

文章编号: 1004-4353(2021)02-0170-05

白术白芍祛斑霜的制备

韩美子, 姜小天, 夏婷, 张立秋, 施溯筠*

(延边大学 药学院, 吉林 延吉 133002)

摘要: 为研制一款具有淡化色斑功效的中草药祛斑霜, 采用 DPPH 法对人参、白术、白芍、白茯苓和甘草复配后的抗氧化效果进行了筛选, 并通过酪氨酸酶实验对白术和白芍提取液复配的最佳抗氧化效果进行了测定。结果显示, 当白术与白芍提取液的质量浓度均为 80 mg/mL, 并以 3 : 2 的生药量比(体积比)进行复配时, 其对酪氨酸酶的抑制率达到 42.26%。对所制作的祛斑霜的感官、理化性质等进行检测显示, 该祛斑霜符合中华人民共和国轻工行业标准(QB/T 2872—2017)中的相关标准, 且具有良好的保湿功效。因此, 本文所制作的中草药祛斑霜具有良好的开发利用价值。

关键词: 白术; 白芍; 祛斑霜; DPPH 自由基

中图分类号: TQ658

文献标识码: A

Preparation of *Atractylodes macrocephala* and *Cynanchum otophyllum* anti-freckle cream

HAN Meizi, JIANG Xiaotian, XIA Ting, ZHANG Liqiu, SHI Suyun*

(College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: In order to develop a herble anti-freckle cream with the effect of lightening the color spots, DPPH method was used to screen the antioxidant effect of *Panax ginseng*, *Atractylodes macrocephala*, *Cynanchum otophyllum*, *Smilax china* and *Glycyrrhiza uralensis*. The best antioxidant effect of *Atractylodes macrocephala* and *Cynanchum otophyllum* extracts was determined by tyrosinase experiment. The results show that when the mass concentration of *Atractylodes macrocephala* and *Cynanchum otophyllum* extracts were 80 mg/mL and the ratio of crude drug is 3 : 2 (volume ratio), the inhibition rate of tyrosinase is 42.26%. The sensory and physical and chemical properties of the anti-freckle cream were tested. The results show that the anti-freckle cream meet the requirements of the light industry standard of the people's Republic of China (QB/T 2872-2017) and it has good moisturizing effect. Thus it exhibits good development and utilization value.

Keywords: *Atractylodes macrocephala*; *Cynanchum otophyllum*; anti-freckle cream; DPPH radical

0 引言

人体皮肤受到外界刺激或受到内分泌因素影响时会导致体内产生过量的黑色素, 进而在皮肤表面形成色斑。研究显示, 黑色素合成的路径主要是由酪氨酸酶催化氧化酪氨酸生成氧自由基, 继而生成黑色素; 因此, 抑制酪氨酸酶活性、减少氧

自由基的数量可显著减少黑色素的生成^[1-2]。古代方剂“三白汤”是一种经典的美肤方剂, 具有良好的美白祛斑效果^[3]。该方剂主要由白术、白芍、白茯苓 3 种药材组成, 辅药为甘草。现代药学研究表明, 这 4 种药材都有较好的抗氧化和抑制酪氨酸酶的功效^[4-7]。研究表明, 人参中的熊果苷可有效

收稿日期: 2020-10-29

* 通信作者: 施溯筠(1972—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为天然生物资源开发与活性成分研究。

抑制酪氨酸酶的活性和阻断多巴及多巴醌的合成,因而对抑制黑色素的生成具有良好的作用^[8-9].目前,在市场上还未发现利用上述几种中药复配制成的祛斑霜产品;为此,本文利用 DPPH 法和酪氨酸酶抑制实验从上述 5 种药材中筛选出对自由基清除率最高,且对酪氨酸酶抑制率最优的中药及其复配比例,并通过实验验证了所制备的中草药祛斑霜的有效性和安全性.

1 药材与试剂

白术、白芍、白茯苓、甘草,购于北京同仁堂延边连锁药店有限公司(北京仟草中药饮片有限公司);人参购于吉林省延吉市西市场. DPPH, Sigma-Aldrich 公司;酪氨酸酶、L-多巴(纯度≥98%)、熊果苷,上海源叶生物科技有限公司;无水乙醇,沈阳市试剂三厂;甘油、卡波姆 940、三乙醇胺、十八醇、硬脂酸、丙二醇、苯氧乙醇,山东优索化工科技有限公司.

