

5 种中药浸膏体外美白活性及 体内应用效果比较

敖一村, 陈晋雨, 周磊, 胡俊杰, 郑国华, 孟燕*

(湖北中医药大学 药学院, 湖北 武汉 430065)

摘要: 为探究甘草、茯苓、红景天、黄芩、白术 5 种传统中药材提取物的抗氧化及美白活性, 寻找具有应用于化妆品潜力的天然活性物质, 以体积分数 70% 的乙醇水溶液为溶剂, 将 5 种中草药进行了闪氏提取、除杂、浓缩, 制得了相应浸膏; 以 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基、 $\cdot\text{OH}$ 、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐阳离子 (ABTS^+) 自由基清除率和酪氨酸酶活性抑制率为评价指标, 考察了 5 种中药浸膏的体外抗氧化及美白活性; 通过 UV 照射豚鼠构建皮肤老化模型, 涂抹上述 5 种中药浸膏, 考察了其皮肤亮度后取皮并切片、染色, 观察其黑色素量及皮肤组织状态。结果表明, 5 种中药浸膏中, 红景天对 $\cdot\text{OH}$ 、DPPH 自由基和 ABTS^+ 自由基的半抑制质量浓度 (IC_{50}) 分别为 0.4655、0.004 和 2.077 g/L, 接近阳性对照品 V_C ; 对酪氨酸酶的 IC_{50} 为 0.097 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 展现出最优的抗氧化活性及酪氨酸酶抑制能力。甘草浸膏给药后皮肤亮度 (L 值) 为 43.39 ± 6.60 ; 红景天、甘草、黄芩浸膏均有明显的皮肤修复功效, 甘草组皮肤内黑色素沉积量最少。其中, 红景天浸膏体外具有很强的应用潜力, 而甘草浸膏实际应用效果更好。

关键词: 中草药; 美白; 抗氧化; 酪氨酸酶抑制; 皮肤修复

中图分类号: TQ658 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2025) 11-2464-09

The *in vivo* whitening bioactivities of 5 kinds of Chinese herbal medicine extracts

AO Yicun, CHEN Jinyu, ZHOU Lei, HU Junjie, ZHENG Guohua, MENG Yan*

(School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei, China)

Abstract: In order to explore the antioxidant and whitening activities of five traditional Chinese medicine extracts, including *Licorice*, *Poria cocos*, *Rhodiola rosea*, *Scutellaria baicalensis* and *Baizhu*, and to search for natural active substances with application potential in cosmetics, 5 kinds of Chinese herbal medicine were extracted, purified and concentrated with volume fraction 70% ethanol aqueous solution as solvent. The *in vitro* antioxidant and whitening activities of the 5 kinds of Chinese herbal medicine extract were investigated using the scavenging rates of 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) free radical, $\cdot\text{OH}$, 2,2-diazo-bis(3-ethyl-benzothiazole-6-sulfonic acid) diammonium cation (ABTS^+) free radicals and the inhibition rate of tyrosinase as evaluation indexes, while their *in vivo* activities were evaluated using the guinea pig skin aging model established by UV irradiation with the skin brightness observed and then the skin sliced and stained for analysis on the amount of melanin and the state of skin tissue. The results showed that the semi-inhibitory mass concentration (IC_{50}) of *Rhodiola Rosea* against $\cdot\text{OH}$, DPPH and ABTS^+ free radicals were 0.4655, 0.004 and 2.077 g/L, respectively, which was close to the positive control product V_C . The IC_{50} of tyrosinase was 0.097 $\mu\text{g}/\text{mL}$, demonstrating the best antioxidant activity and tyrosinase inhibition ability. The skin brightness (L value) after administration of *Licorice* extract was 43.39 ± 6.60 . The extract of *Rhodiola*

收稿日期: 2024-11-13; 定用日期: 2024-12-13; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240857

基金项目: 湖北省重大科技专项项目 (2024BCA002); 湖北省中医药管理局中药青年项目 (ZY2023Q038); 湖北省科技重大专项项目 (2021ACA004)

作者简介: 敖一村 (2001—), 男, 硕士生, E-mail: 1297174995@qq.com. 联系人: 孟燕 (1991—), 女, 博士, 副教授, E-mail: yanmeng2016@126.com。

rosea, *Licorice* and *Scutellaria scutellaria* showed obvious skin repairing effect, with the amount of melanin deposition in the skin of *Licorice* group the least. *Rhodiola* extract displayed strong application potential *in vitro*, while *Licorice* extract exhibited better practical application effect.

Key words: Chinese herbal medicine; skin whitening; anti-oxidation; tyrosinase inhibition; skin repair

近年来, 中药大健康产品得到消费者的认可, 而中药来源的化妆品因其来源天然、性质温和及副作用小也受到消费者的青睐^[1]。明代《医学入门》记载的美白汤剂“三白汤”, 是由白芍、白术、白茯苓、甘草组成, 水煎, 温服, 此方配伍简洁精当, 适于气血虚寒导致的皮肤粗糙、萎黄、黄褐斑、色素沉着等^[2]。中药黄芩也是中医治疗皮肤病时常用的药物, 药用历史悠久, 在《神农本草经》中也有记载^[3], 由于其能“泄肺火而解肌热”, 因此, 可用于治疗颜面及肌肤疮癣疹, 如痤疮、酒渣鼻、银屑病、黑斑和皮炎等^[4]。目前, 对中药美白作用的研究多且深入, 文献报道的具有抗氧化、酪氨酸酶抑制活性的中药有人参^[5]、甘草^[6]、红景天^[7]、黄芩^[8]、当归^[9]、茯苓^[10]等。古籍和现代科学研究虽已阐明上述中药具有良好的美白护肤效果, 但美白护肤活性以及市场价值缺乏直观比较。

酪氨酸酶是合成黑色素的关键酶, 降低酪氨酸酶活性可有效抑制黑色素的生成, 是美白的主要途径之一^[11]。氧化应激是皮肤老化和疾病的重要原因之一, 自由基积累也会破坏皮肤细胞的正常功能, 干扰黑色素正常分解, 使其沉积。因此, 酪氨酸酶和自由基的抑制率是评价美白活性的关键指标^[12]。

本文拟选取古方中用于护肤美白的 5 种中药, 分别以红景天、甘草、黄芩、白术和茯苓为研究材料, 质量分数 70% 的乙醇水溶液为溶剂, 经闪氏提取、除杂、浓缩工艺, 制得相应的中药浸膏。通过体外实验, 横向对比 5 种中药浸膏对酪氨酸酶、羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐阳离子 (ABTS^+) 自由基的清除能力; 通过体内实验, 横向对比中药浸膏对豚鼠皮肤的美白效果和黑色素沉积量, 以期为天然活性物质在化妆品领域的应用提供参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甘草 (产地内蒙古), 安国市信隆药业有限公司; 红景天 (产地西藏), 湖北强康中药饮片有限公司; 黄芩 (产地山西)、白术 (产地安徽), 湖北楚欣药业有限公司、茯苓 (产地湖北), 湖北辰美中药有限公司; 豚鼠, 丹阳市昌益实验动物养殖有限公司。

