

Inhibitory tyrozynazy z grzybów i porostów jako regulatory melanogenezy

Katedra i Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Wiesława Bylka

TYROSINASE INHIBITORS OF FUNGI AND LICHENS AS REGULATORS OF MELANOGENESIS

SUMMARY

Tyrosinase is an enzyme widely distributed in nature, occurring in bacteria, fungi, plants, and animals. It is an oxidase known to be the key enzyme in biosynthesis of melanin, a pigment responsible for the color of mammalian skin and hair. Moreover, tyrosinase controls browning reactions in damaged fruits and fungi. Both the hyperpigmentation in the human skin and the enzymatic browning in fruits are not desired, that is why, it seems relevant to search for substances that inhibit the melanogenesis. Because the pigment's disorders are a common cosmetic problem, the skin whitening compounds are added to commercially available cosmetics in order to obtain a lighter skin appearance. The literature indicates that whitening substances can influence different levels of melanin production in the skin. Among the constituents which cause depigmentation, the inhibitors of tyrosinase, often of natural origin, are the most popular and most widely used. The article describes the characteristics of tyrosinase and tyrosinase inhibitors isolated from fungus and lichen.

KEYWORDS: INHIBITORS – TYROSINASE – MELANIN – HIPERPIGMENTATION

Wstęp

Melanogeneza to proces prowadzący do powstawania w melanocytach barwników skóry, tzw. melanin, syntetyzowanych z udziałem tyrozynazy i magazynowanych wewnątrz znajdujących się w melanocycie melanosomów. Pigmentacja odpowiada za kolor skóry, a także oczu i włosów, ma też funkcję ochronną dla położonych pod skórą tkanek przed niebezpiecznym promieniowaniem UV. Promienie UV przyspieszają proces starzenia się skóry lub prowadzą do rozwoju procesu karcynogenezy, co w rezultacie może skutkować rozwojem czerniaka. Pomimo cennych ochronnych właściwości melaniny, zaburzenie jej wytwarzania może powodować problemy natury estetycznej. Aby poradzić sobie zarówno z nadmiarem, jak i niedoborem barwnika w skórze, zaczęto poszukiwać związków – syntetycznych i naturalnych, wpływających na działanie enzymu odpowiadającego za biosyntezę pigmentu. Poszukiwanie substancji o właściwościach wybielających stało się ważnym celem przemysłu

kosmetycznego. Praca jest przeglądem substancji pochodzących z grzybów i porostów, wykazujących właściwości hamowania tyrozynazy.

Melanina i jej rola w zaburzeniach pigmentacji skóry

Melaniny są barwnikami azotowymi nadającymi zabarwienie skórze, tęczówce oka i włosom. Istnieją dwa rodzaje melanin: eumelanina – brązowoczarńy barwnik oraz feomelanina – czerwonożółty pigment. Proces wytwarzania melanin odbywa się w komórkach melanocytów, znajdujących się w warstwie podstawnej naskórka, a substrat reakcji stanowi tyrozyna. Eumelanina jest odpowiedzialna za ochronę skóry przed szkodliwym wpływem promieniowania słonecznego, poprzez pochłanianie promieniowania UVA i UVB oraz neutralizowanie wolnych rodników. Feomelanina natomiast nie wykazuje właściwości ochronnych.

Zaburzenia barwnikowe to często występujące problemy o podłożu dermatologicznym. Dane statystyczne podają, że dotyczą one nawet 90% populacji ludzkiej. Zakłócenia związane z procesem syntezy melaniny, jej nadmiernym magazynowaniem (zmniejszenie rozkładu melaniny przez keratynocyty i makrofagi), funkcjonowaniem melanocytów (nadreaktywność melanocytów, zwiększenie ich liczby), mogą skutkować zarówno hiper-, jak i hipopigmentacją skóry. Przyczyną miejscowych hiperpigmentacji mogą być czynniki mechaniczne, fizyczne, chemiczne, stany zapalne, leki, zaburzenia hormonalne, niedobory witamin i zaburzenia metabolizmu. Hiperpigmentacja skóry jest także powszechnym defektem natury estetycznej, pojawiającym się wraz z postępowaniem procesu starzenia.