高速台式离心机(Z-36HK),天津市医疗器械厂;紫外-可见分光光度计(UV-2201),日本岛津公司;AP-HX 七英寸控湿控温试验箱,东莞市爱佩试验设备有限公司;数字皮肤水分测试仪(SK-III),深圳凯尔电子有限公司;多功能超纯水系统(RODI),厦门锐思捷科学仪器有限公司.

2 实验

2.1 5 种药材提取液的制备

取人参、白术、白芍、白茯苓、甘草各 50 g,粉碎,过 1.40 mm 筛,加纯化水 500 mL;于 80 ℃水浴加热提取 2 次,第 1 次提取 2 h,第 2 次提取 1.5 h;合并 2 次滤液,将滤液蒸发浓缩后冷藏备用^[10-11].

2.2 药材的筛选

2.2.1 5 种药材的 DPPH 自由基清除率

配制生药质量浓度为 0.5 g/mL 的 5 种药材提取液(作为样品溶液)和 0.1 mmol/L 的 DPPH 自由基乙醇溶液.参照邓明玉等^[12]的方法进行筛选实验.配置反应体系 S、S1、S2,各体系的溶液组分如表 1 所示.每个体系在室温下避光反应 30 min 后在 517 nm 波长下测定各体系的吸光度,各

体系均测定 3 次并取平均值.以无水乙醇作为空白对照.计算 DPPH 自由基清除率(R)的公式为:

$$R = \left(1 - \frac{A_s - A_{s1}}{A_{s2}}\right) \times 100\%.$$

表 1 DPPH 实验溶液体系的配制 mL

反应体系	样品	0.1 mmol/L 的 DPPH	无水乙醇
S	4	4	0
S1	4	0	4
S2	0	4	4

2.2.2 白芍复配人参、白术、甘草的抗氧化活性

将白芍提取液分别同人参、白术、甘草提取液按照 1:1 的体积比进行混合,并将各混合液作为待测样品.测定各混合液的吸光度,并计算各混合液的 DPPH 自由基清除率.

2.3 白术和白芍提取液的体外抗氧化活性

利用 DPPH 自由基清除实验测定白术和白芍提取液的抗氧化活性.取白术和白芍提取液,以纯化水为溶剂分别配制质量浓度为 2.0、4.0、6.0、8.0、10、12、14、16、18、20 mg/mL 的 10 个样品.在 517 nm 波长下,测定上述不同质量浓度样品的 DPPH 自由基清除率.

2.4 酪氨酸酶抑制率的测定及提取液用量的确定

称取白术和白芍提取液各 2 g,分别置于 25 mL 容量瓶内;加入 10 mL 超纯水,振摇;继续加超纯水,将溶液配制成质量浓度为 80 mg/mL 的待测液.使用待测液时,按所需的质量浓度再对其稀释.配制酪氨酸酶溶液及 L-多巴溶液,并参考文献^[13]中的方法进行酪氨酸酶实验.分别配置 3 mL 甲、乙、丙、丁反应体系,各体系的溶液组分见表 2.实验时,首先在 30 ℃水浴中对各体系中的 PBS 溶液和 L-多巴溶液进行温育(10 min),然后再向其中加入样品溶液和酪氨酸酶溶液;各组分充分混合后,在 475 nm 波长下测定各体系的吸光度.实验中使用 0.1 mg/mL 的熊果苷作为阳性对照组.计算酪氨酸酶抑制率(I)的公式为:

$$I = \frac{(A_{甲} - A_{乙}) - (A_{丙} - A_{丁})}{A_{甲} - A_{乙}} \times 100\%.$$

通过上述实验筛选出白术和白芍提取液的最佳质量浓度后,分别以 1:1、1:2、2:1、2:3、3:2、1:4、4:1 的体积比进行复配,并再次测定

其对酪氨酸酶的抑制率,以此确定这 2 种提取液的最佳复配比例.