曲酸 (质量分数 99%)、水杨酸 (质量分数 \geq

99.5%)、 H_2O_2 (质量分数 30%)、氢氧化钠 (AR)、DPPH (质量分数 \geq 98%)、 FeSO_4 (AR)、过硫酸钾 (质量分数 \geq 99.5%)、维生素 C (V_C) (AR), 均为国药集团化学试剂有限公司; 磷酸盐缓冲溶液 (PBS, 浓度为 0.01 mol/L, pH=7.4), 上海源叶生物科技有限公司; 脱毛膏, 荆州利洁时家化有限公司; L-多巴, 上海颖心实验室设备有限公司; 蘑菇酪氨酸酶、 ABTS^+ , 上海阿拉丁试剂有限公司。

Synnergy H1 型酶标仪, 美国 Biotek 公司; UV-2550 型紫外-可见分光光度计, 日本岛津制作所; JHBE-60T 型闪式提取器, 上海帆帆精密设备有限公司; 切片由武汉市皮诺飞生物科技有限公司承担; DP73 型数码正置荧光显微镜, 日本奥林巴斯公司; DFT-100A 型打粉机, 温岭市林大机械有限公司; DS-200 型分光测色仪, 深圳三恩时科技有限公司。

1.2 浸膏的制备

将甘草、茯苓、红景天、黄芩和白术药材粉碎, 称取 50 g, 各加入 500 mL 体积分数为 70% 的乙醇水溶液, 利用闪式提取器提取 8 min, 重复 3 次, 使活性物质充分地溶解, 过滤, 合并滤液, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后, 置于 65 $^\circ\text{C}$ 水浴中, 挥干溶剂, 得到 5 种中药浸膏^[13]。

1.3 体外活性抑制和抗氧化实验

1.3.1 酪氨酸酶活性抑制实验

将 5 种浸膏用 PBS 溶液 (pH 为 7.2~7.4) 溶解后稀释成不同质量浓度梯度的样液, 以曲酸为阳性对照品。按表 1 加入各试剂, 具体操作为: 在 96 孔板中加入 PBS 溶液 (pH=6.86), 以样液为底物, 用移液枪准确移取 125 U 酪氨酸酶, 混匀后放入 37 $^\circ\text{C}$ 恒温水浴锅中预热 10 min, 再加入质量浓度为 0.5 g/L 的 L-多巴, 混匀后继续恒温反应 10 min 后, 用酶标仪测定 n1~n4 溶液在 475 nm 处的吸光度, 分别记为 A_{n1} ~ A_{n4} , 实验重复 3 次。

表 1 酪氨酸酶活性抑制实验加样表
Table 1 Sample addition table for tyrosinase activity inhibition experiment

| 试剂 | 反应液体积/ μL | | | |
|--------|----------------------|-----|-----|-----|
| | n1 | n2 | n3 | n4 |
| L-多巴 | — | 50 | — | 50 |
| PBS 溶液 | 150 | 100 | 100 | 50 |
| 样液 | — | — | 50 | 50 |
| 酪氨酸酶 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 总计 | 200 | 200 | 200 | 200 |

注: “—”表示不加样, 下同。

按式 (1) 计算样液对酪氨酸酶活性的抑制率^[14]:

$$\text{抑制率}/\%=[1-(A_{n4}-A_{n3})/(A_{n2}-A_{n1})]\times 100 \quad (1)$$

1.3.2 •OH 清除能力测试

将 5 种浸膏用质量分数 70% 的乙醇水溶液溶解后稀释成不同质量浓度梯度的样液, 以 V_C 为阳性对照。

按表 2 加入各试剂, 具体操作为: 以样液为底物, 在 96 孔板中分别加入 50 μL 浓度为 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 溶液、50 μL 质量浓度为 1.37 g/L 的 FeSO_4 (pH 调至 4), 混匀后, 于 37 $^\circ\text{C}$ 恒温水浴锅中预热 10 min, 再加入质量浓度为 1.24 g/L 的水杨酸-乙醇溶液, 混匀后继续恒温反应 20 min, 用酶标仪测定 ml 溶液在 510 nm 处的吸光度, 记为 A_{m1} ; 以蒸馏水 50 μL 替代水杨酸-乙醇溶液测定其吸光度, 记为 A_{m2} ; 用质量分数 70% 的乙醇水溶液 50 μL 替代样液, 并测定其吸光度, 记为 A_{m3} , 重复实验 3 次。按式 (2) 计算中药浸膏对 •OH 的清除率^[15]:

$$\text{•OH 清除率}/\%=[1-(A_{m1}-A_{m2})/A_{m3}]\times 100 \quad (2)$$

表 2 •OH 清除实验加样表

Table 2 Sample addition table for •OH removal experiment

| 试剂 | 反应液体积/ μL | | |
|------------------------|----------------------|-----|-----|
| | m1 | m2 | m3 |
| FeSO_4 | 50 | 50 | 50 |
| H_2O_2 | 50 | 50 | 50 |
| 水杨酸-乙醇 | 50 | — | 50 |
| 蒸馏水 | — | 50 | — |
| 样液 | 50 | 50 | — |
| 质量分数 70% 的乙醇水溶液 | — | — | 50 |
| 总体积 | 200 | 200 | 200 |

1.3.3 DPPH 自由基清除能力测试

将 5 种浸膏用质量分数 70% 的乙醇水溶液溶解后稀释成不同质量浓度梯度的样液, 以 V_C 为阳性对照。按表 3 加入各试剂, 具体操作为: 取 200 μL 样液与 200 μL 浓度为 0.200 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液, 充分摇匀后, 在 25 $^\circ\text{C}$ 下避光反应 30 min, 用酶标仪测定 j1 溶液在 517 nm 处的吸光度, 记为 A_{j1} ; 将 200 μL 样液与等量无水乙醇摇匀后, 在上述同样操作下测得溶液的吸光度, 记为 A_{j2} ; 将 200 μL DPPH 乙醇溶液与等体积的质量分数 70% 的乙醇水溶液摇匀后, 在上述同样操作下测得溶液的吸光度, 记为 A_{j3} , 重复实验 3 次。按式 (3) 计算样品对 DPPH 自由基的清除率^[16]:

$$\text{DPPH 自由基清除率}/\%=[1-(A_{j1}-A_{j2})/A_{j3}]\times 100 \quad (3)$$

1.3.4 ABTS⁺ 自由基清除能力测试

按表 4, 首先, 将 5 mL 浓度为 7 mmol/L 的 ABTS⁺ 溶液与 5 mL 浓度为 2.45 mmol/L 的过硫酸钾

溶液混合均匀后, 于室温避光放置 20 h, 用质量分数为 70% 的乙醇水溶液将其稀释成在 734 nm 处吸光度为 0.70 ± 0.02 (酶标仪测定) 的工作液, 备用。

