

学校编码: 10384 分类号_____ 密级_____

学号: 21620121152339 UDC_____

廈門大學

硕士学位论文

新疆植物中酪氨酸酶抑制剂的
筛选

Study on the inhibition to tyrosinase
in Xinjiang plants

祁瑞

指导教师姓名: 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: 2015年4月20日

论文答辩时间: 2015年5月8日

学位授予日期: 2015年月日

答辩委员会主席:

评阅人:

2015年5月

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，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的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

2015年5月8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他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“√”）

作者签名：日期：2015年5月8日

导师签名：日期：2015年月日

目录

摘要	1
前言	3
1.1 酪氨酸酶的研究概况	3
1.2 酪氨酸酶的结构	4
1.3 酪氨酸酶的基因表达	5
1.4 酪氨酸酶的催化特性	5
1.5 酪氨酸酶的应用及其抑制剂研究进展	6
1.6 酪氨酸酶抑制剂的发展方向	8
1.7 新疆植物的研究进展	9
1.7.1 新疆的地理气候特征	9
1.7.2 新疆药用植物概况	9
1.7.3 新疆几种重要药用植物资源	10
1.7.4 应重视新疆地区药用植物资源的开发利用	11
1.8 新疆植物的抗氧化作用	12
1.9 新疆植物的抗菌作用	12
2. 实验试剂与仪器	14
2.1 实验试剂	14
2.2 实验仪器	15
3. 实验方法	16
3.1 样品的制备方法	16
3.1.1 样品的提取	16
3.1.2 样品的分离	16
3.1.3 提取后的样品的制备	16
3.2 效应物对酪氨酸酶的抑制作用机理的测定	16
3.2.1 效应物对蘑菇酪氨酸酶二酚酶作用的研究	16
3.2.2 效应物对蘑菇酪氨酸酶二酚酶的抑制类型和抑制常数的测定	17
3.2.3 效应物对酶抑制作用动力学常数的测定	17
3.3 采用 DPPH 法测定化合物清除氧自由基的能力	17
3.4 效应物对小鼠 B16 黑素瘤细胞产黑色素相关指标的影响	17
3.4.1 细胞培养液的配制	17
3.4.2 细胞复苏	18
3.4.3 细胞培养与传代	18
3.4.4 细胞冻存	18
3.4.5 小鼠 B16, SMMC-7721 细胞增殖率的测定方法	18
3.5 效应物的抑菌作用	18
3.5.1 培养菌株	19
3.5.2 MIC (最低抑菌浓度) 和 MBC (最低杀菌浓度) 测定	19
4. 实验结果	20

4.1 胀果甘草.....	20
4.2 天山花楸.....	23
4.3 新疆枸杞.....	25
4.4 新疆罗布麻.....	27
4.5 新疆红花.....	27
4.6 雪菊.....	30
4.7 新疆野西瓜.....	31
4.8 新疆一枝蒿.....	33
4.9 新疆贝母.....	34
4.10 新疆中麻黄.....	36
4.11 新疆骆驼蓬.....	38
4.12 薰衣草.....	40
4.13 新疆大芸.....	42
4.14 赤芍.....	43
4.15 新疆秦艽.....	46
4.16 新疆鼠尾草.....	47
4.17 新疆拟狐尾黄芪.....	48
4.18 新疆盐穗木.....	49
4.19 新疆盐节木.....	49
4.20 宽叶独行菜.....	50
4.21 新疆胡杨.....	53
4.22 臭椿.....	54
4.23 盐爪爪.....	56
4.24 白花苦豆子.....	56
4.25 霸王.....	57
4.26 苦蒿.....	58
4.27 木贼麻黄.....	59
4.28 尖果沙枣.....	62
4.29 大果沙枣.....	65
4.30 黄花补血草.....	68
5. 七种植物的抑菌与杀虫作用.....	72
5.1 七种植物的抑菌作用.....	72
5.1.1 确定实验中 DMSO 的用量.....	72
5.1.2 抑菌试验测定.....	73
5.2 杀虫实验（七种植物）.....	74
6. 七种植物的抑制癌细胞生长作用.....	76
6.1 七种植物对小鼠 B16 黑色素瘤细胞的作用.....	76
6.2 七种植物对人肝癌 SMMC-7721 细胞的作用.....	77
7. 讨论.....	79
7.1 新疆植物的有效成分提取.....	80
7.2 各提取物的抗氧化.....	81

