

文章编号:1001-6880(2016)5-0713-06

糖枣多糖经硫酸化修饰前后对酪氨酸酶抑制作用分析

王仁才^{1*},石浩^{1,2},吴小燕¹,仇振华¹¹湖南农业大学园艺园林学院,长沙 410128; ²湖南应用技术学院农林科技学院,常德 415000

摘要:为促进湖南地区枣果资源的开发与利用,探索糖枣多糖对酪氨酸酶活性的影响。以三年生糖枣为试材,将其水提多糖依次采用 DEAE-52 纤维素和 SephadexG-100 葡聚糖柱层析,分离出多糖组分;分别测定各组分多糖经硫酸化修饰前后对酪氨酸酶的抑制作用,并对抑制活性最强的部分进行动力学研究。结果表明:DT_{B3}的酶活性抑制率最高,达到 77.94%,DT_C 的酶活性抑制率次之为 69.93%,其余组分对酶活性抑制率均小于 50%;经硫酸化修饰后,多糖组分 DT_{B3} 和 DT_C 对酪氨酸酶抑制率变化较小,DT_A、DT_{B1}、DT_{B2} 对酪氨酸酶抑制率在原有的基础上都有较大的提高,分别提高了 60.19%、41.66%、29.55%,其抑制率分别达到了 56.54%、58.53%、61.60%,但都远低于 70%。同时 DT_{B3}能在短时间内与酶快速的结合,并显示出较强的活性抑制能力,且呈现非竞争性抑制类型。由上可知,各组分多糖对酪氨酸酶活性抑制率的大小存在一定的差异,多糖经硫酸化修饰后对酪氨酸酶的抑制率具有一定的影响,糖枣多糖中 DT_{B3} 对酪氨酸酶具有较高的抑制作用,存在一定的开发利用价值。

关键词:枣多糖;组分;酪氨酸酶;硫酸化修饰;抑制作用

中图分类号:Q285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.5.013

Tyrosinase-Inhibition Effect of Candied Jujube Polysaccharides before and after Sulfated Modification

WANG Ren-cai^{1*}, SHI Hao^{1,2}, WU Xiao-yan¹, QIU Zhen-hua¹¹College of Horticulture and Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;²College of Agriculture and Forestry, Hunan Applied Technology University, Changde 415000, China

Abstract: The aim of this study was to promote the development and utilization of jujube fruits in Hunan region and to explore the inhibition effect of candied jujube polysaccharides on tyrosinase. Three-year candied jujube was used as the testing material, DEAE-52 cellulose and Sephadex G-100 glucan column chromatography were successively used to isolate polysaccharide composition from its water-extract. The inhibition effect of each polysaccharide composition was separately tested on tyrosinase before and after sulfated modification. Kinetic study on sample with the highest inhibition activity was carried out. The results showed that the enzyme activity inhibition ratio of DT_{B3} was the highest, reaching 77.94%, followed by DTC, reaching 69.93%, and the enzyme activity inhibition ratio of the rest compositions were all less than 50%. After sulphation modification, the variation of inhibition ratio of DT_{B3} and DT_C on tyrosinase was small while the inhibition ratios of DT_A, DT_{B1}, DT_{B2} on tyrosinase improved by 60.19%, 41.66%, 29.55%, reached to 56.54%, 58.53%, 61.60%, respectively, but all lower than 70%. At the same time, DT_{B3} can combine with enzyme rapidly in a very short time and show a strong inhibition capability, presenting in non-competitive inhibition type. In conclusion, There were some differences on each polysaccharide composition on the inhibition of tyrosinase and sulphation modification had a certain influence on the inhibition ratio of polysaccharide. DT_{B3} had a relatively high inhibition effect on tyrosinase.

Key words: jujube polysaccharides; composition; tyrosinase; sulfated modification; inhibition effect

枣树为鼠李科植物,它是我国本土果树树种之一

收稿日期:2015-08-19 接受日期:2016-04-15

基金项目:湖南省自然科学基金委员会与衡阳市政府自然科学联合基金(13JJ8010);湖南省 2013 年学位与研究生教育专项资金(CX2013B294)

* 通讯作者 E-mail:409600160@qq.com

一,在商、周时期中国已开始对枣树进行规模化的种植。我国向世界许多国家提供了枣树的引进与种植,目前分布于世界上几十个国家。除中国外韩国对枣树也有一定规模的种植,而其他国家对枣树的种植量都比较少;枣树在我国分布范围广,适应能力

