

3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的合成及其生物学效应的研究

学校编码: 10384

分类号_____密级

学号: 21720081152656

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

3, 4-二羟基苯甲烷基酯的合成及其生物学效应的研究

The research on synthesis and biological activity of alkyl

3,4-dihydroxybenzoates

潘志针

指导教师姓名: 王勤 副教授

陈清西 教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2011 年 04 月

论文答辩时间: 2011 年 05 月

学位授予日期: 2011 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2011 年 06 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(陈清西教授酶学)课题(组)的研究成果,获得(陈清西教授酶学)课题(组)经费或实验室的资助,在(陈清西教授酶学)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 潘志针

2011年 06月 03日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密 (), 在 年解密后适用本授权书。
- 2、不保密 (√)

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应的内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文,未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的,默认为公开学位论文,均使用上述授权。)

作者签名: 潘志针 日期: 2011 年 06 月 03 日

导师签名: 王勤 日期: 2011 年 06 月 03 日

目录

摘 要	1
Abstract.....	2
1 前 言	5
1.1 酪氨酸酶	5
1.1.1 酪氨酸酶概述	5
1.1.2 酪氨酸酶的催化活性	6
1.1.3 黑色素的生成	7
1.2 酪氨酸酶抑制剂的应用前景	8
1.2.1 在农业害虫防治领域的应用	8
1.2.2 在抗菌领域的应用	9
1.2.3 在食品加工领域的应用	9
1.2.4 在化妆品领域的应用	10
1.3 酪氨酸酶抑制剂构效关系的研究	10
1.3.1 苯甲醛类化合物	11
1.3.2 苯甲酸类化合物	11
1.3.3 酚羟基化合物	12
1.3.4 氢醌	14
1.3.5 植物源活性效应物	15
1.4 本研究的内容与意义	16
2 实验材料与amp;方法	17
2.1 材料与仪器	17
2.1.1 主要材料	17
2.1.2 主要仪器	18
2.2 实验方法	19
2.2.1 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的合成与鉴定	19
2.2.2 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对酪氨酸酶抑制机理的研究	20

2.2.3	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯抗菌活性的测定.....	21
2.2.4	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯化合物对小菜蛾的杀虫毒力的测定.....	21
2.2.5	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对菜青虫和小菜蛾体内酪氨酸酶表达的影响.....	22
3	实验结果	26
3.1	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的合成及其鉴定	26
3.1.1	3,4-二羟基苯甲酸甲酯 (P ₁) 的合成	27
3.1.2	3,4-二羟基苯甲酸乙酯 (P ₂) 的合成	28
3.1.3	3,4-二羟基苯甲酸丙酯 (P ₃) 的合成	30
3.1.4	3,4-二羟基苯甲酸丁酯 (P ₄) 的合成	31
3.1.5	3,4-二羟基苯甲酸戊酯 (P ₅) 的合成	33
3.1.6	3,4-二羟基苯甲酸己酯 (P ₆) 的合成	34
3.1.7	3,4-二羟基苯甲酸庚酯 (P ₇) 的合成	36
3.1.8	3,4-二羟基苯甲酸辛酯 (P ₈) 的合成	37
3.1.9	3,4-二羟基苯甲酸壬酯 (P ₉) 的合成	39
3.1.10	3,4-二羟基苯甲酸癸酯 (P ₁₀) 的合成	40
3.2	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对酪氨酸酶的效应	42
3.2.1	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对酪氨酸酶活力的影响.....	42
3.2.1	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对酪氨酸酶抑制机理的判断.....	43
3.2.2	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对酪氨酸酶抑制常数的测定.....	47
3.3	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的抑菌效果的研究	50
3.3.1	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对枯草芽孢杆菌的抑制效果.....	50
3.3.2	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对大肠杆菌的抑制效果.....	51
3.3.3	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对沙门氏菌的抑制效果.....	53
3.3.4	3,4-二羟基苯甲酸己酯对 G ⁺ 、G ⁻ 的抑菌效果的研究	55
3.3.5	3,4-二羟基苯甲酸己酯对 G ⁺ 、G ⁻ 的最小抑菌浓度的测定	57
3.4	3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的杀虫效果的研究	58
3.4.1	微量点背法测定 3,4-二羟基苯甲酸己酯对小菜蛾的杀虫毒力	58
3.4.2	饲喂法测定 3,4-二羟基苯甲酸己酯对小菜蛾的生长的抑制	60