结论	82
参考文献	85
致谢	91

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Abstract	1
1. Introduction	4
1.1 Study of tyrosinase	4
1.2 Structure of tyrosinase	4
1.3 Gene expression of tyrosinase	5
1.4 Catalytic mechanism of tyrosinase	5
1.5 Application and inhibition of tyrosinase	6
1.6 Development of tyrosinase inhibition	8
1.7 Study of Xinjiang plants	9
1.7.1 Geography and Climate of Xinjiang.....	9
1.7.2 Profile of Xinjiang medical plants.....	10
1.7.3 Several important medical plants of Xinjiang	10
1.7.4 Importance of exploitation of Xinjiang plants.....	11
1.8 Anti-oxidation of Xinjiang plants	12
1.9 Anti-bacteria of Xinjiang plants	12
2. Experimental reagents and equipment	14
2.1 Experimental reagents	14
2.2 Experimental equipment	15
3. Methods	16
3.1 Preparation for samples	16
3.1.1 Extraction of samples	16
3.1.2 Separation of samples.....	16
3.1.3 Preparation of samples after extraction	16
3.2 Assay of inhibitory mechanism of effects on mushroom tyrosinase	16
3.2.1 Assay of effects on the diphenolase activity by compounds	16
3.2.2 Assay of effects on the diphenolase activity by compounds	17
3.2.3 Assay of effects on the inhibition constant by compounds	17
3.3 Anti-oxidant assay through DPPH method	17
3.4 Effect of compounds on melanogenesis in B16 cell	17
3.4.1 Preparation of cell culture medium	17
3.4.2 Cell recovery	18
3.4.3 Cell culture and passage	18
3.4.4 Cryopreservation	18
3.4.5 Murine B16 and SMMC-7721 cell proliferation rate determination.....	18
3.5 Anti-bacteria and insecticide of seven plants	18
3.5.1 Bacteria culture.....	19
3.5.2 Determination of MIC and MBC	19
4. Results	20

4.1 <i>Glycyrrhiza inflata</i> Batal.....	20
4.2 <i>Sorbus tianchanica</i>	23
4.3 <i>Lycium dasystemum</i> Pojark.	25
4.4 <i>Apocynum venetum</i> L.....	27
4.5 <i>Carthamus tinctorius</i> L.	27
4.6 <i>Senecio cineraria</i>	30
4.7 <i>Hibiscus trionum</i> Linnon.....	31
4.8 <i>Artemisia rupetris</i>	33
4.9 <i>Liliaceae</i>	34
4.10 <i>Ephedra intermedin</i> Schrenkon	36
4.11 <i>Peganum harmala</i>	38
4.12 <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	40
4.13 <i>Cistanche salsa</i>	42
4.14 <i>Radix Paeoniae Rubra</i>	43
4.15 <i>Gentiana macrophylla</i> Pall.....	46
4.16 <i>Salvia deserta</i>	47
4.17 <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge.	48
4.18 <i>Halostachys caspica</i> (Bieb.) C. A. Mey.	49
4.19 <i>Halocnerrum str</i>	49
4.20 <i>Lepidium lotifolium</i> L. var. <i>affine</i> C. A. Mey.	50
4.21 <i>Populus euphratica</i>	53
4.22 <i>Ailanthus altissima</i>	54
4.23 <i>Kalidium foliatum</i> (Pall.) Moq	56
4.24 <i>Sophora alopecuroides</i> L.	56
4.25 <i>Sarcozygium xanthoxylon</i> Bunge.....	57
4.26 <i>Acroptilon repens</i> (L.) DC.....	58
4.27 <i>Ephedra equisetina</i> Bge.	59
4.28 <i>Elaeagnus oxycarpa</i> Schlechtend.....	62
4.29 <i>E. moorcroftii</i> Wall. Ex Schlecht	65
4.30 <i>Limonium aureum</i> (L.) Hill.....	68
5. Anti-bacteria and Insecticide of seven plants.....	72
5.1 Anti-bacteria of seven plants.....	72
5.1.1 The amount of DMSO	72
5.1.2 Determination of Anti-bacteria.....	73
5.2 Insecticide (seven plants)	74
6. Inhibition of cancer cells of seven plants.....	76
6.1 Inhibition of B16 cells of seven plants	76
6.2 Inhibition of SMMC-7721 cells of seven plants.....	78
7. Discussion	80
7.1 Extracts of efficient components of Xinjiang plants.....	80
7.2 Anti-oxidation of extracts	81