性强,品种繁多,营养价值高,深受人们的喜爱,已成为我国果树发展的新热点^[1]。

酪氨酸酶是一种含有 Cu²⁺ 的多酚氧化酶,它在人体黑色素的生成过程中起到了一定作用,决定了色素形成的速度。在生物机体内,L-酪氨酸在被羟化生成含有两个羟基(L-多巴)的过程中酪氨酸酶起到了限速酶的作用,它的含量决定了该反应的速度。随后多巴即将被氧化成为褐色的多巴醌,相继生成很多种类的黑色素类物质^[2]。如果酶的活性过强或者含量过多将会导致强烈的反应,从而引发黑色素的大量生成,出现黑色素过多症,如黑色素瘤、雀斑、黄褐斑等^[3]。通过对酪氨酸酶活性的抑制,在一定程度上可减少细胞黑色素的形成,防止黑色素物质的大量生成。

枣果从古至今都为我国传统的食品和药品,它具有较高的食疗价值和药用价值。现代科学研究表明,枣多糖具有抗氧化、养颜美容、补血补气之功效^[4],在当今保健食品行列,常能见到它的身影。多糖类化合物是动植物中的有效成分之一,具有多种生物活性,通过王冯远光^[5]、王晓岚^[6]等研究分析,可以看出多糖在抑制酪氨酸酶活性方面具有较强的作用,同时通过赵鹏^[7]、夏新奎^[8]等的研究可以看出,多糖经过结构修饰后具有更强的生物活性。而目前文献中有关单体多糖对其酪氨酸酶活性抑制分析的研究尚未见报道。枣果含有丰富的枣多糖,实验研究了糖枣各组分多糖经硫酸化修饰前后对酪氨酸酶活性抑制作用及其抑制动力学,为今后糖枣多糖深入研究与开发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

湖南省祁东县彭家湾枣基地产三年生子代糖枣。L-DOPA(二羟苯丙氨酸)、酪氨酸酶均购置于美国 Sigma 公司;DEAE-52 纤维素、Sephadex G-100 葡聚糖、无水乙醇、氯化钠、丙酮、正丁醇、氯仿、98% 浓硫酸、硫酸钾、盐酸、三氟乙酸、明胶、氯化钡、苯酚均购置于国药集团化学试剂有限公司,试剂为分析纯。

1.2 仪器与设备

ZW1105051705 紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);SB-3200D 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);AUW220D 电子天平(日本 Shimadzu 公司);DR-1001 旋转蒸发仪(郑州

长城科工贸有限公司);DHG-9246A 电热恒温干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。PHS-25 数显 pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 供试品的制备

1.3.1.1 枣多糖的提取

取 100 g 枣粉于 1000 mL 烧杯中加蒸馏水 600 mL, 经水浴超声提取, 滤液旋转蒸发约 15 mL 体积后, 用 100 mL 无水乙醇萃取, 静置 2 h 后过滤。多糖用蒸馏水溶解定容到 200 mL 的容量瓶中, 随后将多糖溶液放入分液漏斗中, 同时加入 70 mL Sevag 试剂(氯仿:正丁醇 = 4:1, V/V), 摆匀每 3 min 震荡一次, 20 min 后静置 15 min, 用分液漏斗分开水层和有机层, 把多糖水层溶液重复上述过程多次, 直至多糖中蛋白质除尽后备用。

1.3.1.2 枣多糖组分的分离

取约 150 mg/mL 的多糖水溶液 3.0 mL, 上样于已经平衡好的 DEAE-纤维素离子交换层析柱(ϕ 2.8 × 100 cm)中, 先用蒸馏水进行洗脱, 再用 0.05、0.1、0.3、0.5 mol/L 进行 NaCl 分段梯度洗脱, 5 mL 一管; 用硫酸-苯酚法测定多糖含量, 显色跟踪每管洗脱液 A_{490nm} 值, 相同组分多糖液合并浓缩。取 DEAE-52 纤维素柱洗脱组分上样于 Sephadex G-100 葡聚糖柱(ϕ 2.8 × 100 cm), 以蒸馏水做洗脱液, 收集洗脱液, 5 mL 一管; 测定多糖含量, 跟踪测定每管洗脱液的吸光值。一共分离出五个糖组分, 依次命名为: DT_A、DT_{B1}、DT_{B2}、DT_{B3}、DT_C, 收集合并每个组分多糖溶液浓缩至一定体积后定容到 10 mL 容量瓶中, 取 0.5 mL 定容至 100 mL 容量瓶中, 测定其各组分多糖含量。各多糖组分放入 60 ℃ 烘箱中干燥至恒定重量, 备用。