3.4.3 饲喂法测定 3,4-二羟基苯甲酸庚酯对小菜蛾生长的抑制.....	62
3.4.4 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对小菜蛾的杀虫毒力测定.....	65
3.5 3,4-二羟基苯甲酸庚酯对菜青虫酪氨酸酶表达的影响.....	65
3.6 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对小菜蛾体内酪氨酸酶表达的影响.....	68
4 讨论	70
4.1 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的合成.....	70
4.2 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对酪氨酸酶的效应.....	70
4.3 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的抑菌效果.....	71
4.4 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的杀虫效果.....	72
5 展望.....	73
参考文献.....	74
致谢.....	81

Content

Chinese abstract.....	1
English abstract.....	2
1 Introduction.....	5
1.1 Tyrosinase	5
1.1.1 The introduction of tyrosinase.....	5
1.1.2 The catalytic activity of tyrosinase.....	6
1.1.3 The progress of formation of melanin.....	7
1.2 The application prospect of tyrosinase inhibitors.....	8
1.2.1 In the control of agricultural pests.....	8
1.2.2 In the fields of antibacterial.....	9
1.2.3 In food industry	9
1.2.4 In cosmetic agents	10
1.3 The structure-activity relationship of tyrosinase inhibitors.....	10
1.3.1 Hydroxybenzaldehyde derivatives	11
1.3.2 Benzoic acid derivatives.....	11
1.3.3 Phenolic hydroxyl derivatives	12
1.3.4 Quinol.....	14
1.3.5 Plant source inhibitors	15
1.4 The significance and contents of this research	16
2 Material and methods.....	17
2.1 Reagents and instruments	17
2.1.1 Main reagents	17
2.1.2 Main instruments	18
2.2 Methods.....	19
2.2.1 Synthesis of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates.....	19
2.2.2 Study of the inhibitory effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates ...	20
2.2.3 Study of antibacterial activity of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates....	21

2.2.4 Study of the insecticidal activity of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates against <i>Plutella xylostella</i>	21
2.2.5 Study of the effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on the expression of insect tyrosinase.....	22
3 Results	26
3.1 Synthesis of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates	26
3.1.1 Synthesis of Methyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	27
3.1.2 Synthesis of Ethyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	28
3.1.3 Synthesis of Propyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	30
3.1.4 Synthesis of Butyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	31
3.1.5 Synthesis of Pentyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	33
3.1.6 Synthesis of Hexyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	34
3.1.7 Synthesis of Heptyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	36
3.1.8 Synthesis of Octyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	37
3.1.9 Synthesis of Nonyl 3,4-dihydroxybenzoate	39
3.1.10 Synthesis of Decyl 3,4-dihydroxybenzoate.....	40
3.2 The inhibitory effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on mushroom tyrosinase	42
3.2.1 Concentration effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on the activity of mushroom tyrosinase.....	42
3.2.1 Inhibitory mechanism of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on mushroom tyrosinase	43
3.2.2 Inhibition type and inhibition constants of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on mushroom tyrosinase.....	47
3.3 The antibacterial activity of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates	50
3.3.1 Antibacterial effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on <i>Bacillus pumilus</i>	50
3.3.2 Antibacterial effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on <i>Escherichia coli</i>	51