Conclusions	83
References	85

厦门大学博硕士论文摘要库

摘要

酪氨酸酶广泛存在于微生物，动植物及人体中，是一种多亚基的含铜的氧化还原酶。酪氨酸酶是合成黑色素的重要酶类，通过改变酪氨酸酶的活性可以控制黑色素生成量，从而对生物体内黑色素水平及相关代谢途径产生影响。

本文以新疆植物为研究对象，从新疆植物中提取了一批对蘑菇酪氨酸酶具有抑制作用的天然活性物质。多种植物都是首次研究，还没有文献报道。在理论上从酶学角度系统阐述了天然活性物质与蘑菇酪氨酸酶的作用机理及其生物活性。

本文经过粗提的植物，再经石油醚，乙酸乙酯，氯仿，正丁醇萃取，得到不同提取层的物质，冻干之后样品进行研究，根据各物质在不同溶剂中的溶解度不同，从而得到有效分离。再对不同有机层的物质进行，进一步酶学研究。

通过酶学研究，鉴定出一批有效的酪氨酸酶天然抑制剂植物，如黄花补血草，新疆红花，尖果沙枣等，同时对这些植物的提取物进行进一步研究，如 DPPH 抗氧化性测定，以及抑制癌细胞生长 MTT 实验，如黑色素瘤 B16，SMMC-7721 细胞的生长。MTT 实验中尖果沙枣作用于 7721 细胞时在浓度小于 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 情况下，抑制率可以达到 60%以上。而对于 B16 细胞，新疆红花和尖果沙枣，300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左右时抑制率可以达到 80%。

同时也对植物提取物的杀虫和抑菌生物活性进行了研究。通过测定植物提取物的 MIC（最低抑菌浓度）和 MBC(最低杀菌浓度)来间接比较植物提取物的抑菌效果，其中尖果沙枣和新疆红花的提取物都显示出了较好的抑制效果。实验中同时对植物的小菜蛾杀虫活性进行了研究，胀果甘草和尖果沙枣均显示出较好的杀菌效果，基本与阳性对照的杀虫效果相当。

本文中的植物提取物还可进行进一步提纯纯化，纯化后的物质还可对天然活性物质与酪氨酸酶的结合方式进行进一步验证，从而确定天然活性物质的作用机理，为寻找酪氨酸酶有效抑制剂的母核结构提供理论依据，以及其他的生物活性进一步测定。

关键词：酪氨酸酶；新疆植物；抑菌杀虫；细胞效应

Abstract

Tyrosinase is an important enzyme containing oxido-reductase, existing widely in microorganisms, plants and animals and the human body. Tyrosinase is the key enzyme in organisms about melanin synthesis, controlling melanin content by regulating its activity, thereby affecting the melanin levels in organisms and related metabolic pathway.

This paper takes Xinjiang plants as the research object, and from these Xinjiang plants many natural active substances are extracted as the mushroom tyrosinase inhibition. Many kinds of plants are studied for the first time, has not been reported in any literature. In enzymology theory system the mechanism of inhibition of natural active substances and mushroom tyrosinase, and structure-activity relationship of, are elaborated.

In this paper, Xinjiang plants are extracted crudely, and then by extraction of petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, butanol, we got different layers of material, after freezing-dried samples studied, according to different solubility in different solvents, which can be obtaining the effective separation. Then the different organic layer material was further studied on enzymology.

Through the research on enzymology, we identified a number of effective natural inhibitors of tyrosinase, such as the *Limonium aureum*, Xinjiang red flower, *Elaeagnus oxycarpa*, at the same time extracts of these plants are studied further more, such as DPPH antioxidant activity, and inhibiting the growth of cancer cells MTT experiments, for melanoma B16, SMMC-7721 cells. Effects of *Elaeagnus oxycarpa* in MTT experiments for 7721 cells at the concentration less than 100 g/mLs, the inhibition rate can reach more than 60%. For B16 cells, Xinjiang red and *Elaeagnus oxycarpa*, 300 g/mL inhibitory rate can reach 80%.

