

青刺尖纯露及其组合物的酪氨酸酶抑制与抗氧化活性研究

陈艳¹, 赵颖^{2,4}, 殷小雅³, 王云月¹, 杨立新^{2,4*}¹云南农业大学植物保护学院; ²中国科学院昆明植物研究所 植物医生研发中心;³云南民族大学民族医药学院, 昆明 650201; ⁴云南省生物多样性和传统知识研究会, 昆明 650034

摘要:青刺(*Prinsepia utilis* Royle)是一种药食同源的多年生落叶灌木,青刺尖为其叶和嫩茎部位。为提升本研究对照样品(青刺果油含量0.1%)的护肤活性。采用天然药物化学与护肤活性测试的方法,对青刺尖的护肤活性进行初步研究。结果表明:最优除味工艺为料液比1:10 g/mL,时间15 min、温度为70 °C;提取的青刺尖纯露在除味前后、加入青刺中含有的一些活性化合物后,其抗氧化和酪氨酸酶抑制活性均有所增加,并高于对照样品。本研究初步验证了青刺尖纯露具有潜在的护肤活性,为青刺资源及相关传统知识的利用保护与传承,奠定了初步的应用基础。

关键词:青刺;护肤;组合物;酪氨酸酶抑制活性;抗氧化活性

中图分类号:S58

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023) Suppl-0037-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.S.005

Study on tyrosinase inhibition and antioxidant activity of *Prinsepia utilis* Royle pure dew and its composition

CHEN Yan¹, ZHAO Ying^{2,4}, YIN Xiao-ya³, WANG Yun-yue¹, YANG Li-xin^{2,4*}¹College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University; ²Bio-Innovation Center of Dr Plant, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences;³College of Ethnic Medicine, Yunnan University for Nationalities, Kunming 650201, China;⁴Center of Biodiversity and Indigenous Knowledge, Kunming 650034, China

Abstract: *Prinsepia utilis* Royle is a medicinal and edible perennial deciduous shrub. The shoot of *P. utilis* is its leaf and tender stem. In order to improve the skin care activities of the control sample (*P. utilis* oil content 0.1%) in this study. The skin care activities of *P. utilis* was preliminarily studied by means of natural medicinal chemistry and skin care activity test. The results showed that the optimal deodorization process was as follows: the ratio of material to liquid was 1:10 g/mL, the time was 15 min, and the temperature was 70 °C. The antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of the pure dew extract of *P. utilis* before and after deodorization and after adding some active compounds contained in *P. utilis* increased, and were higher than those of the control samples. This study preliminarily verified the potential skin care activity of *P. utilis* pure dew, and laid a preliminary application foundation for the utilization, protection and inheritance of *P. utilis* resources and related traditional knowledge.

Key words: *Prinsepia utilis*; skin care; composition; tyrosinase inhibition; antioxidant activity

青刺(*Prinsepia utilis* Royle)是蔷薇科(Rosaceae)扁核木属(*Prinsepia*)多年生落叶灌木,是一种木本油料植物^[1],具冬花春实的生物学特性^[2]。我国主要分布在西南地区的高寒山区(海拔1400~3100 m),以云贵高原西部及西藏地区为主,云南境

内在滇西北、滇中、滇东南地区均有分布,核心分布区主要是滇西北地区,如丽江市、大理白族自治州和迪庆藏族自治州等^[3]。其传统知识始载于《滇南本草》:“青刺尖,性散寒,味苦。攻一切疮毒痈疽、有脓出头、无脓立消、散结核,嚼细,用酒服”^[4]。它全身是宝,多个部位可入药,在纳西族的《玉龙本草》中也有记载:“青刺嫩茎、叶,治小儿高热惊风、肺热咳嗽、肺炎、淋巴结核、咽喉肿痛、风火牙痛、刀伤、骨折、祛翳明目、疮毒等;青刺果油可治久咳不止”^[5]。