3.3.3 Antibacterial effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on <i>salmonella</i>	53
3.3.4 Antibacterial effects of Hexyl 3,4-dihydroxybenzoate on G ⁺ and G ⁻	55
3.3.5 The minimal inhibitory concentration of Hexyl 3,4-dihydroxybenzoate on G ⁺ and G ⁻	57
3.4 The insecticidal effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates	58
3.4.1 The toxicity of Hexyl 3,4-dihydroxybenzoate against <i>Plutella xylostella</i> by topical application	58
3.4.2 The inhibitory effect of Hexyl 3,4-dihydroxybenzoate on the body of <i>Plutella xylostella</i> by feeding	60
3.4.3 The inhibitory effect of Heptyl 3,4-dihydroxybenzoate on the body of <i>Plutella xylostella</i> by feeding	62
3.4.4 The toxicity of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates against <i>Plutella xylostella</i>	65
3.5 The effect of Heptyl 3,4-dihydroxybenzoate on the expression of tyrosinase of <i>Pieris rapae</i> Linne	65
3.6 The effect of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on the expression of tyrosinase of <i>Plutella xylostella</i>	68
4 Discussion	70
4.1 Synthesis of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates	70
4.2 The inhibitory effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates on mushroom tyrosinase	70
4.3 The antibacterial activity of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates	71
4.4 The insecticidal effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates	72
5 Out look	73
References	74
Acknowledgement	81

摘 要

酪氨酸酶(EC 1.14.18.1)是一种含铜的氧化还原酶,广泛分布于微生物,动物,植物和人体中,是生物体生命活动的关键酶,其抑制剂的研究引起了广泛的关注。

本论文从酪氨酸酶抑制剂的构效关系出发,设计并合成了系列 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯,研究它们对酪氨酸酶的抑制效应及其抑制机理。以大肠杆菌,金黄色葡萄球菌等为作用对象,研究 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的抑菌作用。以小菜蛾和菜青虫为实验对象,研究 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯的杀虫毒力及其对昆虫酪氨酸酶表达的影响。

本论文采用 EDC·HCl 和 DMAP 为催化剂,通过酯化反应成功地合成了系列 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯 (P₁-P₁₀),用质谱和核磁分析对产物进行了鉴定。

以 L-多巴为底物测定 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯对酪氨酸酶催化多巴的活性的抑制。研究发现 3,4-二羟基苯甲酸甲酯、乙酯、丙酯、丁酯和戊酯对酪氨酸酶没有显著的抑制作用。3,4-二羟基苯甲酸己酯、庚酯、辛酯和壬酯对酪氨酸酶都有显著的抑制,它们对酪氨酸酶抑制能力随着碳链的增长而增强。进一步研究了 3,4-二羟基苯甲酸己酯、庚酯、辛酯和壬酯对酪氨酸酶的抑制机理。

黑色素能保护细菌的细胞的孢子免受紫外线的伤害,还能螯合重金属离子以消除重金属离子对细菌细胞的伤害。本论文以大肠杆菌,金黄色葡萄球菌,枯草芽孢杆菌,沙门氏菌和藤黄微球菌等细菌为作用对象,研究 3,4-二羟基苯甲酸甲酯、乙酯、丁酯、己酯和庚酯的抗菌效果,发现它们有很强的抑菌效果。

在昆虫体内,酪氨酸酶在表皮的黑化,骨针的形成,伤口的愈合,调理素的形成以及对外源病原体的包被吞噬等重要生命活动中起重要的作用。本论文以菜青虫和小菜蛾为研究对象,研究 3,4-二羟基苯甲酸己酯和庚酯的杀虫效果及其对昆虫酪氨酸酶表达的影响。结果发现,3,4-二羟基苯甲酸己酯和庚酯具有很好的杀虫活性,它们对小菜蛾的 LC_{50} 分别为 31.92 和 16.41 mg/ml。同时它们还能有效的降低昆虫体内酪氨酸酶的表达。

关键字: 3,4-二羟基苯甲酸烷基酯; 有机合成; 生物学效应

Abstract

Tyrosinase (EC 1.14.18.1), a copper containing enzyme, is ubiquitously distributed in microorganisms, animals, plants and human beings. It is the key enzyme in the vital function of biology. The inhibitors of tyrosinase have aroused the widespread interest.