At the same time we also studied on the insecticidal and inhibition of biological activity. Through the determination of MIC (minimum inhibitory concentration) and MBC (minimum bactericidal concentration), we can indirectly compare the inhibitory effect of extracts. *Elaeagnus oxycarpa* and Xinjiang safflower extracts showed better inhibition effect, on *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*. At the

same time the insecticidal activity of diamondback moth was studied, *Glycyrrhiza inflata* and *Elaeagnus oxycarpa* showed better sterilization effect, almost equals to positive control of the insecticidal effect.

Plant extracts in this paper can also be further purified, purified material can also be studied the combination of natural active substances and tyrosinase, so as to determine the mechanism of natural active substances, provides the theoretical basis for the other nucleus structure of tyrosinase inhibitors for effective, and other biological activity for further determination.

Keywords: tyrosinase; Xinjiang plant; inoxidizability; cytological effect

前言

1.1 酪氨酸酶的研究概况

酪氨酸酶又称为多酚氧化酶、儿茶酚氧化酶等,是含铜的多亚基氧化还原酶,它是黑色素生成过程中的关键酶,在黑色素生成过程的多个步骤起到了关键作用,广泛存在自然界的生物体内,与人类的生活息息相关^[1]。

酪氨酸酶广泛存在于自然界中,其化学本质是含铜蛋白,是黑色素生物合成的关键酶和限速酶。现今,人们已经从多种动植物、微生物中分离纯化了此酶。此酶催化黑色素的产生、表达和集聚,影响着人的体色、动物的毛色、植物果蔬的色泽和新鲜度、以及昆虫幼虫的免疫和蜕皮。酪氨酸酶的研究已经进行到生活的各个方面^[2]。此外,因酪氨酸酶还参与果蔬的褐变反应,所以酪氨酸酶的抑制剂也可以作为食品保鲜剂,同时,此酶的抑制剂还能作为杀虫剂应用于农业的杀虫领域^[3]。

白癜风病人的在治疗过程中促进黑素细胞的增殖十分重要,在接受到有关信号后黑素细胞可以在某一阶段向角质层转移,会再次生成色素,产生色素沉积^[4]。治疗过程中必须能够增强黑素细胞的增殖或转移,在多种决定黑素生成的类型、数量和质量因素中,酪氨酸酶的活性是调节黑素生成的关键因素之一^[5,6]。

哺乳动物酪氨酸酶催化产生的黑色素被分泌进入到皮肤和毛发的细胞中,使体表色素沉积,从而起保护皮肤抵御紫外线的功能,哺乳动物酪氨酸酶常见于黑素细胞中,黑素细胞是存在于皮肤,发囊和眼睛中并产生色素的高度特异性的细胞,酪氨酸酶功能减退或丧失时,就会影响黑素代谢,从而发生疾病如白癜风和白化病,动物与人的常染色体隐性疾病也与酪氨酸酶的缺失或活性下降^[7]。研发抑活物质将成为治疗色素沉着性疾病的重要手段^[8]。近年来,更是由于酪氨酸酶有关产品由于在化妆品领域的不断开发和利用,不断更有效的酪氨酸酶抑制剂被发现^[9]。

1.2 酪氨酸酶的结构

酪氨酸酶的生物学活性中心有一个双铜活性部位,每个铜离子以一价或二价分别与3个组氨酸结合,它们通过氧化态、脱氧态和还原态直接参与不同的催化反应。当底物与酶形成络合物时,主要是底物上的羟基与酶活性中心上的原子键发生反应^[10]。