收稿日期:2023-03-02 接受日期:2023-05-17

基金项目:国家自然科学基金(31970357);植物医生项目(E1503812C1);云南省科技厅建设面向南亚东南亚科技创新中心专项(202203AP140007)

*通信作者 Tel:86-013529157842; E-mail:rattan@mail.kib.ac.cn

西南的许多少数民族,如彝族、苗族、傈僳族、纳西族、普米族均有使用青刺的历史和习惯,青刺长期作为绿篱植物被种在房前屋后,作为药物、食品和护肤品使用^[6]。

青刺的研究始于90年代初,近30年对青刺及其相关产品的化学成分研究发现,青刺根、茎、果仁中富含维生素、脂肪酸、多糖、黄酮、萜类等,具有抗菌、抗肿瘤、降血脂、抗炎、抗氧化、保湿等作用^[1]。现代研究表明,青刺茎中含有左旋-表儿茶精、构树宁F、槲皮素、异鼠李素、山柰酚、 β -谷甾醇- β -葡萄糖苷、青刺尖木脂醇^[7]。对青刺果叶提取物进行了抗氧化、抗炎的研究,结果表明青刺果叶提取物对BPH大鼠有抗炎和抗氧化的作用^[8]。通过皮肤化妆品活性筛选研究,HDFa细胞毒性实验显示,在100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下,青刺根、茎、叶、花、种子、茎皮、果肉、粕、果油的乙醇提取物,细胞存活率均在80%以上,其中:青刺种子、花、粕提取物表现出较高的安全性和一定的促细胞再生功能,说明青刺提取物表现出良好的安全性($\text{IC}_{50} = 0.242 \mu\text{g}/\text{mL}$)。通过DPPH抗氧化活性实验表明,青刺果肉的抗氧化活性较好^[9]。与青刺其他各部位相比,传统药食用的青刺尖(嫩叶或嫩茎)中富含多种黄酮类物质,具有较大的研究潜力,然而,目前对青刺尖的护肤活性研究却鲜有报道。

纯露又称水精油、花水、芳香蒸馏水等,是精油提取过程中馏出的冷凝液,通常被认为是精油的副产品^[10]。该研究以青刺尖为原材料,采用蒸馏法提取青刺尖纯露,作为后续青刺尖纯露组合物的主要原料,在实验团队前期对青刺果油研究的基础上,选取出青刺中含有的活性化合物,将青刺尖纯露与相关活性化合物进行组合,为提升本研究对照样品(青刺果油含量0.1%)的护肤活性,增加青刺果油产品的护肤防晒效果,提供一个初步的参考依据。为青刺资源及相关传统知识的利用保护及深度研发,奠定初步的前期应用基础,以期为进一步开发青刺资源在医药、食品、化妆品等行业的应用,提供初步依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

青刺尖(叶和嫩茎),经中国科学院昆明植物研究所杨立新高级工程师鉴定为蔷薇科扁核木属植物青刺(*Prinsepia utilis* Royle)。

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (纯度 $\geq 98\%$,批号 Lot No,天

津市众联化学试剂有限公司)、一水合柠檬酸(纯度99.5%,批号 Lot No,天津市致远化学试剂有限公司)、酪氨酸酶(活力 $\geq 100 \text{ unit}/\text{mg}$ 固体,批号25KU,北京华威锐科化工有限公司)、L-多巴(纯度 $\geq 98\%$,批号201424,上海麦克林生化科技有限公司);阳性对照:曲酸(纯度 $> 98.5\%$,批号K796819,上海麦克林生化科技有限公司)、芦丁(纯度 $\geq 98\%$,批号SR8250,柯意哲(上海)机电工程有限公司)、没食子酸(纯度 $\geq 99.0\%$,批号SG8040,柯意哲(上海)机电工程有限公司)、柠檬酸(纯度3%(w/w),批号C291963,上海阿拉丁生化科技股份有限公司)、DPPH(纯度98%,批号257621, Sigma-Aldrich西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司)、无水乙醇为分析纯,试验所用水均为超纯水。