1.3.2 标准曲线的绘制

不同浓度多巴底物(0.2、0.5、1.0、2.0、2.5 mmol/L), 加入最终浓度为 0.5 mg/L 的酶, 将其放入 37 ℃ 的恒温水浴锅中反应 5 min, 分别测定各反应液的吸光值。以底物浓度为 x 轴, 以吸光值为 y 轴做标准曲线。

1.3.3 不同组分枣多糖抑制酶活性的测定

参考方法^[9,10]。取 7 个玻璃试管, 前 5 个依次加入 pH = 6.8 的磷酸盐缓冲溶液 3.5 mL, 浓度为 10 mmol/L 的 L-DOPA 溶液 0.5 mL, 浓度为 5.0 mg/mL 的多糖 0.5 mL, 加入 0.5 mL 0.01 g/L 酪氨酸酶水溶液, 第 6 个试管以蒸馏水代替多糖作为空白对

照,第7个试管只加样品和磷酸盐缓冲溶液;7个玻璃试管均放在37℃恒温水浴锅中反应5 min。测定反应液吸光值,计算得出最强酶活性抑制率组分,命名为DT_x。

酶活性抑制率计算公式:

$$\text{酶活性抑制率}(\%) = \frac{[A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{背景}})]}{A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

式中,A_{空白}:不加样品反应后的吸收值;A_{样品}:加入样品反应后的吸收值;A_{背景}:只加样品的吸收值。

1.3.4 不同浓度DT_{B3}在不同时间下对酶活力的影响

取4个玻璃试管依次加入0、0.5、1.0、1.5 mL的DT_{B3}溶液,其最终浓度依次为0、0.5、1.0、1.5 mg/mL,在加入底物和酶后将其放入37℃的恒温水浴锅中,在18 min中内分别测定各反应液的吸光值。

1.3.5 不同浓度DT_{B3}对酶活性抑制率的影响

取6个玻璃试管依次加入0、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 mL的DT_{B3}溶液,其最终浓度依次为0、0.1、0.3、0.5、0.9、1.5 mg/mL,在加入底物和酶后将其放入37℃的恒温水浴锅中反应5 min,分别测定各反应液的吸光值。

1.3.6 DT_{B3}抑制酶活性动力学分析

参考方法^[10],酶的最终质量浓度为1.0 mg/L。改变底物(L-DOPA)浓度(0.2、0.5、1.0、2.0 mmol/L),测定不同浓度(0、0.5、1.5 mg/mL)下多糖溶液的反应初始速率。依照Lineweaver-Burk作底物浓度对酶反应速率的双倒数图,绘制DT_{B3}的对酪氨酸酶活性抑制作用的动力学曲线。

1.3.7 多糖硫酸化修饰

分别精确称取各组分的纯化多糖10 mg于20 mL的玻璃试管中,同时分别加入50 mg氨基磺酸和10 mL甲酰胺试剂,在100℃下,水浴搅拌、反应5 h,等反应结束后立即放入冰水中0.5 h,然后放置至到室温,用0.5 mol/L NaOH溶液中和至中性,然后将反应液装入透析袋中,首先自来水流水透析24 h,再用蒸馏水透析12 h,将溶液旋转减压浓缩到一定体积后,乙醇沉淀,离心,干燥。

1.3.8 氯化钡-明胶法测定多糖中硫酸根取代度

1.3.8.1 标准曲线的绘制

精密称取干燥至恒重的硫酸钾100 mg,以1.0 mol/L HCl溶解,定容至100 mL。分别吸取硫酸钾溶液0.05、0.10、0.15、0.20、0.30、0.50 mL于6根

玻璃试管中各以HCl补至0.5 mL,蒸馏水作为空白,加入10%三氟乙酸4 mL及氯化钡明胶溶液1.0 mL,充分摇匀后静置15 min,在波长360 nm处测定反应液的吸光度值得(A₁)。与上述同样的方法,用已配置好的明胶溶液替换氯化钡明胶溶液测定反应液的吸光度值得(A₂)。以A₁减去A₂吸光度差值作为横坐标,以底物SO₄²⁻(mg)为纵坐标,制作标准曲线。