In this study, we synthesized a family of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates, a new tyrosinase inhibitor, from the structure activity relationship of tyrosinase inhibitors. In the same time, we investigated the inhibitory effects and mechanism of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates against tyrosinase. The antibacterial activity of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and so on was also investigated in the study. Then we studied the insecticidal effects of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates against *Plutella xylostella* and *Pieris rapae* and their effects on the expression of tyrosinase gene.

A family of alkyl 3,4-dihydroxybenzoates (P₁-P₁₀) were synthesized by esterification reaction with EDC·HCl and DMAP as catalyzators. The structures of these esters were established by spectroscopic methods (MS and NMR).

The activity of the mushroom tyrosinase was assayed using L-DOPA as substrate. Alkyl 3,4-dihydroxybenzoates were tested for the inhibitory effect on the oxidation of L-DOPA catalyzed by mushroom tyrosinase. The results showed that Methyl 3,4-dihydroxybenzoate, Ethyl 3,4-dihydroxybenzoate, Propyl 3,4-dihydroxybenzoate, Butyl 3,4-dihydroxybenzoate and Pentyl 3,4-dihydroxybenzoate didn't show obvious inhibitory effects against tyrosinase. Hexyl 3,4-dihydroxybenzoate, Heptyl 3,4-dihydroxybenzoate, Octyl 3,4-dihydroxybenzoate and Nonyl 3,4-dihydroxybenzoate could inhibit the activity of tyrosinase effectively. The inhibitory effects of these four compounds were potentiated with the lengths of hydrocarbon chains increased. The kinetic analysis of them on tyrosinase was taken to expound their inhibitory mechanism.

In the bacterium, melanins can protect the bacterial cells and spores against UV radiation. Meanwhile melanins can bind heavy metals that are toxic to the cells. In

this study, we investigated the antibacterial effects of Methyl 3,4-dihydroxybenzoate, Ethyl 3,4-dihydroxybenzoate, Butyl 3,4-dihydroxybenzoate, Hexyl 3,4-dihydroxybenzoate, and Heptyl 3,4-dihydroxybenzoate against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella*, *Micrococcus luteus* and so on. The results showed that all of them had great antibacterial activity against these bacteria.

In insects, tyrosinase plays important roles in normal developmental processes, such as cuticular tanning, scleration, wound healing, production of opsonins, encapsulation and nodule formation for defense against foreign pathogens. In this study, we researched the insecticidal activity of Hexyl 3,4-dihydroxybenzoate and Heptyl 3,4-dihydroxybenzoate against *Plutella xylostella* and *Piers rapae*. The results showed that they had great insecticidal activity, the LC_{50} of them on *Plutella xylostella* were 31.92 and 16.41 mg/ml. They could also inhibit the expression of tyrosinase as expected.