表 3 DPPH 自由基清除实验加样表

Table 3 DPPH free radical clearance test addition table

| 试剂 | 反应液体积/ μL | | |
|-----------------|----------------------|-----|-----|
| | j1 | j2 | j3 |
| DPPH 乙醇 | 200 | — | 200 |
| 无水乙醇 | — | 200 | — |
| 样液 | 200 | 200 | — |
| 质量分数 70% 的乙醇水溶液 | — | — | 200 |
| 总体积 | 400 | 400 | 400 |

然后, 将 5 种中药浸膏用质量分数为 70% 的乙醇水溶液稀释成不同质量浓度梯度的样液。最后, 将 20 μL 样液和 180 μL ABTS⁺ 工作液在 96 孔板中混合均匀后, 避光反应 6 min, 用酶标仪测定溶液在 734 nm 处的吸光度, 记为 A_{x1} ; 用等量质量分数 70% 的乙醇水溶液代替 ABTS⁺ 工作液测定吸光度, 记为 A_{x2} ; 用等量样液溶剂与 ABTS⁺ 工作液混匀后, 作为空白对照样, 测定其在 734 nm 处吸光度, 记为 A_{x3} , 重复实验 3 次。按公式 (4) 计算 ABTS⁺ 自由基清除率^[15]:

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率}/\%=[1-(A_{x1}-A_{x2})/A_{x3}]\times 100 \quad (4)$$

表 4 ABTS⁺ 自由基清除实验加样表

Table 4 ABTS⁺ free radical clearance test addition table

| 试剂 | 反应液体积/ μL | | |
|-----------------------|----------------------|-----|-----|
| | x1 | x2 | x3 |
| ABTS ⁺ 工作液 | 180 | — | 180 |
| 质量分数 70% 的乙醇水溶液 | — | 180 | 20 |
| 样液 | 20 | 20 | — |
| 总体积 | 200 | 200 | 200 |

1.4 体内美白实验

1.4.1 豚鼠紫外造模

动物实验依照《实验动物护理和使用指南》第 8 版中的规定执行, 并经湖北中医药大学实验动物中心批准。挑选体重 250~300 g 的雄性豚鼠 9 只, 适应性饲养 3 周后, 脱毛, 3 只不做处理, 6 只使用波长 308 nm 的紫外光对裸露背部皮肤进行照射, 每次照射能量为 500 mJ/cm^2 , 灯管距离背部 10 cm, 频率为每周 1 次, 共 3 次, 总照射能量为 1500 mJ/cm^2 ^[17]。

1.4.2 造模区域分组及给药设计

将造模后的豚鼠, 选取背部色素沉着均匀的豚鼠 3 只, 将背部区域划分为 A、B、C、D、E、F 区, A 区为模型组, 仅紫外光照射, 不做其他处理; B

区为阳性对照组, 涂阳性药物熊果苷; C 区为空白对照组, 涂浸膏溶剂 (丙二醇、无水乙醇、水体积比为 5 : 3 : 2); D、E、F 区为实验组, 分别涂抹用上述溶剂溶解的 100 g/L 的红景天浸膏、甘草浸膏和黄芩浸膏溶液。

各组小鼠每隔 2 d 在上药前剃除毛发, 每天早晚九点给药, 分别于照射前和用药后 1、2、3 周用色差仪检测皮肤亮度 (L 值)。

3 周后取各组豚鼠背部裸露皮肤区的皮肤组织, 固定于质量分数为 4% 的多聚甲醛溶液中, 通过脱水、包埋、切片处理后, 进行 H & E、Masson 和 FM 染色并用光学显微镜观察其外观^[18]。

1.5 数据处理

所有实验至少重复 3 次, 采用 Origin 和 GraphPad Prism 8 软件进行统计分析和作图, 数据采用“平均值±标准差”表示, 通过双侧 t 检验确定实验组之间的统计学意义。 $p < 0.05$ 代表数据具有统计学意义。所有图像的亮度和对比度都进行相同的调整, 以提高可视性。

2 结果与讨论

2.1 浸膏产率

5 种中药浸膏的产率如表 5 所示。可以看出, 黄芩浸膏产率最高, 为 36.11%, 甘草和红景天浸膏产率次之, 分别为 34.24% 和 26.28%, 此 3 种中药浸膏产率较高, 茯苓浸膏产率最低, 仅为 8.64%。

表 5 5 种中药浸膏的产率

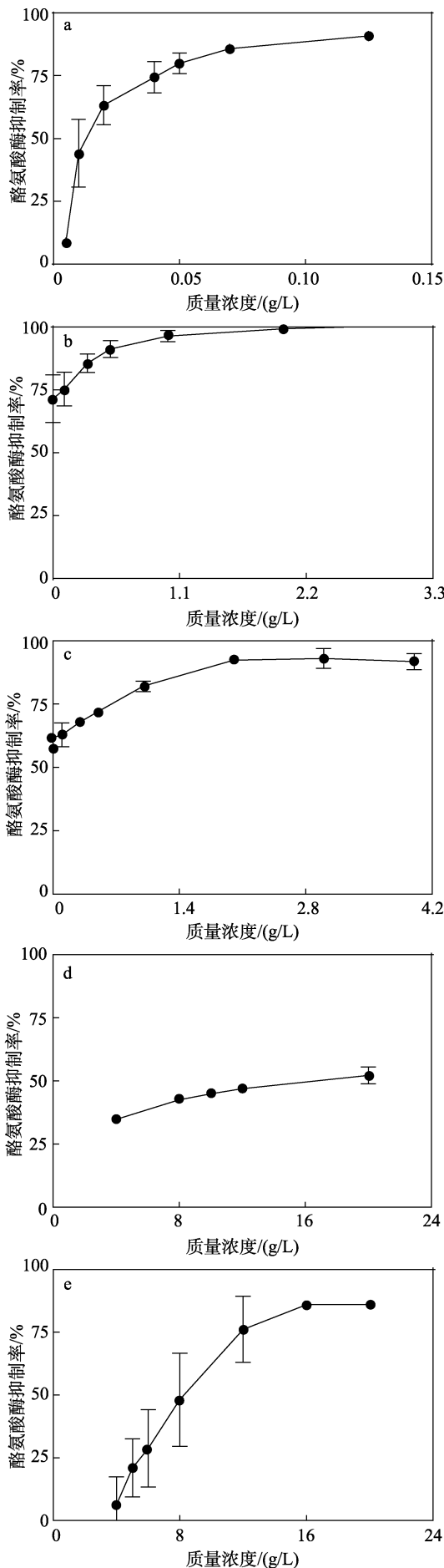
Table 5 Yield of 5 kinds of Chinese herbal extracts

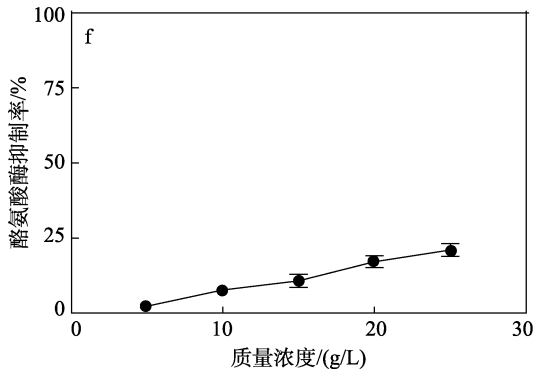
| | 红景天 | 甘草 | 白术 | 黄芩 | 茯苓 |
|--------|-------|-------|-------|-------|------|
| 浸膏产量/g | 13.14 | 17.12 | 10.16 | 18.06 | 4.32 |
| 产率/% | 26.28 | 34.24 | 20.31 | 36.11 | 8.64 |

