

医药与日化原料

铁皮石斛多糖的提取及在美白保湿护肤品中的应用

张舒婷¹, 李 丽¹, 丁依琳¹, 姜雯琪^{2*}, 王作新², 赵洪新^{1*}

(1. 浙江理工大学 生命科学与医药学院, 浙江 杭州 310018; 2. 上海特莱维护肤品股份有限公司, 上海 201706)

摘要: 以新鲜铁皮石斛为原材料, 采用超声辅助法提取铁皮石斛多糖 (DOP), 并将其作为活性成分制备了铁皮石斛美白霜。通过单因素和正交实验优化了 DOP 提取工艺。通过 $\cdot\text{OH}$ 、1,1-二苯-2-苦基肼 (DPPH) 自由基、2,2'-联氮-双-3(乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐阳离子 (ABTS⁺) 自由基清除实验和铁离子还原 (FRAP) 法, 考察了 DOP 抗氧化活性; 通过体外物理分析法检测了 DOP 的保湿能力。通过铁皮石斛美白霜抗氧化、保湿能力检测和酪氨酸酶活性抑制实验, 考察了 DOP 质量分数对铁皮石斛美白霜性能的影响。结果表明, 在超声时间 60 min、料液比 (g : mL) 1 : 30、超声次数 3 次、超声温度 80 °C 的最优提取条件下, DOP 得率为 34.73%±0.16%。与质量浓度 1.92 g/L 的 L-抗坏血酸溶液相比, 相同质量浓度的 DOP 溶液的 $\cdot\text{OH}$ 清除率为 57.33%±0.03%, 低于 L-抗坏血酸的 98.77%±0.05%; ABTS⁺自由基清除率为 22.16%±1.24%, 远低于 L-抗坏血酸的 98.01%±0.28%; DPPH 自由基的清除率为 85.45%±0.06%, 接近 L-抗坏血酸的 96.24%±0.04%; FRAP 值为 (2631.31±67.34) $\mu\text{mol/L}$, 接近 L-抗坏血酸的 (2782.83±23.78) $\mu\text{mol/L}$; 在相对湿度 85% 和 43% 条件下作用 24 h, DOP 保湿率分别为 96.11%±0.17% 和 91.58%±0.31%; DOP 质量分数 1.5%、烟酰胺质量分数 2.6% 的铁皮石斛美白霜的 $\cdot\text{OH}$ 清除率为 25.40%±0.13%、DPPH 自由基清除率为 85.70%±0.30%、FRAP 值为 (3735.14±148.38) $\mu\text{mol/L}$, 在相对湿度 43% 的环境中, 24 h 保湿率为 90.33%±1.34%, 酪氨酸酶抑制率为 42.01%±2.73%。

关键词: 铁皮石斛; 多糖; 超声波; 提取; 抗氧化性; 保湿; 美白; 日化原料

中图分类号: TQ658 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2025) 10-2223-09

Extraction of polysaccharide from *Dendrobium officinale* and its application in whitening and moisturizing skin care products

ZHANG Shuting¹, LI Li¹, DING Yilin¹, JIANG Wenqi^{2*}, WANG Zuoxin², ZHAO Hongxin^{1*}

(1. College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, Zhejiang, China; 2. Shanghai Telaiwei Cosmetics Co., Ltd., Shanghai 201706, China)

Abstract: *Dendrobium officinale* polysaccharide (DOP) was extracted from fresh *Dendrobium officinale* by ultrasonic assisted method and used as active ingredient for synthesis of *Dendrobium officinale* whitening cream. The DOP extraction process was optimized by single factor and orthogonal experiments. The antioxidant activity of DOP was evaluated by $\cdot\text{OH}$, 1,1-diphenylpicrylphenylhydrazine (DPPH) free radical, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt cation (ABTS⁺) free radical scavenging test and iron ion reduction (FRAP) method, while the moisturizing ability of DOP was analyzed by *in vitro* physical analysis. The effect of DOP mass fraction on the properties of *Dendrobium officinale* whitening cream were investigated through antioxidant and moisturizing ability and tyrosinase activity inhibition tests. The results showed that under the optimal extraction conditions of ultrasonic time 60 min, solid-liquid ratio (g : mL) 1 : 30, ultrasonic times 3, ultrasonic temperature 80 °C, the yield of DOP was 34.73%±0.16%. Compared with those of L-ascorbic acid solution with 1.92 g/L mass concentration, the $\cdot\text{OH}$ scavenging rate of DOP solution with the same mass concentration was 57.33%±0.03%, lower than the

收稿日期: 2024-08-07; 定用日期: 2024-09-10; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240620

作者简介: 张舒婷 (1999—), 女, 硕士生, E-mail: zst7978222@163.com。联系人: 姜雯琪 (1980—), 女, 工程师, E-mail: 308575950@qq.com; 赵洪新 (1967—), 男, 教授, E-mail: bxxbj2003@sina.com。

98.77%±0.05% of L-ascorbic acid solution; The ABTS⁺ free radical scavenging rate was 22.16%±1.24%, much lower than that of L-ascorbic acid (98.01%±0.28%). The scavenging rate on DPPH free radical was 85.45%±0.06%, which was close to the 96.24%±0.04% of L-ascorbic acid. FRAP value was (2631.31±67.34) μmol/L, similar to the (2782.83±23.78) μmol/L of L-ascorbic acid. Under the conditions of 85% and 43% relative humidity for 24 h, the moisture retention rates of DOP were 96.11%±0.17% and 91.58%±0.31%, respectively. The •OH and DPPH free radical scavenging rates of whitening cream with DOP 1.5% (mass fraction) and niacinamide 2.6% (mass fraction) were 25.40%±0.13% and 85.70%±0.30%, FRAP (3735.14±148.38) μmol/L, and the 24 h moisture rate was 90.33%±1.34% under 43% relative humidity. The inhibition rate of tyrosinase was 42.01%±2.73%.

Key words: *Dendrobium officinale*; polysaccharides; ultrasonic wave; extraction; antioxidation; moisturize; whitening; cosmetic raw materials

中草药化妆品富含中草药活性物质,成分天然纯正、性能温和、副作用小、安全可靠,日益受到人们的欢迎。尤其是,中草药中的植物多糖无毒副作用、具有优异的保湿效果^[1],可满足消费者对于化妆品的天然和无刺激的需求。铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)被誉为“九大仙草之首”^[2],其活性成分之一为铁皮石斛多糖(DOP)^[3]。DOP具有抗氧化、保湿、抗炎、抗菌、免疫调节、抗疲劳等^[4-8]多种药理作用。尽管中国的铁皮石斛种植已实现了规模化,但产业主要集中在初级产品的生产,深加工产品所占份额不足总量的5%^[9],并且市场上铁皮石斛护肤品鱼龙混杂,只能满足概念性宣传,功效性无法得到保证^[10]。