表 2 酪氨酸酶实验溶液体系的配制 mL

反应体系	PBS	L-多巴	酪氨酸酶溶液	样品
甲	2.0	0.5	0.5	0
乙	2.0	1.0	0	0
丙	1.5	0.5	0.5	0.5
丁	2.0	0.5	0	0.5

2.5 祛斑霜的制备

将卡波姆 940 预先用纯化水溶胀,然后加入 I 相的其他物质,并于 70 ℃ 水浴中加热搅拌至完全溶解;将 II 相于 70 ℃ 水浴中加热搅拌至完全溶解后,将 I 相和 II 相混合并搅拌至均匀(形成的为霜剂);将所制备的祛斑霜移至实验台,在室温下继续搅拌 3 min,所得即为祛斑霜基质.在祛斑霜基质中加入适量 III 相(白芍和白术的提取液)搅拌,所得即为祛斑霜成品. I 相、II 相和 III 相如表 6 所示.

2.6 祛斑霜的感官和理化性能评价

感官评价主要根据祛斑霜的外观状态、味道、滋润性以及后期使用性对祛斑霜进行评价^[11].理化评价主要通过检测祛斑霜的耐热性、耐寒性、离心稳定性以及 pH 值对祛斑霜进行评价^[14].将霜剂分别于(40±1) ℃、-10 ℃ 环境下放置 24 h 后取出,待恢复至室温后观察霜剂是否出现分层或颗粒析出等现象;取适量霜剂放入离心机,以转速 3 000 r/min 离心 5 min,然后观察霜剂是否出现油水分离等现象;参考文献[15]中的方法测定霜剂的 pH 值.

2.7 祛斑霜保湿性能的测定

按文献[16]中的方法,选择 8 名无过敏史且无皮肤病的 20~30 岁的健康志愿者进行祛斑霜的保湿性能测定.测定时,将所制的祛斑霜设置为样品组,将市售护手霜(RNW 乳木果护手霜)设置为对照组,将未添加提取液的祛斑霜基质作为空白组.测试前,受试者用清水洗净前手臂内侧皮肤(保证无其他化妆品残留),并做好测量标记(3 cm×3 cm),然后在温度为(25±1) ℃ 和相对湿度为(40±2)%的条件下静坐 30 min.样品组、对照组和空白组随机分布,试验样品量为 0.1 g,区域

间隔为 1 cm.涂抹后立即用数字皮肤水分测试仪(SK-III)测量空白组、样品组和对照组的皮肤含水量.每组均测定 7 次,每次间隔 30 min.测试过程中受试者不能剧烈运动和大量饮水,同时要保持情绪稳定.

3 实验结果

3.1 5 种药材提取液的抗氧化活性

表 3 为 5 种药材对 DPPH 自由基的清除率.由表 3 可以看出:在 0.5 g/mL 质量浓度下,白芍提取液对 DPPH 自由基的清除率最强(76.57%),白茯苓对 DPPH 自由基的清除率最弱(32.65%).故本文选取白芍提取液分别与人参、白术、甘草 3 种提取液按 1:1 的体积比进行复配,并通过测定其抗氧化活性筛选出复配效果最优的组合.

表 3 5 种药材提取液对 DPPH 自由基的清除率

药材	药材提取液/(g/mL)	DPPH 自由基清除率/%
人参	0.5	50.38
白术	0.5	53.23
白芍	0.5	76.57
白茯苓	0.5	32.65
甘草	0.5	54.76

3.2 复配组合药材的抗氧化活性

复配试验结果如表 4 所示.由表 4 可以看出,白术与白芍复配时其抗氧化活性最强(80.39%),故本文选取白术与白芍复配用于祛斑霜的制备,并进一步分析其最佳的复配比例.

表 4 复配组合对 DPPH 自由基的清除率

复配组合	DPPH 自由基清除率/%
人参+白芍	76.26
白术+白芍	80.39
甘草+白芍	77.84

3.3 体外 DPPH 自由基清除率的测定

白术和白芍提取液对 DPPH 自由基的清除率如图 1 所示.由图 1 可以看出,当白术的质量浓度为 10 mg/mL 时,其对 DPPH 自由基的清除率达到最大值(51.63%);当白芍的质量浓度为 14 mg/mL 时,其对 DPPH 自由基的清除率达到最大值(72.01%).另外,由图 1 还可以看出白术和

白芍提取液对 DPPH 自由基的清除率达到最大值后,随着二者质量浓度的升高,二者对 DPPH 自由基的清除率基本保持在相对平稳的状态,由此表明白术和白芍提取液具有稳定的抗氧化性。