1.3.8.2 硫酸根含量的测定

称取已酯化多糖样品2 mg,放入20 mL的玻璃试管中,同时倒入浓度为1 mol/L盐酸10 mL,100℃密封水浴8 h后,反应液在45℃下旋转减压蒸干,残渣用1 mL蒸馏水溶解。按上述方法。测定样品中有、无氯化钡溶液吸光度的差值,依据回归方程计算样品中的硫酸根含量(S%)。并根据以下公式计算样品硫酸根取代度:DS = 1.62 × S%/(32-1.02S%)。

1.3.9 多糖经硫酸化后对酶活抑制率的测定

同1.3.3测定方法。

2 结果与分析

2.1 多糖对酪氨酸酶活性抑制

2.1.1 底物L-DOPA标准曲线

以不同浓度L-DOPA下对应的吸光值做标准曲线,吸光值随着L-DOPA浓度的变化而变化,当底物浓度在0.2~2.5 mmol/L时与吸光度呈现良好的线性关系,得回归方程y = 0.2053x + 0.0794(R² = 0.9985)。

2.1.2 不同组分枣多糖对酶活性抑制分析

以等剂量的不同组分多糖测定酶活性抑制率,并相互间作比较;通过各组分多糖酶活抑制分析,计算各组分的IC₅₀,见表1。结果表明,枣果多糖中各组分多糖IC₅₀较低的为DT_{B3},为0.388 mg/mL,其次是DT_C为1.054 mg/mL,其余组分在3 mg/mL左右。酪氨酸酶活性抑制率较高的成份为DT_{B3}和DT_C,分别达到了77.94%、69.93%,其余组分在40%左右;综合上述指标,在后文中选取DT_{B3}做进一步对其对动力学研究。

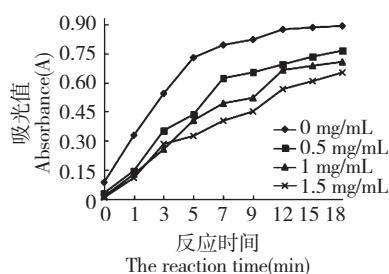
2.1.3 不同浓度DT_{B3}在不同时间下对酶活力的影响

在酶的最终浓度1.0 mg/L,L-DOPA最终浓度1.0 mmol/L下,不同浓度的DT_{B3}随时间变化对酪氨酸酶抑制作用的进程曲线,由图1可知,在不同浓度

表 1 不同组分多糖对酶的抑制活性($\bar{x} \pm s, n \geq 3$)Table 1 The different components of polysaccharide on inhibition of enzyme activity ($\bar{x} \pm s, n \geq 3$)

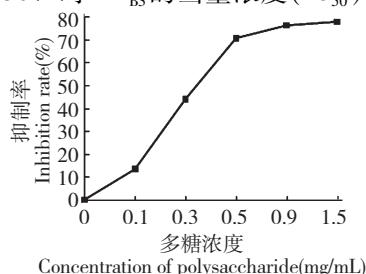
组分 Component	浓度 Concentration (mg/mL)	酶活性抑制率 Inhibition of enzyme activity (%)	各组分 IC ₅₀ IC ₅₀ of polysaccharide (mg/mL)
DT _A	0.5	35.29 ± 0.142	5.316
DT _{B1}	0.5	41.18 ± 0.081	3.171
DT _{B2}	0.5	47.55 ± 0.110	2.881
DT _{B3}	0.5	77.94 ± 0.142	0.388
DT _C	0.5	69.93 ± 0.111	1.054

的多糖下,均表现出酶活作用强度随着时间的增加,慢慢趋于平缓,即逆反应速度正逐渐加大;在相同的反应时间内,反应液的吸光值随着 DT_{B3}浓度的增大而降低,即反应出了酪氨酸对多巴催化氧化的效率正逐步下降,这说明了 DT_{B3}对酪氨酸酶具有较强的酶活抑制作用。

图 1 DT_{B3} 在不同时间下对酶活力的影响Fig. 1 The effect of DT_{B3} on the enzyme activity at different time

2.1.4 不同浓度 DT_{B3} 对酶活性抑制率的影响

在酶最终浓度 1.0 mg/L, L-DOPA 最终浓度 1.0 mmol/L 下,不同浓度的 DT_{B3} 对酪氨酸酶抑制率的进程曲线,由图 2 可以看出,酪氨酸酶的相对抑制率随着 DT_{B3} 浓度的升高也逐步增大,酶活当相对抑制率达到 50% 时 DT_{B3} 的当量浓度 (IC₅₀) 为 0.388