2.2 酪氨酸酶抑制率比较

5 种中药浸膏对酪氨酸酶的抑制率如图 1 所示。可以看出, 5 种中药浸膏对酪氨酸酶都有一定的抑制能力。其中, 红景天、甘草和黄芩浸膏在最佳质量浓度下对酪氨酸酶的抑制率都高于 80%, 但白术和茯苓浸膏在标定的最大质量浓度 20 和 25 g/L 下对酪氨酸酶的抑制率仍无法达到 60%, 因此, 红景天、甘草和黄芩浸膏对酪氨酸酶的抑制效果较好。

此外, 对比 3 种中药浸膏达到最大抑制率时的质量浓度发现, 红景天浸膏质量浓度最低, 为 1 g/L; 甘草浸膏次之, 为 2 g/L; 黄芩浸膏为 20 g/L, 远大于前两者。因此, 红景天和甘草浸膏对酪氨酸酶抑制效果好。





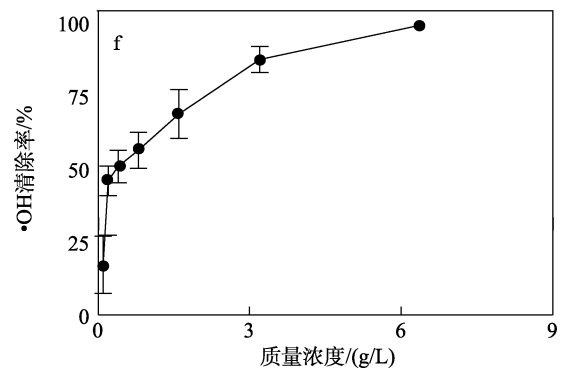
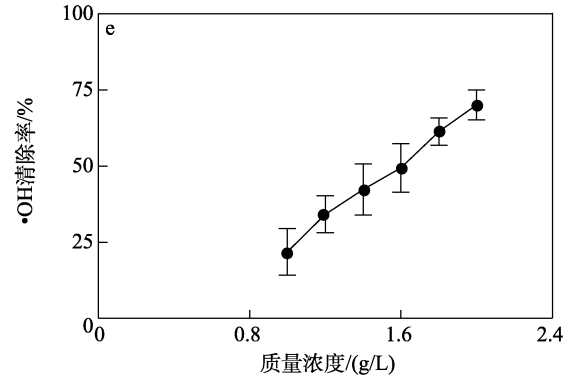
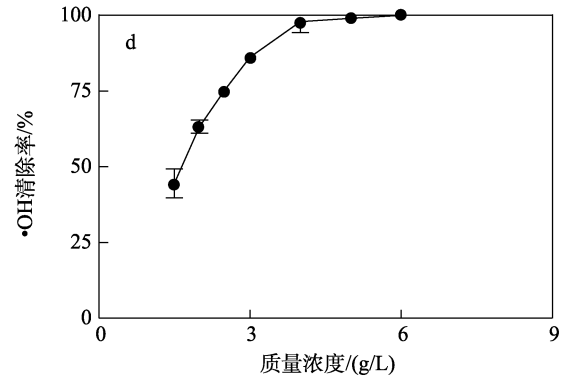
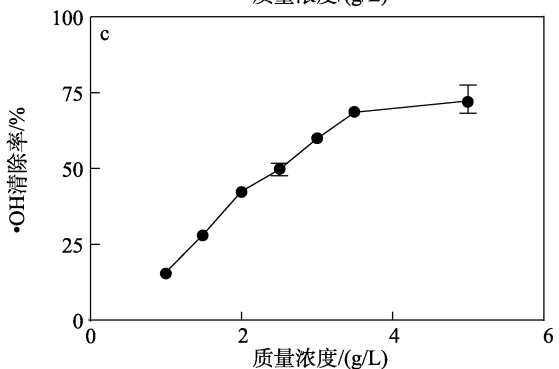
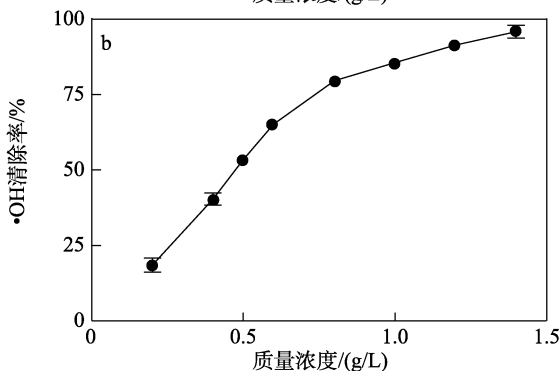
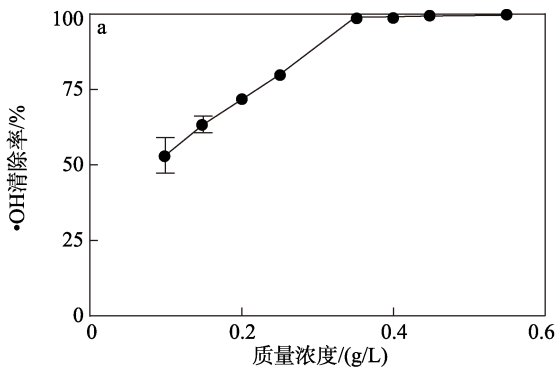
a—曲酸; b—红景天; c—甘草; d—白术; e—黄芩; f—茯苓

图 1 5 种中药浸膏对酪氨酸酶的抑制率

Fig. 1 Inhibition rate of 5 kinds of Chinese herbal medicine extract for tyrosinase

2.3 •OH 自由基清除能力比较

5 种中药浸膏对•OH 的清除能力对比见图 2。由图 2 可知, 5 种中药浸膏对•OH 都有一定的清除能力, 其中, 红景天、白术和茯苓浸膏的抗氧化效果较好, 在一定质量浓度下对•OH 的清除率可接近 100%, 但甘草和黄芩浸膏对•OH 的清除效果较差, 在标定浓度下对•OH 的清除率无法达到 80%。



