

橄榄苦苷对酪氨酸酶抑制作用的研究

陈 静¹, 魏鉴腾^{2,3}, 裴 栋^{2,3}, 陈文雅¹, 刘建飞^{2,3}, 邸多隆^{2,3}, 刘晔玮^{1*}¹兰州大学公共卫生学院营养与食品卫生学研究所;²中国科学院兰州化学物理研究所;³中科院西北特色植物资源化学重点实验室,兰州 730000

摘要: 本文通过测定橄榄苦苷对小鼠 B16 黑色素瘤细胞内酪氨酸酶和蘑菇酪氨酸酶的抑制率、分析橄榄苦苷对蘑菇酪氨酸酶的抑制机理和抑制类型,研究其对酪氨酸酶的抑制作用。结果表明,橄榄苦苷对小鼠 B16 黑色素瘤细胞酪氨酸酶的活性有明显的抑制作用,100、200 $\mu\text{mol/L}$ 的橄榄苦苷对 B16 细胞酪氨酸酶活性的抑制率分别为 $8.96\% \pm 2.53\%$ 和 $33.41\% \pm 3.74\%$ 。橄榄苦苷对蘑菇酪氨酸酶有一定的抑制活性,其 IC_{50} 为 0.210 mmol/L。动力学结果表明,橄榄苦苷对蘑菇酪氨酸酶的抑制作用类型为可逆性非竞争性抑制。综上,橄榄苦苷对 B16 细胞酪氨酸酶和蘑菇酪氨酸酶均有较强的抑制作用。本实验结果可为橄榄苦苷作为美白原料的开发提供一定的实验基础和理论依据。

关键词: 橄榄苦苷;酪氨酸酶;小鼠 B16 黑色素瘤细胞;抑制活性;动力学

中图分类号: Q554.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)12-1998-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.12.002

Study on the inhibitory effect of oleuropein on tyrosinase

CHEN Jing¹, WEI Jian-teng^{2,3}, PEI Dong^{2,3},CHEN Wen-ya¹, LIU Jian-fei^{2,3}, DI Duo-long^{2,3}, LIU Ye-wei^{1*}¹Institute of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Lanzhou University;²Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences;³Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

Abstract: In the paper, we determined the inhibition rate of oleuropein on mushroom tyrosinase and tyrosinase in mouse B16 melanoma cells, analyzed the inhibition mechanism and type of oleuropein on mushroom tyrosinase, in order to evaluate its inhibitory effect on tyrosinase. The results showed that oleuropein had a significant inhibitory effect on tyrosinase activity in mouse B16 melanoma cells, and the inhibition rates of 100 and 200 $\mu\text{mol/L}$ oleuropein on tyrosinase activity in B16 cells were $8.96\% \pm 2.53\%$ and $33.41\% \pm 3.74\%$, respectively. Oleuropein has a certain inhibitory activity on mushroom tyrosinase, and its IC_{50} is 0.210 mmol/L. The kinetic results showed that the inhibitory effect of oleuropein on mushroom tyrosinase was reversible non-competitive inhibition. In summary, oleuropein had a strong inhibitory effect on tyrosinase B16 cells and mushroom tyrosinase. The experimental results can provide a certain experimental and theoretical basis for the development of oleuropein as a whitening raw material.

Key words: oleuropein; tyrosinase; B16 melanoma cells; inhibitory activity; kinetics

酪氨酸酶(EC. 1.14.18.1)广泛存在于微生物、动植物和人体中,是参与黑色素生成过程的重要限速酶,其表达水平和活性决定着黑色素合成的速度和产量^[1]。抑制酪氨酸酶的活性,可改善皮肤中色素细胞的酪氨酸酶代谢,阻止色素沉着的形成,起到

预防雀斑、黄褐斑、老年斑等的形成和美白等作用^[2]。目前常用的酪氨酸酶抑制剂,如曲酸、氢醌具有良好的抑制能力,但会产生皮炎、皮肤过敏甚至皮肤癌等副作用^[3]。因此寻找安全、有效且对人体无副作用的酪氨酸酶抑制剂是目前研究的热点。目前,研究表明许多植物提取物中的酚类、黄酮类及其衍生物、多糖类、挥发油、有机酸、香豆素类等是酪氨酸酶抑制剂的较好来源^[4]。