Key Word: Alkyl 3,4-dihydroxybenzoates; synthesis; biological effect

厦门大学博硕士学位论文摘要库

1 前言

1.1 酪氨酸酶

1.1.1 酪氨酸酶概述

酪氨酸酶 (EC1.14.18.1, Tyrosinase) 是生物体合成黑色素的关键酶, 广泛的分布于植物, 动物, 微生物及人体中^[1, 2]。在植物中, 酪氨酸酶一般被称为多酚氧化酶^[3]; 在昆虫中, 则被称为酚氧化酶; 微生物和人体中, 才被称为酪氨酸酶。根据分解底物的不同, 昆虫体内的酚氧化酶可分为漆酶型酚氧化酶和酪氨酸型酚氧化酶两大类^[4]。漆酶型酚氧化酶在昆虫蜕皮时的表皮出现, 与表皮结合紧密, 为不溶性, 对表皮的着色和硬化等起重要作用。酪氨酸型酚氧化酶也称酪氨酸酶, 可分为颗粒型和受伤害型。颗粒型酪氨酸酶主要存在于昆虫的表皮中, 参与外骨骼的黑色素形成, 受保幼激素的调节, 在保幼激素存在时可以阻止其形成, 进而阻止表皮的黑化^[5]。同时颗粒型酪氨酸型酚氧化酶还与昆虫表皮的愈伤和修复有关^[6]。受伤害型酪氨酸酶, 可通过形成具有细胞毒性的醌和在伤口处形成覆盖物对表皮愈伤起作用, 在昆虫的免疫功能中起重要作用。

酪氨酸酶是一种铜结合蛋白^[7], 不同种类生物的酪氨酸酶是有差别的: 不同来源的酪氨酸酶的分子量和所包含氨基酸残基的数目不同。从原核生物到人的酪氨酸酶氨基酸序列约有 20 种。酪氨酸酶家族氨基酸序列上存在下列几个功能区域: (1) 一个 N-端信号肽, (2) 两个组氨酸结合域, 能与二价金属铜离子结合, 构成酪氨酸酶的活性中心, (3) 两个富含半胱氨酸的区域, (4) 几个糖基化位点, (5) 一个高疏水结构域, (6) C-端以亮氨酸和酪氨酸为基础的分选框, 对其同源性的研究表明这些功能区域在不同个体的表达上具有高度的同源性并存在一些保守区域^[8]。酪氨酸酶的活性中心是由双铜中心组成的, 位于由疏水氨基酸残基组成的口袋的底部, 铜离子与四个 α -螺旋上的氨基酸结合 (α_2 、 α_3 、 α_6 、 α_7), 每个铜离子与 3 个组氨酸上的氮配位结合, Cu_A 与 His^{38} , His^{54} 和 His^{63} 配位结合, His^{38} , His^{63} 分别位于 α_2 和 α_3 中间, His^{54} 不在这四个 α -螺旋上, Cu_B 则与 His^{190} , His^{194} 和 His^{216} 配位结合, His^{190} , His^{194} 位于 α_6 中间, 而 His^{216} 位于 α_7 中间^[9]。酪氨酸酶的活性中心在催化过程中, 双核铜离子位点以 3 种形态存在: 氧化态 (E_{oxy})、还原态 (E_{met}) 和脱氧态 (E_{deoxy})^[8]。Cu-Cu 键长为 3.4Å。每个二价铜离

子构型为正四棱锥状,受到两个强的赤道面配位原子的调控和一个相对较弱的轴向 N_{his} 配基的调控,形成 5 个配位键,与蛋白上的组氨酸残基上的氮原子形成 3 个配位键,外源氧分子作为过氧化物与铜离子形成两个配位键占据了铜离子的两个赤道面位置,并可作为两个铜离子之间的桥连配体。氧活性中心铜离子的结合模型为 $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$,所以 E_{oxy} 活性中心可以写成 $\text{Cu(I)}\text{-O}_2\text{-Cu(I)}$,但通常更适合用过氧化态 $\text{Cu(II)}\text{-O}_2^-\text{-Cu(II)}$ 表示^[10]。还原态分为两种形态: E_{met} I 型和 E_{met} II 型,两种型态铜离子之间的距离分别为 3.9Å 和 3.3Å, E_{met} I 型铜离子中心与一个水分子结合, E_{met} II 型铜离子中心与两个水分子结合;脱氧态(E_{deoxy})铜离子之间的距离分别为 4.1Å,铜离子之间距离的增大有利于氧原子的结合,氧化态(E_{oxy})铜离子之间的距离分别为 3.4Å,氧化态结构 E_{oxy} 的双铜中心比 E_{met} II 型更不稳定^[11, 12]。