目前,中国铁皮石斛的产地主要在浙江、云南等地^[3],其中,浙江乐清为铁皮石斛传统主产区,其产出的铁皮石斛的DOP含量较高^[11]。DOP提取常见方法有热水提取法^[12]、酶辅助提取法^[13-14]、微波辅助提取法^[15]、超临界CO₂提取法^[16]、超声辅助提取法^[17]等。不同提取分离方法得到的DOP具有不同的理化性质和生物活性^[18]。热水提取是实验室和工业中最常用的提取DOP方法,具有简便、安全的特点,但耗时长且效率低;酶提取法成本高;超临界CO₂提取法对设备要求高;超声波辅助热水提取能破坏铁皮石斛的细胞壁,不仅能提高DOP得率,而且更经济。CHU等^[19]研究表明,超声提取的DOP能提高其抗氧化及抗衰老活性,新鲜铁皮石斛提取的DOP比干铁皮石斛提取的DOP具有更高的抗氧化活性^[20],可以通过直接和间接抗氧化的形式发挥美白作用^[21-22]。DOP具有优异的保湿功效^[23],其效果甚至优于被广泛使用的保湿剂透明质酸^[24],在化妆品领域具有良好的应用潜力。然而,目前对DOP的研究大多集中在提取方式的研究,而对其在护肤品领域的应用研究相对较少。对DOP的抗氧化、保湿、美白等功效性研究也大多集中在提取物阶段,仍缺少其在护肤品中配比后的功效及不同DOP添加量

对配方功效影响的探究。

本文拟以浙江产铁皮石斛为原材料,采用超声提取DOP,以DOP得率为指标,优化超声提取工艺;通过测定DOP对1,1-二苯-2-苦基肼(DPPH)自由基、羟基自由基(•OH)、2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)阳离子(ABTS⁺)自由基的清除能力及对铁离子的还原能力来分析其抗氧化性能;通过测定DOP在不同相对湿度条件下的保湿率,考察其保湿性能;通过检测不同添加量DOP在美白霜中的抗氧化、保湿及美白活性,探究DOP在美容护肤品中的应用。以期DOP在中草药护肤品中的开发提供参考依据。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

铁皮石斛,浙江瑞心源生物科技有限公司;•OH清除率检测试剂盒(Fenton比色法),北京雷根生物有限公司。

L-抗坏血酸标准品、DPPH、ABTS,AR,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;葡萄糖、过硫酸钾、2,4,6-三吡啶基三嗪(TPTZ),AR,上海麦克林生化科技股份有限公司;乙酸钠,AR,无锡展望化工试剂有限公司;浓硫酸(质量分数98%)、乙酸、FeSO₄,AR,天津市科密欧化学试剂有限公司;氯仿、正丁醇,AR,西陇科学股份有限公司;十八醇、单硬脂酸甘油酯、硬脂酸、硅油、白油、棕榈酸异丙酯、羊毛脂、1,2-丙二醇、甘油、三乙醇胺、烟酰胺、透明质酸、苯氧乙醇,化妆品级,山东优素化工科技有限公司。

S30H型超声波清洗器,德国Elma公司;RE-52AA型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;UV756RT型紫外-可见分光光度计(UV-Vis),上海佑科仪器仪表有限公司;10A型真空冷冻干燥机,赛飞(中国)有限公司;Synergy HTX型多功能酶

标检测仪, 美国 Biotex 公司。

1.2 方法

1.2.1 DOP 的提取

将铁皮石斛鲜品洗净晾干, 然后放入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻干燥 2 h, 粉碎过 100 目筛, 得到铁皮石斛冻干粉。将 1.0000 g 铁皮石斛冻干粉溶于去离子水中, 室温下浸泡 48 h。在预设的超声时间、超声次数、料液比(g : mL)、超声温度下进行提取, 提取频率为 35 kHz, 提取液真空浓缩至约 10 mL, 加入无水乙醇至乙醇体积分数为 80%, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中放置 (12 ± 2) h。再以 6000 r/min 离心处理 8 min 后弃上清液, 将沉淀物过滤, 在 $-56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下干燥 12 h。将干燥后沉淀物溶解在 30 mL 去离子水中, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻 3 h, 室温下融化, 以 7000 r/min 离心处理 5 min 后, 弃沉淀取上清液, 重复以上操作, 直至离心后无沉淀出现。将离心后溶液与 Sevag 试剂 [$V(\text{氯仿}) : V(\text{正丁醇}) = 4 : 1$] 按体积比 4 : 1 混合, 剧烈振荡 1 h 后离心 5 min (8000 r/min) 取上清液, 反复上述操作 6~8 次至无中间层。取上清液加入 4 倍体积无水乙醇, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置 12 h, 以 5000 r/min 离心处理 10 min, 将沉淀物在 $-56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻干燥 12 h, 得到淡黄色 DOP 粉末。

使用苯酚-硫酸法^[25]进行 DOP 中葡萄糖质量分数的测定, 采用紫外-可见分光光度计测定其在 490 nm 处吸光度, 根据已测定的葡萄糖质量浓度(x , g/L) - 吸光度(y) 标准曲线拟合方程 $y = 0.1228x + 0.0839$ ($R^2 = 0.9877$), 计算测定溶液吸光度对应的葡萄糖的质量浓度, 进行 3 次平行重复测定, 取算数平均值。根据式 (1) 计算 DOP 得率:

$$Y/\% = \rho \times V/m \times 100 \quad (1)$$

式中: Y 为 DOP 得率, %; ρ 为测得的 DOP 中葡萄糖的质量浓度, g/L; V 为 DOP 溶液体积, L; m 为铁皮石斛冻干粉的质量, 1.0000 g。

1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 超声时间对 DOP 得率的影响

采用 1.2.1 节方法步骤, 在料液比(g : mL) 1 : 30、超声温度 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、超声次数 3 次的条件下, 考察超声时间 (50、55、60、65、70 min) 对 DOP 得率的影响。

1.2.2.2 超声次数对 DOP 得率的影响

采用 1.2.1 节方法步骤, 在超声时间 60 min、料液比(g : mL) 1 : 30、超声温度 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件下, 考察超声次数 (1、2、3、4、5 次) 对 DOP 得率的影响。

1.2.2.3 料液比(g : mL)对 DOP 得率的影响

采用 1.2.1 节方法步骤, 在超声时间 60 min、超声温度 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、超声次数 3 次的条件下, 考察料液

比(g : mL) (1 : 15、1 : 20、1 : 25、1 : 30、1 : 35) 对 DOP 得率的影响。

1.2.2.4 超声温度对 DOP 得率的影响

采用 1.2.1 节方法步骤, 在超声时间 60 min、超声次数 3 次、料液比(g : mL) 1 : 30 的条件下, 考察超声温度 (40、50、60、70、 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$) 对 DOP 得率的影响。

1.2.3 正交实验

基于单因素实验, 选取超声时间、超声次数、料液比(g : mL) 和超声温度为因素, 按照表 1 设计四因素三水平的 L_9 正交实验。

表 1 正交实验因素和水平
Table 1 Orthogonal experimental factors and levels

水平	因素			
	A 超声 时间/min	B 超声 次数/次	C 料液比/ (g : mL)	D 超声 温度/ $^{\circ}\text{C}$
1	65	4	1 : 35	80
2	60	3	1 : 30	70
3	55	2	1 : 25	60

