臺灣火刺木成分於人類黑色素細胞之活性探討

The related activities of the constituents from Pyracantha koidzumii in human epidermal melanocytes

中文摘要

臺灣火刺木（Pyracantha koidzumii (Hayata) Rehder）薔薇科火刺木屬（Pyracantha）常綠灌木，爲臺灣特有種，產於東部低海拔河床地區。本實驗室以人類黑色素細胞之酪氨酸酵素抑制活性進行二十六種臺灣特有種篩選，結果顯示臺灣火刺木果實 95% 乙醇萃取物之細胞毒性低（100 μg/mL 細胞存活率> 80%）且具細胞內酪氨酸酵素抑制活性（IC50＝54.8 μg/mL），故本研究乃採集大量臺灣火刺木之果實，以 95% 乙醇萃取，進行成分分離及其活性探討。經管柱層析分離純化得到十三個化合物，由物理和光譜相關數據解析後，發現其中兩個爲新化合物，dibenzofuran 結構的 3,6-dihydroxy-2,4-dimethoxy-dibenzofuran (9) 和 biphenyl 結構的 3,4-dihydroxy-5-methoxybiphenyl-2′-O-β-D-gluco- pyranoside (13)，以及 11 個已知化合物，分別爲 flavonoids 結構 quercetin (1), rutin (2), hyperoside (3), isoquecitrin (4) 和 helicioside B (5)；diphenyl ketone glycosides 結構 garcimangosone D (6) 和 pyrafortunoside B (7)；dibenzofuran 結構 9-hydroxyeriobofuran (8), fortuneanoside L (10), 2,4-dimethoxy-3,6,9-trihydroxy-dibenzofuranyl-6-O- β-D-glucopyranoside (11) 和 biphenyl 結構 2-hydroxyaucuparin (12)，以上十三個化合物均首次由臺灣火刺木中分離所得。此十三個化合物進行人類黑色素細胞活性篩選試驗，於細胞存活率測試中，發現十二種化合物 1~7, 9~13 之細胞存活率 > 80 %，進一步對細胞內酪氨酸酵素活性測試，結果顯示新化合物 3,4-dihydroxy-5-methoxybiphenyl-2′-O-β-D- glucopyranoside (13) 於 100 μM 濃度下，對酪氨酸酵素抑制活性最佳，進而以酵素活性染色法（Zymography）探討化合物 13 對於酪氨酸酵素氧化活性，結果顯示隨劑量增加，其酵素抑制作用增加；在西方墨點法分析中，結果顯示酪氨酸酵素及 TRP 2 蛋白表現亦隨化合物 13 劑量增加，酵素蛋白抑制作用增加。於酪氨酸酵素動力學實驗中，對照組的 Km 爲 339.91 μM，Vmax 爲 1.22×10-2 ΔA/min，化合物 13 於 100 μM 處理時，Km 爲 261.60 μM，Vmax 爲 8.27×10-3 ΔA/min，屬於非競爭型的混合型抑制劑。綜合本實驗結果，臺灣火刺木分離出十三化合物，其中新化合物 3,4-dihydroxy-5-methoxybiphenyl-2′-O-β-D-glucopyranoside (13) 對於抑制人類黑色素細胞內酪胺酸酵素最具潛力，其於人類黑色素細胞中之活性機制將更進一步探討。