Do najczęściej występujących zaburzeń o charakterze hiperpigmentacyjnym należą: piegi, plamy soczewicowate, ostuda oraz hiperpigmentacja popapalna. Rozlane hiperpigmentacje spowodowane są występowaniem chorób ogólnoustrojowych, np. przewlekłą niewydolnością nerek, nadczynnością

tarczycy czy cukrzycą. Występowanie zmian hiperpigmentacyjnych po zastosowaniu niektórych leków wynika z reakcji fotochemicznych zachodzących pod wpływem promieniowania słonecznego. Do leków o takim działaniu należą: antybiotyki (tetracykliny, fluorochinolony), niesterydowe leki przeciwzapalne (ibuprofen, ketoprofen, aspiryna), diuretyki (furosemid, hydrochlorotiazyd), retinoidy, cytostatyki (5-fluorouracyl, metotreksat), amiodaron, diltiazem i psoraleny (1, 2).

Budowa i występowanie tyrozynazy

Tyrozynaza należy do klasy oksydoreduktaz i znana jest jako kluczowy enzym procesu melanogenezy. Enzym odpowiedzialny jest za proces hydroksylacji tyrozyny do lewoskrętnej formy aminokwasu dopaminy (L-DOPA) oraz oksydacyjne przekształcenie L-DOPA do dopachinonu (3). Powstający w reakcji dopachinon wykazuje dużą reaktywność i może spontanicznie polimeryzować, tworząc melaninę, warunkującą zabarwienie skóry i włosów (4).

Tyrozynaza jako metaloenzym ma w obszarze apoenzymu dwa atomy miedzi, warunkujące jej funkcję katalityczną. Każdy z atomów miedzi centrum aktywnego tyrozynazy jest połączony wiązaniem koordynacyjnym z trzema resztami histydyny. W procesie wytwarzania barwnika melaniny biorą udział trzy różne typy tyrozynazy: oksytyrozynaza, metytyrozynaza, deoksytyrozynaza. Oksytyrozynaza i metytyrozynaza mają w swojej cząsteczce atomy miedzi Cu(II), a deoksytyrozynaza w centrum aktywnym ma dwa atomy miedzi Cu(I).

Enzym tyrozynaza jest szeroko rozpowszechniony w przyrodzie – występuje u bakterii, grzybów, roślin i zwierząt. Najlepiej opisane zostały tyrozynazy pochodzące z bakterii *Streptococcus glaucescens* oraz z grzybów *Neurospora crassa* i *Agaricus bisporus* (5, 6). Obecność tyrozynazy stwierdzono również u porostów rzędu *Pertigerales* (7) oraz w poroście *Dermatophyllum minimatum*, który zawiera dużą ilość pigmentu (8). Tyrozynaza ma również wpływ na powstawanie brązowego zabarwienia owoców i warzyw, w wyniku reakcji dopachinonu z aminokwasami i białkami obecnymi w tych produktach spożywczych. Ponadto ma znaczenie w przemyśle spożywczym – stosuje się ją w celu zapobiegania brązowieniu owoców i warzyw (4).

W większości badań dotyczących procesu hamowania aktywności tyrozynazy wykorzystywano tyrozynazę z grzybów, ze względu na jej powszechną dostępność. Enzym wyizolowany z pieczarki *A. bisporus* jest bardzo zbliżony budową do tyrozynazy występującej u ssaków, co czyni go odpowiednim modelem do badania procesu melanogenezy (9).