1.4 抗氧化能力测试

1.4.1 $\cdot\text{OH}$ 清除能力的测试

分别配制不同质量浓度 (0.06、0.12、0.24、0.48、0.96、1.92 g/L) DOP 和 L-抗坏血酸溶液, 以去离子水为空白组, L-抗坏血酸为对照, 测定 DOP 的 $\cdot\text{OH}$ 清除率。根据 $\cdot\text{OH}$ 清除率检测试剂盒说明书进行测定, A_0 组: 200 μL OH Assay Buffer+800 μL 蒸馏水; A_1 组: 150 μL 邻二氮菲溶液+200 μL OH Assay Buffer+100 μL 亚铁显色液+550 μL 蒸馏水; A_2 组: 150 μL 邻二氮菲溶液+200 μL OH Assay Buffer+100 μL 亚铁显色液+450 μL 蒸馏水+100 μL 氧化剂; A_3 组: 200 μL OH Assay Buffer+700 μL 蒸馏水+100 μL 样品; A_4 组: 150 μL 邻二氮菲溶液+200 μL OH Assay Buffer+100 μL 亚铁显色液+350 μL 蒸馏水+100 μL 样品+100 μL 氧化剂。使用酶标仪检测其在 536 nm 处的吸光度, 平行测定 3 组。根据式 (2) 计算 $\cdot\text{OH}$ 清除率 (B , %):

$$B/\% = [(A_4 - A_3) - (A_2 - A_0)] / (A_1 - A_2) \times 100 \quad (2)$$

式中: A_0 、 A_1 、 A_2 、 A_3 、 A_4 分别为空白管、未损伤管、损伤管、对照管、测定管的吸光度。

1.4.2 DPPH 自由基清除能力的测试

分别配制质量浓度 (0.06、0.12、0.24、0.48、0.96、1.92 g/L) DOP 溶液和 L-抗坏血酸, 检测其 DPPH 自由基清除率。 A_0 组: $V(\text{去离子水}) : V(0.2\text{ mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液}) = 1 : 1$ 混合液; A_1 组: $V(\text{DOP 溶液}) : V(\text{无水乙醇}) = 1 : 1$ 混合液; A_2 组: $V(\text{DOP 溶液}) : V(0.2\text{ mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液}) = 1 : 1$ 混合液。上述各组避光反应 30 min 后, 以 L-抗坏血酸为

阳性对照,使用酶标仪检测其在 517 nm 处的吸光度,平行重复 3 次。根据式(3)计算 DPPH 自由基清除率(C , %):

$$C/\%=[1-(A_2'-A_1')/A_0']\times 100 \quad (3)$$

式中: A_0' 、 A_1' 、 A_2' 分别为 A_0' 组、 A_1' 组、 A_2' 组的吸光度。

1.4.3 ABTS⁺自由基清除能力的测定

将 7 mmol/L 的 ABTS 水溶液和 2.45 mmol/L 的过硫酸钾溶液按体积比 1:1 混合,配制 ABTS⁺工作液。

分别配制不同质量浓度(0.06、0.12、0.24、0.48、0.96、1.92 g/L) DOP 溶液和 L-抗坏血酸溶液。 A_0'' 组:30 μ L 无水乙醇和 2.4 mL ABTS⁺工作液混合; A_1'' 组:30 μ L 样品溶液与 2.4 mL ABTS⁺工作液混合; A_2'' 组:30 μ L 样品溶液与 2.4 mL 无水乙醇混合。上述各组室温避光反应 10 min,以 L-抗坏血酸作为阳性对照,使用酶标仪在 734 nm 处测其吸光度,平行重复 3 次。根据(4)计算 ABTS⁺自由基清除率(D , %):

$$D/\%=[1-(A_1''-A_2'')/A_0'']\times 100 \quad (4)$$

式中: A_0'' 、 A_1'' 、 A_2'' 分别为 A_0'' 组、 A_1'' 组、 A_2'' 组的吸光度。

1.4.4 铁离子还原能力(FRAP 值)的测定

分别配制不同质量浓度(0.06、0.12、0.24、0.48、0.96、1.92 g/L) DOP 溶液和 L-抗坏血酸溶液,以铁离子还原(FRAP)法^[26]为基础,测定 DOP 的 FRAP 值^[25]。以 L-抗坏血酸作阳性对照,平行重复 3 次,使用酶标仪检测其在 593 nm 处的吸光度,将测定的吸光度带入已测定的 FeSO₄ 浓度(x , μ mol/L)-吸光度(y)标准曲线拟合方程 $y=0.0012x-0.0045$ ($R^2=0.9995$) 中,即得到对应的 FRAP 值^[27]。

1.5 铁皮石斛美白霜的制备

称取 1 份美白霜配方基质(1.50 g 十八醇+2.00 g 单硬脂酸甘油酯+2.00 g 硬脂酸+3.50 g 硅油+8.50 g 白油+1.00 g 棕榈酸异丙酯+0.40 g 羊毛脂+2.60 g 1,2-丙二醇+6.00 g 甘油+0.12 g 三乙醇胺+2.60 g 烟酰胺+0.10 g 透明质酸+0.20 g 苯氧乙醇),加入 0.50 g DOP,混合均匀后,加去离子水至总质量为 100.00 g,将部分油相和水相分别在 80 $^{\circ}$ C 搅拌 20 min,降温至 65 $^{\circ}$ C 时加入三乙醇胺,降温至 45 $^{\circ}$ C 时加入苯氧乙醇、DOP、烟酰胺及透明质酸,得到 DOP 质量分数 0.5%的铁皮石斛美白霜,记为配方一。

采用上述方法的操作,保持其他组分质量不变,调整 DOP 的质量分别为 1.00、1.50 g,得到 DOP 质量分数 1.0%和 1.5%的铁皮石斛美白霜,分别记为配方二和配方三。

采用配方一的制备方法,不加入 DOP,得到的美白霜记为空白组。

1.6 保湿能力的测定

采用体外物理化分析法中的称重法^[28]评判 DOP 的保湿性。将 5.0000 g 去离子水、质量分数 10% 的 DOP 溶液、质量分数 10% 的甘油溶液(以蒸馏水为溶剂)分别置于称量瓶中,制备两个相同样品。将上述称量瓶分别置于两种不同的相对湿度(RH, 43%和 85%)条件下的恒温恒湿培养箱内,恒定温度为 20 $^{\circ}$ C,在不同时间点(1、3、6、9、12、24 h)分别称取并记录样品质量,实验平行测定 3 组。根据式(5)计算保湿率(E , %):

$$E/\%=(m_2-m_1)/m_0\times 100 \quad (5)$$

式中: m_1 为称量瓶质量, g; m_2 为称量瓶和样品总质量, g; m_0 为样品初始净质量, g。

1.7 美白功效测定

根据 T/SHRH 015—2018^[29]测定铁皮石斛美白霜的酪氨酸酶抑制率,以此评价铁皮石斛美白霜的美白功效。

1.8 数据处理

实验数据均采用 GraphPad Prism 8、Origin 2024 软件进行方差分析并作图。每组实验重复 3 次,所得数据以“算数平均值 $\pm$ 标准差”呈现, $P<0.05$ 为具有统计学意义的显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验结果分析

