

抑制劑 Benzaldehyde-O-alkyloximes
對酪胺酸酶活性抑制 QSAR 模型
QSAR Model of Benzaldehyde-O-alkyloximes Inhibitors
Exhibiting Tyrosinase Inhibitory Activity

李柏堅
Bo-Jian Li
中華科技大學企業管理系講師
Lecturer of Department of Business
Administration
China University of Science and Technology

徐令儀
Ling-Yih Hsu
中華科技大學生物科技系教授
Professor of Department of Biological
Science and Technology
China University of Science and Technology

摘 要

本研究利用路徑分析(path analysis)與多元迴歸方程式(multiple regression analysis)探討酪胺酸酶抑制劑 benzaldehyde-O-alkyloximes 之化學結構與生物活性之關係，並建立量化構效關係(quantitative structure activity relationship, QSAR)模型。由研究模型發現酪胺酸酶活性抑制大小與抑制劑化學分子芳香環上氫原子方位配置有最大相關性，影響因素居次的是化學分子極性表面積，電子性與親水性也稍有間接的影響，最佳的化學結構與生物活性 QSAR 模型為：
$$IC_{50} = -1.264 + 2.046 \cdot H_{R(1+4+5)} + 0.055 \cdot PSA + 0.429 \cdot Dipole$$

關鍵詞： 酪胺酸酶抑制劑，結構-活性相關性，路徑分析

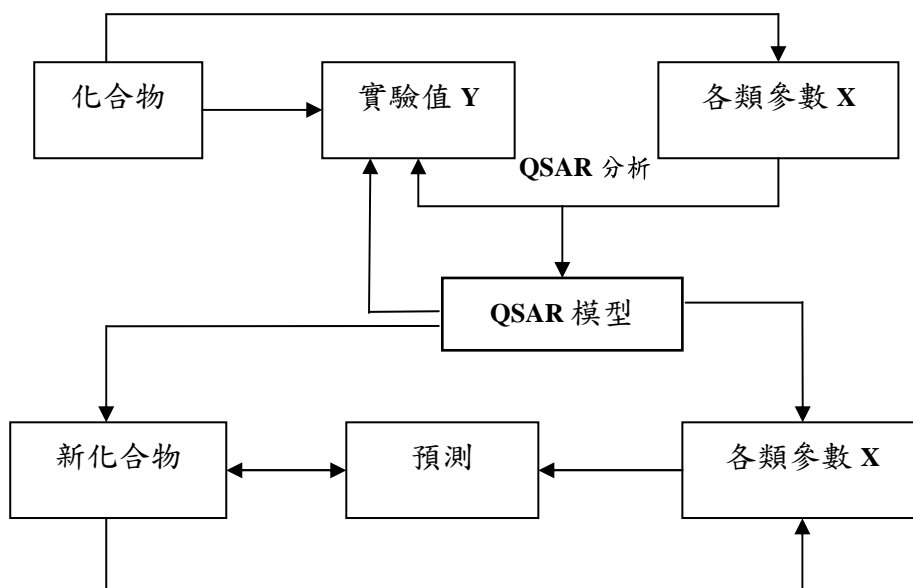
ABSTRACT

The quantitative structure activity relationship (QSAR) model of benzaldehyde-O-alkyloximes inhibitors was investigated *via* path analysis and multiple regression analysis. The results suggested that the 1, 4, 5 positions of the hydrogen on the benzaldehyde ring, polar surface area and dipole play an important role in tyrosinase inhibitory activity. The relationship can be expressed by the following regression equation:
$$IC_{50} = -1.264 + 2.046 \cdot H_{R(1+4+5)} + 0.055 \cdot PSA + 0.429 \cdot Dipole$$

Keywords: tyrosinase inhibitors, structure-activity relationship, path analysis

壹、前言

早在 19 世紀後期，就有研究者利用結構化學的一些基本概念、原理、規律後，將分子結構資訊與物性資料關聯起來，得到構效關係 (SAR) 或構性關係 (SPR)，20 世紀 40 年代，Hammett 提出線性自由能關係，奠定量化構效關係 (Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR) 基礎，到了 20 世紀 60 年代 Hansch 等人將 QSAR 研究大規模應用於藥物研發上，由於藥物研發費用驚人，據估計全世界用於尋找新藥的費用約每年超過 20 億美元，每發明一種重要的新藥至少需 4 千萬美元以上，以數學和統計學方法找出的 QSAR 研究成果可引導藥物的研發方向，減少盲目的嘗試以節約開發費用。例如 Ohtaka 研究治偏頭痛新藥 lomerizine，Praha 和 Kuchar 等人研究風濕性關節炎新藥 flobufen 等都是利用 QSAR 研發新藥的成功案例[1]。結構-活性關係之研究是以數學方法將化學分子結構參數與生物活性資料以迴歸方程式關聯起來；這種關係(圖一)可探索物性與微觀結構之間的內在的關聯，所得到的迴歸方程式稱為 QSAR 數學模型，它可用以解釋生物活性作用機制，或提供新穎藥物的設計方向或研發的依據。