Inhibitory tyrozynazy izolowane z grzybów

Wśród substancji depigmentujących najliczniejszą grupę i najszerzej stosowaną w leczeniu stanowią inhibitory tyrozynazy. Tyrozynaza kontroluje szybkość tworzenia się melaniny, dlatego wiele substancji stosowanych w celu rozjaśnienia skóry działa przez modyfikację jej aktywności. Hamowanie aktywności enzymu wywołane jest zablokowaniem jego centrum aktywnego przez inhibitor, co uniemożliwia połączenie się z substratem reakcji. Skuteczne inhibitory tyrozynazy, jak hydrochinon czy arbutyna, niestety nie są pozbawione działań niepożądanych. Uważa się, że hydrochinon może mieć działanie cytotoksyczne na komórki melanocytów oraz podejrzewany jest o potencjalny mutagenny wpływ na komórki ssaków. Ze względu na swoje działania niepożądane, hydrochinon został wycofany z kosmetycznego użytku w Unii Europejskiej, aktualnie stosowany jest wyłącznie z przepisu lekarza (2, 10).

Grzyby tworzą ogromne królestwo organizmów żywych, do którego zaliczane są także porosty (grzyby zlichenizowane) – symbiotyczne organizmy zbudowane z cudzożywnego grzyba i samożywnego glonu. Grzyby i porosty wytwarzają szereg związków o interesujących właściwościach, także substancji mających zdolność hamowania tyrozynazy.

Kwas kojowy (ryc. 1) jest najdokładniej przebadanym inhibitorem omawianego enzymu. Odkryty został przez Japończyków w grzybie z gatunku *Aspergillus oryzae* (kropidlak ryżowy) noszącym w Japonii nazwę „koji”, jako produkt uboczny procesu fermentacji słodu ryżowego przy produkcji sake oraz sosu sojowego (11). Ponadto kwas kojowy jest również metabolitem grzybów z rodzaju *Penicillium*.