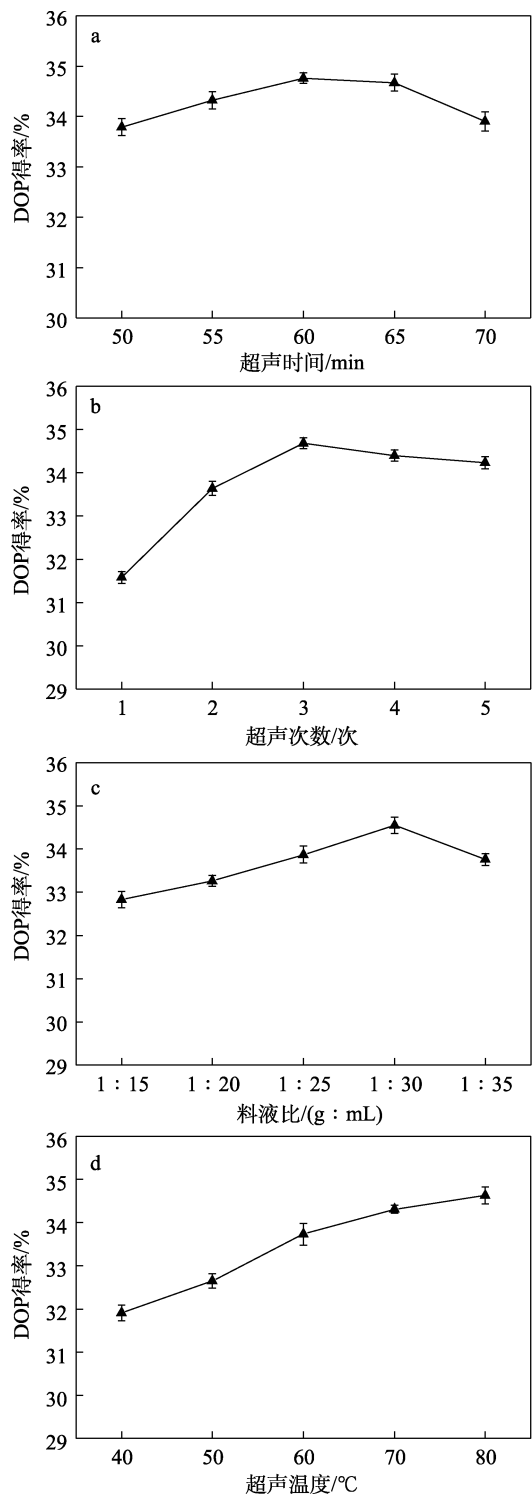
图 1 为超声提取条件对 DOP 得率的影响。

从图 1a 可以看出,随着超声时间的增加,DOP 得率呈先上升后下降的趋势。当超声时间为 60 min 时,DOP 得率最高,为 34.76% $\pm$ 0.11%。这是因为,超声时间(<60 min)较短时,一方面,超声波空化破碎作用促使在较短时间内得到较高的 DOP 得率;另一方面,超声时间较短,对 DOP 降解作用小。但较长时间(>60 min)超声使 DOP 降解^[30],导致 DOP 得率下降。

从图 1b 可以看出,随着超声次数的增加,DOP 得率呈先上升后轻微下降的趋势。超声次数为 3 次时,DOP 得率最高,为 34.68% $\pm$ 0.12%。这是因为,超声次数>3 次时,提取次数的增加,意味着溶剂增加,提高了浓缩难度,提取物中含糖组分除了多糖还有糖蛋白,可能由于旋蒸浓缩时间过长及温度较高等导致糖蛋白降解为寡糖链及多肽,寡糖易溶于乙醇,因此未醇沉下来;提取次数增加也增加了其他物质溶出,增高了蛋白量和稠度,去蛋白时分层时间长,导致少量与蛋白结合的蛋白聚糖和糖蛋白沉淀,进而使多糖损失^[31];同时其他杂质溶出导致冷冻干燥后相同体积的多糖提取液中多糖含量下降。

从图 1c 可以看出,随着料液比(g:mL)的减

小, DOP 得率先上升后下降。当料液比 (g : mL) 为 1 : 30 时, DOP 得率最高, 为 34.55%±0.21%。这是因为, 过低的料液比 (g : mL) 导致溶质溶出趋于饱和, 降低了 DOP 得率。此外, 料液比 (g : mL) 的减小使提取体系的传热功能降低, 不利于溶质溶出, 并增加了生产成本。



a—超声时间; b—超声次数; c—料液比 (g : mL) ; d—超声温度
图 1 超声提取条件对 DOP 得率的影响
Fig. 1 Effects of ultrasonic extract conditions on DOP yield

从图 1d 可以看出, 随着超声温度的升高, DOP 得率逐渐升高。当超声温度为 80 °C 时, DOP 得率最高, 为 34.63%±0.19%。这是因为, 超声温度的升高会加快分子运动, 从而提高了 DOP 得率。

2.2 正交实验结果分析

表 2 为正交实验结果。

表 2 DOP 正交实验结果					
Table 2 Orthogonal experiment results of DOP					
实验号	A 超声 时间/min	B 超声 次数/次	C 料液比/ (g : mL)	D 超声 温度/°C	DOP 得率/%
1	1	1	1	1	32.96±0.37
2	1	2	2	2	32.98±0.11
3	1	3	3	3	32.37±0.14
4	2	1	2	3	34.12±0.26
5	2	2	3	1	32.77±0.15
6	2	3	1	2	31.38±0.19
7	3	1	3	2	31.47±0.31
8	3	2	1	3	32.28±0.17
9	3	3	2	1	32.98±0.38
K_1	98.31	98.55	96.62	98.71	
K_2	98.27	98.03	100.08	95.83	
K_3	96.73	96.73	96.61	98.77	
k_1	32.77	32.85	32.21	32.90	
k_2	32.76	32.68	33.36	31.94	
k_3	32.24	32.24	32.20	32.92	
R	0.53	0.61	1.16	0.98	

从表 2 可以看出, 影响 DOP 得率的主次顺序依次为 C>D>B>A, 即: 料液比 (g : mL) > 超声温度 > 超声次数 > 超声时间。超声辅助提取 DOP 的单因素实验中最优提取工艺参数为 $A_2B_2C_2D_1$ 。由于正交实验设计中未出现 $A_2B_2C_2D_1$ 这一组别, 因此, 补充其实验条件进行平行实验。结果表明, DOP 得率为 34.73%±0.16%, 均高于正交实验设计的组合。因此, DOP 最优的提取工艺参数为: 超声时间为 60 min、超声次数 3 次、料液比 (g : mL) 1 : 30、超声温度 80 °C, 在此条件下的 DOP 得率为 34.73%±0.16%。