圖一、QSAR 分析示意圖

血紅素(hemoglobins)、葉綠素(chlorophylls)、花青素(flavonoids)、類胡蘿蔔素(carotenoids)、與黑色素(melanins)為生物界中五種主要之色素物質，這些色素經由不同組合與明暗度的表現，就發生多種色彩的變化。而在眾多自然界色素物質當中，黑色素存在最廣泛，例如細菌、黴菌等皆有黑色素存在[2]。此外，蕁類植物與暴露在空氣中水果切面的棕褐色的成因也是源自黑色素之生成[3]。人體膚色的

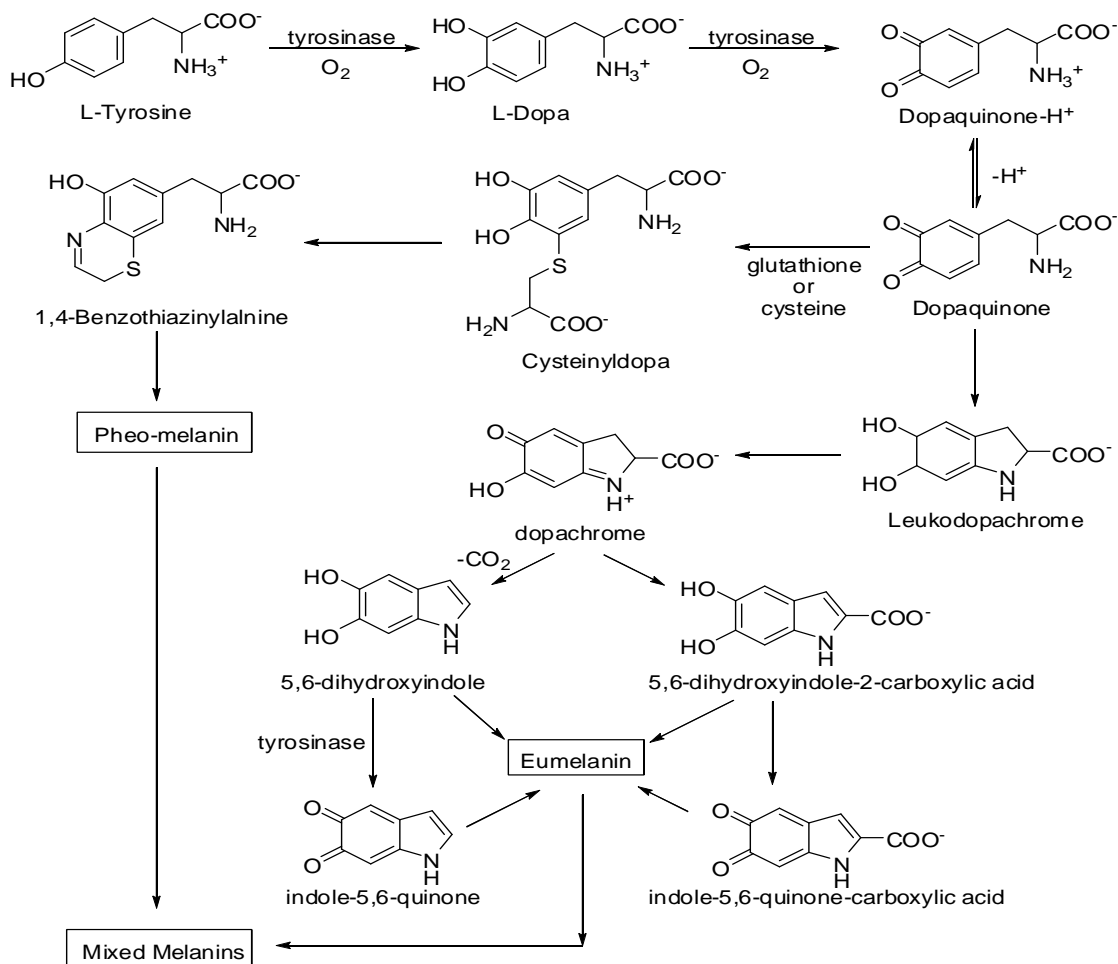
表現也是受到上述色素物質(如表皮層的黑色素與真皮層的類胡蘿蔔素與血紅素)的綜合影響[4]。當表皮細胞內的黑色素顆粒均勻分散，皮膚外觀顏色則暗沉均勻；若黑色素或是黑色素細胞分布不均，則產生斑點；而真皮層內的微血管豐富程度，也影響皮膚外觀的色澤；血液中的血紅素，如果氧合程度不足，亦將導致暗沉的皮膚；此外，角質層過厚，皮膚同樣會顯得暗沉與偏黃。雖然影響皮膚外觀色澤因素眾多，但仍以皮膚黑色素的量為最主要的影響因素[5]。

