, *et al.* Detection of melanoma cells in peripheral blood by means of reverse transcriptase and polymerase chain reaction [J]. Lancet, 1991, 338 (8777): 1227-1229.
- [3] 曾伟成,郑能武. 苯甲酸钠对酪氨酸酶的抑制作用 [J]. 数理医药学杂志, 2000, 13(2): 161.
- [4] Iwata M, Corn T, Iwata S, *et al.* The relationship between tyrosinase activity and skin color in human foreskins [J]. J Invest Dermatol, 1990, 95 9-15.
- [5] 徐建国,尚靖. 补骨脂对酪氨酸酶的激活作用 [J]. 中草药, 1991, 22(4): 168-169.
- [6] 郑向宇,罗少华. 桃仁对酪氨酸酶激活作用的实验研究 [J]. 南京铁道医学院学报, 1996, 15(4): 257-258.
- [7] 罗少华,李新荣. 玉竹对酪氨酸酶激活的作用 [J]. 中国生化药物杂志, 1996, 17(1): 25-27.
- [8] 雷铁池,朱文元,夏明玉,等. 8-甲氧补骨脂素对小鼠黑素瘤细胞黑素生成的调节及相关信号转导研究 [J]. 中华皮肤科杂志, 1999, 32(2): 115-118.
- [9] 许爱娥,王遂泉,尉晓冬,等. 常用中药对酪氨酸酶的激活作用 [J]. 中华皮肤科杂志, 1998, 31(1): 48.
- [10] 刘之力,徐跃飞,涂彩霞,等. 56 味中药乙醇提取物对酪氨酸酶活性影响的研究 [J]. 大连医科大学学报, 2000, 22(1): 7-10.
- [11] 雷铁池,朱文元,夏明玉,等. 89 味中药乙醇提取物对酪氨酸酶活性的上调作用 [J]. 临床皮肤科杂志, 1999, 28(3): 147-149.
- [12] 李洪武,朱文元,夏明玉,等. 5 种上调酪氨酸酶活性中药乙醇提取物对棕黄色豚鼠背部皮肤的增色作用 [J]. 临床皮肤科杂志, 2001, 30(2): 69-71.
- [13] 雷铁池. 酪氨酸酶基因家族与皮肤黑素生成 [J]. 国外医学-皮肤性病学分册, 1998, 24(2): 81.
- [14] 雷铁池,朱文元,夏明玉,等. 甘草酸、熊果苷及氢醌对小鼠黑素瘤细胞黑素生成影响的比较研究 [J]. 临床皮肤科杂志, 2000, 29(2): 69-71.
- [15] 方治. 黄芩素诱导体抑制酪氨酸酶作用的动力学研究 [J]. 中草药, 1999, 30(7): 526-528.
- [16] 尚靖,敖秉臣,刘文丽,等. 七种增白中药在体外对酪氨酸酶的影响 [J]. 中国药学杂志, 1995, 30(11): 653-655.
- [17] 王建华,雷帆,崔景荣. 20 种中药对酪氨酸酶抑制作用的研究 [J]. 中国药学杂志, 2000, 35(1): 232-234.
- [18] 雷铁池,朱文元,夏明玉,等. 中药对黑素生物合成影响研究 I. 82 味中药乙醇提取物对酪氨酸酶活性的抑制作用 [J]. 中

草药, 1999, 30(5): 336-339.

- [19] 李洪武, 朱文元. 治疗白癜风复方中药体外对蘑菇酪氨酸酶活性的作用[J]. 临床皮肤科杂志, 2000, 29(3): 133-135.
- [20] 李洪武, 赵健, 朱文元. 部分复方中药对酪氨酸酶活性影响的实验研究[J]. 江苏中医, 1999, 20(11): 46-47.
- [21] Swope V B, Medrano E E, Smalara D, *et al.* Long-term proliferation of human melanocytes is supported by the physiologic mitogens alpha-melanotropin endothelin-1, and basic fi-

broblast growth factor[J]. Exp Cell Res, 1995, 217(2): 453-459.

- [22] 程东庆, 尉晓冬, 王遂泉, 等. 复方中药对小鼠 B-16黑素瘤细胞株黑素合成和酪氨酸酶的激活作用[J]. 中华皮肤科杂志, 2000, 33(3): 173-174.
- [23] 曾伟成, 陈曾曼, 郑能武. 乙醇对酪氨酸酶活性的影响[J]. 海峡药学, 2000, 12(4): 36-37.