收稿日期:2021-05-04 接受日期:2021-10-19

基金项目:国家重点研发计划(2019YFD1002404);甘肃省科技重大专项(21ZD4NK045)

* 通信作者 Tel:86-931-8915011; E-mail:liuyw@lzu.edu.cn

橄榄苦苷 (oleuropein) 是由羟基酪醇和油橄榄骨架形成的裂环烯醚萜苷化合物, 分布于整棵油橄榄, 其中油橄榄叶中含量是最丰富的, 其次为油橄榄果^[5]。近年来, 随着国内外学者对橄榄苦苷研究的不断深入, 发现其具有多种生物活性, 如: 抗病毒作用^[6]、抗肿瘤作用^[7]、抗菌作用^[8]、抗氧化作用^[9]、降血糖作用^[10]、降血压作用^[11]、抗阿尔茨海默病^[12]、皮肤创伤保护作用^[13]等, 但橄榄苦苷对酪氨酸酶活性影响的研究鲜见报道, 本文通过研究橄榄苦苷对酪氨酸酶活性的影响及其作用机理, 旨在为橄榄苦苷作为美白成分的开发和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小鼠 B16 黑色素瘤细胞 (来源于日本 JCRB 细胞库); Hyclone DMEM 高糖培养液 (美国 Thermo Fisher 公司); 胎牛血清、胰蛋白酶-EDTA 溶液及青链霉素 (Biological Industries 公司); MTT (北京索莱宝科技有限公司); 橄榄苦苷 (纯度 $\geq 98\%$, 中科院西北特色植物资源化学重点实验室自制); 蘑菇酪氨酸酶 ($\geq 1\ 000\ \text{U/mg}$, Sigma 公司); *L*-多巴 (纯度 $>99\%$, 麦克林公司); 曲酸 (纯度 $>99\%$, 北京索莱宝科技有限公司); 磷酸氢二钠、磷酸二氢钠及其他试剂均为分析纯。

CI-191C 型 191L 气套式 CO_2 恒温培养箱 (美国精骐有限公司); HFsafe-1200 型生物安全柜 (上海力申科学仪器有限公司); CKX41SF 型倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); ELx808 型酶标仪 (美国 BioTek 公司); XMTD-7000 型电热恒温水浴锅 (北京市永光明医疗仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及传代

将 B16 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖完全培养基中, 培养条件为 $37\ ^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 饱和湿度培养箱中, 每天换液, 2~3 天传代一次。

1.2.2 MTT 法检测 B16 细胞的活力

参照文献^[14]报道的方法, 取对数生长期的 B16 细胞, 接种于 96 孔板中 (5×10^3 个/100 μL /孔), $37\ ^\circ\text{C}$ 培养 24 h。实验设立对照组、不同浓度的橄榄苦苷组和曲酸组, 每组设 6 个复孔。对照组更换新鲜培养基, 橄榄苦苷组更换为含不同浓度橄榄苦苷的培养基, 曲酸组更换为含不同浓度曲酸的培养基, 培养 48 h 后, 加入 MTT 溶液 (5 mg/mL, 20 μL /孔), 继

续培养 3 h。弃上清加 DMSO (150 μL /孔), 充分振荡, 待结晶物完全溶解后, 酶标仪于 490 nm 处测各孔吸光度。按下式计算细胞相对活力:

$$\text{相对活力} = \frac{A_{\text{干预组}}}{A_{\text{对照组}}} \times 100\%$$

1.2.3 B16 细胞内酪氨酸酶活性的测定

参照文献^[15]报道的方法, 取对数生长期的 B16 细胞, 接种于 96 孔板中 (5×10^3 个/100 μL /孔), $37\ ^\circ\text{C}$ 培养 24 h。实验设立对照组、不同浓度的橄榄苦苷组和曲酸组, 每组设 6 个复孔。对照组更换新鲜培养基, 橄榄苦苷组换为含不同浓度橄榄苦苷的培养基, 曲酸组换为含不同浓度曲酸的培养基, 培养 48 h 后, 用 PBS 清洗一次, 每孔加 50 μL 含 1% Triton X-100 的 PBS, $-80\ ^\circ\text{C}$ 放置 30 min, $37\ ^\circ\text{C}$ 孵育使细胞完全破裂, 反复 3 次后加入 *L*-多巴 (4 mmol/L, 50 μL /孔), $37\ ^\circ\text{C}$ 孵育 1 h, 酶标仪于 475 nm 处测各孔吸光度。按下式计算细胞相对酪氨酸酶活性:

$$\text{相对酪氨酸酶活性} = \frac{A_{\text{干预组}}}{A_{\text{对照组}}} \times 100\%$$

1.2.4 橄榄苦苷对酪氨酸酶活力的影响

将 50 μL 橄榄苦苷 (终浓度为 0、0.05、0.09、0.19、0.28、0.37 和 0.46 mmol/L) 和 50 μL 酪氨酸酶 (终浓度为 25 U/mL) 于 $37\ ^\circ\text{C}$ 水浴保温 5 min, 再加入 50 μL 磷酸盐缓冲液 (pH = 6.8) 和 50 μL *L*-多巴 (终浓度为 0.5 mmol/L), $37\ ^\circ\text{C}$ 恒温下反应 10 min, 475 nm 下测定吸光度。曲酸作为阳性对照 (终浓度为 0、0.003、0.007、0.014、0.035、0.070、0.176、0.352 mmol/L)。按下式计算相对酶活力:

$$\text{相对酶活力} = \frac{A_2 - A_1}{A_4 - A_3} \times 100\%$$

式中: A_1 和 A_2 是橄榄苦苷、酪氨酸酶与 *L*-多巴反应初末的吸光度; A_3 和 A_4 是酪氨酸酶与 *L*-多巴反应初末的吸光度。

按照上述测定方法, 将反应液置于酶标仪中 $37\ ^\circ\text{C}$ 恒温, 间隔 40 s 测定一次, 共测定 10 min, 选取 0~5.3 min 吸光度随时间的改变拟合方程, 其斜率即为酶活力值。

1.2.5 橄榄苦苷对酪氨酸酶活性的抑制作用机理

按照“1.2.4”项下的测定方法。通过固定 *L*-多巴浓度, 改变酪氨酸酶浓度 (终浓度为 12.5、25、37.5、50、62.5 U/mL), 测定不同浓度橄榄苦苷在各浓度酪氨酸酶催化下氧化 *L*-多巴产生的吸光度。以相对酶活力对酶浓度作图, 根据图像判断橄榄苦

苷对酪氨酸酶活性的抑制作用是否可逆。如果作图结果为一组直线且通过原点,则为可逆抑制;如果得到一组平行直线,则为不可逆抑制。

1.2.6 橄榄苦苷对酪氨酸酶活性的抑制类型和抑制常数

按照“1.2.4”项下的测定方法。固定酪氨酸酶的浓度,改变 *L*-多巴浓度(终浓度为 0.5、0.7、1、1.4、2 mmol/L),测定不同浓度橄榄苦苷在各浓度 *L*-多巴下对酪氨酸酶催化氧化 *L*-多巴产生的吸光度。催化反应速度按照 $V = \frac{\Delta A_{475\text{ nm}}}{t}$ (时间选取 0 ~ 5.3 min) 计算,以反应速度的倒数(1/*V*)对 *L*-多巴浓度的倒数(1/*S*)作图,判断橄榄苦苷对酪氨酸酶活性的抑制类型和抑制常数。

1.2.7 统计分析

利用 IBM SPSS 21.0 软件对数据进行统计学分析,表示使用单因素方差分析比较组间差异,数据以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,以 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 橄榄苦苷对 B16 黑色素瘤细胞活力的影响

由图 1 可见,橄榄苦苷浓度为 400 μmol/L 时对 B16 细胞有明显的损伤作用 ($P < 0.01$), 25 ~ 200 μmol/L 橄榄苦苷对 B16 细胞既无毒性作用,也无明显的促细胞增殖作用 ($P > 0.05$)。

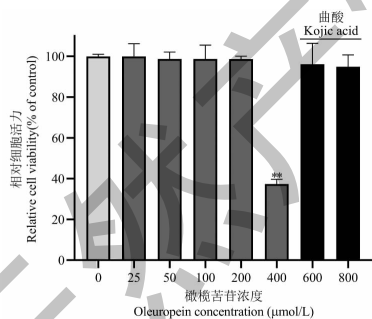


图 1 橄榄苦苷对 B16 细胞活力的影响 ($n = 6$)

Fig. 1 Effect of oleuropein on the B16 cells viability ($n = 6$)

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。Note: ** $P < 0.01$ vs control group.