2.3 DOP 的抗氧化活性分析

2.3.1 •OH 清除能力分析

图 2a 为 DOP 的•OH 清除能力测试结果。

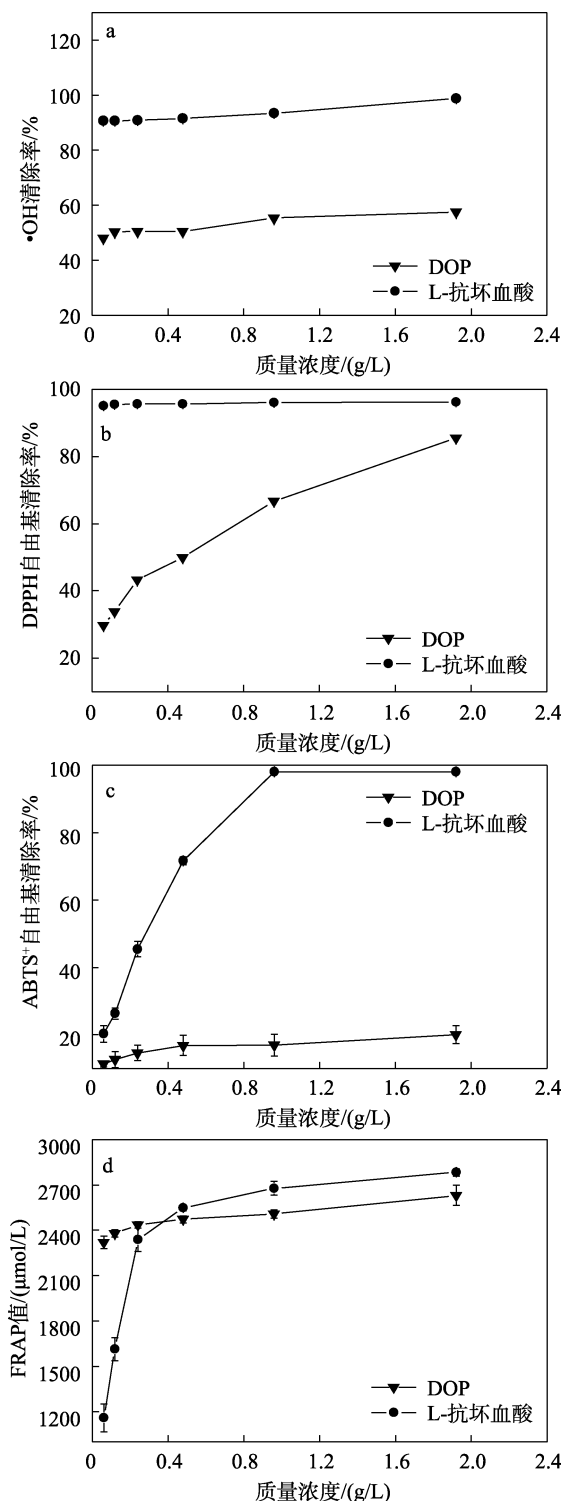
从图 2a 可以看出, 在测试的质量浓度范围内, L-抗坏血酸的•OH 清除率为 90.59%±0.05%~98.77%±0.05%, DOP 对•OH 的清除率从 48.02%±0.08%增至 57.33%±0.03%, 说明 DOP 对•OH 有一定的清除能力, 且随着质量浓度增加而增强。

2.3.2 DPPH 自由基清除能力

图 2b 为 DOP 的 DPPH 自由基清除能力测试结果。

从图 2b 可以看出, 在测试的质量浓度范围内, DOP 对 DPPH 自由基的清除率为 29.79%±0.08%~85.45%±0.06%, 逐渐接近 1.92 g/L 的 L-抗坏血酸溶液的 DPPH 自由基的清除率 (96.24%±0.04%)。不

同产地及不同提取工艺的差异对 DOP 抗氧化性能均有一定影响。刘根梅等^[14]酶解法提取的质量浓度为 3 g/L 的铁皮石斛提取物的 DPPH 自由基清除率为 74.39%, 王艳领等^[32]超声法提取的质量浓度为 2 g/L 的 DOP 的 DPPH 自由基清除率约为 60%。本文超声提取的 DOP 具备较强的 DPPH 自由基清除能力。



a—•OH 清除能力; b—DPPH 自由基清除能力; c—ABTS⁺ 自由基清除能力; d—铁离子还原能力

图 2 DOP 的抗氧化活性
Fig. 2 Antioxidant activity of DOP

2.3.3 ABTS⁺自由基清除能力

图 2c 为 DOP 的 ABTS⁺自由基清除能力测试结果。

从图 2c 可以看出, 在测试的质量浓度范围内, DOP 对 ABTS⁺自由基的清除率从 13.26%±0.71%增至 22.16%±1.24%, 明显低于阳性对照 L-抗坏血酸的 ABTS⁺自由基的清除率 (20.27%±2.42%~98.01%±0.28%)。这可能是因为, DOP 中的抗氧化物质与 ABTS⁺自由基的结合能力较弱。

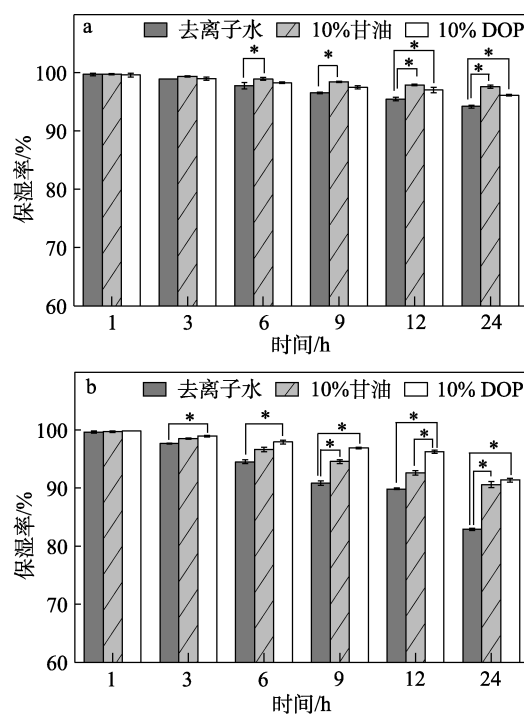
2.3.4 铁离子还原能力

图 2d 为 DOP 的铁离子还原能力测试结果。

从图 2d 可以看出, 在测试的质量浓度范围内, DOP 的 FRAP 值从(2319.77±40.78) μmol/L 增至 (2631.31±67.34) μmol/L, 逐渐接近质量浓度为 1.92 g/L 的 L-抗坏血酸溶液的 FRAP 值 [(2782.83±23.78) μmol/L], 表明 DOP 具有良好的铁离子还原能力。此外, 在质量浓度为 0.06~0.24 g/L, DOP 对铁离子的还原能力明显强于 L-抗坏血酸, 质量浓度为 0.06 g/L 的 DOP 的 FRAP 值为(2319.77±40.78) μmol/L, 远高于 L-抗坏血酸 [(1158.62±93.49) μmol/L], 说明在低质量浓度下, DOP 铁离子还原能力优于 L-抗坏血酸, 抗氧化优势显著。

2.4 DOP 的保湿活性分析

图 3 为 DOP 的保湿能力测试结果。



*表示显著差异 ($P < 0.05$) ; a—RH=85%; b—RH=43%

图 3 DOP 在不同 RH 环境中的保湿能力

Fig. 3 Moisturizing ability of DOP at different RH conditions

从图 3a 可以看出, 在 RH=85%时, 在 6 h 内,

质量分数 10% 的甘油溶液 (记为 10% 甘油) 的保湿能力显著高于去离子水 ($P < 0.05$) ; 在 12~24 h 时间内, 质量分数 10% 的 DOP 溶液 (记为 10% DOP) 的保湿能力显著高于去离子水 ($P < 0.05$) , 但不显著低于质量分数 10% 的甘油溶液 ($P > 0.05$) 。在 24 h 时, 质量分数 10% 的甘油保湿率为 $97.60\% \pm 0.26\%$, 质量分数 10% 的 DOP 保湿率为 $96.11\% \pm 0.17\%$ 。