真黑色素(Eumelanin)與褐黑色素(Pheomelanin)是黑色素在哺乳動物中的兩種基本形式。皮膚經紫外線照射後，位於表皮的黑素細胞會產生黑色素，幫助人體抵抗紫外線對人體的傷害，其中最關鍵的酵素就是酪胺酸酶。酪胺酸酶經由紫外線活化後，會將酪胺酸轉為 dopa 再氧化 dopaquinone，形成 dopaquinone 後分為兩條路徑(圖二)，一種是 dopaquinone 反應成 dopachrome，最後形成真黑色素(eumelanin)；另一種則是 dopaquinone 與 glutathione 或 cystine 作用形成褐黑色素(pheomelanin) [5]。真黑色素為含氮元素，外觀為黑色或棕色，存在於動物的上皮細胞、體毛、羽毛、脈絡膜、視網膜、神經等處，是決定皮膚顏色的色素。褐黑色素則含有硫元素，為黃色或紅棕色，大多存在於人類的紅髮、鳥類的紅、黃色羽毛等處。黑色素的顏色變異則是經由真黑色素與褐黑色素依不同比例混合出現，造成不同深淺黑色之色差[6]。

東方女性喜愛白皙皮膚，因此美白是台灣女性最在意的保養項目[7]，有近八成女性肌膚偏黃，卻有九成認為肌膚白皙有利異性緣，台灣的美白產品始終是整個保養市場最亮眼的明星，在整體保養品市場中，美白銷售金額就占了 147 億元，居各類品項之冠，也讓眾家業者積極搶食這塊市場大餅。除了日系品牌外，不少歐美品牌都不斷針對亞洲市場開發美白產品。

由於皮膚的外觀色澤主要是受到黑素細胞產生黑色素的影響，酪胺酸酶又是產生黑色素的關鍵酵素[5]，因此能夠抑制酪胺酸酶活性的化學物質就可能可以開發成為美白產品，市場上的美白產品屬於酪胺酸酶抑制劑的有麴酸(kojic acid)、熊果素(arbutin)與 2-羥基-2,4,6-環庚三烯-1-酮(Tropolone)；Tropolone 存在於植物中[8]，是目前已知道的一種強效酪胺酸酶抑制劑[9]，它的酶活性抑制效果實驗值 $IC_{50} = 0.4 \mu\text{mol/L}$ ，比起麴酸的 $IC_{50} = 23 \mu\text{mol/L}$ 高出了許多[10]，近年來德國學者 Ley 氏[11]以化學合成的方式開發出 Benzaldehyde-O-alkyloximes 的衍生物，其中 3,4-dihydroxybenzaldehyde-O-ethyl-oxime 對酪胺酸酶的抑制活性與 Tropolone 相當。

為進行酪胺酸酶抑制劑的開發工作，本研究是透過分子模擬軟體之計算，搭配統計的方法與軟體求出數學模型，並找出酪胺酸酶抑制劑化學結構與抑制效果之關係(即 QSAR)，研究之結果可提供未來藥物設計之方向。



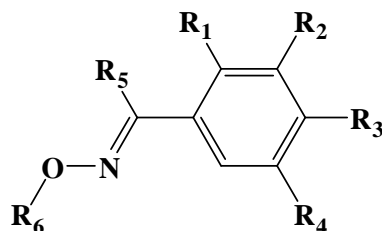
圖二、黑色素形成路徑

貳、實驗材料與方法

本研究方法首先利用分子模擬軟體分析酪胺酸酶抑制劑分子 Benzaldehyde-O-alkyloximes 之化學結構特性，再利用統計學方法探討抑制劑分子的化學結構與酪胺酸酶活性抑制二者間之相關性，尋找並建立 QSAR 數學模型。

抑制劑分子結構與酪胺酸酶抑制活性資訊(表一)取自學者 Ley 氏發表的文章 [11]，IC₅₀ 值的意義代表抑制 50% 酶活性所需要的藥物濃度，IC₅₀ 值小表示抑制劑效果佳，其中 3,4-dihydroxy-benzaldehyde-O-ethyloxime 的 IC₅₀ 值為 0.3 mol/L，是效果最強的酶抑制劑，其他的 27 個 Benzaldehyde-O-alkyloximes(圖三)抑制劑分子具有不同的酶抑制活性，是因為抑制劑分子結構中取代基 R₁~R₆ 的不同所致，而構效關係 QSAR 研究就是找出各抑制劑分子化學結構特性是否會影響酪胺酸酶活性抑制的 IC₅₀ 值？又影響因子有多大？是否能歸納得出迴歸方程式並據以預測