1.1.2 酪氨酸酶的催化活性

酪氨酸酶具有双重催化活性,它可以催化单酚羟基化形成二酚(单酚酶活性)和氧化二酚生成醌(二酚酶活性),两个反应都需要氧分子的参与^[13]。如图 1.1 所示,氧化态的酶(E_{oxy})与单酚双酚均可结合,参与单酚和双酚循环。与双酚结合经一步反应后,释放出醌,转化为还原态酶(E_{met})。 E_{met} 也与单酚双酚都可结合,但与单酚结合时进入一条死循环途径(Dead end pathway),不参与正常产物的生成;与双酚(D)结合时参与双酚途径。脱氧态的酶(E_{deoxy})结构中,两个 Cu^{1+} 之间相互分离、没有任何联结,与单酚双酚均不能结合,只能结合氧转化成为氧化态的酶,是酶经单酚双酚循环后的终态。酪氨酸酶催化单酚都是从 E_{oxy} 开始的, E_{met} 和 E_{deoxy} 均不与单酚反应, E_{oxy} 和 E_{met} 两者都可以催化多酚,如图 1.1^[14]所示。

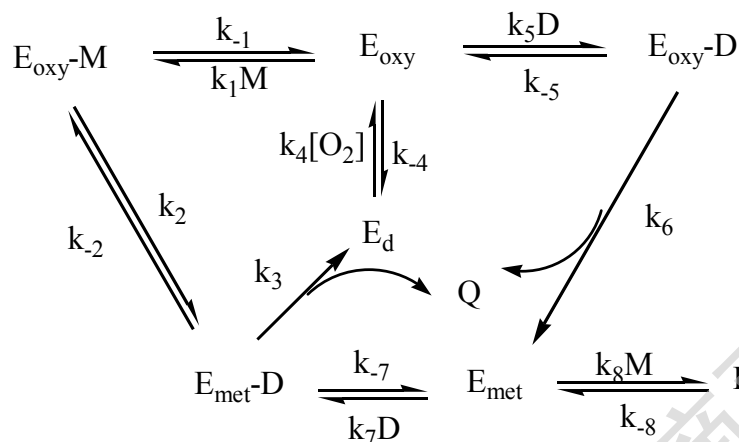


图 1.1 酪氨酸酶二酚酶和单酚酶的催化反应

Fig.1.1 The catalytic process of the monophenolase and diphenolase of tyrosinase

1.1.3 黑色素的生成

酪氨酸酶是生物体合成黑色素的关键酶，黑色素生物合成过程可大体分为两个阶段(如图1.2所示)，第一阶段是由酪氨酸酶催化酪氨酸被羟化反应形成L-3, 4-二羟基丙氨酸(L-多巴)(单酚酶活性)，并进一步将L-多巴氧化生成多巴醌(二酚酶活性)。这两步反应都是由酪氨酸酶催化的，酪氨酸酶在这里显示了独特的双重催化功能。第二阶段以多巴醌(DOPAquinon)为原料，从两个不同途径分别生成真黑素和褪黑素。多巴醌经多聚化反应等一系列反应生成无色多巴色素。无色多巴色素极不稳定，被另一分子多巴醌氧化为多巴色素。多巴色素经异构、脱羧生成5, 6-二羟基吲哚(DHI)。5, 6-二羟基吲哚(DHI)由酪氨酸酶催化氧化为真黑色素的前体吲哚-5,6-醌，进而生成真黑色素。褪黑素生成过程则为：多巴醌(DOPAquinon)与半胱氨酸反应生成产生5-Cys-多巴及5-Cys-多巴醌，然后成环、脱羧变成苯肼噻嗪的衍生物，最后形成褪黑素^[15, 16]。在第二阶段，只有少数几步反应由酪氨酸酶、异构酶或金属离子催化，大部分反应都是自发的，因此酪氨酸酶是整个黑色素生成反应的限速酶，第一阶段的两步反应是限速反应。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库