0.2 mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$:14.33 g溶于200 mL水,用玻棒搅拌至溶解;0.1 mol/L一水合柠檬酸:2.1g溶于100 mL水,用玻棒搅拌至溶解;pH6.8酸氢二钠-柠檬酸缓冲液:0.2 mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 154.5 mL,加入0.1 mol/L一水合柠檬酸45.5 mL,配制成200 mL的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液;100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 酪氨酸酶溶液:用pH6.8磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液配制,临用配制;1 mg/mL左旋多巴溶液:用pH6.8磷酸二钠-柠檬酸缓冲液配制,避光保存。

1.2 仪器与设备

ME204/02电子分析天平(托利多(上海)有限公司,GB-T23111);MH-2000调温型电热套(北京科伟永兴仪器有限公司);85-2恒温磁力搅拌器(金坛市城东新瑞仪器厂);Cence湘仪离心机(2018049-116);KQ-500E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);UV-5500PC分光光度计(上海元析仪器有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 青刺尖纯露的提取

称取一定质量的青刺尖(叶和嫩茎)置于圆底烧瓶中(规格为1 L),加入蒸馏水,用调温型电热套进行加热。收集冷凝后的馏出液,即得青刺尖纯露^[11]。

1.3.2 青刺尖纯露除味试验

选用4种不同的吸附剂,颗粒活性炭、活性白土、硅藻土、粉末活性炭,在料液比1:10 g/mL,温度70 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,用恒温磁力搅拌器搅拌25 min后,用离心机离心,4 000 r/min,取出上清液,进行抽滤,即得除味后的青刺尖纯露^[12]。

1.3.3 青刺尖纯露除味的单因素试验

青刺尖纯露的各单因素梯度为:在温度 70 ℃、时间 15 min 条件下,料液比为 1:10、2:10、3:10、4:10、5:10 g/mL;在温度 70 ℃、料液比 1:10 g/mL 条件下,时间为 5、15、30、45、60、75 min;在料液比 1:10 g/mL、时间 15 min 条件下,温度为 40、50、60、70、80 ℃。

1.3.4 单因素试验样品清除 DPPH 自由基能力测定

自由基在人体系统中必不可少,是现代护肤品的重要指标之一,也是评价护肤活性较为常见的指标。DPPH(1,1-二苯基-2-苦基苯肼 $C_{18}H_{12}N_5O_6$,分子量 394.32)工作液:准确称取 0.003 9 g 的 DPPH 溶解于 10 mL 无水乙醇中,超声混匀 5 min,再吸取 200 μ L 该 DPPH 溶液,加入 1 800 μ L 无水乙醇,在最大吸收波长 517 nm 处测定吸光度 A_0 , $A_0 = 1.2 \sim 1.3$ 之间最佳。避光保存,现配现用^[13]。阳性对照没食子酸:2.5 mg/mL。

取 200 μ L 的供试样品至 5 mL 的离心管,加入 1 600 μ L 的无水乙醇溶液和 200 μ L 0.2 mmol/L DPPH 溶液,混匀,室温避光反应 30 min,测定反应液在 517 nm 处的吸光度。通过公式(1)计算样品对 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = [(A_0 - A_x) / A_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中, A_0 : DPPH 溶液与无水乙醇反应后的吸光度; A_x : DPPH 溶液与样品溶液反应后的吸光度。

1.3.5 青刺尖纯露提取物清除 DPPH 自由基能力测定

基于实验室前期研究基础^[13]选取青刺中含有的活性化合物,包括没食子酸、芦丁及辅料柠檬酸,旨在提高原有青刺尖纯露的护肤活性。

没食子酸添加量分别为 0.01%、0.03%、0.05%、0.1%、0.3%、0.5%,编号 M-1、M-2、M-3、M-4、M-5、M-6;柠檬酸添加量分别为 0.05%、0.1%、0.3%、0.5%,编号 N-1、N-2、N-3、N-4;由于芦丁为有色物质,需添加至无色状态,添加量为 0.000 1%,编号 L。

