

中药现代化技术

丹参挥发油与蒲公英提取物复配物在化妆品中的应用

吴颖¹, 刘晴², 唐文², 王佳其², 王双旦², 侯芙蓉²

(1. 上海应用技术大学 化学与环境工程学院, 上海 201418; 2. 上海应用技术大学 香料香精技术与工程学院, 上海 201418)

摘要: 分别测试了丹参挥发油、蒲公英提取物及其复配物的抗氧化、美白、抑菌、细胞毒性和体外皮肤渗透性, 考察丹参挥发油与蒲公英提取物复配后是否具有协同增效作用。结果表明, 复配物的抗氧化活性比二者单独作用效果更强, 略高于阳性对照 V_C; 丹参挥发油对酪氨酸酶活性的抑制作用强于阳性对照熊果苷, 对酪氨酸酶的抑制类型为竞争性抑制, 抑制常数 (K_i) 为 0.0049 mg/L, 丹参挥发油与蒲公英提取物两者之间对酪氨酸酶的抑制无拮抗作用; 复配物对金黄色葡萄球菌的抑制作用好于单一成分, 与阳性对照硫酸链霉素效果相当; 提取物质量浓度为 100 mg/L 时无明显细胞毒性; 丹参挥发油与蒲公英复配后, 蒲公英提取物的皮肤累计渗透量比单独作用时增大, 丹参挥发油可促进蒲公英提取物的透皮吸收, 复配物具有协同抗氧化和抑菌功效, 无明显细胞毒性, 皮肤渗透性较好。

关键词: 丹参挥发油; 蒲公英; 协同增效; 抗氧化活性; 美白; 抑菌活性; 细胞毒性; 皮肤渗透

中图分类号: TQ658 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2022) 03-0562-07

Application of complexes of *Salvia miltiorrhiza* volatile oil and dandelion extract in cosmetics

WU Ying¹, LIU Qing², TANG Wen², WANG Jiaqi², WANG Shuangdan², HOU Furong²

(1. School of Chemical and Environmental Engineering, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China; 2. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China)

Abstract: The antioxidant activity, whitening, antibacterial activity, cytotoxicity and skin permeability *in vitro* of *Salvia miltiorrhiza* volatile oil, dandelion extract and their complexes were tested. The synergistic effects of *Salvia miltiorrhiza* volatile oil and dandelion extract were investigated. The results showed that the antioxidant activity of the complexes was stronger than that of the two alone, slightly higher than that of positive control V_C. The results of enzyme kinetics showed that the inhibitory effect of *Salvia miltiorrhiza* volatile oil on tyrosinase activity was stronger than that of arbutin, the positive control. The inhibitory type of *Salvia miltiorrhiza* volatile oil on tyrosinase was competitive, and the inhibition constant (K_i) was 0.0049 mg/L. There was no antagonistic effect between *Salvia miltiorrhiza* volatile oil and dandelion extract on tyrosinase activity. The inhibitory effect of the complexes on *Staphylococcus aureus* was better than that of the single component, which was similar to positive control, streptomycin sulfate. The extracts with a mass concentration of 100 mg/L had no cytotoxicity. After complexing *Salvia miltiorrhiza* volatile oil and dandelion extract, the cumulative permeability of dandelion extract was greater than that when acting alone, and *Salvia miltiorrhiza* volatile oil promoted the transdermal absorption of dandelion extract. The complexes of *Salvia miltiorrhiza* volatile oil and dandelion extract had synergistic antioxidant and antibacterial effects, no obvious cytotoxicity, better skin permeability.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* volatile oil; dandelion; synergistic effect; antioxidant activity; whitening; antibacterial activity; cytotoxicity; skin permeability

收稿日期: 2021-08-11; 定用日期: 2021-11-10; DOI: 10.13550/j.jxhg.20210806

基金项目: 上海市大学生创新训练项目 (10110K208035-B11, 10110K208031-B11)

作者简介: 吴颖 (1972—), 女, 副教授, E-mail: Wuying7210@163.com。

中草药植物可兼具营养和疗效双重作用,且作用缓和,适宜添加到化妆品中。目前市场上所使用的具有酪氨酸酶抑制作用的中草药类植物美白剂多为植物醇提取物,主要功效成分为多酚、黄酮类物质,这类大分子物质对皮肤的渗透能力有限,作用于人体皮肤时很难被人体吸收,美白效果有限,油性美白制剂透皮吸收好,具有更大的研究价值^[1-3]。

单一植物的活性成分有限,很难达到理想效果,通过多个植物复配来实现功能上的协同、互补已成为研究热点。张美龄^[4]和 ELHIDAR 等^[5]将不同植物提取物或几种植物精油进行了复配,其在体外抑菌抗氧化等方面有很好的作用。目前的复配体系多为不同植物的醇提取物之间或几种植物精油间的同相复配,不同植物之间的醇提取物与油相复配研究极为少见。丹参主要药效成分为丹参酮类、酚酸类、黄酮类等^[6],具有改善皮肤微循环、抗氧化、抗炎、抑菌等药理作用^[7-9]。丹参挥发油具有极好的皮肤渗透作用,其主要成分为十六烷酸、正二十烷、油酸、桃拓酚等,桃拓酚具有美白抑菌作用。目前,关于丹参挥发油的研究开发并不多^[10-11]。蒲公英是常见药食两用植物,含有黄酮类、多糖类、酚酸类等物质,具有抑菌抗炎、美白、抗氧化等作用^[12-16]。丹参和蒲公英现主要用于食品和药品,较少应用于日化领域。