正常情况下酪氨酸酶很难检测到,主要以酶原形式存在,经过碰撞、强紫外、自由基等物理化学的异常条件激化后转化为活化形式,表现出其催化功能。随着

酪氨酸酶晶体学和模拟酶的深入研究, NMR、激光闪射分解光谱、电子吸收光谱、红外光谱等技术的进一步发展, 酪氨酸酶的结构得到深入了解^[11]。

1.3 酪氨酸酶的基因表达

不同来源酪氨酸酶结构和理化性质上的差异由其基因决定。1983年, Katz等构建了链霉菌酪氨酸酶基因(melanin)的克隆载体, 它由两个开放阅读框ORF438(melC1)和ORF816(melC2)组成, 由毗邻ORF438的5'区启动子转录, 三者共同构成了黑色素操纵子(melC)。ORF816编码分子量为30.6kD的酪氨酸酶前体(MelC2); ORF438编码分子量为14.8kD的N-端信号肽(MelC1), 该信号肽在酪氨酸酶前体的折叠、装配、分泌、热激反应中作为分子伴侣和铜离子转运蛋白, 促进铜离子的插入和酪氨酸酶的分泌^[11]。

哺乳动物黑素生成是由多个位点共同参与调控的, 酪氨酸酶(TYR)由C位点(C-allbino locus)编码; 酪氨酸酶相关蛋白1(TRP-1)由B位点(brown locus)编码; 相关蛋白2(TRP-2)由S位点(slaty locus)编码。C位点基因长1.6kb, 含有5个外显子, 在靠近启动子的位置有个高度保守的11bp长度的调控序列M框, 是基因表达关键的调控元件, 基因编码蛋白区域上游800—900bp的位置上有GA重复序列, 又称为多态序列, 可使DNA形成较链结构^[12]。

人的酪氨酸酶家族C位点基因定位于第11号染色体上11q14-11q21区, 长约50-70kb, 编码一个含529aa的58kD的糖蛋白, 前12aa中有10个为疏水氨基酸, 为信号肽序列。C基因含有5个外显子和4个内含子, 5'-端具有2个TATA盒结构, 位于转录起始位点上游32个核苷酸及6个核苷酸处。在终止密码子TAA后约180bp处有一多聚腺苷酸化信号AATAAA。B位点基因位于第9号染色体上^[13]。

1.4 酪氨酸酶的催化特性

酪氨酸酶具有催化单酚酶和双酚酶的特性, 催化反应作用的底物主要有酪氨酸、L-DOPA、邻苯二酚、儿茶酚类似物、对位取代酚和2,3-二羟基吡啶。在氧自由基存在的情况下, 此酶可将酪氨酸(L-Tyr, 单酚化合物)羟化, 产生邻位二羟基苯丙氨酸(L-DOPA, 双酚化合物), 该步骤为慢反应。进而再以L-DOPA为底物, 将其氧化脱氢成多巴醌, 此为快反应。多巴醌是合成黑色素的重要前体, 它有两种消耗途径, 一是继续转变为黑素, 二是与半胱氨酸相互作用后转变为颜色相对较

浅的褐黑素，最终形成多色素的异聚体。酪氨酸酶可决定黑色素生成速率，同时也可以作为黑色素细胞成熟的标志^[14]。

在酪氨酸酶催化酚氧化的整个途径中，除去单酚循环和双酚循环，另外还有一条不构成循环的可逆的失活途径(Dead-end path way)，该途径由还原态酶催化，形成的失活复合物(Dead-end complex)可逆转回单酚，期间存在一个单酚进入单酚酶循环途径或者死途径的可逆的平衡过程，该过程即酪氨酸酶单酚酶特征性迟滞时间(Lag time)。经过一段时间后，单酚、双酚及氧化态酶才达到稳定的浓度，在这一条件下醌生成的速率达到最大，迟滞期(Lag phase)结束。迟滞期的长短与酶来源、酶浓度、单酚浓度等因素有关，过渡金属离子的存在可消除迟滞期^[15]。

1.5 酪氨酸酶的应用及其抑制剂研究进展

目前国内外对酪氨酸酶的研究热点主要集中在的活力调控方面，涉及到医疗美容、果蔬保鲜、病虫害防治等领域。很多色素障碍性疾病、恶性黑色素瘤都与此酶有关，果蔬的褐变等与酪氨酸酶也有密切关系^[16]。酪氨酸酶与皮肤衰老、伤口愈合、昆虫的发育及果蔬褐变均有密切关系,故酶抑制剂的研发在化妆品和果蔬褐变的防治等方面具有重要的价值^[17-19]。