取 200、400、800 μ L 的供试样品分别至 5 mL 离心管,分别加入 1 600、1 400、1 000 μ L 的无水乙醇溶液和 200 μ L 0.2 mmol/L DPPH 溶液,混匀,室温避光反应 30 min,测定反应液在 517 nm 处的吸光度。阳性对照同“1.3.4”。通过公式(2)计算样品对 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率} =$$

$$[1 - (A_x - A_{x_0}) / A_0] \times 100\% \quad (2)$$

式中, A_0 : DPPH 溶液与无水乙醇反应后的吸光度; A_x : DPPH 溶液与样品溶液反应后的吸光度; A_{x_0} : 无水乙醇与样品溶液反应后的吸光度。

1.3.6 青刺尖纯露提取物酪氨酸酶抑制活性测定

阳性对照物用 pH6.8 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液稀释成:1、0.2、0.04、0.008 mg/mL 系列浓度梯度,用以验证试验系统;供试物处理:添加青刺提取物后的青刺尖纯露。

参照表 1,使用 10 mL 试管设立样品管(T)、样品本底(T_0)、酶反应管(C)和溶剂本底(C_0),每一样品的每个受试浓度的样品管(T)需设立 3 支平行管,同时酶反应管(C)也需设立 3 支平行管。在样品管(T)和样品本底(T_0)中各加入 1 mL 相同浓度的样品溶液,酶反应管(C)和溶剂本底(C_0)则分别加入 1 mL 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液。在样品管(T)和酶反应管(C)中各加入 0.5 mL 酪氨酸酶溶液,样品本底(T_0)与溶剂本底(C_0)以 0.5 mL 磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液代替,将样品和酪氨酸酶充分混匀,置 37 ℃ 水浴槽孵育 10 min。依次在各管中加入 2 mL 的 L-多巴溶液,控制每管反应时间为 5 min,即刻将各管反应溶液移入比色皿中,在 475 nm 处测定吸光值。通过公式(3)计算样品的酪氨酸酶抑制率。

$$\text{酪氨酸酶活性抑制率} =$$

$$1 - [(T - T_0) / (C - C_0)] \times 100\% \quad (3)$$

表 1 实验加样表

Table 1 Experimental operation table

实验组号 Experimental group number	样品溶液 Sample solution (mL)	磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液 Disodium hydrogen phosphate-citric acid buffer (mL)	酪氨酸酶溶液 Tyrosinase solution (mL)	左旋多巴溶液 Levodopa solution (mL)	平行次数 Number of parallel
T	1	-	0.5	2	3/样
T_0	1	0.5	-	2	1/样
C	-	1	0.5	2	3/试验
C_0	-	1.5	-	2	3/试验

注: - 表示不添加相应试剂。

Note: - denotes that no corresponding reagent is added.

式中, T :品管吸光值,即样品与酪氨酸酶反应后溶液吸光值; T_0 :样品本底吸光值; C :酶反应管吸光值 3 次平均值,即未加样品时酪氨酸酶和多巴反应的吸光值; C_0 :溶剂本底吸光值。

1.3.7 青刺尖纯露组合物清除 DPPH 自由基能力测定

方法同“1.3.5”,供试样品添加量分别为 100、200、400、800 μL 。

1.3.8 青刺尖纯露组合物酪氨酸酶抑制活性测定方法同“1.3.6”。

1.3.9 青刺尖纯露组合物感官评价

一般消费者评价化妆品品质主要通过直观感受来评价^[14]。因此,该研究采用综合感官评分作为青刺尖护肤组合物的评价指标,组织 12 人的感官品评小组,评审小组成员均是学生和老师,分别从青刺尖纯露组合物的色泽、气味、粘稠度、皮肤吸收效果和肤感 5 个方面对产品进行感官评定。每个评审员单独评分后,回收评分表。综合感官评分为所有有效评分的平均分(剔除个别明显无效评分)(见表 2)。