新化合物之 IC_{50} 值？這些都是本研究的重要探索目標。



圖三、Benzaldehyde-O-alkyloximes

表一、化合物結構圖

Comp	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	IC ₅₀ μ mol/L
3	H	H	H	H	H	H	2200
4	OH	H	H	H	H	H	64
5	OH	OH	H	H	H	H	>4000
6	H	OH	OH	H	H	H	18
7	H	OH	OMe	H	H	H	4.6
8	H	OH	OH	OH	H	H	20.2
9	H	OMe	OH	H	H	H	2.3
10	H	OEt	OH	H	H	H	3.5
11	H	OMe	OH	OMe	H	H	>4000
12	H	Me	OH	Me	H	H	>4000
13	H	t-Bu	OH	t-Bu	H	H	>4000
14	H	H	OH	H	H	H	25
15	H	H	OMe	H	H	H	56
16	OH	OH	H	H	H	Et	>4000
17	H	OH	OH	H	H	Et	0.3
18	H	OH	OH	H	H	pMeBn	3
19	H	OH	OMe	H	H	Et	18
20	H	OH	OH	OH	H	Et	380
21	H	OMe	OH	H	H	Et	4.2
22	H	OEt	OH	H	H	Et	14
23	H	OMe	OH	OMe	H	Et	>4000
24	H	H	OH	H	H	Et	43
25	H	H	OMe	H	H	Et	>4000
26	H	Me	OH	H	H	Et	124
27	H	Me	OH	Me	H	Et	500
28	H	OH	OH	H	Me	H	>4000
29	H	OMe	OH	OMe	Me	H	>4000
30	H	OH	OH	H	Me	Et	>4000

取自學者 Ley 氏發表的文章[11]

本研究之分子模擬軟體採用 ChemOffice 模組，首先使用 ChemDraw Ultra 10.0 功能，先繪出酪胺酸酶抑制劑分子 Benzaldehyde-O-alkyloximes 化學結構 2D 圖後，複製後開啟 Chem3D Ultra10.0 後貼上，先行點選 MM2 進行初步結構最適化，再進入 Calculations 之 GAMESS interface 功能後點選 Minimize (Energy/Geometry) 選擇 PM3 演算方法，將能量最小化 (0.001 kcal/Å 收斂)，得到最適宜的化學分子結構之後，再進入 Property Calculation 模組，進行計算三大類參數計算，即(1)親水(油)性參數(Hydrophobic parameters)：包含辛醇/水分配係數(LogP)、溶點 Melting Point (MP)；(2)電子參數(Electronic parameters)：包含 Homo (最高能量的電子填入軌域)、Lumo (最低能量的電子填入軌域)、Dipole (電偶極)；(3)空間參數(Steric parameters)：包含分子莫耳折射率(Mol Refractivity)(MR)、Connolly Accessible Area (CAA)、Connolly Molecular Area (CMA)、Connolly Solvent Excluded Volume (CSEV)、Mass、Mol Weight (MW)、Ovality (Oval)、Principal Moment (PM)、Partition Coefficient (PC)、Kinetic Energy (KE)、Potential Energy (PE)、Balaban Index (BI)、Cluster Count (CC)、Molecular Topological Index (MTI)、Num Rotatable Bonds (NRB)、Polar Surface Area (PSA)、Radius (Rad)、Shape Attribute (SA)、Shape Coefficient (SC)、Sum Of Degrees (SOD)、Sum Of Valence Degrees (SOVD)、Topological Diameter (TD)、Total Connectivity (TC)、Total Valence Connectivity (TVC)、與 Wiener Index (WI)。

由上述模組軟體計算可得到化合物分子結構資訊參數(Descriptors)等五十多種，此外又加入結構參數(Structural parameters)以精確表示抑制劑化學分子表面結構影響因素， H_{R_1} 定義為氫原子位於分子結構 R_1 位置、 H_{R_2} 表示氫原子位於分子結構 R_2 位置、 $H_{R(1+2+3)}$ 表示 R_1 、 R_2 、 R_3 位置皆為氫原子， $O_{R(1+2)}$ 表示 R_1 、 R_2 位置為氧原子。所有計算皆在個人電腦為之，將 28 個化合物所有計算之資料，複製後貼於 SPSS Data Editor 中後存檔。在路徑分析(path analysis)上使用 AMOS 軟體；首先開啟 AMOS Graphics 功能，繪製所有可能路徑圖，匯入 SPSS 之資料於適當的位置，再以 $\alpha=0.05$ 為顯著水準，使用 t 檢定法檢定路徑的顯著性，待刪除所有不顯著路徑後，再計算相關性較高之分子結構參數對 IC_{50} 之直接效果與間接效果，依序找出因素負荷量最大的路徑，以做為 QSAR 方程式挑選適當參數之依據，最後以 SPSS 多元迴歸方法求出最佳單變數、雙變數、三變數 (QSAR) 方程式，方程式註記之 R^2 為判定係數(determination coefficient)，亦即是迴歸方程式的解釋能力；對每一個迴歸方程式均採用 F 檢定、 p 值法，檢定此方程式的顯著性。以最佳 QSAR 方程式計算出 IC_{50} 預估值並與實驗 IC_{50} 值做比較。