本文拟选择丹参挥发油与蒲公英醇提取物进行不同相提取物间的复配,研究油水复配体系的体外抗氧化、酪氨酸酶活性的抑制、美白作用、抑菌能力、细胞毒性以及体外皮肤渗透性,并探究复配物在以上能力检测中是否具有协同增效作用,以期扩大丹参和蒲公英的应用范围,为其在不同类型化妆品等多领域提供实验依据。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

丹参药材和蒲公英全株、新鲜猪皮均为市售;硫酸亚铁、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、过氧化氢,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),分析纯,上海宝曼生物科技有限公司;3,4-二羟基苯氨酸(L-DOPA)、水杨酸、酪氨酸酶、无水乙醇、氯化钠、石油醚、二甲基亚砜(DMSO)、无水硫酸钠、熊果苷,分析纯,上海泰坦科技股份有限公司;氨苄青霉素、硫酸链霉素,上海摩楷生物科技有限公司;营养肉汤培养基、营养琼脂培养基,青岛海博生物技术有限公司;大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、HaCaT细胞,上海应用技术大学生物学院;DEME高糖培养基,北京索莱宝

科技有限公司;CCK-8细胞增殖检测试剂,上海圣尔生物科技有限公司。

TECAN-M200PRO多功能酶标仪,奥地利 Tecan 有限公司;722S型可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;Vi-CELL XR细胞活力分析仪,美国 Beckman Coulter 有限公司;RYJ-6B药物透皮扩散试验仪,上海黄海药检仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品的制备

将丹参药材切断至长为1cm左右,称取100g置于圆底烧瓶内,按料液比1:10(g:mL)加入1000mL蒸馏水,再加入20g氯化钠混合均匀后,室温浸泡3h,130℃油浴加热提取5h后向油水分离器中加入3mL石油醚,收集石油醚层,加入无水硫酸钠除去水分,然后旋蒸除去石油醚,得丹参挥发油,称重计算提取率,4℃冰箱冷藏避光保存备用。

称取约10g干燥蒲公英粉末,加入100mL体积分数为75%的乙醇水溶液,于105℃下回流提取2h,滤去残渣,旋蒸后冷冻干燥,得固体蒲公英提取物,4℃下保存备用。

提取率按式(1)计算:

$$E/\% = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: E 为提取率,%; m_1 和 m_0 分别为丹参挥发油(蒲公英提取物)和丹参药材(蒲公英)的质量,g。

蒲公英提取物和丹参挥发油分别按质量比1:8、1:4、1:2、1:1和1:0.5进行复配,用无水乙醇溶解挥发油和提取物,最终配制成质量浓度为60mg/L的复配物溶液,对这5种复配比例的复配物溶液进行抗氧化和酪氨酸酶抑制实验。

1.2.2 抗氧化活性测定

1.2.2.1 DPPH自由基清除能力测定

参照文献[17]方法,分别取上述5种不同复配比例的样品溶液2.0mL,加入0.16mmol/L DPPH乙醇溶液2.0mL,混合均匀,置于暗处40min后在517nm处测定吸光度 A_i 。样品对照组用无水乙醇溶液代替DPPH乙醇溶液,测得吸光度 A_j 。空白组用无水乙醇代替样品溶液,测得吸光度 A_c 。每组实验平行测试3次。同时以 V_c 作为阳性对照。清除率按式(2)进行计算:

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_c - (A_i - A_j)}{A_c} \times 100 \quad (2)$$

1.2.2.2 羟基自由基清除能力的测定

参照文献[18]方法,在试管中依次加入6mmol/L硫酸亚铁溶液1.0mL、8.8mmol/L过氧化氢溶液1.0mL、9mmol/L水杨酸溶液1.0mL和1.6mL样液,混合均匀,37℃下水浴加热15min,在510nm

波长下测定吸光度 A_1 。样品对照组用去离子水代替过氧化氢,测得吸光度 A_2 。空白组用去离子水代替样液,测得吸光度 A_0 。每组实验平行测试 3 次。 V_c 作为阳性对照。清除率计算如式 (3) 所示:

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

1.2.2.3 抗氧化协同系数 (SE) 计算

SE 为实验测得的清除率 (ESC) 与理论计算的清除率 (TSC) 的比值^[19]。当 $SE > 1$ 时,表示有协同作用;当 $SE \leq 1$ 时,表示没有明显的协同作用。协同系数计算如式 (4) 所示:

$$SE = \frac{ESC}{TSC} \quad (4)$$

TSC 按式 (5) 进行计算:

$$TSC/\% = (ESC_1 + \dots + ESC_n) \times \frac{ESC_1 \times \dots \times ESC_n}{10^{2(n-1)}} \times 100 \quad (5)$$