表 2 感官测定内容
Table 2 Rules of sensory measurement

项目 Item	细则与要求 Rules and requirements	评分 Score
色泽 Tincture	透亮 Transparent	8~10
	微黄 Slight yellow	7~5
	其他颜色 Other colors	1~4
气味 Odour	清新宜人 Fresh and pleasant	8~10
	无味 Tasteless	7~5
	异味 Abnormal flavour	1~4
粘稠度 Sliminess	稀 Rare	8~10
	中 Mid	7~5
	粘 Sticky	1~4
皮肤吸收效果 Skin absorption effect	快 Fast	8~10
	中 Mid	7~5
	慢 Slow	1~4
肤感 Skin feeling	清爽 Cleanlily	8~10
	油腻 Oiliness	7~5
	粗糙 Coarseness	1~4

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2019 整理数据,SPSS 26.0 和 DPS 7.05 软件进行统计分析,并作图。

2 结果与分析

2.1 青刺尖纯露除味及最优除味工艺的选择

由于用蒸馏法提取青刺尖纯露的过程中,蒸出来一些挥发性成分及矿物养分(单宁酸及类黄酮),导致纯露味道不佳,需进行除味试验。通过查阅文献,本研究选用了 4 种不同的吸附剂,颗粒活性炭、活性白土、硅藻土、粉末活性炭,去除青刺尖纯露味道后,采用了感官评价的方法,判定 4 种不同的吸附剂,哪种除味效果更好,结果表明,硅藻土 < 颗粒活性炭 < 活性白土 = 粉末活性炭,因此,选择粉末活性炭参与后续青刺尖纯露除味的单因素试验。

根据青刺尖纯露的各单因素梯度,设计了单因

素试验,在不同料液比和不同时间的试验中,5:10 g/mL 和 75 min 时样品被蒸干,无法参与后续试验,故对剩余 14 个样品,首先进行感官评价,结果表明,与原纯露相比,均无味,无法筛选出最优除味工艺,因此,测定其清除 DPPH 自由基的能力,以筛选出最优除味工艺。

2.2 单因素试验样品清除 DPPH 自由基的能力

如图 1 所示,除味前后青刺尖纯露均具有一定的抗氧化活性,且存在显著性差异($P < 0.05$)。经过不同料液比(LYB)、不同温度(T)、不同时间(t)处理的 14 个样品,其中:LYB-1 至 LYB-4 指在温度 70 $^{\circ}\text{C}$ 、时间 15 min 条件下,料液比为 1:10、2:10、3:10、4:10 g/mL;T-1 至 T-5 指在料液比 1:10 g/mL、时间 15 min 条件下,温度为 40、50、60、70、80 $^{\circ}\text{C}$;t-1 至 t-5 指在温度 70 $^{\circ}\text{C}$ 、料液比 1:10 g/mL 条件下,时

间为 5、15、30、45、60 min; Y 指原青刺尖纯露, t-1 清除 DPPH 自由基的能力最高, 清除率为 $(7.02 \pm 0.20)\%$, 并且高于除味前的青刺尖纯露 Y, 清除率