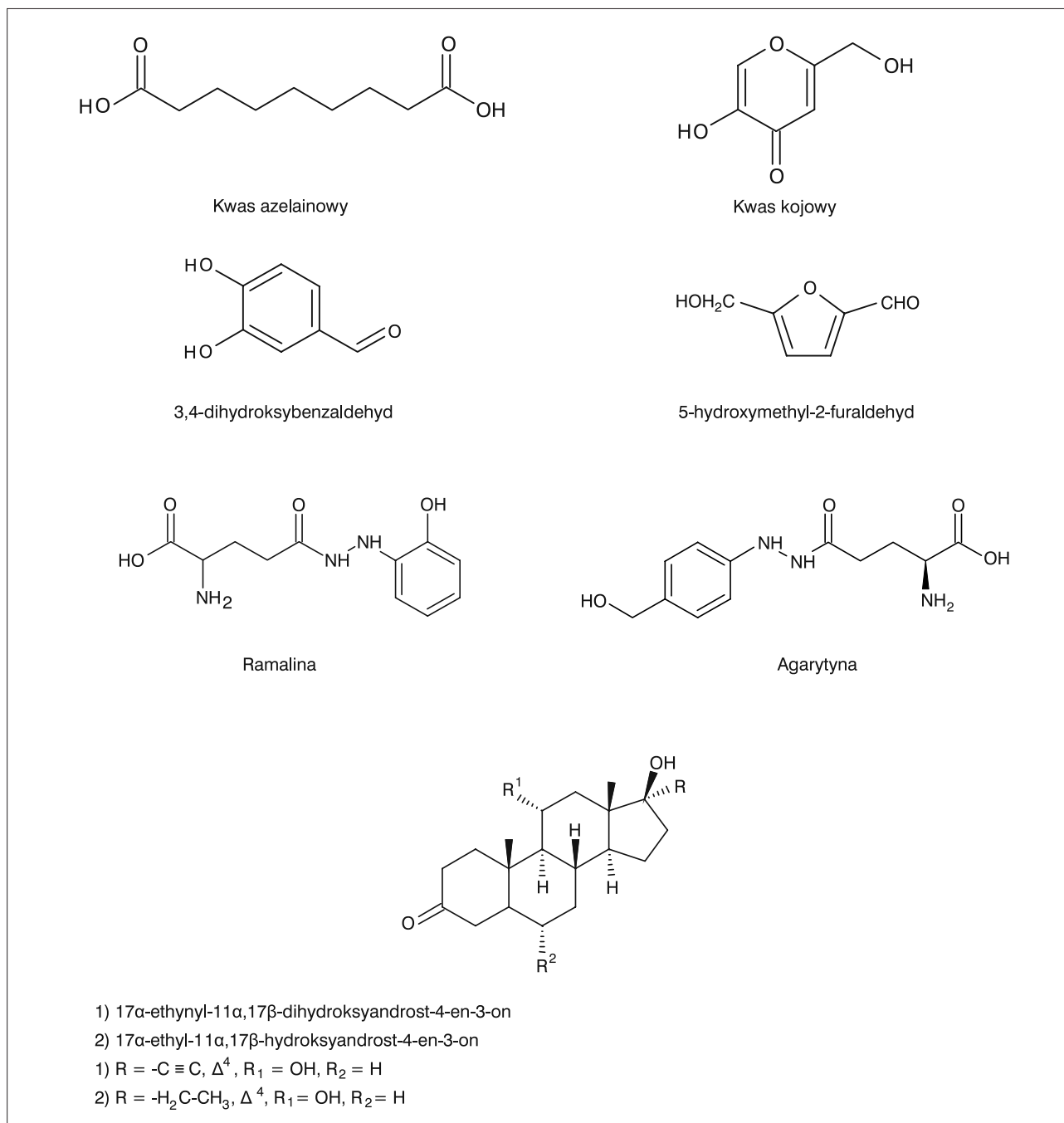
Kwas kojowy stosowany jest w kosmetykach jako substancja wybielająca skórę oraz jako dodatek do żywności, zapobiegający enzymatycznemu brązowieniu. W krajach azjatyckich kwas kojowy jest wykorzystywany jako czynnik rozjaśniający skórę, nie tylko do stosowania miejscowego, ale również jako składnik diety (12); do zmniejszania zmian hiperpigmentacyjnych używany jest w stężeniach 1-4%. Wykazano, że związek ten w połączeniu z innymi naturalnymi czynnikami rozjaśniającymi skórę działa skuteczniej.

Kwas kojowy wykorzystywany jest często jako substancja wzorcowa w poszukiwaniach nowych związków o potencjalnych właściwościach hamujących aktywność tyrozynazy. W stosunku do tyrozynazy wykazuje on mieszany (kompetycyjny i niekompetycyjny) typ inhibicji. Ponadto substancja wykazuje zdolność chelatowania jonów metali, takich jak Cu^{2+} i Fe^{3+} , oraz zmiatania wolnych rodników. Istnieją dane wskazujące

na potencjalną możliwość alergizującego działania kwasu kojowego, objawiającego się kontaktowym zapaleniem skóry. Jego zastosowanie w kosmetyce, ze względu na wywoływanie podrażnień i niestabilność w czasie przechowywania, jest więc limitowane. W związku z tym podjęto próby syntezy pochodnych kwasu kojowego; pochodna aminokwasowa, zawierająca fenyloalaninę w cząsteczce (KA-F-NH₂), wykazywała wyższą zdolność hamowania aktywności

tego enzymu, utrzymującą się przez trzy miesiące w temperaturze 50°C (6, 10, 13).