a—Vc; b—红景天; c—甘草; d—白术; e—黄芩; f—茯苓

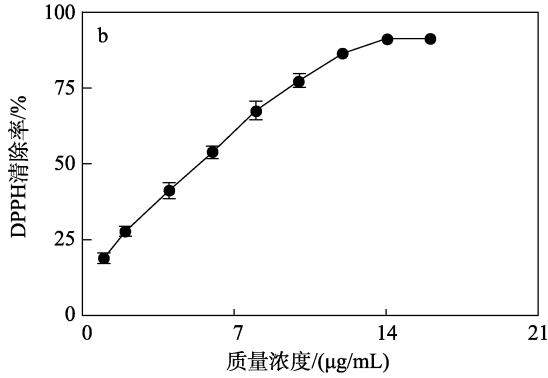
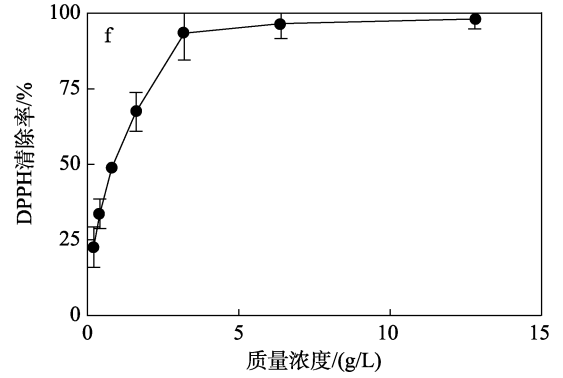
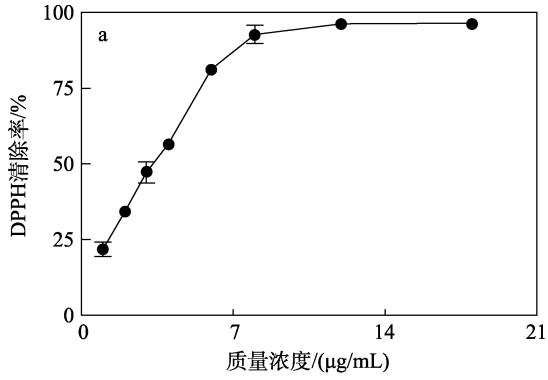
图 2 5 种中药浸膏对•OH 的清除率

Fig. 2 Scavenging rate of 5 kinds of Chinese herbal medicine extract on •OH

此外, 对比 3 种中药浸膏达到最大清除率时的质量浓度发现, 红景天浸膏质量浓度最低, 约为 1.4 g/L; 白术和茯苓浸膏分别为 4 和 7 g/L。因此, 红景天浸膏对•OH 的清除能力最强, 白术和茯苓浸膏次之。

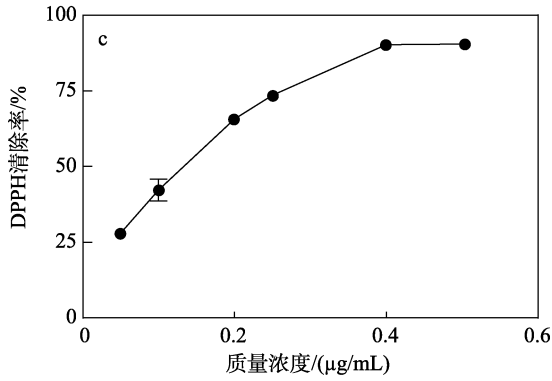
2.4 DPPH 自由基清除能力比较

5 种中药浸膏对 DPPH 自由基的清除能力对比见图 3。由图 3 可知, 5 种中药浸膏对 DPPH 自由基的清除率均可达到 90%以上, 具有显著的清除能力。同样对比 5 种中药浸膏达到最大 DPPH 自由基清除率时的质量浓度发现, 红景天浸膏的质量浓度最低, 为 14 μg/mL, 和阳性对照组 (12 μg/mL) 接近, 其余 4 种中药甘草、白术、黄芩、茯苓浸膏所需质量浓度远大于红景天浸膏, 分别为 400、1、120 和 6 g/L。因此, 红景天浸膏对 DPPH 自由基的清除能力较强。



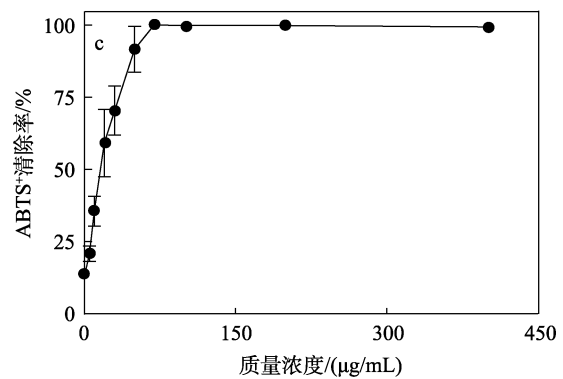
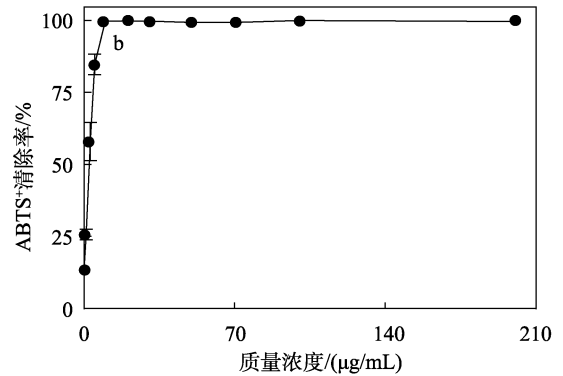
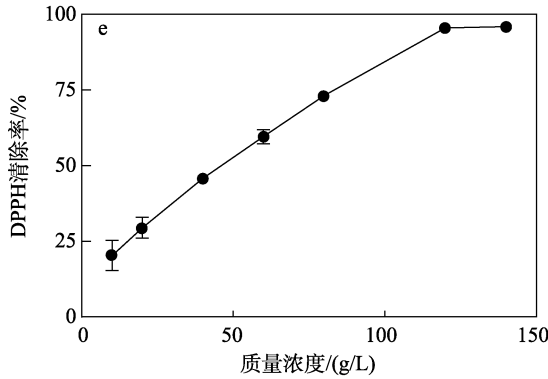
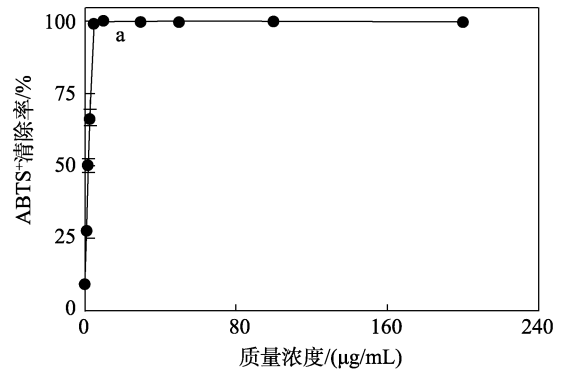
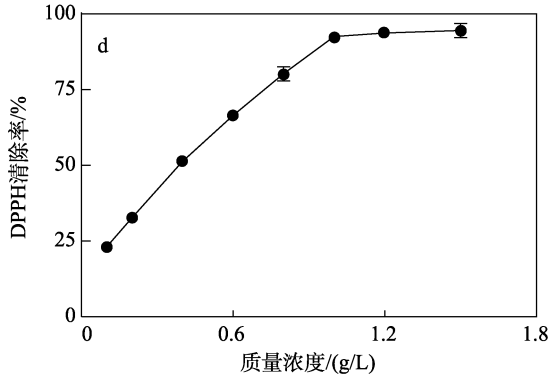
a—Vc; b—红景天; c—甘草; d—白术; e—黄芩; f—茯苓
图 3 5 种中药浸膏对 DPPH 自由基的清除率