參、結果與討論

一、QSAR分析前數據之準備

酪胺酸酶活性抑制能力以 IC_{50} 值表示， IC_{50} 值小表示抑制劑效果佳，其中效果最強的是3,4-dihydroxybenzaldehyde-O-ethylloxime ($IC_{50} = 0.3 \mu\text{mol/L}$)，由於部分化合物活性太過微小(IC_{50} 值大於 $4000 \mu\text{mol/L}$ 的抑制劑)，本研究故以4000作為忽略之界限，將所有 IC_{50} 實驗值分為四級，分級點定為4000、 $4000^{1/2}$ 、 $4000^{1/4}$ ，也就是說 IC_{50} 大於4000者定為1級分， IC_{50} 介於 $4000^{1/2}$ 與4000者定為2級分， IC_{50} 介於 $4000^{1/4}$ 與 $4000^{1/2}$ 者定為3級分， IC_{50} 小於 $4000^{1/4}$ 者定為4級分[12] (表二)， IC_{50} 越小或級分越大表示酪胺酸酶活性抑制效果越佳。

表二、 IC_{50} 分級對照表

生物活性	$IC_{50} < \sqrt{\sqrt{4000}}$	$\sqrt{\sqrt{4000}} < IC_{50} < \sqrt{4000}$	$\sqrt{4000} < IC_{50} < 4000$	$IC_{50} > 4000$
換算數字	$IC_{50} < 7.95$	$7.95 < IC_{50} < 63.25$	$63.25 < IC_{50} < 4000$	$IC_{50} > 4000$
級分	4	3	2	1

因篇幅關係無法將所有Chem 3D所計算的五十多種酪胺酸酶抑制劑Benzaldehyde-O-alkyloximes化學結構特性的物理化學參數(Descriptors)完全列出，僅列出與 IC_{50} 相關性較高或較具代表性者於表三，並計算各參數之Pearson相關係數矩陣於表四。

表三、化合物相關參數

Compd	IC_{50}	LogP^a	PSA^b	MR^c	Dipole	$O_{R(2+3)}^d$	$H_{R(1+4+5)}^e$
3	2	1.13	32.59	36.184	-1.1674	0	1
4	2	1.78	52.82	37.878	-2.1337	0	0
5	1	1.39	73.05	39.572	-3.2653	0	0
6	3	1.39	73.05	39.572	-2.1831	1	1
7	4	1.653	62.05	44.341	-1.6848	1	1
8	3	1.001	93.28	41.266	-3.316	1	0
9	4	1.653	62.05	44.341	-2.0278	1	1
10	4	1.991	62.05	49.089	-2.0325	1	1
11	1	1.527	71.28	50.804	-2.682	1	0
12	1	2.754	52.82	47.96	-1.3147	0	0
13	1	5.189	52.82	75.21	-1.2928	0	0
14	3	1.78	52.82	37.878	-1.16	0	1
15	3	2.043	41.82	42.647	-1.1651	0	1
16	1	1.991	62.05	49.089	-2.5102	0	0
17	4	1.991	62.05	49.089	-1.3899	1	1
18	4	3.873	62.05	73.995	-0.8892	1	1
19	3	2.254	51.05	53.858	-0.8932	1	1
20	2	1.602	82.28	50.783	-2.5478	1	0

21	4	2.254	51.05	53.858	-1.2334	1	1
22	3	2.592	51.05	58.606	-1.2374	1	1
23	1	2.128	60.28	60.322	-1.9136	1	0
24	3	2.072	41.82	47.395	-0.3469	0	1
25	1	2.592	30.82	52.164	-0.3553	0	1
26	2	2.868	41.82	52.436	-0.345	0	1
27	2	3.355	41.82	57.478	-0.4978	0	0
28	1	0.955	73.05	43.384	-2.6689	1	0
29	1	1.092	71.28	54.616	-3.1628	1	0
30	1	1.556	62.05	52.901	-1.88	1	0

^aLogP 親水性 ^bPSA= Polar Surface Area ; ^cMR=Molar Refractivity ;

^dO_{R(2+3)}表示 R₂與 R₃ 位置均含有氧則為令為 1，反之，則為 0

^eH_{R(1+4+5)}表示 R₁與 R₄與 R₅均為氫則為令為 1，反之，則為 0

表四、Pearson 相關係數矩陣

	IC ₅₀	LogP	PSA	MR	Dipole	H _{R(1+4+5)}	O _{R(2+3)}
IC ₅₀	1						
LogP	0.000	1					
PSA	-0.011	-0.423	1				
MR	-0.079	0.796	-0.099	1			
Dipole	0.262	0.596	-0.858	0.308	1		
H _{R(1+4+5)}	0.748*	0.065	-0.470	-0.097	0.596	1	
O _{R(2+3)}	0.362	-0.311	0.610	0.174	-0.392	0.062	1

由表四可以看出 H_{R(1+4+5)}和 O_{R(2+3)}對 IC₅₀ 的影響遠高於化合物親水性、電子、拓樸、物理性，也就是說位置(方位)對生物活性的大小扮演最關鍵的角色。