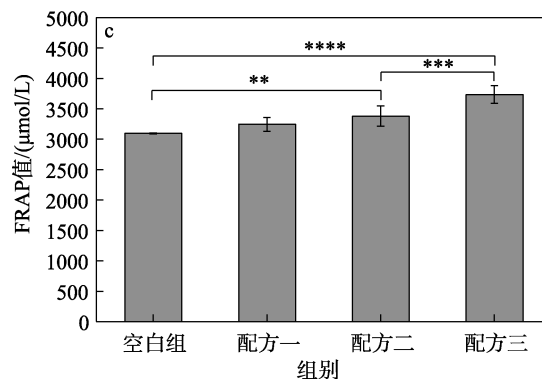
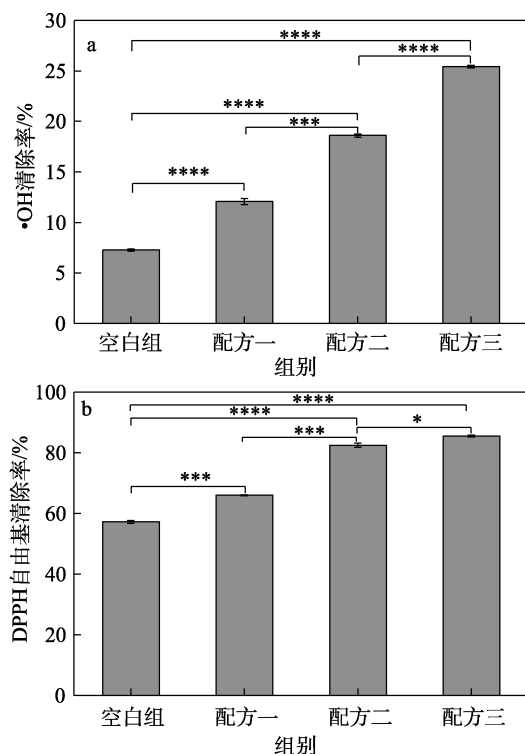
从图 3b 可以看出, 在 $RH=43\%$ 时, 在 3~24 h 内, 质量分数 10% 的 DOP 的保湿能力显著高于去离子水 ($P < 0.05$) , 且优于质量分数 10% 的甘油溶液。在 24 h 时, 质量分数 10% 的甘油保湿率为 $90.60\% \pm 0.53\%$, 质量分数 10% 的 DOP 保湿率为 $91.58\% \pm 0.31\%$ 。

综上所述, 在测定的 RH 环境下, 质量分数 10% 的 DOP 的保湿能力与质量分数 10% 的甘油相当, 且在相对干燥的环境 ($RH=43\%$) 下, 质量分数 10% 的 DOP 的保湿能力优于质量分数 10% 的甘油溶液, 表明 DOP 可作为化妆品保湿剂。

2.5 铁皮石斛美白霜的抗氧化活性分析

图 4 为铁皮石斛美白霜的抗氧化活性测试结果。

从图 4 可以看出, 加入 DOP 的配方一、配方二和配方三的 $\cdot OH$ 清除率、DPPH 自由基清除率、FRAP 值都显著高于空白组 ($P < 0.01$) 。其中, 配方三的 $\cdot OH$ 清除率为 $25.40\% \pm 0.13\%$, DPPH 自由基清除率为 $85.70\% \pm 0.30\%$, FRAP 值为 $(3735.14 \pm 148.38) \mu mol/L$, 极显著高于空白组 ($P < 0.0001$) 。随着 DOP 质量分数的增加, 铁皮石斛美白霜的抗氧化活性显著增加 ($P < 0.05$) , 两者具有正相关性。



表示差异显著 ($P < 0.01$) ; *表示差异非常显著 ($P < 0.001$) ; ****表示差异极显著 ($P < 0.0001$) ; a— $\cdot OH$ 清除能力; b—DPPH 自由基清除能力; c—铁离子还原能力

图 4 铁皮石斛美白霜的抗氧化活性

Fig. 4 Antioxidant activity of *Dendrobium officinale* whitening creams

2.6 铁皮石斛美白霜的保湿活性分析

图 5 为铁皮石斛美白霜的保湿活性测试结果。

从图 5 可以看出, 在 $RH=43\%$ 、0~24 h 的条件下, 随着时间的增加, 空白组的保湿率降幅较为明显。12 h 时, 配方二保湿率显著高于空白组 ($P < 0.05$) , 配方三的保湿率与空白组的差异更显著 ($P < 0.01$) ; 24 h 时, 配方三的保湿率为 $90.33\% \pm 1.34\%$, 显著高于空白组 ($P < 0.05$) 。

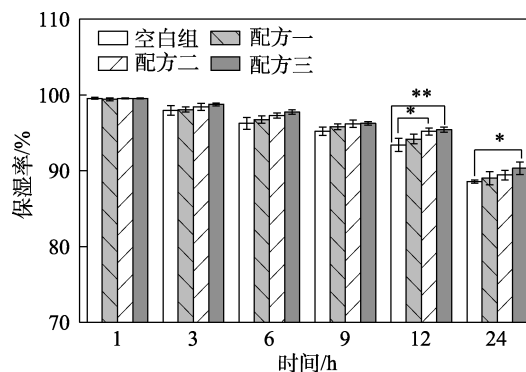


图 5 铁皮石斛美白霜的保湿活性

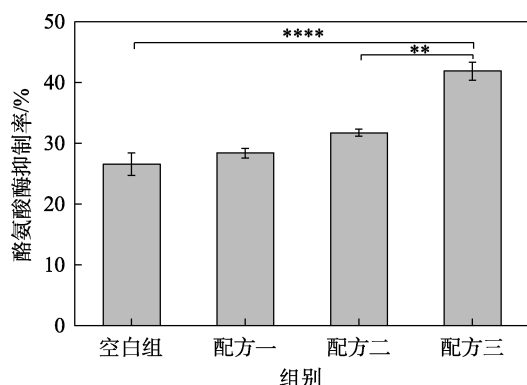
Fig. 5 Moisturizing activity of *Dendrobium officinale* whitening creams

2.7 铁皮石斛美白霜的美白活性分析

图 6 为铁皮石斛美白霜的美白活性测试结果。

从图 6 可以看出, 随着 DOP 质量分数的增加, 铁皮石斛美白霜的酪氨酸酶抑制率上升。与空白组相比, 配方一、配方二的酪氨酸酶抑制率不具有显著性差异 ($P > 0.05$) ; 配方三的酪氨酸酶抑制率为 $42.01\% \pm 2.73\%$, 极显著高于空白组 ($P < 0.0001$) , 且非常显著高于配方二 ($P < 0.01$) 。结果表明, 质量分数 1.5% 的 DOP 在铁皮石斛美白霜中具有较强的酪氨酸酶抑制活性, 展现出良好的美白活性, 这可能由于, DOP 与质量分数 2.6% 的烟酰胺复配后,

协同发挥了美白活性, 增强了美白效果。



表示差异非常显著 ($P < 0.01$) ; **表示差异极显著 ($P < 0.0001$)

图 6 铁皮石斛美白霜的美白活性

Fig. 6 Analysis of whitening activity of *Dendrobium officinale* whitening creams

3 结论

(1) 通过单因素和正交实验优化了 DOP 提取工艺, 得到最优提取条件为: 超声时间 60 min、料液比 (g : mL) 1 : 30、超声次数 3 次、超声温度 80 °C。在此条件下, DOP 得率为 $34.73\% \pm 0.16\%$ 。对 DOP 得率影响的因素高低顺序为: 料液比 (g : mL) > 超声温度 > 超声次数 > 超声时间。