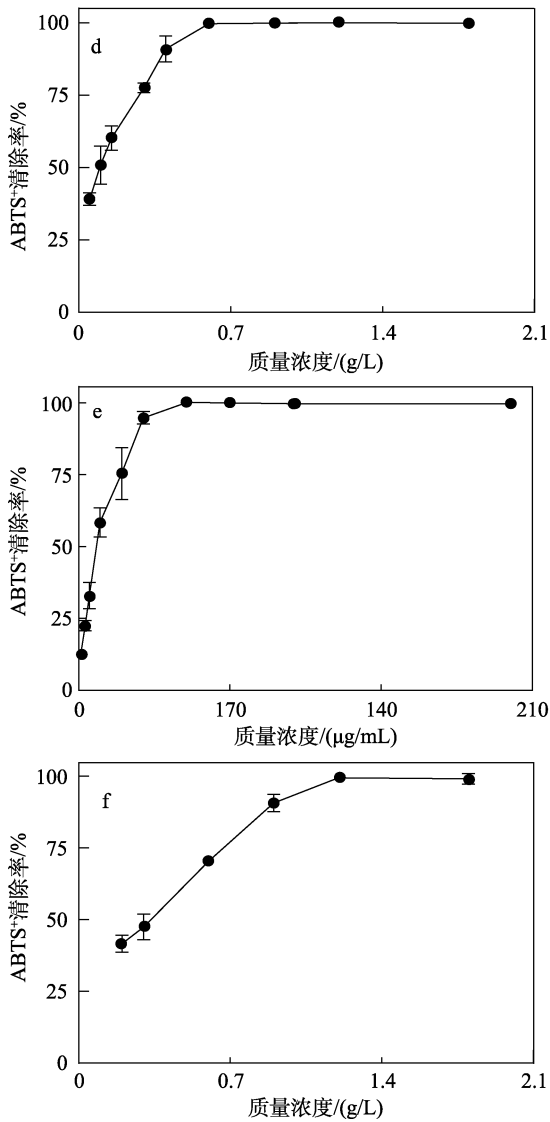
Fig. 3 Scavenging rate of 5 kinds of Chinese herbal medicine extract on DPPH free radical



2.5 ABTS⁺自由基清除能力比较

5 种中药浸膏对 ABTS⁺自由基的清除能力比较见图 4。由图 4 可知, 5 种中药浸膏对 ABTS⁺自由基清除效果显著, 均接近 100%。





a—Vc; b—红景天; c—甘草; d—白术; e—黄芩; f—茯苓

图 4 5 种中药浸膏对 ABTS⁺ 自由基的清除率

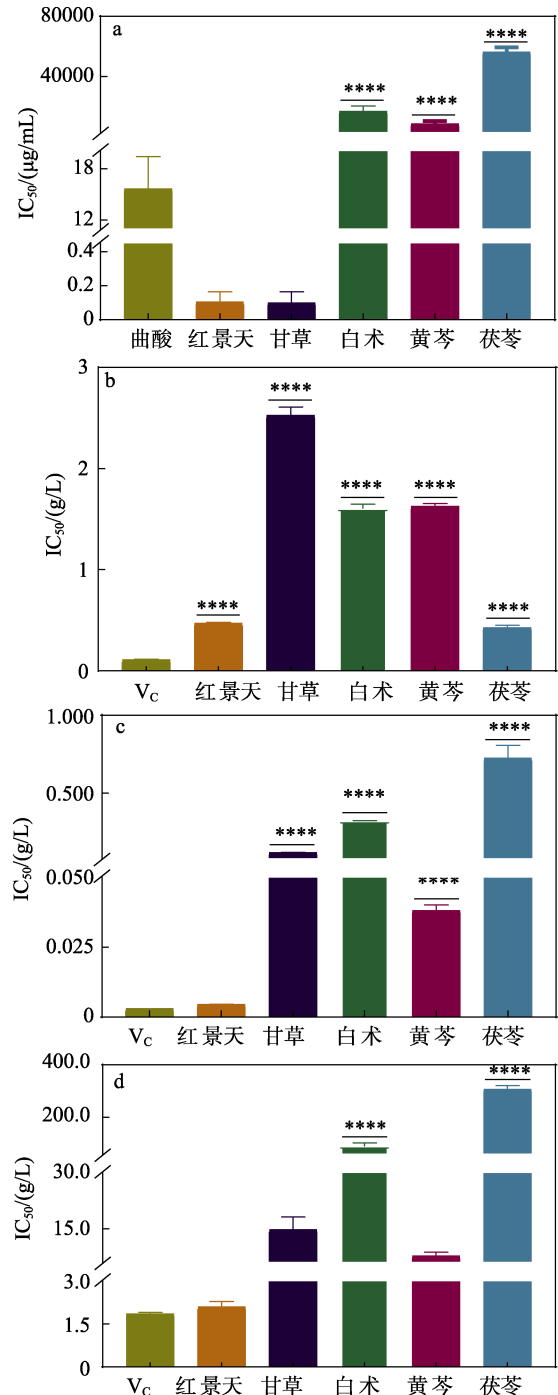
Fig. 4 Scavenging rate of 5 kinds of Chinese herbal medicine extract on ABTS⁺ free radical

同样对比 5 种中药浸膏达到最大 ABTS⁺ 自由基清除率时的质量浓度发现, 红景天浸膏质量浓度最低, 为 10 µg/mL, 和阳性对照组 (5 µg/mL) 接近; 其次为甘草和黄芩浸膏, 质量浓度分别为 70 和 50 µg/mL; 白术和茯苓 2 种浸膏所需质量浓度分别为 0.6 和 1.2 g/L, 远大于红景天、甘草和黄芩浸膏。因此, 红景天浸膏对 ABTS⁺ 自由基清除能力最强, 甘草和黄芩浸膏效果次之。

2.6 各组体外实验半抑制质量浓度比较

各组体外实验半抑制质量浓度 (IC₅₀) 比较结果见图 5。由图 5 可知, 各中药浸膏及阳性对照品曲酸对酪氨酸酶的 IC₅₀ (µg/mL) 从小到大顺序为: 红景天 (0.097) < 甘草 (0.103) < 曲酸 (15.610) < 黄芩 (8367.670) < 白术 (16670.000) < 茯苓 (55934.900)。红景天和甘草的 IC₅₀ 较小且接近, 表明对酪氨酸酶

抑制效果较好。值得注意的是, 虽然红景天和甘草达到最大抑制率时所需质量浓度比阳性对照品曲酸高, 但 IC₅₀ 值比其低, 证明这 2 种中药浸膏在低质量浓度下对酪氨酸酶的抑制作用比阳性对照品曲酸好。



各组间差异显著性分析中 “*” 表示 $p < 0.05$; “**” 表示 $p < 0.01$; “***” 表示 $p < 0.001$; “****” 表示 $p < 0.0001$, 下同