2.2 橄榄苦苷对 B16 黑色素瘤细胞酪氨酸酶活性的影响

由图 2 可见,100 ~ 200 μmol/L 的橄榄苦苷对 B16 细胞酪氨酸酶活性有抑制作用 ($P < 0.01$), 橄榄苦苷浓度为 100 μmol/L,对 B16 细胞酪氨酸酶活性的抑制率为 $8.96\% \pm 2.53\%$,浓度为 200 μmol/L

对 B16 细胞酪氨酸酶活性的抑制率为 $33.41\% \pm 3.74\%$ 。曲酸作为阳性对照,浓度为 600 μmol/L,其抑制率为 $13.77 \pm 1.78\%$ 。浓度为 800 μmol/L,其抑制率为 $24.59 \pm 0.82\%$ 。相比较而言,橄榄苦苷对 B16 细胞酪氨酸酶活性优于曲酸。

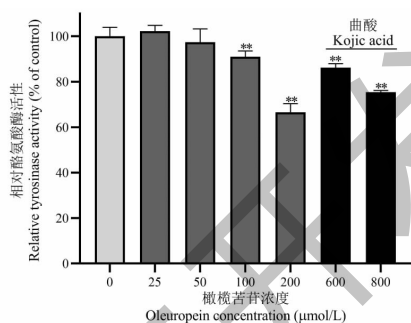


图 2 橄榄苦苷对 B16 细胞酪氨酸酶活性的影响 ($n = 6$)

Fig. 2 Effect of oleuropein on tyrosinase activity of B16 cells ($n = 6$)

注:与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。Note: ** $P < 0.01$ vs control group.

2.3 不同浓度的橄榄苦苷对酪氨酸酶活力的影响

由图 3 可见,反应体系吸光度随反应时间的延长而逐渐增大,吸光度随时间变化的曲线通过原点,不存在迟滞效应。在相同反应时间下,随着橄榄苦苷浓度的增大,曲线的斜率不断减小,即酪氨酸酶催化氧化 *L*-多巴的速度不断降低,说明橄榄苦苷具有抑制酪氨酸酶活性的能力。由图 4、5 可见,橄榄苦苷和曲酸的 IC_{50} 分别为 0.210、0.037 mmol/L。橄榄苦苷对酪氨酸酶抑制活性低于阳性对照曲酸,由于曲酸对皮肤的不良作用,使用受到一定的限制。