二、常態性要求的基本條件

參數輸入SPSS後，搭配AMOS軟體進行分析，使用最大概似法（Maximum Likelihood Method, ML）做為路徑模型估計法，由於Ding、Velicer與Harlow指出採用ML時必須符合多變量常態性（multivariate normality）的假定[13]，本研究之分子結構資訊參數(Descriptors)之分配，從表五中顯示之平均數、標準差、峰度與偏態均符合標準；偏態絕對值大於3可以視為極端偏態，峰度絕對值大於10表示峰度有問題(Kline, 1998)[14]，本研究之偏態值介於-0.305 到1.677之間，峰度值則是介於 -1.732 到 3.873之間，顯示結構資訊參數在偏態與峰度的值並不大，符合單變數常態分配之基本要求。

表五、相關性較高之分子結構資訊參數平均數、標準差、偏態、峰度

變數	Mean	SD ^a	Skewness ^b	Kurtosis ^c	變數	Mean	SD ^a	Skewness ^b	Kurtosis ^c
IC ₅₀	2.321	1.188	0.174	-1.514	PC	1.687	0.946	0.790	1.889
O _{R(2+3)}	0.571	0.504	-0.305	-2.060	NRB	2.607	1.257	0.100	-0.871
H _{R(1+4+5)}	0.54	0.508	-0.151	-2.135	PSA	58.11	14.49	0.220	0.154
Dipole	-1.689	0.885	-0.239	-0.812	Rad	4.393	0.832	0.782	2.368
LogP	2.088	0.919	1.677	3.873	SA	11.15	2.230	0.759	1.117
MR	49.88	9.570	1.043	1.507	SC	0.357	0.488	0.631	-1.732
Mass	181.48	31.35	0.531	0.611	TD	8.143	1.557	1.014	1.955
MW	181.48	31.35	0.531	0.611	TC	0.021	0.012	0.808	0.250
Oval	1.352	0.063	-0.019	-0.490	HOF	-355.5	132.3	0.319	0.171

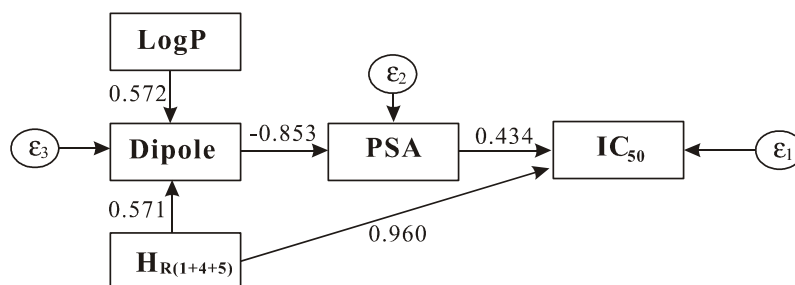
^aSD=標準差 ^bSkewness=偏態 ^cKurtosis=峰度

三、路徑分析與迴歸分析

路徑分析優於複迴歸分析之處，在於可解決一般迴歸模型不能處理依變數超過一個或出現中介變數問題[15]。以 SPSS 統計軟體資料匯入結構方程式 AMOS 軟體，以路徑分析方式進行討論與分析，將生物活性 IC₅₀ 設定為依變數，將各參數納入路徑考量，首先建立一飽合模型(Saturated model)進行初步 AMOS 分析，逐步刪除未達顯著水準之路徑，每刪除一條路徑均需重新計算，經多次重複計算後得到修正路徑之效果分析表(表六)，此即為修正後最佳路徑模型(圖四)，最後需將所有具有影響之參數進行效果分析，因為路徑分析最終目的就是進行因果效應的分解[16]；即找出直接效果(Direct Effects)與間接效果(Indirect Effects)以計算總效果(Total Effects)，計算方法為：

總效果(Total Effects)=直接效果(Direct Effects) +間接效果(Indirect Effects)，

最終修正後之路徑圖與如下：



圖四、路徑分析圖

圖四之模型在適配度的檢定上：卡方值 $\chi^2=5.197$, $p=0.392 > 0.05$ ，表示此模

型通過絕對配適指標標準，在增量配適指標中，CFI 值= 0.998 > 0.9 達到理想標準，綜何以上配適度指標表示模型配適良好。至於單箭頭旁的數字，為已標準化之偏迴歸係數(partial regression coefficient)，其意義表示前一變數為對後一變數之直接效果；其絕對值大小表示影響力大小。由圖四可知 $H_{R(1+4+5)}$ 對 IC_{50} 有直接與間接雙重效果的影響，總效果達 0.749。PSA 對 IC_{50} 的直接效果偏迴歸係數達 0.434，Dipole 與 LogP 對 IC_{50} 雖均無明顯直接效果但有間接效果，總效果分別為 -0.370 與 -0.212[†]。

表六、修正路徑之效果分析表

		Standardized Regression Weights	S.E.	t 值	p
Dipole	← $H_{R(1+4+5)}$	0.571	0.193	5.037	0.000*
Dipole	← LogP	0.572	0.107	5.042	0.000*
PSA	← Dipole	-0.853	1.656	-8.485	0.000*
IC_{50}	← $H_{R(1+4+5)}$	0.960	0.278	8.010	0.000*
IC_{50}	← PSA	0.434	0.010	3.623	0.000*