式中: ESC_1 、 \dots 、 ESC_n 分别为单一样品的实验清除率; n 为体系中组分数量。

1.2.3 酪氨酸酶抑制率测定

参照文献[20]方法,实验组反应液包括 0.05 mmol/L 磷酸缓冲液 (PBS, pH=6.8) 50 μ L、样品溶液 50 μ L、50 U/mL 酪氨酸酶溶液 50 μ L,室温静置 10 min 后,添加 10 mmol/L L-DOPA 溶液 100 μ L,将溶液混合均匀后室温反应 15 min,用多功能酶标仪在 475 nm 处测定光密度 (OD)。对照组以等体积的乙醇代替样品溶液,每组实验平行测试 3 次,以熊果苷作为阳性对照组,抑制率计算按式 (6) 进行:

$$\text{抑制率}/\% = \frac{(OD_A - OD_B) - (OD_C - OD_D)}{(OD_A - OD_B)} \times 100 \quad (6)$$

式中: OD_A 为有酪氨酸酶液但不含样液的光密度; OD_B 为不含酪氨酸酶液和样液的光密度; OD_C 为含有酪氨酸酶液和样液的光密度; OD_D 为有样液但不含酪氨酸酶液的光密度。

1.2.4 丹参挥发油的酪氨酸酶抑制动力学测试

1.2.4.1 酪氨酸酶活性抑制的可逆性判断

参照文献[20],固定底物 L-DOPA 的量,改变酶量,分别测定一定体积不同质量浓度丹参挥发油溶液对酪氨酸酶催化速率的影响。在 96 孔板中分别加入 50 U/mL 酪氨酸酶溶液 20、30、40、50、60 μ L,用 0.05 mmol/L PBS (pH=6.8) 补加至 150 μ L,再加入 100 μ L 不同质量浓度丹参挥发油溶液,静置 10 min,再加入 10 mmol/L L-DOPA 溶液 100 μ L,反应 10 min 后在 475 nm 处测定 OD,计算 OD 随时间增长曲线的斜率即酶活力。空白组为 100 μ L PBS 代替同体积丹参挥发油溶液。以酶活力对酪氨酸酶的添加量作图,判断丹参挥发油对酪氨酸酶活性的抑制为可逆抑制还是不可逆抑制。

1.2.4.2 丹参挥发油对酪氨酸酶的抑制类型测试

在酶活力测定体系中,固定加入 50 U/mL 酪氨酸酶液体积为 50 μ L,改变底物 L-DOPA 添加量 (添加浓度依次为 10、8、5、4、2 mmol/L,体积均为 100 μ L),在一定质量底物下,分别测定酪氨酸酶在不同质量浓度丹参挥发油溶液中的酶活力变化速度 (丹参油溶液质量浓度分别为 100、140、160、200 mg/L,体积均为 100 μ L)。以底物 L-DOPA 浓度的倒数 (c^{-1}) 为横坐标,酶反应速率的倒数 (V^{-1}) 为纵坐标作图,绘制 Lineweaver-Burk 双倒数曲线,双倒数方程如式 (7) 所示:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[c]} + \frac{1}{V_m} \quad (7)$$

式中: V_0 为初速度, $\Delta OD/\text{min}$; K_m 为米氏常数, mg/L; V_m 为最大反应速率, $\Delta OD/\text{min}$; c 为底物 L-DOPA 浓度, mmol/L。

1.2.5 抑菌活性测定

1.2.5.1 菌悬液的制备

参照文献[21]方法,首先将保存的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌分别接种到液体培养基中,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h,使用平板计数法测定菌悬液的细菌总数 (CFU),并调整至 $1.0 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^7$ CFU/mL。

1.2.5.2 抑菌圈法

用滤纸片法测定抑菌活性^[22]。取 100 μ L 上述菌悬液于固体培养基上,涂布均匀,培养皿中间放置已灭菌的直径为 6 mm 的圆形滤纸片,滤纸片上加 15 μ L 样品,培养皿倒置,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱,孵育 20~24 h,用游标卡尺测量抑菌圈直径。将溶解样品的溶剂 (DMSO) 设为空白对照,氨苄青霉素和硫酸链霉素作为阳性对照。实验重复 3 次取平均值。

1.2.6 细胞毒性测定

采用 CCK-8 法进行检测^[23-24],HaCaT 细胞作为受试对象,调整细胞浓度为 1.0×10^4 个细胞/孔,接种到 96 孔板,每孔加入 100 μ L 细胞悬液。分别配制质量浓度为 10、50、100、250、500 mg/L 提取物溶液,添加到培养板中,于 37 $^{\circ}\text{C}$,体积分数为 5% 的 CO_2 培养箱中培养 24 h。检测时,弃去上清液,加入 100 μ L 体积分数为 10% 的 CCK-8 工作液,培养 4 h 后取出。在多功能酶标仪 450 nm 处读取 OD,每组设 5 个复孔,同时设置空白组 (加入不含药物的培养基) 和对照组 (不含药物的细胞)。细胞活力按式 (8) 进行计算:

$$\text{细胞活力}/\% = \frac{(OD_{\text{给药孔}} - OD_{\text{空白孔}})}{(OD_{\text{对照孔}} - OD_{\text{空白孔}})} \times 100 \quad (8)$$