Kwas azelainowy (ryc. 1) jest kolejnym przykładem substancji wpływającej hamująco na aktywność tyrozynazy. Jest to naturalnie występujący kwas dikarboksylovyy wytwarzany przez grzyby z gatunku *Pityrosporium ovale*. Powstaje on w wyniku lipoperoksydacji wolnych i zestryfikowanych nienasyconych kwasów tłuszczowych (3). Kompetycyjnie blokuje



Ryc. 1. Inhibitory tyrozynazy występujące w grzybach i porostach.

tyrozynazę i dzięki tej właściwości znalazł zastosowanie w leczeniu przebarwień. Badania wykazały, że kwas azelainowy w stężeniu 20% jest skuteczniejszy niż 2% hydrochinon w zmniejszaniu natężenia i rozmiaru przebarwień skóry. W leczeniu zmian hiperpigmentacyjnych kwas azelainowy stosuje się w wysokich stężeniach (15-20%) w długotrwałych terapiach (3-12 miesięcy) (14). Związek ten wykazuje również działanie keratolityczne, przeciwzapalne oraz przeciwbakteryjne, a kremy i żele z tym składnikiem stosuje się też w takich chorobach dermatologicznych jak trądzik pospolity i różowaty czy hiperpigmentacja związana z opryszczką wargową. Kwas azelainowy charakteryzuje się dobrą tolerancją oraz relatywnie selektywnym działaniem w miejscu zmienionym chorobowo (bardzo aktywne melanocyty) w stosunku do zdrowych obszarów skóry. Opisywane w literaturze działania niepożądane związane są z występowaniem świądu, zaczerwienienia lub łuszczenia skóry mijającymi po ok. 2-4 tygodniach stosowania (2, 14).

Związek hamujący działanie tyrozynazy wyizolowano także z występującego w Japonii owocnika grzyba z gatunku *Phellinus linteus* (rodzaj: czyreń). Związek ten zidentyfikowano jako 3,4-dihydroksybenzaldehyd (ryc. 1). Wykazuje on 7-8-krotnie wyższą aktywność hamowania tyrozynazy w porównaniu z kwasem kojowym (IC_{50} odpowiednio 0,4 oraz 3,1 $\mu\text{g/ml}$). W tym samym badaniu oceniono aktywność czterech innych związków wyizolowanych z tego gatunku grzyba. Niewielka aktywność hamowania tyrozynazy została stwierdzona wobec 5-hydroksymetylo-2-furaldehydu (IC_{50} 90,8 $\mu\text{g/ml}$), natomiast pozostałe substancje nie wykazywały działania ($IC_{50} > 500 \mu\text{g/ml}$). Przyjmuje się, że wyodrębniony metabolit benzaldehydowy najsilniej hamował badany enzym w porównaniu z innymi dotąd wyizolowanymi naturalnymi związkami (6, 15).

Udowodniono, że dwa 11α -hydroksylowe steroidy: 17α -etylnyl- 11α , 17β -dihydroksyandrost-4-en-3-on i 17α -etyl- 11α , 17β -hydroksyandrost-4-en-3-on (ryc. 1), wyizolowane z grzyba *Cunninghamella elegant*, posiadają 2,9 i 9,8 razy wyższą zdolność hamowania aktywności tyrozynazy w stosunku do kwasu kojowego (IC_{50} odpowiednio 5,95, 1,72 i 16,92 μM). Lipofilne steroidy mogą mieć w przyszłości duże znaczenie dla rozwoju preparatów stosowanych w leczeniu zmian hiperpigmentacyjnych w związku z łatwiejszą penetracją przez skórę. Jednak brak testów komórkowych i klinicznych dla inhibitorów pochodzenia lipidowego powoduje ograniczenie ich zastosowania w przemyśle kosmetycznym (6, 16).

Grzyby z gatunku *Agaricus bisporus* (pieczarka dwuzarodnikowa) są bogate w agarytynę (ryc. 1), która również odznacza się właściwościami hamowania

procesu melanogenezy. Wykazano, że hamowanie aktywności mono- i difenolazowej tyrozynazy przez agarytynę było niekompetycyjne w przypadku zastosowania jako substratu L-DOPA lub kompetycyjne, gdy jako substrat stosowano tyrozinę. Duża zawartość agarytyny w pieczarce dwuzarodnikowej może sugerować jej udział w regulacji aktywności endogennej tyrozynazy występującej w tym gatunku grzyba (3).