酪氨酸酶抑制剂在生物医学领域具有举足轻重的地位，这是因为酪氨酸酶的过量表达不仅会导致人体的色素大量沉积，影响美观；同时体表的一些黑色素斑与脑部神经、肠道疾病有密切关系，对黑色素疾病的关注和及早治疗，可有效预防疾病的发生^[20-23]。酪氨酸酶抑制剂最广泛和实际的应用方式，还是在于化妆品行业美白剂的研发。目前来看市面上的化妆品其原理基本都是基于酪氨酸酶的抑制作用，而且每年都有新的抑制剂被发现。目前市场上主要的美白剂有Vc及其衍生物、茶提取物、芦荟提取物等中药提取物，研究表明这些提取物一般是通过降低此酶的活性而起到美白功效^[24-26]。虽然会出现不单单通过降低酶活性而达到降低黑色素生成的化妆品，但是酪氨酸酶抑制剂作为化妆品的添加剂的地位仍会是举足轻重。

同时在我们日常使用的水果蔬菜中也有酪氨酸酶，这些酪氨酸酶是引起水果、蔬菜发生褐变的主要酶类。在加工、贮藏及销售过程中，新鲜的水果蔬菜易发生褐变，其不仅影响果蔬的价值，同时也降低了果蔬内在的营养品质。一般认为能引起果蔬褐变主要原因有酶促褐变和非酶促褐变。酶促褐变主要是植物组织中酚

类被氧化生成醌类物质进而产生颜色的变化。参与褐变的酶类有：多酚氧化酶和过氧化物酶。多酚氧化酶即酪氨酸酶，其酶促褐变是一个需要氧气的反应过程^[27, 28]。目前很多国内外专家研究发现，认为植物组织中的褐变过程主要由此种酶引起。酪氨酸酶具有催化氧化的作用，能催化单酚生成邻二羟基化合物；又能使邻二酚氧化生成邻苯醌。过氧化物酶是一种血红素蛋白，其广泛存在于动植物体内，在植物生长过程中过氧化物酶的活性不断发生着变化。在老化的组织中活性较高，而幼嫩的组织中则相反。所以过氧化物酶可作为果蔬成熟和衰老的生理指标。过氧化物酶是果蔬中耐热性最强的酶^[29, 30]。

酚类物质在植物体内种类多，分布广泛且含量丰富。根据酚类物质的溶解性可分为水溶性酚类和非水溶性酚类。对酚类物质作为酶促褐变底物的研究有很多报道，不同的植物体系，不同的组织结构，同一组织不同发育期，其褐变的主要酚类也不尽相同。例如，引起香蕉褐变的底物是多巴胺，引起鸭梨褐变的底物是以绿原酸为主的酚类物质，鲜切莲藕的主要褐变底物是邻苯二酚^[30]。

多酚氧化酶在昆虫体内也普遍存在。1978年 Rockstein 指出多酚氧化酶在昆虫脱皮时的鞣化过程中起重要作用。张宗炳指出，探索新杀虫药剂的一条最有希望的途径是生物合理途径，其中提到使用“原酪氨酸酶抑制剂”和“鞣化过程抑制剂”的思想，而多酚氧化酶与这两个方面都有关系。所以，酪氨酸酶抑制剂将是一种很有前景的杀虫剂^[31-33]。

鉴于酪氨酸酶抑制剂的广泛应用，国内外很多学者致力于寻找具有特异的、高效的酪氨酸酶抑制剂，研究抑制作用机理、抑制动力学、以及抑制剂的应用。酪氨酸酶抑制剂的筛选主要有以下3个渠道：(1)从天然植物组织中分离提取；(2)从商品化合物中筛选；(3)有机合成出新的化合物。

天然提取酶抑制剂是传统的手段，丰富多彩的物种资源为研究提供了大量的试验材料，因此从天然产物提取活性产物成为酪氨酸酶抑制剂筛选的另一研究热点。^[34, 35]研究表明，这类抑制剂主要是通过酪氨酸酶结合形成稳定的复合物而抑制酪氨酸酶的催化活性^[36, 37]。

番莲、木贼、仙蜜果花、银杏叶提取物、巴西蜂胶、鲨鱼软骨、丹参、三叶木通果实提取物、桑白皮、五倍子、僵蚕、地龙、蝉衣等均有报道对酪氨酸有较强的抑制作用。再比如从柑橘中提取的鞣酸，从苹果中纯化的苹果多酚，芦荟中

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts 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.