(2) DOP 的抗氧化活性 (自由基清除能力和铁离子还原能力) 随着质量浓度的增加而增强。相较质量浓度 1.92 g/L 的 L-抗坏血酸溶液, 质量浓度 1.92 g/L 的 DOP 溶液的羟基自由基清除率为 $57.33\% \pm 0.03\%$, 低于 L-抗坏血酸的 $98.77\% \pm 0.05\%$; ABTS⁺ 自由基清除率为 $22.16\% \pm 1.24\%$, 远低于 L-抗坏血酸的 $98.01\% \pm 0.28\%$; DPPH 自由基的清除率为 $85.45\% \pm 0.06\%$, 接近 L-抗坏血酸的 $96.24\% \pm 0.04\%$; FRAP 值为 $(2631.31 \pm 67.34) \mu\text{mol/L}$, 接近 L-抗坏血酸的 $(2782.83 \pm 23.78) \mu\text{mol/L}$ 。

(3) 在相对湿度 85% 和 43% 条件下作用 24 h, DOP 均具有良好的保湿能力, 保湿率分别为 $96.11\% \pm 0.17\%$ 和 $91.58\% \pm 0.31\%$ 。

(4) DOP 质量分数 1.5% 的铁皮石斛美白霜具有良好的抗氧化活性, •OH 清除率为 $25.40\% \pm 0.13\%$ 、DPPH 自由基清除率为 $85.70\% \pm 0.30\%$ 、FRAP 值为 $(3735.14 \pm 148.38) \mu\text{mol/L}$; also 具有良好的保湿性, 在相对湿度 43% 的环境中, 24 h 保湿率为 $90.33\% \pm 1.34\%$; 还具有一定的美白活性, 酪氨酸酶抑制率为 $42.01\% \pm 2.73\%$ 。

本文通过超声辅助提取的 DOP 可以作为化妆品保湿基质, 与烟酰胺复配制备具有抗氧化、保湿、美白效果的铁皮石斛美白霜。后续将对 DOP 的结构组成进行细致分析, 促进其在各领域的进一步开发应用。

参考文献:

- [1] LIU H (刘慧), YANG S J (杨思佳), REN H K (任晗堃), *et al.* Research progress of extraction and isolation of natural plant polysaccharides and their applications in skin care[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业), 2024, 54(6): 708-717.
- [2] YAO C (杳晨), HE S (贺森), CAO G H (曹冠华), *et al.* Advances in research of *Dendrobium candidum* polysaccharides[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy (中国民族民间医药), 2015, 24(15): 6-7.
- [3] HU Y (胡杨), ZHAO M (赵勉), QIU Y X (邱雨轩), *et al.* Research progress on *Dendrobium officinale* as medicinal and edible traditional Chinese medicine[J]. Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (南京中医药大学学报), 2024, 40(1): 94-108.
- [4] GUO L H, QI J X, DU D, *et al.* Current advances of *Dendrobium officinale* polysaccharides in dermatology: A literature review[J]. Pharmaceutical Biology, 2020, 58(1): 664-673.
- [5] KANLAYAVATANAKUL M, PAWAKONGBUN P, LOURITH N. *Dendrobium orchid* polysaccharide extract: Preparation, characterization and *in vivo* skin hydrating efficacy[J]. Chinese Herbal Medicines, 2019, 11: 400-405.
- [6] WANG X L, ZHOU X, WANG K, *et al.* Structural characterisation and bioactivity of polysaccharides isolated from fermented *Dendrobium candidum*[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2022, 102(1): 280-290.
- [7] HUANG Y P, HE T B, CUAN X D, *et al.* 1,4- β -D-glucan from *Dendrobium candidum* activates NF- κ B via TLR4 to regulate the immune response[J]. Molecules, 2018, 23(10): 2658.
- [8] WEI W, LI Z P, ZHU T, *et al.* Anti-fatigue effects of the unique polysaccharide marker of *Dendrobium officinale* on BALB/c mice[J]. Molecules, 2017, 22(1): 155.
- [9] YAN J (严静), CAI Y X (蔡易熹), CHEN Y L (陈燕兰), *et al.* Research progress in active components and comprehensive utilization of stems, leaves and flowers of *Dendrobium officinale*[J]. Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业), 2021, 47(17): 299-306.
- [10] LI Q (李青), XIE C C (谢翠翠), LI X (李翔), *et al.* Chemical compositions of *Dendrobium candidum* and their development of applications in cosmetics[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业), 2017, 47(2): 109-113.
- [11] ZENG Y (曾瑶). Research on the excavation of different chemical compositions of wild-simulated *Dendrobium officinale* indifferent environments[D]. Zunyi: Zunyi Medical University (遵义医科大学), 2020.
- [12] LUO A, FAN Y. *In vitro* antioxidant of a water-soluble polysaccharide from *Dendrobium fimbriatum* Hook. var. *oculatum* Hook[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(6): 4068-4079.
- [13] SHI M Z, SHI Y, JIN H F, *et al.* An efficient mixed enzymes-assisted mechanical bio-extraction of polysaccharides from *Dendrobium officinale* and determination of monosaccharides by HPLC-Q-TOF/MS[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 227: 986-1000.
- [14] LIU G M (刘根梅), GU C T (古翠婷), MAI H Q (麦汉铨), *et al.* Process optimization and antioxidant activity study of polysaccharide from *Dendrobium officinale* by ultrasonic and enzymy-assisted extraction[J]. The Food Industry (食品工业), 2024, 45(4): 108-113.
- [15] CHEN S Y (陈盛余), ZHAO D D (赵丹丹), XIE Y (谢瑜), *et al.* Study on the technology of extracting polysaccharides from dried stems of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo by microwave method[J]. Food Research and Development (食品研究与开发), 2017, 38(6): 49-52.
- [16] TAO Z M (陶正明), JIANG W (姜武), BAO X Q (包晓青), *et al.* Chemical constituents isolation of *Dendrobium officinale* based on supercritical fluid extraction and simulated moving bed[J]. Chinese Pharmaceutical Journal (中国药学杂志), 2016, 51(24): 2155-2162.
- [17] CHEN H, SHI X Q, ZHANG L, *et al.* Ultrasonic extraction process of polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl.: Optimization, physicochemical properties and anti-inflammatory activity[J]. Foods, 2022, 11(19): 2957.
- [18] NIU Z T, ZHU F, FAN Y J, *et al.* The chromosome-level reference genome assembly for *Dendrobium officinale* and its utility of functional genomics research and molecular breeding study[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2021, 11(7): 2080-2092.