Madhosingh i Sundberg (17) wyizolowali dwa inhibitory tyrozynazy z *Agaricus hortensis*. Związek Ia hamował enzym w sposób kompetycyjny, podczas gdy związek Ib wykazywał niekompetycyjny typ inhibicji.

Metalotioneina otrzymana z *Aspergillus niger* (kropidlak czarny) okazała się kolejnym inhibitorem tyrozynazy. Mechanizm jej działania związany był z chelatowaniem miedzi w centrum aktywnym tyrozynazy grzybowej (18).

W eksperymencie przeprowadzonym przez Chien i wsp. (19) oceniono zdolność hamowania aktywności tyrozynazy przez ekstrakty etanolowe (75%, 50%) i wodne otrzymane z należących do *Basidiomycetes* czterech gatunków grzybów: *Ganoderma lucidum* (rodzaj: lakownica; lakownica lśniąca), *Antrodia camphorata* (rodzaj: jamkówka), *Agaricus brasiliensis* (rodzaj: pieczarka) oraz *Cordyceps militaris* (rodzaj: maczużnik; maczużnik bojowy). Najbardziej wartościowe wyniki otrzymano dla wyciągu pozyskanego z grzyba *G. lucidum*, który w stężeniu 1 mg/ml hamował aktywność enzymu w 80% (IC_{50} 0,32 mg/ml), natomiast w stężeniu 10-krotnie niższym (0,1 mg/ml) inhibicja utrzymywała się na poziomie 40%. Zdolność hamowania aktywności tyrozynazy w stężeniu 1 mg/ml odnotowano także w przypadku 75% etanolowego wyciągu z *A. camphorata*. Wyciąg ten hamował omawiany enzym na poziomie 50%. W tym samym stężeniu ekstrakty etanolowe (50%) lub wodne z *A. camphorata* oraz wszystkie typy wyciągów z *A. brasiliensis* oraz *C. militaris* hamowały aktywność tyrozynazy tylko w niewielkim stopniu (< 25%). Właściwość regulowania melanogenezy na drodze hamowania aktywności tyrozynazy wykorzystywana jest w preparatach kosmetycznych, zwłaszcza na rynku azjatyckim, na którym znajduje się wiele maseczek rozjaśniających przebarwienia i zawierających w swoim składzie wyciąg z *G. lucidum* (19).

Inhibitory tyrozynazy izolowane z porostów

Jednym z pierwszych badań dotyczących wpływu porostów na tyrozinazę był eksperyment przeprowadzony przez Higuchi i wsp. (20). Dowiedli oni, że metanolowe ekstrakty z hodowli tkankowych porostów: *Hypogymnia physodes*, *Letharia vulpina* oraz *Cetraria juniperina* wykazywały zdolność hamowania aktywno-

ści tyrozynazy. Badane wyciągi hamowały aktywność tego enzymu odpowiednio w 47,0, 40,4 i 39,1%. Natomiast ekstrakty metanolowe otrzymane z plech porostów rosnących w stanie naturalnym miały znacznie słabsze działanie w stosunku do wspomnianego enzymu, odpowiednio 5,0, 15,0 oraz 10,7%. Ponadto mykobiont izolowany z hodowli *H. physodes* charakteryzował się znacznie wyższą zdolnością hamowania aktywności enzymu w porównaniu z fotobiontem, odpowiednio 55,3 i 22,4%.