为 $(6.18 \pm 0.20)\%$, 所以, 最优除味工艺为料液比 1 : 10 g/mL、时间 15 min、温度为 70 °C, 即为 t-1。

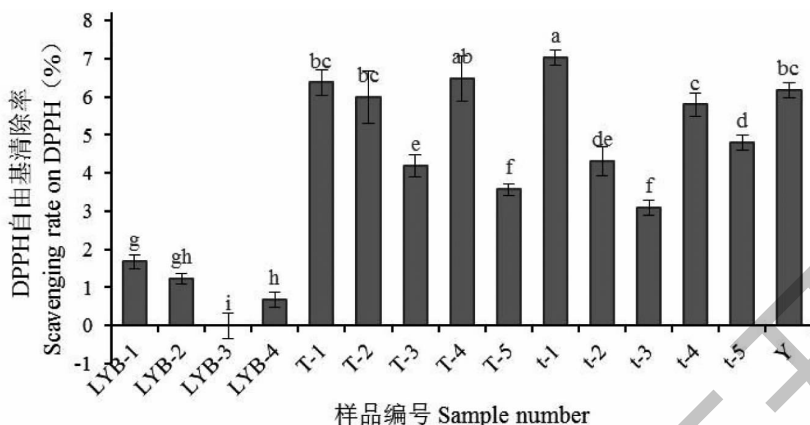


图 1 单因素试验样品清除 DPPH 自由基的能力

Fig. 1 The ability of scavenging DPPH free radical of single factor test sample

注:不同小写字母间表示在 0.05 水平的差异显著。Note: The difference between different lowercase letters is significant at the 0.05 level.

2.3 青刺尖纯露提取物清除 DPPH 自由基的能力

基于实验团队对青刺前期研究, 筛选出一些青刺中含有的物质, 作为青刺尖纯露组合物中添加的提取物, 根据其溶解性, 最后筛选出没食子酸、芦丁, 以及辅料柠檬酸。如图 2 所示, 在除味后的青刺尖纯露 t-1 中加入不同比例不同种类的提取物后, 其抗氧化活性均有所增加, 且存在显著性差异 ($P < 0.05$), 并高于除味前的青刺尖纯露和对照样品 (青刺果油含量 0.1%), 添加芦丁的样品清除 DPPH 自由基的能力弱于其他两个添加物, 出现这种情况的原因, 可能是添加量太少, 芦丁为有色提取物, 添加至 0.000 1% 时才达到无色状态, 后续可尝试组合提

取物; 添加没食子酸的 6 个样品, 抗氧化活性均随浓度的增加而增加, 但后 3 个浓度清除率差异不大, 在 800 μL 时, M-4 清除 DPPH 自由基的能力比对照样品高出 14.56 倍左右, 最高浓度时达 $(88.23 \pm 1.22)\%$, 与 M-5 和 M-6 相差不大, 从提取物价格方面考虑, 选择 M-4; 添加柠檬酸的 4 个样品, 其抗氧化活性均随浓度的增大而增大, 测试样品 pH 值后发现, N-4 呈强酸性, 其余 pH 值均在 5-6 左右, 呈弱酸性, 而且柠檬酸只是起到辅料的作用, 不宜添加过多, 所以最后确定为 N-1, 因此, 选择 L、M-5、M-6 和 N-1 参与后续青刺尖纯露组合物试验。