图 2 不同浓度 DT_{B3} 对酶活性抑制率的影响Fig. 2 The effect of different concentrations of DT_{B3} on the inhibition rate of enzyme activity

mg/mL;不同浓度 DT_{B3} 对酪氨酸酶活性的抑制率的变化呈现缓-急-缓的趋势,如在 0.1 mg/mL 时斜率为 13.3,0.3 mg/mL 时斜率为 153.3,0.9 mg/mL 时斜率为 17.0。这说明了一定浓度的多糖 DT_{B3} 对酪氨酸酶具有较强的抑制作用。

2.1.5 DT_{B3} 抑制酶活性动力学分析

三个多糖浓度下的 Lineweaver-Burk 双倒数图如图 3 所示。由图 3 可知, Lineweaver-Burk 取双倒数作图相较于横轴的一点;随着 DT_{B3} 浓度的增大,直线横轴截距基本不变,纵坐标截距和直线斜率之比不变,符合非竞争性可逆抑制类型的特征。根据图 3、表 2 可得米氏方程、K_m 和 V_m。

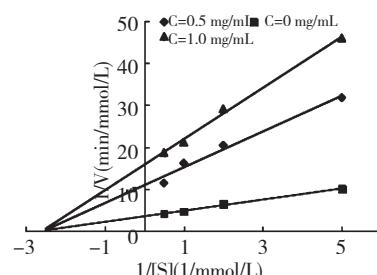
图 3 DT_{B3} 的 Lineweaver-Burk 双倒数图Fig. 3 The DT_{B3} Lineweaver-Burk double reciprocal plot

表 2 DT_{B3} 对酪氨酸酶的抑制动力学参数

Table 2 Kinetic parameters of DT_{B3} inhibition on tyrosinase

多糖浓度 Concentration of polysaccharide (mg/mL)	Lineweaver-Burk 方程 Equation of Lineweaver-Burk	K _m	V _m
0	1/V = 1.3299C _s + 3.4586	0.384	0.289
0.5	1/V = 4.2744C _s + 10.862	0.393	0.098
1.0	1/V = 6.1178C _s + 15.745	0.388	0.064

2.2 硫酸化修饰枣多糖对酪氨酸酶活性抑制效果

2.2.1 底物 SO₄²⁻ (mg) 标准曲线

以不同质量 SO₄²⁻ (mg) 下对应的吸光度差值做

标准曲线,发现其吸光值随着底物 SO_4^{2-} 质量的变化而变化,当底物质量在 0.027 ~ 0.274 mg 与吸光度呈现良好的线性关系。得回归方程 $y = 1.6351x + 0.1322 (R^2 = 0.9946)$ 。

2.2.2 不同组分硫酸酯化枣多糖对酶活抑制性效果分析

以等剂量的不同组分硫酸酯化多糖测定酶活性抑制率,并相互间作比较;通过氯化钡-明胶法测定

各组分 SO_4^{2-} 的含量,见表 3。结果表明,枣果多糖中 SO_4^{2-} 含量较高组分为 DT_A ,达到 13.82%,其余组分 SO_4^{2-} 含量在 10% 左右。相对比于前表 1, DT_A 、 DT_{B1} 、 DT_{B2} 等分子量相对较大的多糖经硫酸化修饰后对酪氨酸酶活性抑制相对提高,而 DT_{B3} 却有略微的下降,这说明硫酸化修饰后对大分子多糖活性的影响较大。

表 3 不同组分硫酸酯化多糖对酶的活性抑制 ($\bar{x} \pm s, n \geq 3$)

Table 3 The different components of polysaccharide on the inhibition of enzyme activity ($\bar{x} \pm s, n \geq 3$)

组分 Component	浓度 Concentration (mg/mL)	酶活性抑制率 Inhibition of enzyme activity (%)	硫酸根含量 Content of SO_4^{2-} (%)	硫酸根取代度 Substitute degree of SO_4^{2-}
DT_A	0.5	56.54 ± 0.138	13.82	1.25
DT_{B1}	0.5	58.53 ± 0.116	12.81	1.10
DT_{B2}	0.5	61.60 ± 0.069	9.93	0.74
DT_{B3}	0.5	77.61 ± 0.178	8.740	0.61
DT_C	0.5	70.10 ± 0.427	12.56	1.06