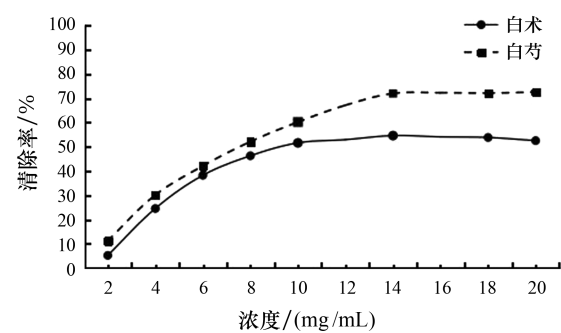


图 1 白术和白芍提取液对 DPPH 自由基的清除率

3.4 白术和白芍提取液对酪氨酸酶的抑制率

表 5 为白术和白芍提取液对酪氨酸酶的抑制率。由表 5 可以看出:白术和白芍提取液对酪氨酸酶的抑制率均随浓度的升高而增加;当白术、白芍的质量浓度分别为 80 mg/mL 时,其对酪氨酸酶的抑制率达到最高。本文未对超过 80 mg/mL 时的白术、白芍提取液进行测定,其原因是当白术、白芍提取液的质量浓度分别超过 80 mg/mL 时,其对霜剂的颜色有较大影响。

表 5 白术、白芍提取液对酪氨酸酶的抑制率

组别	药材提取液/(mg/mL)	抑制率/%
白术水提液	20.0	21.42±1.34
	50.0	35.87±1.26
	80.0	40.19±2.01
白芍水提液	20.0	10.23±1.57
	50.0	21.79±1.45
	80.0	27.92±1.76
阳性对照组	0.1	46.76±1.21

图 2 为不同体积配比的白术、白芍提取液对酪氨酸酶的抑制率。对复配后的抑制率结果总体进行单因素方差分析显示, $P < 0.05$,说明总体组间呈显著性差异。对各组数据间进行单因素方差分析显示,1 : 2、2 : 3、1 : 4 比例组间的 P 值和 1 : 1、2 : 1、3 : 2、4 : 1 比例组间的 P 值均大于 0.05(呈非显著性差异),而 1 : 2、2 : 3、1 : 4 与 1 : 1、2 : 1、3 : 2、4 : 1 比例组间的 P 值则小于 0.05(呈显著性差异),由此说明不同配比的白术、

白芍提取液对酪氨酸酶的抑制率具有不同影响。本文选取对酪氨酸酶抑制率最高的配比组(白术与白芍的配比为 3 : 2)作为霜剂的配比。

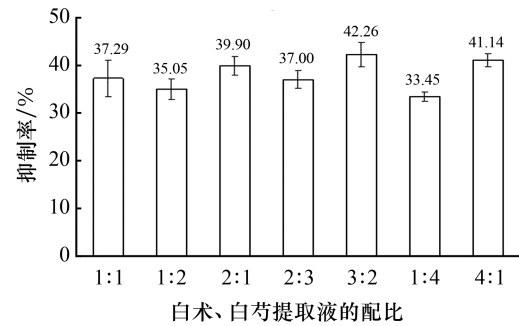


图 2 不同体积配比的白术、白芍提取液对酪氨酸酶的抑制率

3.5 白术白芍祛斑霜的制备

参考文献[17-18]的方法并结合本文实验结果制备祛斑霜。祛斑霜的制备配方如表 6 所示。

表 6 祛斑霜配方

相别	成分	成分含量/%
I	甘油	5.0(体积分数)
	卡波姆 940	0.6(质量分数)
	三乙醇胺	0.5(质量分数)
	纯化水	余量(体积分数)
II	十八醇	2.5(体积分数)
	硬脂酸	5.0(质量分数)
	丙二醇	4.0(体积分数)
	苯氧乙醇	0.9(体积分数)
III	白术提取液	6.0(体积分数)
	白芍提取液	4.0(体积分数)

3.6 祛斑霜的感官与理化性能评价

所制祛斑霜色泽均匀,无异味,易涂抹且无颗粒感。涂抹后,肤感水润无油腻感,无任何不良反应。稳定性实验结果显示,祛斑霜膏体未出现水分析出和分层现象。pH 测定显示,祛斑霜的 pH 值为 5.65。

3.7 保湿性能测定

受试者涂抹 2 种祛斑霜后其皮肤角质层水分含量随时间的变化如图 3 所示。由图 3 可以看出:在涂抹后 180 min 内,样品组的保湿性能总体优于对照组(RNW 乳木果护手霜),由此表明本实验制备的祛斑霜具有较好的保湿性能,且具有良好的保湿持久度。