1.2.7 皮肤渗透性测定

采用改良后的 Franz 扩散池法测定提取物的皮肤渗透性^[25-26]。选取新鲜的猪皮作为模拟人体皮肤,去除皮下脂肪保留真皮部分,用 0.01 mol/L PBS (pH=7.4) 洗净备用。以 PBS 作为接受液,质量浓度为 1 g/L 的样品液作为扩散液,将猪皮夹在扩散室和接受室之间,实验温度为 32 °C,磁子转速为 550 r/min。取 12 h 后的接受液进行检测,测定样品质量浓度,按式(9)计算单位面积累计渗透量:

$$Q = \rho V / A \quad (9)$$

式中: Q 为单位面积累计渗透量, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$; ρ 为第 12 h 时的样品质量浓度, mg/L ; V 为接受池的体积, 6.0 mL; A 为渗透有效皮肤面积, 2.26 cm^2 。

1.3 统计分析

所有数据的处理与统计分析结果都是采用 Microsoft Excel 2010 或 Origin 8.6 软件处理,结果均以“平均值±标准偏差”表示 ($n \geq 3$)。

2 结果与讨论

2.1 DPPH 自由基清除能力分析

丹参挥发油与蒲公英提取物按一定质量比复配,检测单一样品和复配后样品对 DPPH 自由基的清除率,结果如图 1 所示。

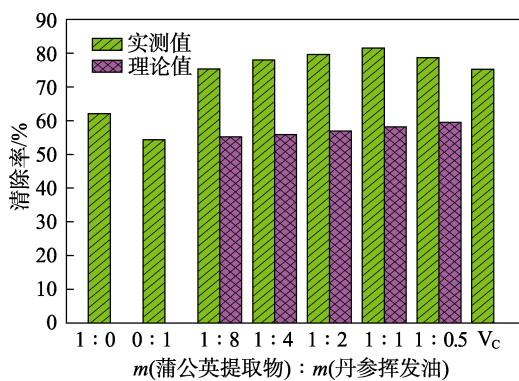


图 1 复合物对 DPPH 自由基的清除率

Fig. 1 Scavenging rate of DPPH radical by the complexes

由图 1 可知,在质量浓度为 60 mg/L 时,蒲公英提取物和丹参挥发油质量比为 1:0.5~1:8 的复合物对 DPPH 自由基清除率均高于同质量浓度的单一组分的清除率,与阳性对照 V_c 清除率相当。同时,5 组复合物对 DPPH 自由基清除率实测值均高于其理论值,根据计算得到体系 $SE > 1$,说明丹参挥发油与蒲公英提取物通过复配,在清除 DPPH 自由基方面具有协同增效的作用。

2.2 羟基自由基清除能力测定结果

丹参挥发油与蒲公英提取物按一定质量比复配,检测复合物对羟基自由基的清除率,结果如图

2 所示。

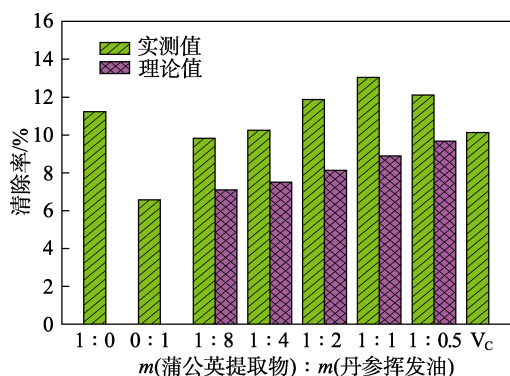


图 2 复合物对羟基自由基的清除率

Fig. 2 Scavenging rate of hydroxy free radical by the complexes

由图 2 可知,在质量浓度为 60 mg/L 时,5 种复合物对羟基自由基清除率实测值均高于其理论值,同时也大于丹参挥发油单独作用时的羟基自由基清除率。蒲公英提取物和丹参挥发油质量比为 1:1~1:8 时,随着蒲公英提取物质量的增大,复合物对羟基自由基的清除率逐渐增强,当蒲公英提取物与丹参挥发油质量比为 1:1 时,复合物对羟基自由基清除率实测值与丹参挥发油单独作用时的清除率之间差距最大。结果表明,蒲公英提取物可提高丹参挥发油在水相体系中的抗氧化效果,推测两者可能在复配时发生偶联氧化,通过油水分配互为补充,进而发挥每一种抗氧化剂的抗氧化功能。

2.3 丹参挥发油对酪氨酸酶的抑制类型

不同质量浓度丹参挥发油溶液对酪氨酸酶的抑制作用测试结果见图 3、4 及表 1。

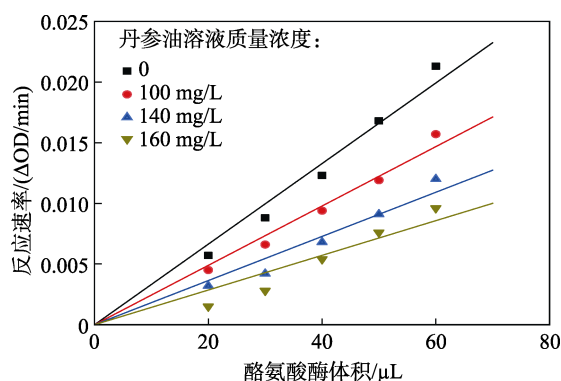


图 3 丹参挥发油对酪氨酸酶抑制机理

Fig. 3 Inhibition mechanism on tyrosinase by *S. miltiorrhiza* volatile oil

由图 3 可知,体系酶活反应速率对酪氨酸酶溶液添加量作图得到一组相交于原点的直线,随着丹参油溶液质量浓度的增大,直线的斜率逐渐降低,说明丹参挥发油对酪氨酸酶的抑制作用为可逆性抑制,只通过抑制酶活力降低了酪氨酸酶生成多巴醌