W roku 2008 Verma i wsp. (21) wykonali eksperyment z użyciem kultur tkankowych *in vitro* trzech gatunków porostów: *Arthothelium awasthii*, *Heterodermia podocarpa* i *Parmotrema tinctorum*. Otrzymane ekstrakty metanolowe były testowane w różnych stężeniach (2, 5, 10 oraz 20 $\mu\text{g/ml}$). Wartość wskaźnika hamowania aktywności tyrozynazy wahała się dla *A. awasthii* między 4,62-67,2%, dla *H. podocarpa* od 1,2 do 57,8% oraz dla *P. tinctorum* w granicach 7,4-63,6%. Zdolność hamowania aktywności tyrozynazy przez wykorzystywany jako wzorzec kwas kojowy wynosiła od 7,8 do 68,9%. Aktywność badanych wyciągów była więc porównywalna z zastosowanym standardem. Badania wykazały również, że zdolność hamowania aktywności tyrozynazy przez ekstrakty otrzymane z hodowli *in vitro* była zależna od zastosowanej dawki i czasu działania.

Potwierdzono również działanie hamujące tyrozynazę dla ekstraktów metanolowych otrzymanych z porostów *Umbilicaria esculenta* i *Usnea longissima*, odpowiednio 67,8 i 84,8%. Dla porównania, kwas askorbowy w stężeniu 0,1 mg/ml hamował tyrozynazę w 73,4%. Taki rezultat w stosunku do witaminy C, która jest powszechnie stosowana jako związek rozjaśniający skórę, wydaje się być obiecujący (22).

W badaniu wykonanym przez Paudel i wsp. (23) z metanolowo-wodnego ekstraktu uzyskanego z rosnącego na Antarktydzie porostu *Ramalina terebrata* wyodrębniono ramalinę (ryc. 1). Związek ten wykazywał 1,25-różną zdolność hamowania aktywności tyrozynazy (IC_{50} 4 $\mu\text{g/ml}$) w porównaniu z kwasem kojowym (IC_{50} 5 $\mu\text{g/ml}$), uznanym jako inhibitor enzymu. Eksperyment udowodnił także brak cytotoksyczności w stosunku do ludzkich keratynocytów i fibroblastów, a także bardzo wysoki potencjał przeciwutleniający związku. Mając na uwadze wszystkie uzyskane rezultaty badań, ramalina ma szansę być wykorzystana jako związek redukujący przebarwienia i hamujący stres antyoksydacyjny w komórkach.

Inne badania wskazują na możliwość hamowania aktywności tyrozynazy przez pochodne rezorcynolu występujące w gatunkach porostów z rodzaju *Protosnea* (24).

Podsumowanie

Grzyby i porosty są źródłem związków o szerokim działaniu biologicznym. Badania wykazały, że zdolność hamowania aktywności enzymu tyrozynazy, zarówno czystych metabolitów, jak i wyciągów roślinnych, jest istotna i nierzadko wyższa od stosowanych powszechnie w medycynie i kosmetyce substancji wybielających. Jednak obecnie tylko nieliczne substancje pochodzące z grzybów lub lichenizowanych grzybów mają zastosowanie w walce z przebarwieniami skóry. W świetle tego ważnym wydaje się kontynuowanie badań nad skutecznością i bezpieczeństwem stosowania ekstraktów i związków pochodzenia naturalnego, w tym z grzybów i porostów, których potencjał nie jest obecnie w pełni wykorzystany.