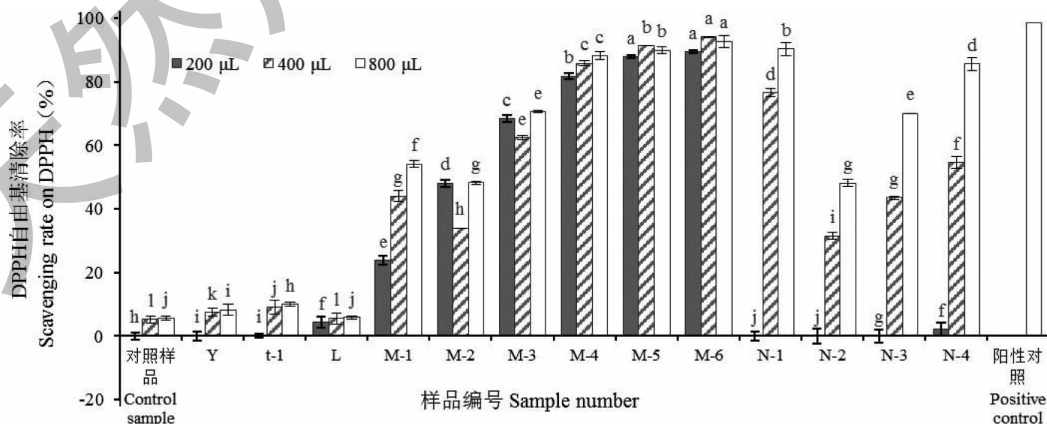


图 2 青刺尖纯露提取物清除 DPPH 自由基的能力

Fig. 2 DPPH free radical scavenging activity of *P. utilis* pure dew extract

注:不同小写字母间表示在 0.05 水平的差异显著。Note: The difference between different lowercase letters is significant at the 0.05 level.

2.4 青刺尖提取物酪氨酸酶抑制活性

对样品进行酪氨酸酶抑制活性测试前,需先进行系统验证,如图3所示,其回归方程为 $Y = -0.2949X + 1.3088$, $R^2 = 0.9754$ 。线性关系良好,可继续后续试验。

如图4所示,对14个样品进行酪氨酸酶抑制活性测定,结果显示,加入没食子酸与柠檬酸的样品,酪氨酸酶抑制活性均随质量浓度的增加而增加,且存在显著性差异($P < 0.05$)。原青刺尖纯露酪氨酸酶抑制能力虽高于除味后,但由于原纯露气味不佳,消费者不喜欢,所以仍选用除味后的青刺尖纯露。不论加入哪种提取物,酪氨酸酶抑制活性均高于 t-1,且都高于对照样品(青刺果油含量 0.1%),

但由于柠檬酸添加量及 pH 值限定,选 N-1,因此,选择 M-4、L、M-5、M-6 和 N-1 参与后续组合物实验。

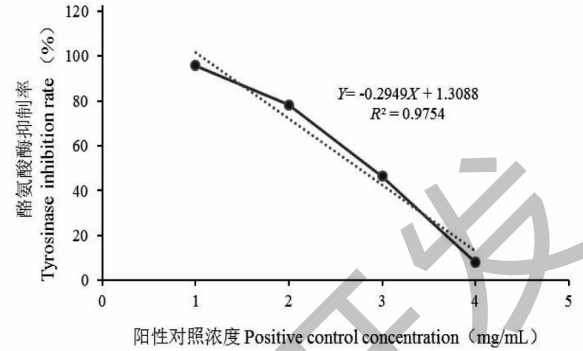


图3 试验有效性验证系统

Fig. 3 Test validity verification system

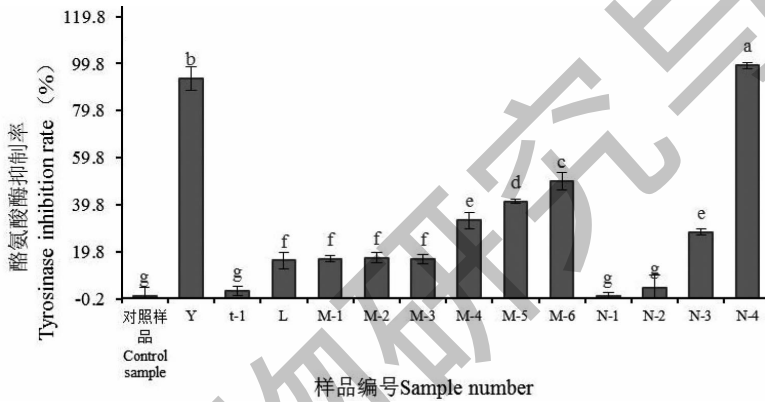


图4 青刺尖纯露提取物酪氨酸酶抑制活性

Fig. 4 Tyrosinase inhibitory activity of *P. utilis* pure dew extract

注:不同小写字母间表示在 0.05 水平的差异显著。Note: The difference between different lowercase letters is significant at the 0.05 level.