的速率，不是以共价键的形式与酶结合，减少游离酶的数量或使酶失去活性。

由图 4 可知，Lineweaver-Burk 双倒数曲线为一组相交于纵坐标正半轴的直线，随着丹参挥发油溶液质量浓度的增大，米氏方程的直线斜率 K_m/V_m 也随之增大，直线与纵坐标的交点 $1/V_m$ 保持不变，最大反应速度 V_m 为一个定值，计算结果如表 1 所示。 K_m/V_m 逐渐增大， V_m 保持不变，因此，米氏常数 K_m 逐渐增大。由文献[27]可知，丹参挥发油对酪氨酸酶的抑制类型符合竞争性抑制，说明丹参挥发油是通过与 L-DOPA 竞争酪氨酸酶的活性中心位点来抑制酪氨酸酶的活性，推测丹参挥发油中的某些成分与底物的结构相似，可以与酶的活性位点直接结合，通过减少与底物反应的酪氨酸酶的有效量，抑制酪氨酸酶催化氧化的反应速率。利用直线的斜率，以丹参挥发油溶液的质量浓度为横坐标，直线的斜率为纵坐标拟合线性方程，线性方程的斜率即抑制常数 (K_I)，为 0.0049 mg/L。

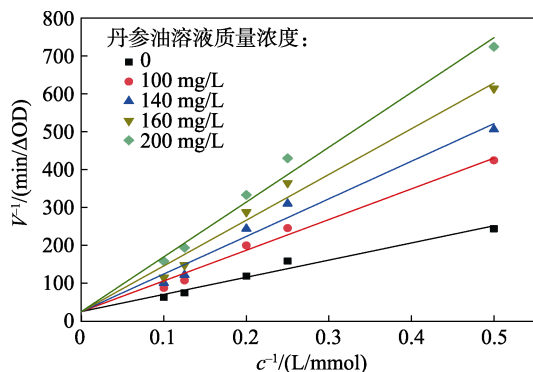


图 4 不同质量浓度丹参挥发油溶液对酪氨酸酶抑制的 Lineweaver-Burk 双倒数曲线

Fig. 4 Lineweaver-Burk double reciprocal curves of inhibition of tyrosinase by different mass concentrations of *Salvia miltiorrhiza* volatile oil

表 1 丹参挥发油对酪氨酸酶的抑制动力学参数

Table 1 Inhibitory kinetic parameters on tyrosinase by *Salvia miltiorrhiza* volatile oil

$\rho/$ (mg/L)	$K_m/V_m/[$ mg·min/ (L·ΔOD)]	$V_m/$ (ΔOD/min)	$K_m/$ (mg/L)
0	0.4524	0.0392	0.0177
100	0.8091		0.0317
140	0.9913		0.0388
160	1.2057		0.0473
200	1.4450		0.0566

2.4 复配物对酪氨酸酶活性的抑制作用

将抗氧化能力较强且酪氨酸酶抑制类型不同的丹参挥发油和蒲公英提取物进行复配，研究其对酪氨酸酶抑制是否会起到协同增效的作用，结果如图

5 所示。

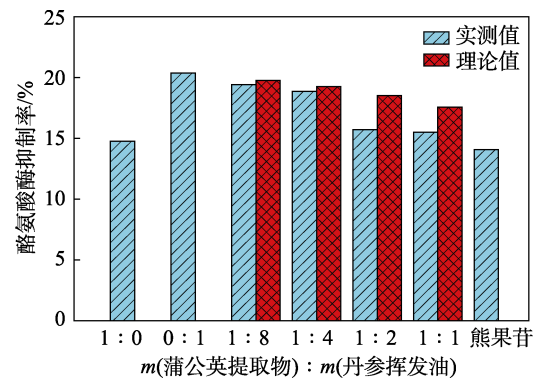


图 5 复配物对酪氨酸酶的抑制能力

Fig. 5 Inhibitory effect on tyrosinase by the complexes

由图 5 所示，在质量浓度为 60 mg/L 时，4 种复配物对酪氨酸酶抑制率均略低于丹参挥发油单独作用，略高于蒲公英提取物单独作用，复配物并没有很大地提升或降低酪氨酸酶抑制率。结果表明，两种物质对酪氨酸酶的抑制作用无明显相互影响。分析可能的原因是，蒲公英提取物对酪氨酸酶的抑制类型为非竞争与反竞争的混合型抑制^[15]，抑制剂作用于酪氨酸酶的非活性位点和酶与底物的结合物。丹参挥发油对酪氨酸酶的抑制类型为竞争性抑制，抑制剂作用于酶的活性位点。两种提取物对酶活的作用位点各不相同，因此复配后没有表现出拮抗作用，两者之间对酪氨酸酶抑制无相互不利影响。结合抗氧化和酪氨酸酶活性的抑制两个方面，蒲公英提取物与丹参挥发油复配可协同增强抗氧化作用，但其对酪氨酸酶活性的抑制影响不大，推测两种物质涉及的抗氧化反应与酪氨酸酶参与黑色素合成的反应过程的相关性不大。