3 讨论与结论

由于通过柱分离所得到多糖的分子量大小、粘度大小、空间构象等物理因素不一样^[11],本文对不同组分枣多糖进行抑制酪氨酸酶活性分析。旨在了解各多糖组分在抑制酪氨酸酶活性方面的差异。通过实验分析得出组分 DT_{B3} 对酪氨酸酶活性抑制能力最强,在后续的进一步研究中,可通过了解 DT_{B3} 分子量大小,单糖组成,取代基,单糖糖苷键连接,分子构象等来了解其对酪氨酸酶抑制作用机理。多糖是一类大分子化合物,分子量在数千乃至百万之间,对多糖组分的活性测定多用于体外抗氧化实验,本实验初次对糖枣 5 个多糖组分抑制酪氨酸酶活性的测定,对已测得的结果可以看出,活性较强的组分是分子量相对较小 DT_{B3} 。这可能与分子量较小,水中溶解度大以及结构不是很稳定有关,与相关文献在对多糖抗氧化性方面的结论有一致性^[12]。

不同组分枣多糖对酪氨酸酶的抑制效果有较大差异,如组分 DT_{B3} 、 DT_C 在浓度为 0.5 mg/mL 时对酪氨酸酶抑制率高达近 70%,而组分 DT_A 、 DT_{B1} 、 DT_{B2} 对酪氨酸酶抑制率则均小于 50%。通过对 DT_{B3} 抑制酶活性动力学分析, DT_{B3} 抑制作用表现为非竞争性抑制类型;对酪氨酸酶的相对抑制率达到 50% 时 DT_{B3} 的当量浓度 (IC_{50}) 为 0.388 mg/mL;比枸杞水提物 ($\text{IC}_{50} = 0.73 \text{ mg/mL}$)^[7],槟榔花沸水提

取物 ($\text{IC}_{50} = 0.77 \text{ mg/mL}$)^[10] 都低得多,是一种值得开发与利用的酪氨酸酶抑制剂。

多糖硫酸化修饰后进行酪氨酸酶活性抑制分析,修饰后多糖组分 DT_A 、 DT_{B1} 、 DT_{B2} 、对酪氨酸酶抑制率在原有的基础上都有较大的提高,分别提高了 60.19%、41.66%、29.55%, DT_C 也略微的提高 0.23%。但是组分 DT_{B3} 却有略微的下降,下降 0.42%。总的来说糖枣多糖经硫酸化修饰后对酪氨酸酶活性抑制能力有较大的提高,但不是所有多糖的组分都能提高活性。前 3 个多糖组分的分子量比较大,水中溶解度可能比较小,加上结构过于稳定从而活性不强经硫酸化修饰后可改变多糖分子空间构象、分子力大小和多糖溶解度,从而在很大程度上增加了大分子多糖的生物活性。王君敏^[13]等人对枸杞多糖进行硫酸化修饰后,对动物免疫活性研究,实验结果表明,修饰后的多糖能显著促进淋巴细胞的增殖,提高抗体血清抗体,增强动物体的免疫力。

本文首次对三年生子代糖枣中枣多糖的酶抑制活性测定,并结合 Lineweaver-Burk 方程对酶活抑制类型分析。实验结果表现出了糖枣多糖对酪氨酸酶的良好抑制效果,尤其是通过柱分离所得到的多糖组分 DT_{B3} 。目前用于美白的天然产物添加剂有许多,其中包括了 VC、曲酸、多酚、氢醌、黄酮、脂类、熊果苷等^[14,15],但氢醌刺激性大,而 VC、黄酮、多酚类易被空气氧化,因不能长期保存而被淘汰^[16]。另

外,某些成分还可能具有一定的危险性,比如,熊果苷和曲酸会对一些皮肤过敏的人群导致接触性皮炎^[17,18]。通过实验分析出 DT_{B3}对酪氨酸酶活性的抑制作用较强,并且酪氨酸酶活性的抑制效率随着 DT_{B3}含量的提升而增加。其可能原因是在酪氨酸酶促进底物转化生成其它黑色素物质时,DT_{B3}抑制酪氨酸酶的活性延缓或者终止了酶的促进作用。因此,糖枣多糖有望作为一种新型的美白添加剂,添加到各种护肤霜、防晒霜中,制成具有护肤、祛斑功能的化妆品,或者添加到食品中,制成各种养颜美容、补血补气的保健品,在化妆品和保健品行业将具有良好的开发利用前景。