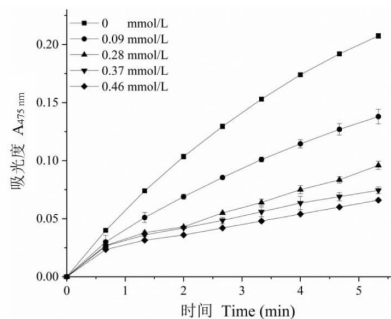


图 3 橄榄苦苷对酪氨酸酶作用进程曲线

Fig. 3 The curve of the action of oleuropein on tyrosinase

2.4 橄榄苦苷对酪氨酸酶活性的抑制作用机理

图 6 为不同浓度橄榄苦苷下酶活力与酶浓度的关系。由图 6 可见,以酶活力对酶浓度作图时,得到一组通过原点的直线,该直线的斜率随着橄榄苦苷

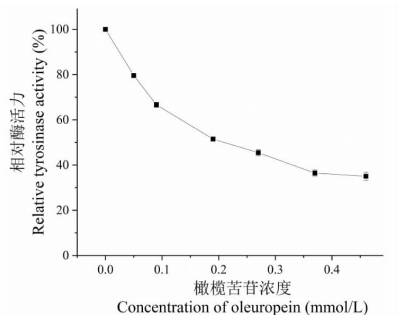


图4 橄榄苦苷对酪氨酸酶活力的影响

Fig. 4 Effect of oleuropein on tyrosinase activity

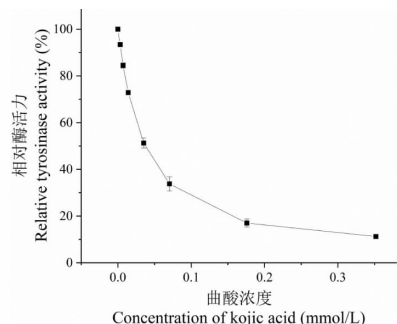


图5 曲酸对酪氨酸酶活力的影响

Fig. 5 Effect of kojic acid on tyrosinase activity

浓度的增大而逐渐降低,表明橄榄苦苷是通过抑制酶活力导致酪氨酸酶催化氧化L-多巴的速度减慢,

而不是通过降低有效酶量所导致的,说明橄榄苦苷对酪氨酸酶活性的抑制属于可逆型抑制。

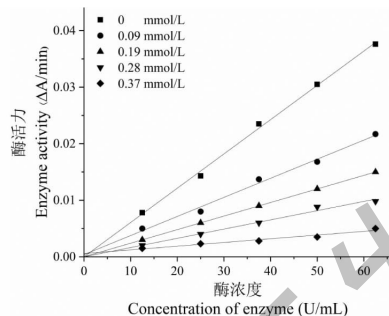


图6 不同浓度橄榄苦苷下酶浓度与酶活力的关系

Fig. 6 Relationship between enzyme concentration and enzyme activity under different concentrations of oleuropein

2.5 橄榄苦苷对酪氨酸酶活性的抑制类型和抑制常数

图7为橄榄苦苷的抑制类型和抑制常数。由图7A可见双倒数 Lineweaver-Burk图,该图为相交于横轴一点的直线,随着橄榄苦苷浓度增大, K_m 值不变, V_m 值逐渐减小,符合非竞争型抑制类型的特征。以米氏方程的斜率对橄榄苦苷浓度二次作图得到图7B,橄榄苦苷对游离酶的抑制常数(K_i)为6.77 mmol/L。橄榄苦苷的最大酶促反应速率和米氏常数见表1, K_m 为0.42 mmol/L。

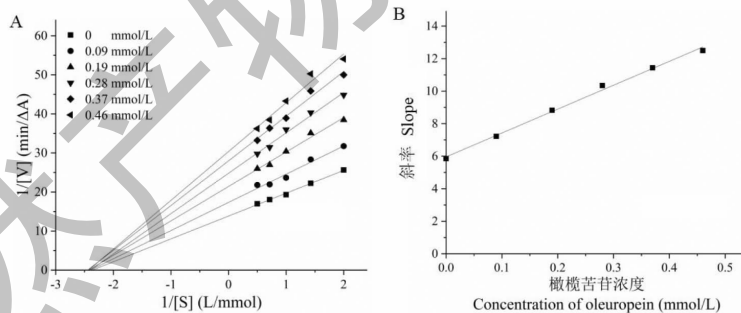


图7 橄榄苦苷的抑制类型(A)和抑制常数 K_i (B)

Fig. 7 Inhibition types (A) and inhibition constants (B) of oleuropein

表1 橄榄苦苷的最大酶促反应速度和米氏常数

Table 1 The maximum enzymatic reaction rate and michaelis constant of oleuropein

橄榄苦苷浓度 Concentration of oleuropein (mmol/L)	米氏方程 Michaelis-Menten equation	K_m	V_m
0	$y = 5.849x + 13.84$	0.42	0.072
0.09	$y = 7.220x + 17.34$	0.42	0.058
0.19	$y = 8.824x + 21.42$	0.41	0.047

续表 1 (Continued Tab. 1)