2.5 样品对受试菌的抑制能力

根据抗氧化活性和酪氨酸酶活性的抑制作用结果，选用蒲公英提取物和丹参挥发油质量比为 1:1 的复配物进行抑菌实验，抑菌结果如图 6 所示。

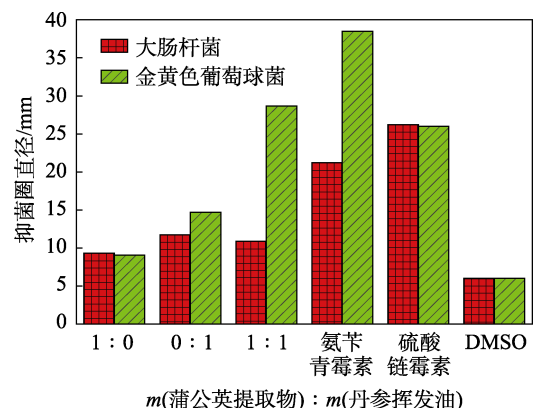


图 6 复配物的抑菌能力

Fig. 6 Antibacterial activity by the complexes

与空白对照 DMSO 相比,蒲公英提取物溶液和丹参挥发油溶液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有一定的抑制能力,丹参挥发油抑菌要强于蒲公英提取物。复配物对受试菌也有相应的抑制效果,其中,对于金黄色葡萄球菌,复配物的抑菌圈几乎与阳性对照硫酸链霉素相当,达到极敏效果。这可能是由丹参挥发油中含有具有较好抑菌作用的萜烯类物质所引起的,蒲公英提取物中酚酮类物质也有很好的抑菌作用,两种提取物的化学成分及其抑菌机理还需进行深入研究。

2.6 提取物的细胞毒性作用

以 HaCaT 细胞评估蒲公英提取物和丹参挥发油及其质量比为 1:1 的复配物的细胞毒性作用,结果如图 7 所示。

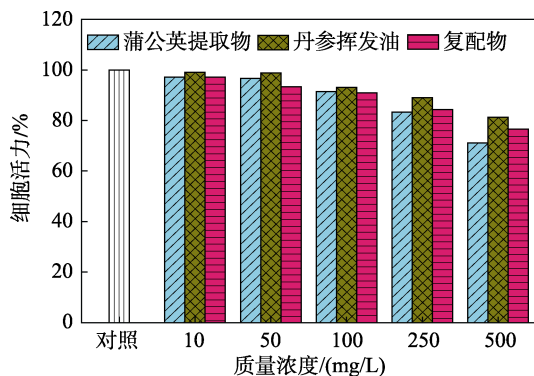


图 7 样品溶液处理后的 HaCaT 细胞活力

Fig. 7 HaCaT cell survival rate after treatment with the complexes

由图 7 可知,细胞活力随样品溶液质量浓度的升高而降低,但总体下降幅度不大。当样液质量浓度 ≤ 100 mg/L 时,丹参挥发油溶液、蒲公英提取物溶液、复配物的细胞活力均 $>90\%$,当样液质量浓度达到 250 mg/L 时,处理过的细胞活力约为 85%,样液质量浓度为 500 mg/L 时,对细胞有一定的抑制作用,细胞活力为 70%~80%。因此,可得出样液的安全质量浓度为 100 mg/L,在此质量浓度下,细胞生长状况良好,无明显的细胞毒性。蒲公英和丹参均为药食两用、安全性较高的植物种类,复配物与蒲公英提取物溶液、丹参挥发油溶液单独作用时的细胞毒性无明显差别,所以复配物的安全性也较高。结果表明,复配物应用于化妆品的细胞学功效评价的测试质量浓度可选择 ≤ 100 mg/L。

2.7 样品对体外皮肤渗透性作用

比较了蒲公英提取物、丹参挥发油单独作用和质量比为 1:1 的复配物联合应用对猪皮的体外渗透行为,结果如图 8 所示。由图 8 可知,当蒲公英提取物与丹参挥发油单独作用时,丹参挥发油的累积渗透量明显高于蒲公英提取物,可能与其油相含

有更多小分子成分,容易透皮吸收有关。丹参挥发油与蒲公英提取物复配后,蒲公英提取物的皮肤累计渗透量比单独作用时增大,丹参挥发油可促进蒲公英提取物的透皮吸收。由此,丹参挥发油有助于蒲公英提取物的吸收,进一步提高复配物的功效。

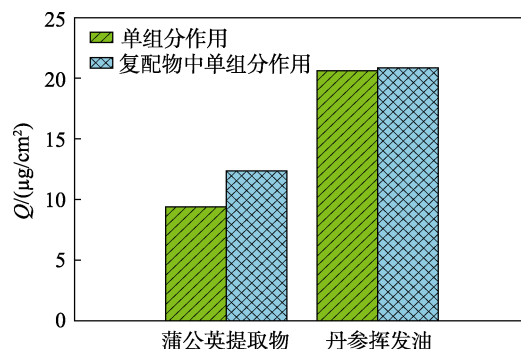


图 8 样品的体外皮肤累积渗透量

Fig. 8 Cumulative penetration amount with the samples *in vitro* skin

3 结论

丹参挥发油与蒲公英提取物以不同质量比进行复配,复配物的抗氧化活性具有明显协同增效作用,清除率略高于阳性对照 V_C 。

丹参挥发油对酪氨酸酶的抑制类型为竞争性抑制,抑制常数为 0.0049 mg/L。丹参挥发油与蒲公英提取物两者复配物对酪氨酸酶抑制无相互不利影响,没有表现出拮抗作用。