* $p < 0.001$

由最佳路徑分析可將抑制劑 Benzaldehyde-O-alkyloximes 化學結構特性參數 (Descriptors) 自最初的五十多種篩選出 $H_{R(1+4+5)}$ ，PSA 與 Dipole 三種對 IC_{50} 較有影響力的參數。分別以這三種參數為自變數，以 IC_{50} 級分為依變數，求出三種迴歸方程式。

單一參數 QSAR 模型(1)：

$$IC_{50} = 1.385 + 1.749 \cdot H_{R(1+4+5)} \dots\dots\dots (1)$$

$$R^2 = 0.559, F = 32.939, p = 0.000$$

此模型說明了酪胺酸酶活性抑制能力與結構參數(structural parameters)之間的關係；與芳香環上位於第 1、4、與 5 位置上的氫原子有關，此為最佳單一參數模型，F 檢定達到顯著水準，判定係數(determination coefficient) $R^2 = 0.56$ ，表示此迴歸方程式的解釋能力已近 60%。

[†] $H_{R(1+4+5)}$ 對 IC_{50} 的總效果 = $0.960 + (0.571)(-0.853)(0.434) = 0.749$ ；Dipole 的間接效果 = $(-0.853)(0.434) = -0.370$ ；
LogP 的間接效果 = $(0.572)(-0.853)(0.434) = -0.212$

雙參數 QSAR 模型(2)：

$$IC_{50} = -0.959 + 2.231 \cdot H_{R(1+4+5)} + 0.036 \cdot PSA \dots\dots\dots (2)$$

$$R^2 = 0.708, F = 30.331, p = 0.000$$

當第一個方程式多加入第二個分子極性表面參數 PSA 時，此模型方程式解釋能力由 60% 增加到 71%。

三參數 QSAR 模型(3)：

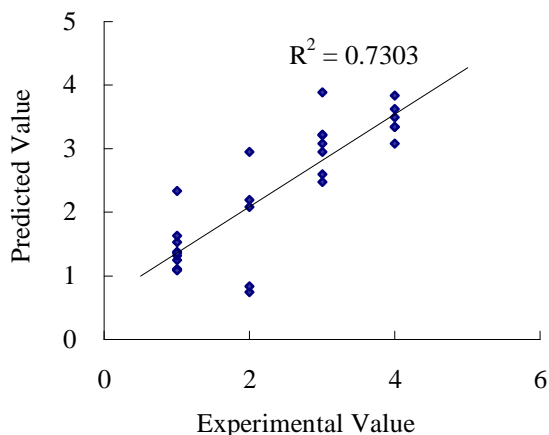
$$IC_{50} = -1.264 + 2.046 \cdot H_{R(1+4+5)} + 0.055 \cdot PSA + 0.429 \cdot Dipole \dots\dots\dots (3)$$

$$R^2 = 0.730, F = 21.66, p = 0.000$$

若再增加分子偶極距 Dipole 參數於第二個方程式時，解釋能力僅有些微增加(由 71 到 73%)，雖然此三個模型均達顯著水準，但再多加入其他參數(descriptors) 如 LogP，可能會提高方程式解釋能力，但因 LogP 與 Dipole 兩者都對 IC₅₀ 直接效果不顯著，且 LogP 與 Dipole 有明顯交互影響，而且加入 LogP 為第四參數對 R² 的貢獻度並不大，以 QSAR 模型(3)而言 R² = 0.73，說明了本模式對於生物活性已具有 73% 的解釋能力。本研究將模型(3)的預測值計算如表六，並將 Ley 氏發表的文章[11]實驗測得之 IC₅₀ 級分為橫軸，本研究三參數 QSAR 模型(3)預測之 IC₅₀ 為縱軸繪出對應圖於圖五。

表六、最佳三個參數的 QSAR 模型預測值與誤差

Comp	IC ₅₀	H _{R(1+4+5)}	PSA	Dipole	Predicted Value	Residual
3	2	1	32.59	-1.1674	2.0840	0.0840
4	2	0	52.82	-2.1337	0.7423	-1.2577
5	1	0	73.05	-3.2653	1.3758	0.3758
6	3	1	73.05	-2.1831	3.8859	0.8859
7	4	1	62.05	-1.6848	3.4912	-0.5088
8	3	0	93.28	-3.316	2.4728	-0.5272
9	4	1	62.05	-2.0278	3.3442	-0.6558
10	4	1	62.05	-2.0325	3.3422	-0.6578
11	1	0	71.28	-2.682	1.5280	0.5280
12	1	0	52.82	-1.3147	1.0935	0.0935
13	1	0	52.82	-1.2928	1.1029	0.1029
14	3	1	52.82	-1.16	3.2059	0.2059
15	3	1	41.82	-1.1651	2.5954	-0.4046
16	1	0	62.05	-2.5102	1.0913	0.0913
17	4	1	62.05	-1.3899	3.6177	-0.3823
18	4	1	62.05	-0.8892	3.8324	-0.1676
19	3	1	51.05	-0.8932	3.2224	0.2224
20	2	0	82.28	-2.5478	2.1939	0.1939
21	4	1	51.05	-1.2334	3.0765	-0.9235
22	3	1	51.05	-1.2374	3.0748	0.0748
23	1	0	60.28	-1.9136	1.2492	0.2492
24	3	1	41.82	-0.3469	2.9462	-0.0538
25	1	1	30.82	-0.3553	2.3343	1.3343
26	2	1	41.82	-0.345	2.9470	0.9470
27	2	0	41.82	-0.4978	0.8355	-1.1645
28	1	0	73.05	-2.6689	1.6315	0.6315
29	1	0	71.28	-3.1628	1.3219	0.3219
30	1	0	62.05	-1.88	1.3615	0.3615