橄榄苦苷浓度 Concentration of oleuropein (mmol/L)	米氏方程 Michaelis-Menten equation	K_m	V_m
0.28	$y = 10.34x + 24.80$	0.42	0.040
0.37	$y = 11.44x + 27.97$	0.41	0.036
0.46	$y = 12.50x + 30.35$	0.41	0.033

3 讨论与结论

酶促反应中以测定单位时间内产物的增量来表示酶促反应速度。初速度是指在酶促反应开始的一段时间内的速度,此时,斜率几乎不变,在一定底物浓度下,由产物与时间关系曲线过零切线的斜率求得^[16]。一般采用测定酶促反应初速度的方法来测定酶活力,此时干扰因素较少。本实验中,在反应 0~5.3 min 时 $A_{475\text{ nm}}$ -Time 曲线近似呈线性关系,随着时间的延长,曲线逐渐平坦,斜率降低,反应的速度也就降低,此时测得的酶活力不能代表真实的酶活力,故取反应 5.3 min 时的反应速度为初速度。

体外抑制酪氨酸酶活性实验分为细胞实验和生化实验。Chan 等^[17]认为,细胞能够模拟真实的生理环境,通过细胞实验测定酪氨酸酶的活性比直接测定酪氨酸酶活性可靠,更能反映其抑制活性。本研究中橄榄苦苷对 B16 细胞酪氨酸酶抑制活性和对蘑菇酪氨酸酶的抑制活性存在差异,在细胞水平上,橄榄苦苷抑制酪氨酸酶活性优于阳性对照曲酸。这与 Li 等^[18]研究结果一致。

当人体皮肤暴露于紫外线辐射时,会产生大量的活性氧(ROS)和自由基,进而加速皮肤的老化、色素沉着、皱纹加深等^[19]。研究表明,升高的 ROS 会通过表皮中动员 α -黑色素细胞刺激素来激活酪氨酸酶,最终刺激黑色素细胞产生黑色素^[20]。抗氧化剂通过清除活性氧和自由基,促进机体的正常代谢,改善皮肤的不良状况,使色素逐渐消散,从而起到美白的作用^[21]。Wang 等^[22]研究发现,抗氧化剂:光甘草定、白藜芦醇、氧化白藜芦醇及苯乙基间苯二酚,当以 *L*-多巴作为底物时,抗氧化活性与抑制酪氨酸酶活性之间具有协同作用,极大地抑制了酪氨酸酶活性。橄榄苦苷具有较强的抗氧化活性^[9],其抑制酪氨酸酶活性是否与抗氧化活性有关,橄榄苦苷与抗氧化剂是否存在协同作用值得进一步探索。

酪氨酸酶是黑色素合成过程中的关键酶,通过抑制酪氨酸酶的活性,可以抑制黑色素的生成,进而达到美白的功效^[23,24]。本研究结果表明,橄榄苦苷

对 B16 细胞酪氨酸酶及蘑菇酪氨酸酶均有明显的抑制作用,呈现良好的剂量依赖关系。通过动力学分析,橄榄苦苷对蘑菇酪氨酸酶的抑制作用类型为可逆性非竞争性抑制,即橄榄苦苷与酪氨酸酶的结合在底物结合部位以外的必需基团上,橄榄苦苷并不降低酪氨酸酶对底物(*L*-多巴)的亲合力,而是通过阻止酶的催化作用,使 V_m 降低从而达到抑制酶活性的作用。橄榄苦苷来源广泛,安全性高,且有较好的抗氧化活性,作为潜在的美白产品的原料具有广泛的应用前景。