丹参挥发油与蒲公英提取物复配物对金黄色葡萄球菌的抑菌作用要明显优于单一提取物的抑菌性,具有显著的协同抑菌增效作用,抑菌效果与阳性对照硫酸链霉素相当,达到极敏效果。

当丹参挥发油溶液、蒲公英提取物溶液及其复配物的质量浓度 ≤ 100 mg/L 时,无明显的细胞毒性,安全性很高,可通过化妆品细胞学评价。

丹参挥发油比蒲公英提取物含有更多的小分子,能够高效透皮吸收,二者复配后丹参挥发油可促进蒲公英提取物的吸收,增强二者的功效。

综上所述,将丹参挥发油和蒲公英提取物进行油水体系复配,可增强样品的美白、抑菌、抗氧化、透皮吸收等功效,且可使天然植物提取物更适合在不同油水类型的食品、日化产品中获得应用。

参考文献:

- [1] LI F H (李芳华), WANG J (王菁), GAO S T (高淑婷), *et al.* Research progress on the efficacy of plant ingredients in skin care cosmetics[J]. Applied Chemical Industry (应用化工), 2020, 49(3): 735-740.
- [2] WU Y (吴颖), CUI B Y (崔彬滔), WANG L (王露), *et al.*

- Comparison on the antioxidant activity and tyrosinase inhibitory effect of five natural plant extracts[J]. *Modern Food Science and Technology* (现代食品科技), 2018, 34(10): 81-86, 37.
- [3] YU H M (余汉谋), JIANG X T (姜兴涛), LI Q Y (李庆廷), *et al.* Progress in research work on skin-whitening effect of essential oils[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics* (日用化学工业), 2014, 44(1): 45-49.
- [4] ZHANG M L (张美龄). Study on the plant extracts for cosmetics preservatives[D]. Wuxi: Jiangnan University (江南大学), 2017.
- [5] ELHIDAR N, NAFIS A, KASRATI A, *et al.* Chemical composition, antimicrobial activities and synergistic effects of essential oil from *Senecio anteuphorbium*, a moroccan endemic plant[J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 130: 310-315.
- [6] WANG Y L (王云龙), FANG Q (房岐), ZHENG C (郑超), *et al.* Research progress of phytochemistry, pharmacological action and quality control of *Salvia Miltiorrhiza*[J]. *China Pharmaceuticals* (中国药业), 2020, 29(15): 6-10.
- [7] CHEN Y S, LEE S M, LIN Y J, *et al.* Effects of danshensu and salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* Bunge (*Lamiaceae*) on cell proliferation and collagen and melanin production[J]. *Molecules*, 2014, 19(2): 2029-2041.
- [8] HE S (何珊), FU X J (付先军), ZHANG L (张玲), *et al.* Study on integrated extraction technology for effective components of Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) by response surface methodology and its antioxidant activity *in vitro*[J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine* (中华中医药学刊), 2021, 39(01): 28-32, 266-267.
- [9] XIE T T, MA S L, LOU H X, *et al.* Two novel abietane norditerpenoids with anti-inflammatory properties from the roots of *Salvia miltiorrhiza* var. *alba*[J]. *Tetrahedron Letters*, 2014, 55(51): 7106-7109.
- [10] DIAN L H (典灵辉), GONG X L (龚先玲), ZHANG L J (张立坚), *et al.* Analysis of volatile oils in *Salvia miltiorrhiza* Bge.[J]. *LiShiZhen Medicine and Materia Medica Research* (时珍国医国药), 2006, (1): 34-35.
- [11] LIANG J Y (梁嘉钰), ZHAO S Y (赵思雨), LIU J (刘佳), *et al.* Investigation on extraction technology and components determination of *Salvia* volatile oil[J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University* (沈阳药科大学学报), 2018, 35(4): 301-305.
- [12] LEE D S, LEE S H, NOH J G, *et al.* Antibacterial activities of cryptotanshinone and dihydrotanshinone I from a medicinal herb, *Salvia miltiorrhiza* Bunge[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1999, 63(12): 2236-2239.
- [13] HOU R R (侯荣荣), DU F T (杜峰涛), ZOU X Y (邹星月), *et al.* Advances in the application of taraxacum active substances[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin* (安徽农学通报), 2019, 25(22): 27-28, 53.
- [14] GAO F X (高飞雄), LIANG Y K (梁引库), LI Y X (李云祥), *et al.* Antibacterial effect and mechanism of dandelion phytic acid on *Salmonella*[J]. *Natural Product Research and Development* (天然产物研究与开发), 2019, 31(6): 975-980, 985.
- [15] WU Y (吴颖), WANG J Q (王佳其), TANG W (唐文), *et al.* Inhibitory effect of tyrosinase on flavonoids from dandelion[J]. *The Food Industry* (食品工业), 2021, 42(6): 283-287.
- [16] ZOU S H (邹世辉). Research progress on bioactive substances of taraxacum mongolicum[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences* (黑龙江农业科学), 2019, (8): 186-189.
- [17] CAI L L, CHEN B H, YI F L, *et al.* Optimization of extraction of polysaccharide from dandelion root by response surface methodology: Structural characterization and antioxidant activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 140: 907-919.
- [18] YANG H Y (杨环毓), QIAN Z Y (钱忠英), FU X H (傅秀花), *et al.* Study on skin care efficacy of black tea and green tea extract[J]. *Fine Chemicals* (精细化工), 2020, 37(2): 426-432.
- [19] SHI Y B (石艳宾), LI J (李景), LIU H (刘浩), *et al.* Synergistic antioxidant activity among polyphenols by response surface methodology[J]. *Science and Technology of Food Industry* (食品工业科技), 2017, 38(17): 61-64, 69.
- [20] AHMED M H, ALDESOUKI H M, BADRIA F A. Effect of phenolic compounds from the rind of *Punica granatum* on the activity of three metabolism-related enzymes[J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2020, 67(6): 960-972.
- [21] ZHOU D Q (周德庆). Microbial experiment course[M]. Beijing: Higher Education Press (高等教育出版社), 2006.
- [22] DUAN W L (段伟丽), LIU Y Q (刘艳秋), BAO Y H (包怡红), *et al.* Study on antimicrobial activities and stability of essential oil from artemisia argyi[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology* (食品与生物技术学报), 2015, 34(12): 1332-1337.
- [23] SHI Z (石真). Chemical separation of essential oil from *Eupatorium adenophorum* and its anti-inflammatory effect *in vitro*[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University (四川农业大学), 2019.
- [24] LI R (李蕊), ZHANG N (张楠), YAO L (姚雷), *et al.* Study on the hair growth promotion effect of lavender essential oil and Asian mint essential oil[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics* (日用化学工业), 2020, 50(8): 536-541.
- [25] YANG N (杨娜). Percutaneous permeability enhancement of volatile oils from *Angelica Sinensis*[J]. *Guangdong Chemical Industry* (广东化工), 2020, 47(18): 65-67.
- [26] LI Y (李莹). Construction of chemical sunscreen/lignin microcapsules and their applied fundamental research[D]. Guangzhou: South China University of Technology (华南理工大学), 2018.
- [27] BISWAS R, CHANDA J, KAR A, *et al.* Tyrosinase inhibitory mechanism of betulinic acid from *Dillenia indica*[J]. *Food Chemistry*, 2017, 232: 689-696.