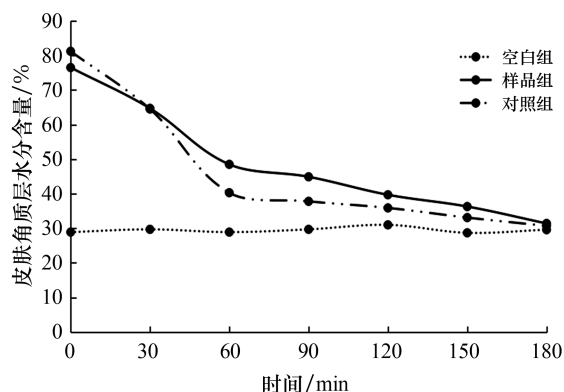


图 3 皮肤角质层的水分含量随时间的变化

4 结论

实验表明,当以白术和白芍提取液的质量浓度均为 80 mg/mL,二者的生药量比为 3 : 2(体积比)进行复配组合时,其抗氧化性能和对酪氨酸酶的抑制率为最佳。经检测表明,本文制备的祛斑霜的感官、理化性能良好,符合中华人民共和国轻工行业标准(QB/T 2872—2017)中的相关标准,且具有较好的保湿功效。因此,本文制备的祛斑霜可作为一种良好的护肤类产品进行开发利用。

参考文献:

- [1] 吴梅. 从黄褐斑的治疗谈谈中药的祛斑前景[J]. 大家健康(学术版), 2014, 8(23): 30-31.
- [2] 齐诗雨. 辨证中药内服联合水光疗法治疗黄褐斑临床疗效观察[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.
- [3] 魏华, 黄倩. 简谈中药美容[J]. 海峡药学, 2008(4): 131-132.
- [4] 胡荣, 李祖伦, 李汝佳. 白术茯苓不同极性部位对酪氨酸酶活性影响的实验研究[J]. 四川中医, 2008(5): 27-28.
- [5] 秦亚东, 周娟娟, 汪荣斌. 白芍多糖抑制酪氨酸酶活性成分的筛选[J]. 中成药, 2018, 40(12): 2755-2758.
- [6] 陈红梅. 茯苓皮多糖和三萜类物质提取及其抗氧化活性研究[J]. 生物学杂志, 2015, 32(2): 48-52.
- [7] YOKOTA T, NISHIO H, KUBOTA Y, et al. The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation[J]. Pigment Cell Research, 1998, 11(6): 855-861.
- [8] 刘宏群, 曲正义. 人参化妆品研究进展[J]. 人参研究, 2017, 29(3): 45-47.
- [9] 于雪妮, 冯小刚, 张建民, 等. 人参化学成分与药理作用研究新进展[J]. 人参研究, 2019, 31(1): 47-51.
- [10] 王金梅, 张旭, 康文艺. 苍术及其麸炒品抗氧化活性研究[J]. 精细化工, 2010, 27(7): 664-666.
- [11] 刘永琴, 罗忠圣, 徐昌艳, 等. 基于酪氨酸酶抑制作用的白术水提工艺研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(10): 1196-1202.
- [12] 邓明玉, 冯健如, 宋凤兰, 等. 金银花黄芪抗衰老面膜的制备[J]. 广东化工, 2018, 45(7): 96-97.
- [13] 王立军. 白芍及桑白皮中酪氨酸酶抑制剂的筛选及其活性成分的抑制动力学研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2016.
- [14] 韩美子, 姜小天, 孙志双, 等. 基于中药黄芪枸杞的一款抗衰老面膜的制备[J]. 延边大学学报(自然科学版), 2019, 45(4): 344-348.
- [15] 王雪梅, 沈雪梅, 吴汉平, 等. 中草药多效美白润肤霜的制备及性能研究[J]. 香料香精化妆品, 2016, 15(2): 52-58.
- [16] 李馨恩. 中药黄芩在化妆品中的多功效研究及其安全性评价[D]. 广州: 广东药科大学, 2016.
- [17] 刘薇, 李早慧. 白芷薏米美容霜的制备工艺[J]. 吉林农业, 2018, 24(18): 48-49.
- [18] 陈海燕, 孙志双, 刘美含, 等. 林蛙皮银耳保湿霜的制备[J]. 延边大学学报(自然科学版), 2019, 45(1): 84-89.