泡番荔枝辛——明日抗癌之星

韩金玉, 于良涛, 王 华

(天津大学 化工学院, 天津 300072)

摘 要: 泡番荔枝辛(bullatacin)是一种邻双四氢呋喃环番荔枝内酯, 在体内和体外实验中展现出强抗肿瘤活性, 因此预计将成为继 taxol 之后新的天然抗癌药物。就泡番荔枝辛的化学结构, 分离纯化以及药理作用进行详细阐述。

关键词: 泡番荔枝辛; 天然药物; 生物活性; 分离纯化; 多药抗药性

中图分类号: R282.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)04-0380-03

Bullatacin——potent anticancer agent

HAN Jin-yu, YU Liang-tao, WANG Hua

(School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Key words bullatacin; natural products; bioactivity; isolation and purification; multidrug resistance

在过去 20 年里, 由于番荔枝内酯的广泛且显著的生物活性和特殊的化学结构, 已经引起许多植物学家和化学家的兴趣。自从 Jolad^[1]在 1982 年开创性的发现 Uvarian 之后, 这方面研究得到了长足发展。到目前为止, 在这个属的植物中已经发现 250 种番荔枝内酯。许多番荔枝内酯展现出强有力的抗肿瘤、抗原虫、抗菌、免抑制免疫力和杀虫的活性。在所有的番荔枝内酯之中, 根据美国国家癌症研究中心(NCI)的数据表明, 泡番荔枝辛(bullatacin)在治疗一些癌症中表现出极强的抗癌生理活性。因此人们对泡番荔枝辛的化学结构(图 1)^[2] 性质、生物活性、分离纯化方法和药理作用进行了深入的研究。

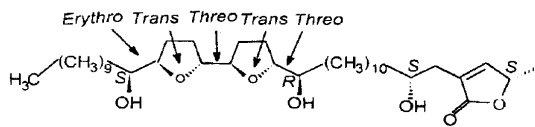


图 1 bullatacin 的化学结构

1 来源

泡番荔枝辛的来源主要是 2 种: 天然提取和化学合成。在回归自然的浪潮之中, 天然提取的方法得到了人们的普遍青睐。而且, 相对于其它的方法, 天然提取有着成本低、生产工艺简单的优点。

1.1 天然提取: 许多番荔枝属番荔枝科的植物都含有泡番荔枝辛, 在 *Annona bullata* Roch. 和 *A. squamosa* 中含量特别高。*A. bullata* Rich. 是产于古巴的一种高树, *A. squamosa* 是一种美洲土生的落乔木。泡番荔枝辛可以从植物的种子、树根和树皮中提取而得。总体说来, 泡番荔枝辛在树皮中的含量比在其它部位的含量要高。但从环境保护的角度考虑, 不应过多从树皮中提取, 而应开发从其它部位提取, 如从种子中提取。

在中国, 从 *A. atemoyacin* 的树皮和种子的粗提物中, 陈文森^[3]提取出了这种有甲酯的番荔枝内酯, 据报道, 在 *A. atemoyacin* 的含量高达 10⁵。

1.2 化学合成: 泡番荔枝辛已经成功的被 Hoyle^[4]等化学家合成出来。然而, 与天然提取的方法相比, 由于泡番荔枝辛复杂的化学结构和独特的空间结构, 如复杂的过程, 生产成本低, 低产率, 所以此种方法仅限于学术研究而无实际生产价值。

2 分离和纯化

从植物中分离纯化泡番荔枝辛的实验室步骤主要包括以下 3 个步骤: 从植物中浸取有用成分以除去不溶的物质; 然后加入不同极性的试剂进行分离以除去不溶的化合物, 如叶绿素; 最后, 使用传统色谱技术的适当组合得到纯品。分离纯化的步骤以 2 个实例加以说明。

* 收稿日期: 2001-06-20

作者简介: 韩金玉, 天津大学化工学院教授, 硕士生导师。1993 年博士毕业于天津大学化学工程专业, 主要研究方向为天然药物分离纯化、生产工艺的研究与开发, 主持了国家自然科学基金项目工作, 发表学术论文 30 余篇。