参考文献

- Wang CZ(王长柱), Gao JC(高京草), Gao WH(高文海), et al. Advances in research on improvement of Chinese jujube cultivars (*Zizyphus jujuba*). *J Fruit Sci*(果树学报), 2007, 24:637-678.
- Chen QX(陈清西), Song KK(宋康康). Tyrosinase: recent prospects. *J Xiamen Univ, Nat Sci*(厦门大学学报: 自科版), 2006, 45:731-737.
- Ying J(应军), Ni QC(倪庆纯), Yang W(杨威), et al. Inhibition of extracts from Hangzhou Chrysanthemum Flos, Angelicae Sinensis Radix, and Salviae Miltorrhizae Radix et Rhizoma on formation of chloasma and their mechanism. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2011, 42:958-961.
- Zhang YL(张耀雷), Huang LX(黄立新), Zhang CH(张彩虹), et al. Research progress in *Ziziphus Jujube* polysaccharides. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2013, 34:349-352.
- Feng YG(冯远光), Shi LY(石璐缘), Cui BD(崔宝弟), et al. Effect of water extract and main monomer components of processed *Polygonum multiflorum* on intracellular tyrosinase and their antioxidant antioxidant activity. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2015, 27:578-584.
- Wang XN(王晓岚), Yao WJ(姚文杰), Fan L(苑亮), et al. Effect of the polysaccharides and other active extracts from *Cynanchum auriculatum* on the activity of tyrosinase. *J Food Sci Biotechnol*(食品与生物技术学报), 2013, 32(10):1-5.
- Zhao P(赵鹏), Zhang TT(张婷婷). Preparation of carboxymethyl *Lonicera japonica* polysaccharides and its antioxidant ability. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2015, 27:114-119.
- Xia XK(夏新奎), Dou CL(豆成林). Sulfated modification of polysaccharides form *Allium macrostemon* bge. and *in vitro* antioxidant activity. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2015, 27:881-885.
- Cheng JY(程建宇), Zhong XH(钟晓红), Lu Y(陆英), et al. Inhibitory effect of extracts from *Diospyros kaki* leaves on α -glucosidase. *Hunan Agric Sci*(湖南农业科学), 2013, 7:43-46.
- Cheng FF(程芳芳), Hai H(海洪), Huang YL(黄玉林), et al. Inhibitory effect of areca inflorescence boiling water extracts on tyrosinase-catalyzing reaction. *Chin J Tropic Crops*(热带作物学报), 2010, 31:1932-1935.
- Teng LR(滕利荣), Hong SS(洪水声). Study on the viscosity of polysaccharide in pullulan. *Food Sci*(食品科学), 2003, 24(10):32-35.
- Shi QJ(石全见). Molecular modification and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharide in *Porphyridium cruentum*. Shandong: Yantai University(烟台大学), MSc. 2009.
- Wang MJ(王君敏), Hu YL(胡元亮), Wang DY(王德云), et al. Studies on sulfated modification to enhance the immune-enhancing activity of *Lyceum barbarum* polysaccharides. *Chin J Animal Veterin Sci*(畜牧兽医学报), 2008, 39:251-256.
- Fu BQ(傅博强), Li H(李欢), Wang XR(王小如), et al. Inhibitory effects of several licorice flavonoids on the monophenolase activity of tyrosinase. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2005, 17:391-395.
- Yu HM(余汉谋), Jiang XT(姜兴涛), Li QY(李庆延), et al. Progress in research work on skin-whitening effect of essential oils. *China Surfactant Deterg Cosm*(日用化学工业), 2014, 44:45-48.
- Wang CG(汪昌国), Jing S(金抒), Li HS(李华山), et al. Development of skin whitening agents. *China Surfactant Deterg Cosm*(日用化学工业), 2002, 32(4):56-60.
- Cheng SL, Liu RH, Sheu JN, et al. Toxicogenomics of A375 human malignant melanoma cells treated with arbutin. *J Biomed Sci*, 2007, 14:87-105.
- Garcia GJ, Redondo GVD. Pigmented contact dermatitis due to kojic acid: A paradoxical side effect of a skin lightener. *Contact Dermatitis*, 2010, 62:63-64.