圖五、實驗-預測之 IC_{50} 圖

肆、結論

酪胺酸酶屬於結構複雜的含銅氧化還原酶，廣泛存在各類生物體中，也是人類皮膚中催化黑色素生合成反應的關鍵酶，只要能使酪胺酸酶活性受到抑制，即能減少皮膚黑色素生成，而達到美白效果。近來藥妝品中美白成分的開發多著重於此，本研究利用路徑分析(path analysis)與多元迴歸方程式(multiple regression analysis)針對 28 個酪胺酸酶抑制劑 Benzaldehyde-O-alkyloximes 進行構效關係研究，發現抑制劑化學分子芳香環上位於第 1、4、與 5 位置上的氫原子 $H_{R(1+4+5)}$ 、分子極性表面 PSA、與分子偶極距 Dipole 對酪胺酸酶活性抑制大小扮演最關鍵的角色，參考 QSAR 方程式各參數係數又可看出 $H_{R(1+4+5)}$ 對 IC_{50} 影響力最大。此一重要資訊對未來美白藥妝品新穎成分的研發應有助益。

參考文獻

- [1] Toshio Fujita, Recent Success Stories Leading to Commercializable Bioactive Compounds with the Aid of Traditional QSAR Procedures, Quantitative structure-Activity Relationships, 1997, Volume 16, Issue 2, 107-112.
- [2] 王淞民，基轉超寄生菌 *Trichoderma* spp，黑色素生合成基因以提昇其逆境抗性與致病力，2009，國立台灣大學植物病理與微生物所碩士論文。
- [3] Pawelek J.M., Korner A.M., The biosynthesis of mammalian melanin. Am. Sci.

- 1982, 70(2), 136-145.
- [4] Wang Q., Qiu L., Chen X. R., Song K. K., Yan Shi and Qing-Xi C., “Inhibitory effects of phloridzin dehydrate on the activity of mushroom(*Agaricus bisporus*) tyrosinase” , *Bioorg. Medicinal.Chem.* 2007, 15, 1568-1571
- [5] 賴慧芬 蕁葉萃取液對黑色素生合成作用之研究，2002，嘉南藥理科技大學生物科技研究所碩士論文。
- [6] Prota G., Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals. *J Invest Dermatol*, 1980, 75(1): 122-127
- [7] 朱勇助，美白保養品特徵價格之研究，2004，亞洲大學經營管理學系碩士論文。
- [8] Iida, K.; Hase, K., Shimomura, K.; Sudo, S.; Kadota, S.;Namba, T., Potent Inhibitors of Tyrosinase Activity and Melanin Biosynthesis from *Rheum officinale*, *Planta Medica*, 1995, 61(5): 425-428.
- [9] 朱惠鈴，蕃茄酪氨酸酶抑制劑之探討，2003，嘉南藥理科技大學食品科技系校內計劃論文。
- [10] 張嘉苓，楊朝成，N-(羥基苯)多羥基苯醯胺化合物在抑制過氧化氫及酪胺酸酶活性能力之研究，2010，第七卷 第五期，工程科技與教育學刊，850-855
- [11] Jakob P. Ley and Heinz-Jürgen Bertram, Hydroxy- or Methoxy-Substituted Benzaldoximes and Benzaldehyde-O-alkyloximes as Tyrosinase Inhibitors *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2001, 9, 1879–1885.
- [12] Hsien-Ren Liao, Yeong-Sheng Chang, Yu-Chun Linb, Ling-Ling Yang, Yu-Ma Chou and Bo-Cheng Wang *J. Chin. Chem. Soc.*, 2006, Vol. 53, No. 6, 1251- 1261.
- [13] Ding, L., Velicer, W., & Harlow, L. Effect of estimation methods, number of indicators per factor and improper solutions on structural equation modeling fit indices. *Structural Equation Modeling*, 1995, 2(2), 119-143.
- [14] Kline, R. B. *Principles and Practices of Structural Equation Modeling*. 1995, New York, Guilford Press.
- [15] 田部井明美，陳耀茂。共變異數構造分析的 AMOS 使用手冊，SPSS 完全活用法共分散構造分析(Amos)によるアンケート處理，2005，鼎茂圖書
- [16] 陳寬裕，王正華，結構方程模型分析實務-AMOS 的運用，2010，五南文化