图 5 5 种中药浸膏对酪氨酸酶 (a)、•OH (b)、DPPH 自由基 (c) 和 ABTS⁺ 自由基 (d) 体外实验的 IC₅₀

Fig. 5 IC₅₀ of tyrosinase (a), •OH (b), DPPH free radical (c) and ABTS⁺ free radical (d) by 5 kinds of Chinese herbal medicine extract *in vitro*

各中药浸膏及阳性对照品 Vc 对 •OH 的 IC₅₀

(g/L) 从小到大的顺序为: V_C (0.1046) < 茯苓 (0.4237) < 红景天 (0.4655) < 白术 (1.6070) < 黄芩 (1.6200) < 甘草 (2.5230)。由此可知, 茯苓和红景天浸膏对 $\bullet OH$ 的清除能力较强, 甘草、白术、黄芩浸膏对 $\bullet OH$ 的清除能力较弱。

各中药浸膏及阳性对照品 V_C 对 DPPH 自由基的 IC_{50} (g/L) 从小到大的顺序为: V_C (0.003) < 红景天 (0.004) < 黄芩 (0.038) < 甘草 (0.115) < 白术 (0.320) < 茯苓 (0.723)。其中, 红景天浸膏的 IC_{50} 接近阳性对照品 V_C , 黄芩、甘草、白术和茯苓的 IC_{50} 明显高于阳性对照品 V_C , 证明红景天浸膏具有较强的 DPPH 自由基清除能力。

各中药浸膏及阳性对照品 V_C 对 $ABTS^+$ 自由基的 IC_{50} (g/L) 从小到大的顺序为: V_C (1.842) < 红景天 (2.077) < 黄芩 (7.536) < 甘草 (14.220) < 白术 (87.860) < 茯苓 (285.000)。可见红景天对 $ABTS^+$

自由基清除效果显著, 接近阳性对照组。

由上述分析可见, 茯苓和白术浸膏提取物产率偏低, 对酪氨酸酶抑制活性和抗氧化活性较弱, 表明其综合美白活性较弱。后续仅对红景天、甘草及黄芩浸膏进行美白效果测试。

2.7 皮肤美白效果比较

为进一步探究红景天、甘草及黄芩 3 种体外活性较好的中药浸膏在体内的美白活性, 构建了 UV 照射的豚鼠皮肤老化模型, 并对比了给药前后豚鼠皮肤变化。造模后各组皮肤状态和 L 值如图 6 所示。

由图 6 可知, 空白组豚鼠皮肤较白, L 值为 60.58 ± 2.79 , 造模完后各组豚鼠皮肤呈现明显黑色, L 值分别为 43.05 ± 5.98 、 43.10 ± 3.81 、 42.12 ± 2.42 、 41.82 ± 5.68 、 41.18 ± 4.22 , 且无明显伤口, 表明造模均匀。

豚鼠皮肤造模完涂药 3 周后各组皮肤照片和亮度对比见图 7。

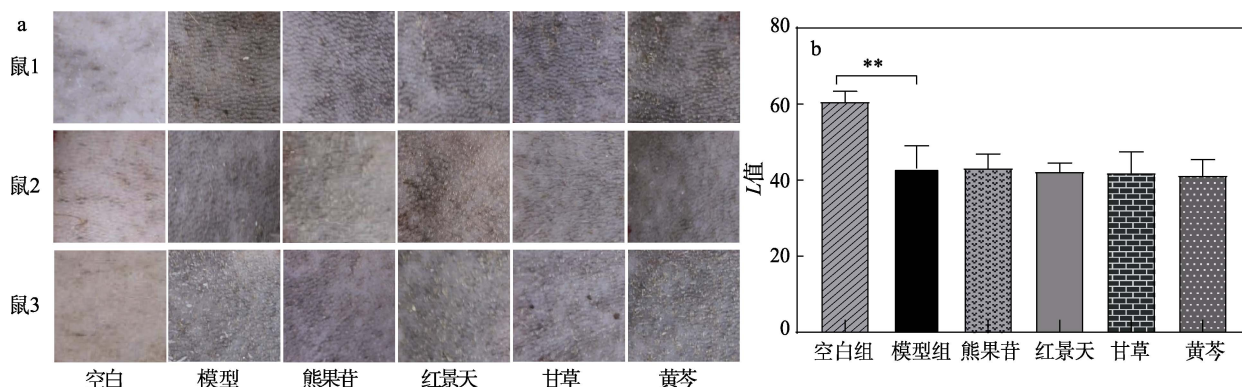
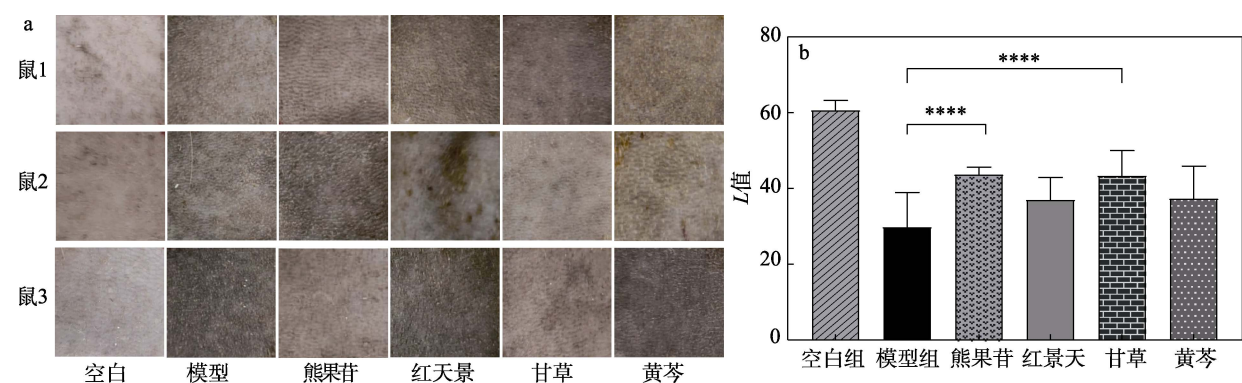


图 6 豚鼠皮肤造模后未涂药时的照片 (a) 和 L 值 (b)

Fig. 6 Skin photos (a) and L values (b) of guinea pigs skin without application after modeling



各组间差异显著性分析中 “*” 表示 $p < 0.05$; “**” 表示 $p < 0.01$; “***” 表示 $p < 0.001$; “****” 表示 $p < 0.0001$

图 7 豚鼠皮肤造模完涂药 3 周后皮肤照片 (a) 和 L 值 (b)

Fig. 7 Skin photos (a) and L values (b) of guinea pigs 3 weeks after skin modeling and application

由图 7 可知, 模型组豚鼠 L 值降低到约 30, 证明豚鼠在涂药 3 周内仍有色素沉积, 皮肤不会自动变白。从熊果苷阳性对照组和其余 3 种中药浸膏组 L 值可以看出, 甘草浸膏美白活性最好, L 值为 43.39 ± 6.60 , 略有提升, 与阳性对照组熊果苷接近; 红景天和黄芩浸膏次之, L 值分别为 36.94 ± 6.01 和