(上接第 553 页)

- [14] SHIEH P, ZHANG W X, HUSTED K E L, *et al.* Cleavable comonomers enable degradable, recyclable thermoset plastics[J]. *Nature*, 2020, 583(7817): 542-547.
- [15] LIU H Y, WEI H B, MOORE J S. Frontal ring-opening metathesis copolymerization: Deviation of front velocity from mixing rules[J]. *ACS Macro Lett*, 2019, 8(7): 846-851.
- [16] BAO Y (鲍燕), DING Y (丁颖). Research progress of water-based alkyd resins[J]. *Fine Chemicals* (精细化工), 2020, 37(6): 1107-1115.
- [17] WEI Y B (魏元博), AN Q F (安秋风), ZHAO J (赵洁). Synthesis and application properties of quaternary ammonium modified amino polysiloxane[J]. *Fine Chemicals* (精细化工), 2014, 31(5): 627-632.
- [18] AKINDOYO J, BEG M D H, GHAZALI S, *et al.* Polyurethane types, synthesis and applications-A review[J]. *RSC Adv*, 2016, 6(115): 114453-114482.
- [19] CUTHBERT T J, LI T, SPEED A W H, *et al.* Structure of the thermally induced cross-link in C-linked methyl ester-functionalized polydicyclopentadiene (pDPCPD)[J]. *Macromolecules*, 2018, 51(5): 2038-2047.
- [20] TRNKA T, MORGAN J, SANFIRD M S, *et al.* Synthesis and activity of ruthenium alkylidene complexes coordinated with phosphine and *N*-heterocyclic carbene ligands[J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(9): 2546-2558.
- [21] LIU F (刘枫). Study on synthesis of PDCPD and copolymer[D]. Dalian: Dalian University of Technology (大连理工大学), 2012.
- [22] HU F Y (胡方圆). Preparation and modification of polydicyclopentadiene [D]. Dalian: Dalian University of Technology (大连理工大学), 2014.
- [23] HUANG J, DAVID A, GAC P Y L, *et al.* Thermal oxidation of poly(dicyclopentadiene)-Kinetic modeling of double bond consumption [J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2019, 166: 258-271.
- [24] HUANG J, MINNE W, DROZDZAK R, *et al.* Thermal oxidation of poly(dicyclopentadiene)-decomposition of hydroperoxides[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2020, 174: 109102.
- [25] GONG L J, XU W J, LIU K, *et al.* ROMP of acetoxy-substituted dicyclopentadiene to linear polymer with a high T_g [J]. *RSC Adv*, 2015, 5(33): 26185-26188.
- [26] DEAN L M, WU Q, ALSHANGITI Q, *et al.* Rapid synthesis of elastomers and thermosets with tunable thermomechanical properties [J]. *ACS Macro Letters*, 2020, 9(6): 819-824.