- [19] CHU W H, WANG P, MA Z, *et al.* Ultrasonic treatment of *Dendrobium officinale* polysaccharide enhances antioxidant and anti-inflammatory activity in a mouse D-galactose-induced aging model[J]. Food Science & Nutrition, 2022, 10(8): 2620-2630.
- [20] HUI A L, XU W Q, WANG J H, *et al.* A comparative study of pectic polysaccharides from fresh and dried *Dendrobium officinale* based on their structural properties and hepatoprotection in alcoholic liver damaged mice[J]. Food & Function, 2023, 14(9): 4267-4279.
- [21] LAI H C, HUO Y C, XU J, *et al.* Critical review on the research of chemical structure, bioactivities, and mechanism of actions of *Dendrobium officinale* polysaccharide[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 263(P1): 130315.
- [22] JIANG Y J (江英杰), LI M H (李明昊), LUO K P (罗开沛), *et al.* Pharmacological effects and modern application progress of *Dendrobium* polysaccharides[J]. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica (中药与临床), 2024, 15(1): 97-102.
- [23] GUO L H, QI J X, DU D, *et al.* Current advances of *Dendrobium officinale* polysaccharides in dermatology: A literature review[J]. Pharmaceutical Biology, 2020, 58(1): 664-673.
- [24] QI H (戚辉). The study of build quality standard of *Dendrobium candidum* and research and development the related product[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学), 2013.
- [25] LU Y (芦叶), LI L (李丽), LIU S X (刘舒欣), *et al.* Extraction and activity analysis of active components from *Cordyceps militaris*[J]. Edible Fungi (食用菌), 2024, 46(1): 71-76, 84.
- [26] SKROZA D, MEKINIĆ G I, SVILOVIĆ S, *et al.* Investigation of the potential synergistic effect of resveratrol with other phenolic compounds: A case of binary phenolic mixtures[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2015, 38: 13-18.
- [27] LESSARD J J, KAUR P, PAUL J E, *et al.* Switching frontal polymerization mechanisms: FROMP and FRaP[J]. ACS Macro Letters, 2022, 11(9): 1097-1101.
- [28] YANG P L (杨沛丽), GUO L M (郭丽梅). Preparation and properties of skin care products of fenugreek[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2018, 35(6): 1009-1014.
- [29] Shanghai Daily Chemistry Trade Association. Cosmetics-experimental method for inhibition of tyrosinase activity: T/SHRH 015—2018[S]. Shanghai: Shanghai Daily Chemistry Trade Association (上海日用化学品行业协会), 2018.
- [30] HUANG D T (黄冬婷), HUANG J S (黄俊生), TANG J J (汤静洁), *et al.* Ultrasonic-assisted ionic liquid extraction of ginseng polysaccharide and its antioxidant activity[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2022, 39(9): 1851-1857, 1871.
- [31] ZHU X Q (朱雪琼). Study on the extraction, separation and functional activity of the *Auricularia auricular* polysaccharide[D]. Nanning: Guangxi University (广西大学), 2014.
- [32] WANG Y L (王艳领), YU L (余磊), TIAN C M (田春梅). Extraction of polysaccharides and peptides from *Dendrobium officinale* by *Bacillus* fermentation method and analysis of their antioxidant activity[J]. Journal of Food Safety & Quality (食品安全质量检测学报), 2024, 15(2): 218-226.

(上接第 2222 页)

参考文献:

- [1] WANG H Y (王海洋), MA B Z (马秉智), LIANG Y Y (梁莹莹), *et al.* Research progress on traditional Chinese medicine sunscreen[J]. Journal of China-Japan Friendship Hospital (中日友好医院学报), 2018, 32(6): 360-362.
- [2] SUN Q Q (孙启泉), ZUO A X (左爱侠), ZHANG T T (张婷婷). Advances in studies on chemical constituents in plants of *Cimicifuga* L. and their bioactivities and clinical application[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs (中草药), 2017, 48(14): 3005-3016.
- [3] MA W Y (马文宇), CHEN X Y (陈晓昱), WU D T (吴邓婷). Effects of aqueous extract of *Hippophae rhamnoides* L. on apoptosis and mitochondrial membrane potential of HaCaT cells induced by UVC[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy (中华中医药杂志), 2017, 32(12): 5633-5636.
- [4] ZHANG L H (张丽宏), FU Y (傅云), LIAO J (廖建), *et al.* Effect of Baicalein on ultraviolet B-induced apoptosis and expression of related cytokines of human keratinocytes[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae (中国实验方剂学杂志), 2018, 24(9): 145-149.
- [5] GAO Y (高樱), NIU S J (牛水蛟), YU H Y (于海英), *et al.* Research on the quality evaluation system of antibacterial activity of *Flos Lonicerae* extract based on chromatogram-effect correlation[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis (药物分析杂志), 2024, 44(6): 1031-1039.
- [6] WANG G Q (王改琴), WU B C (邬本成), WANG Y X (王宇霄), *et al.* Study on the antibacterial effect of different plant essential oils *in vitro*[J]. Animal Science Abroad (Pigs and Poultry) (国外畜牧学-猪与禽), 2014, 34(4): 50-52.
- [7] LUO P (罗鹏), XIONG H T (熊海涛), YANG X C (杨晓晨), *et al.* Preliminary exploration of *in vitro* antibacterial activity and alternative resistance of plant essential oils[J]. Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine (广西畜牧兽医), 2024, 40(4): 143-145.
- [8] XIAO J H (肖佳欢), DONG W (董伟), HUANG X Y (黄小英), *et al.* Research progress in anti-inflammatory effect of plant volatile oil[J]. Chinese Journal of New Drugs (中国新药杂志), 2023, 32(14): 1446-1451.
- [9] WEN P F (温朋飞), PENG Y (彭艳). Research advances on antioxidant mechanism of plant essential oil[J]. Feed Industry (饲料工业), 2017, 38(2): 40-45.
- [10] YU J H (于金环), ZHAO G (赵刚). Research progress on the radiation protection effect of plant extracts[J]. Jilin Medical Journal (吉林医学), 2010, 31(23): 3982-3984.
- [11] LI M Y (李孟艳), TIAN S (田硕), MIAO M S (苗明三). Protective effect of Yinhuangshen essential oil on skin damage in mice with solar dermatitis[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae (中国实验方剂学杂志), 2019, 25(4): 13-17.
- [12] XU M (徐敏). The effect of seabuckthorn flavonoids against ultraviolet injury[J]. Chongqing Medical Journal (重庆医学), 2015, 44(33): 4618-4620.
- [13] ZHANG Q (张茜), BU D Y (卜德懿), TIAN Y X (田永鑫), *et al.* Optimization of method for determination of hydroxyproline in enzymatic hydrolysate of collagen fibers[J]. Leather Science and Engineering (皮革科学与工程), 2019, 29(3): 25-30.
- [14] LIN X F (林向飞), LUO D (骆丹), XU J (徐晶), *et al.* Effect of ligustrazine on photo products and its photo-protective mechanisms after UVB irradiation[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs (中草药), 2007(6): 878-882.
- [15] LIU C J (刘春菊), NIU L Y (牛丽影), YU M (郁萌), *et al.* Study on antioxidant and antibacterial activities of essential oils from *Citrus medica*[J]. Science and Technology of Food Industry (食品工业科技), 2016, 37(24): 132-137.
- [16] DAHMAN S S, TABANA Y M, IQBAL M A, *et al.* The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*[J]. Molecules, 2015, 20(7): 11808-11829.
- [17] VIMALADEVI K, SELLADURAI M, POONKODI K, *et al.* Chemical composition of essential oil of *Cananga odorata* (Lam.) Hook. F. & Thomson leaves and its biological activities[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2021, 24(3): 596-602.
- [18] MA Y P (马永鹏), ZHANG H X (张红霞), DU Z Z (杜芝芝). Application of essential oils from aromatic plants of Yunnan plateau in cosmetics[J]. Natural Product Research and Development (天然产物研究与开发), 2018, 30(1): 146-154.
- [19] ZHAO F Q (赵粉琴), ZHAO Y (赵艳), LIU J Y (刘洁颖), *et al.* Effects of *Zuogui* pill on ovarian apoptosis and p53 protein expression in rats damaged by 6.0Gy γ radiation[J]. Global Traditional Chinese Medicine (环球中医药), 2022, 15(3): 378-383.
- [20] JURÍKOVÁ M, DANIHEL L, POLÁK S, *et al.* Ki67, PCNA, and MCM proteins: Markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer[J]. Acta Histochem, 2016, 118(5): 544-552.