37.24 ± 8.61 , 相比于模型组有明显的美白效果。

2.8 皮肤修复效果和黑色素沉积量比较

为进一步探究给药后皮肤微观状态和黑色素沉积量, 将给药后皮肤切片, 分别进行 H & E、Masson 和 FM 染色, 观察皮肤组织状态和黑色素沉积量, 结果见图 8。

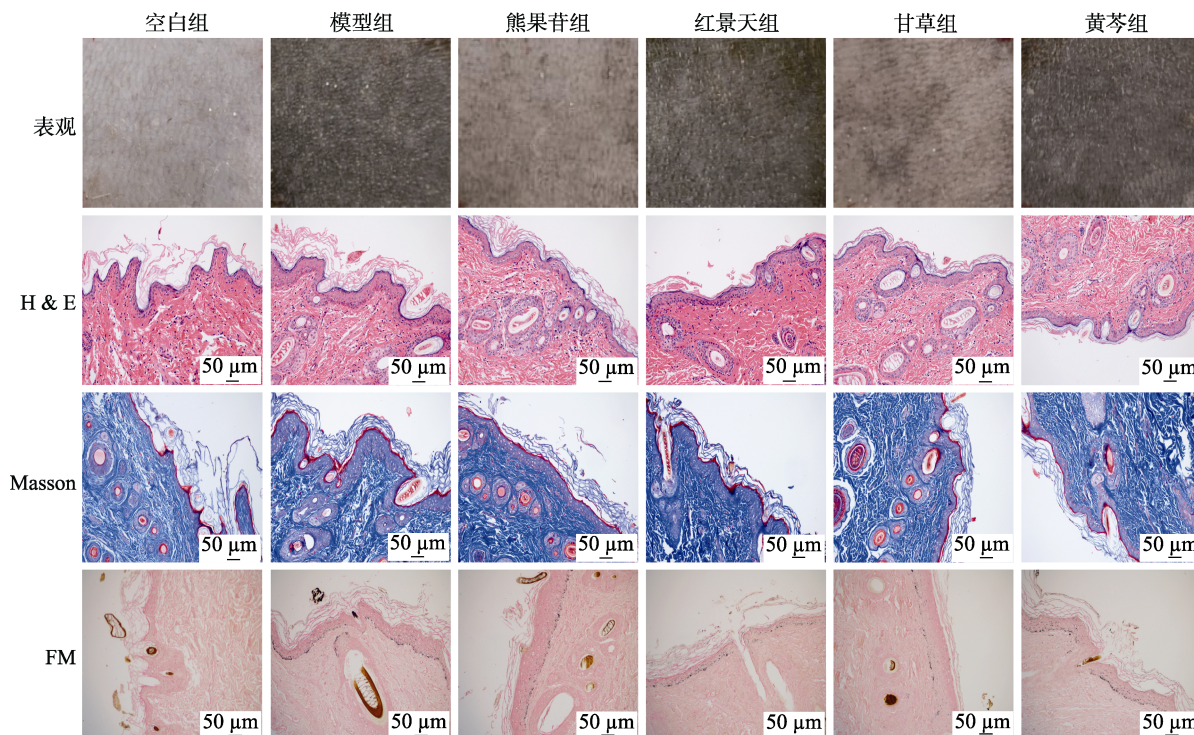


图 8 涂药 3 周后各组表观及染色切片
Fig. 8 Apparent and stained sections in each group after 3 weeks of application

从图 8 中 H & E 和 Masson 染色切片可以看出，空白组表皮层较薄，模型组由于未涂药，在紫外照射下表皮明显增厚，给药组表皮也不同程度地增厚，但与模型组相比，表皮明显变薄，证明药物对紫外照射造成的表皮层增厚起到了明显的修复作用。从 FM 染色切片可以看出，空白组几乎没有黑点，证明黑色素沉积量少，模型组黑点较为明显且沉积量增大，给药组黑点也较为明显，但相比于模型组，黑色素沉积量减少，特别是甘草组，黑色素沉积量明显变少，证明药物对黑色素有较明显的抑制消除作用。通过对比发现，甘草浸膏美白效果最好。

3 结论

本文以甘草、茯苓、红景天、黄芩、白术 5 种中药为原材料，以质量分数 70% 的乙醇水溶液为溶剂，进行闪氏提取，得到相应的中药浸膏，其中黄芪、甘草、红景天浸膏产率较高，分别为 36.11%、34.24%、26.28%。

以·OH、DPPH 自由基和 ABTS⁺自由基清除率及酪氨酸酶抑制率为评价指标，通过体外实验评价了 5 种中药浸膏的美白抗氧化活性，结果表明，红景天浸膏效果最好，甘草、黄芩次之。

通过 UV 照射豚鼠裸露的皮肤造模，分别考察上述 3 种中药浸膏体内美白作用效果。皮肤亮度和 FM 染色结果显示，甘草美白活性最好，使用后皮肤

亮度为 43.39±6.60，黑色素沉积量明显减少；H & E、Masson 染色显示 3 种中药浸膏均对皮肤有修复效果。

综上所述，对于自由基增多引起的皮肤老化，红景天浸膏具有较好的修复潜力；而对于紫外照射引起的黑色素沉积，甘草浸膏修复效果更强。本文为天然中药美白活性物质的研究提供了新思路，为中药在化妆品领域的发展和应用奠定了基础。

参考文献：

- [1] GUO F Y (郭芳钰), HAN T T (韩婷婷), WANG X N (王晓娜), *et al.* Process optimization and anti-aging, moisturizing and whitening effects of traditional Chinese medicine bi-directional fermentation broth[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业)*, 2023, 53(5): 523-531.
- [2] JIA J F (贾俊芳), MENG D X (孟德新), LI S X (李淑霞), *et al.* Comparative study on whitening activity of different solvent extracts from traditional Sanbai decoction[J]. *Chemical Engineering Design Communications (化工设计通讯)*, 2022, 48(11): 234-236.
- [3] YAN Y (延永), ZHANG Y L (张亦琳), CHEN Y (陈颖). Preparation and performance evaluation of anti-oxidation and whitening scutellaria baicalensis mud mask[J]. *Flavour Fragrance Cosmetics (香料香精化妆品)*, 2023(4): 94-99.
- [4] SHEN Y J (沈映君). *Pharmacology of Chinese medicine*[M]. Beijing: The Peoples Medical Publishing House (人民卫生出版社), 2000.
- [5] HAN Y D (韩雨迪), JIN L Y (金莉英), SUN X H (孙熙滢), *et al.* Preparation of a lotion containing *Rhodiola rosea* and *Panax ginseng* and its antioxidant and whitening effects[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业)*, 2023, 53(6): 665-672.
- [6] ZHANG X Q (张兴琪), HE J Y (何敬愉), GONG S Z (龚盛昭), *et al.* Study on the differences in the composition and the whitening and anti-allergy activities of different kinds of licorice[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业)*, 2021, 51(7): 648-654.

(下转第 2542 页)