参考文献

- 1 Ullah S, Park C, Ikram M, et al. Tyrosinase inhibition and anti-melanin generation effect of cinnamide analogues [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 87:43-55.
- 2 Solano F, Briganti S, Picardo M, et al. Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects [J]. *Pigm Cell Res*, 2010, 19:550-571.
- 3 Nerya O, Vaya J, Musa R, et al. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots [J]. *J Agr Food Chem*, 2003, 51:1201-1207.
- 4 Bi YF, Song FR, Liu ZQ. Research progress on types of natural tyrosinase inhibitors and their inhibitory effects on tyrosinase [J]. *J Jilin Univ: Med (吉林大学学报:医学版)*, 2014, 40:454-459.
- 5 Soler-Rivas C, Espin JC, Wichers HJ. Oleuropein and related compounds [J]. *J Sci Food Agr*, 2000, 80:1013-1023.
- 6 Lee-Huang S, Huang PL, Zhang DW, et al. Discovery of small-molecule HIV-1 fusion and integrase inhibitors oleuropein and hydroxytyrosol: Part II. Integrase inhibition [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2007, 354:872-878.
- 7 N Mansouri, Alivand MR, Bayat S, et al. The hopeful anticancer role of oleuropein in breast cancer through histone deacetylase modulation [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120:17042-17049.
- 8 Wu ZQ, Jiang YJ, Su GC, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of oleuropein *in vitro* [J]. *J Food Sci (食品科学)*, 2014, 35(21):94-99.

- 9 Alirezaei M, Kheradmand A, Heydari R, et al. Oleuropein protects against ethanol-induced oxidative stress and modulates sperm quality in the rat testis[J]. *Med J Nutr Meta*, 2012, 5(3):205-211.
- 10 Jemai H, Feki AE, Sayadi S. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats[J]. *J Agr Food Chem*, 2009, 57: 8798-8804.
- 11 Romero M, Toral M, Gómez-Guzmán M, et al. Antihypertensive effects of oleuropein-enriched olive leaf extract in spontaneously hypertensive rats[J]. *Food Funct*, 2016, 7(1): 584-593.
- 12 Martorell M, Forman K, Castro N, et al. Potential therapeutic effects of oleuropein aglycone in Alzheimer's disease [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2016, 17:994-1001.
- 13 Mehraein F, Sarbishegi M, Aslani A. Therapeutic effects of oleuropein on wounded skin in young male BALB/c mice [J]. *Wounds*, 2014, 26(3): 83-88.
- 14 Stockert JC, Horobin RW, Colombo LL, et al. Tetrazolium salts and formazan products in cell biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives [J]. *Acta Histochem*, 2018, 120(3): 159-167.
- 15 Ullah S, Park C, Ikram M, et al. Tyrosinase inhibition and anti-melanin generation effect of cinnamamide analogues[J]. *Bioorg Chem*, 2019, 87: 43-55.
- 16 Liu CY, Li X. Enzyme Dynamic Inhibition of Acarbose on Type III α -Glucosidase[J]. *J Sichuan Nor Univ; Nat Sci* (四川师范大学学报: 自科版), 2015, 38: 286-291.
- 17 Chan YY, Kim KH, Cheah SH. Inhibitory effects of *Sargassum polycystum* on tyrosinase activity and melanin formation in B16F10 murine melanoma cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137: 1183-1188.
- 18 Li YH, Ji W, Ji HW, et al. Preparation of polypeptide from *Sardinops sagax* and its tyrosinase inhibition activities [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2016, 37(3): 58-62.
- 19 Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 10771-10778.
- 20 Ychabc D, Yvg A, Lww A, et al. The *in vitro* and *in vivo* depigmenting activity of pterostilbene through induction of autophagy in melanocytes and inhibition of UVA-irradiated α -MSH in keratinocytes via Nrf2-mediated antioxidant pathways-ScienceDirect [J]. *Redox Biol*, 2021, 44: 102007.
- 21 Li CM, Gao S, Guo J. Antioxidant activity of Lüyangchun green tea [J]. *Chin J Bioproc Eng* (生物加工过程), 2014, 12(5): 69-73.
- 22 Wang Y, Hao MM, Sun Y, et al. Synergistic promotion on tyrosinase inhibition by antioxidants [J]. *Molecules*, 2018, 23(1): 106.
- 23 Yang Y, Lu J, Sun BJ, et al. Inhibitory kinetics study of resveratrol on tyrosinase activity *in vitro* [J]. *J Food Sci Biotech* (食品与生物技术学报), 2011, 30: 632-635.
- 24 Ji Z, Chigan JZ, Meng XX, et al. Kinetics and effect of gypenoside-selenium complex on tyrosinase activity [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31: 93-99.

致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!

昆明医科大学药学院

西南交通大学生命科学与工程学院

西南交通大学期刊社