Piśmiennictwo

1. Molski M. Chemia piękna. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2009.
2. Pańczyk K, Waszkielewicz A, Marona H. Zaburzenia hiperpigmentacyjne skóry oraz farmakologiczne metody ich leczenia. *Farm Pol* 2014; 70(6):327-35.
3. Kim YJ, Uyama H. Review. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62:1707-23.
4. Yi W, Wu X, Cao R i wsp. Biological evaluations of novel vitamin C esters as mushroom tyrosinase inhibitors and antioxidants. *Food Chem* 2009; 117:381-6.
5. Selinheimo E, Nieidhin D, Steffensen C i wsp. Comparison of the characteristics of fungal and plant tyrosinases. *J Biotechnol* 2007; 130:471-80.
6. Chang TS. An updated review of tyrosinase inhibitors. *Int J Mol Sci* 2009; 10:2440-75.
7. Laufer Z, Beckett RP, Minibayeva FV. Co-occurrence of the multicopper oxidases tyrosinase and laccase in lichens in sub-order *Peltigerineae*. *Ann Bot* 2006; 98:1035-42.
8. Beckett RP, Minibayeva FV, Liers C. Occurrence of high tyrosinase activity in the non-Peltigeralean lichen *Dermatocarpon miniatum* (L.). *Mann Lichenologist* 2012; 44(6):827-32.
9. Parvez S, Kang M, Chung HS i wsp. Naturally occurring tyrosinase inhibitors: mechanism and applications in skin health, cosmetics and agriculture industries. *Phytother Res* 2007; 21:805-16.
10. Smit N, Vicanova J, Pavel S. The hunt for natural skin whitening agents. *Int J Mol Sci* 2009; 10(12):5326-49.
11. Lamer-Zarawska E, Chwała C, Gwardys A. Rośliny w kosmetyce i kosmetyce przeciwwstarzeniowej. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2012.
12. Burdock GA, Soni MG, Carabin IG. Evaluation of health aspects of kojic acid in food. *Regul Toxicol Pharmacol* 2001; 33(1):80-101.
13. Noh JM, Kwak SY, Seo HS i wsp. Kojic acid-amino acid conjugates as tyrosinase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2009; 19(19):5586-9.
14. Rendon MI, Gaviria JI. Czynniki rozjaśniające skórę. [W:] Draelos ZD (red.): Kosmetyki. Wyd. Med. Urban i Partner, Wrocław 2005; 95-101.
15. Kang HS, Choi JH, Cho WK i wsp. A sphingolipid and tyrosinase inhibitors from the fruiting body of *Phellinus linteus*. *Arch Pharm Res* 2004; 27(7):742-50.
16. Choudhary MI, Sultan S, Khan MT i wsp. Microbial transformation of 17 α -ethynyl- and 17 α -ethylsteroids, and tyrosinase inhibitory activity of transformed products. *Steroids* 2005; 70(12):798-802.
17. Madhosingh C, Sundberg L. Purification and properties of tyrosinase inhibitor from mushroom. *FEBS Lett* 1974; 49(2):156-8.
18. Goetghebeur M, Kermasha S. Inhibition of polyphenol oxidase by copper metallothionein from *Aspergillus niger*. *Phytochem* 1996; 42(4):935-40.
19. Chien CC, Tsai ML, Chen CC i wsp. Effects on tyrosinase activity by the extracts of *Ganoderma lucidum* and related mushrooms. *Myc-*

pathol 2008; 166(2):117-20. **20.** Higuchi M, Miura Y, Boohene J i wsp. Inhibition of tyrosinase activity by cultured lichen tissues and bionts. *Planta Med* 1993; 59:253-5. **21.** Verma N, Behera BC, Sonone A i wsp. Lipid peroxidation and tyrosinase inhibition by lichen symbionts grown *in vitro*. *African J Biochem Res* 2008; (12):225-31. **22.** Kim MS, Cho HB. Melanogenesis inhibitory effects of methanolic extracts of *Umbilicaria esculenta* and *Usnea longissima*. *J Microbiol* 2007; 45(6):578-82. **23.** Paudel B, Bhattarai HD, Koh HY i wsp. Ramalin, a novel nontoxic antioxidant compound from the Antarctic lichen *Ramalina terebrata*. *Phytomed* 2011; 18(14):1285-90. **24.** Zambare VP, Christopher LP. Biopharmaceutical potential of lichens. *Pharm Biol* 2012; 50(6):778-98.

otrzymano/received: 02.07.2015
zaakceptowano/accepted: 29.07.2015

Adres/address:
*Elżbieta Studzińska-Sroka
Katedra i Zakład Farmakognozji
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Świącickiego 4, 60-781 Poznań
tel. +48 (61) 854-67-09, fax +48 (61) 854-67-01
e-mail: ela_studzinska@op.pl