2.5 青刺尖纯露组合物清除 DPPH 自由基的能力

对 L、M-5、M-6、N-1 样品进行两两组合,组合 1

= M-5 + N-1、组合 2 = M-6 + N-1、组合 3 = M-5 + L、组合 4 = M-6 + L、组合 5 = N-1 + L,测定

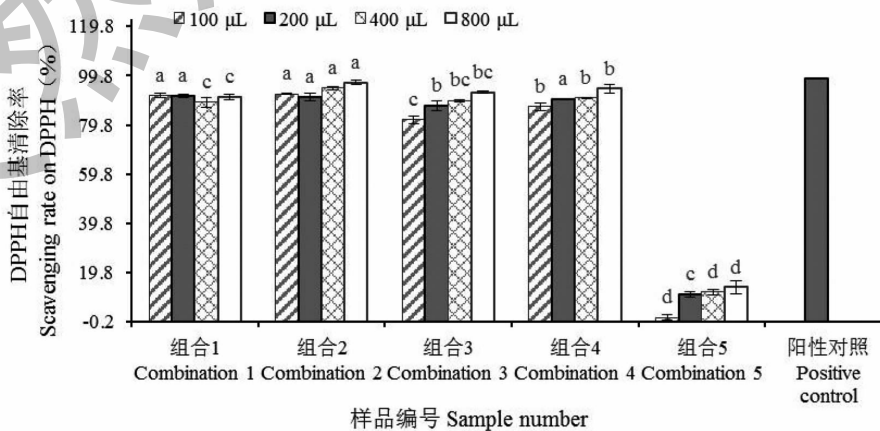


图5 青刺尖纯露组合物清除 DPPH 自由基的能力

Fig. 5 The ability of scavenging DPPH free radical of the shoot of *P. utilis* pure dew composition

注:不同小写字母间表示在 0.05 水平的差异显著。Note: The difference between different lowercase letters is significant at the 0.05 level.

其清除 DPPH 自由基的能力,结果如图 5 所示,组合 1 和组合 2 均随浓度的升高呈现先上升后下降的趋势,组合 1 在 100 μL 时清除率达到最高($91.73 \pm 0.79\%$),组合 2 在 800 μL 时达到最大,为($96.96 \pm 0.79\%$),组合 3 和组合 4 均随浓度的升高清除率缓慢上升,组合 3 和组合 4 均在 800 μL 时达到最大清除率,分别为($93.06 \pm 0.36\%$), ($94.43 \pm 1.94\%$), 第五个组合清除率较低,最高浓度时清除率仅有 ($13.88 \pm 2.67\%$),因此,选组合 1、组合 2、组合 3、组合 4 和之前筛选出的 M-4 参与后续感官评价。

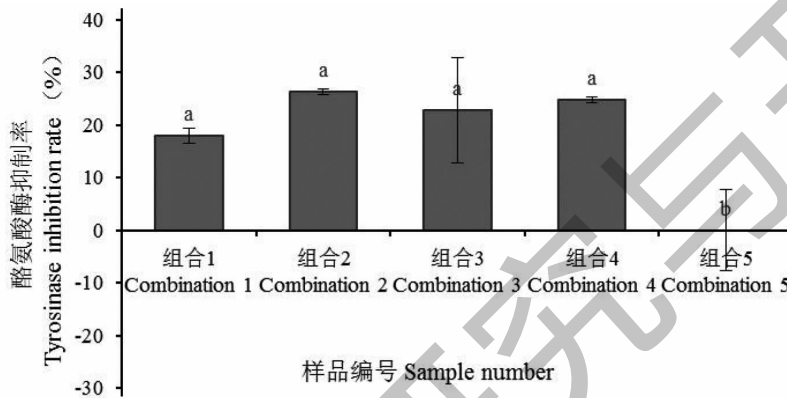


图 6 青刺尖纯露组合物酪氨酸酶抑制活性

Fig. 6 Tyrosinase inhibitor activity of the shoot of *P. utilis* pure dew composition

注:不同小写字母间表示在 0.05 水平的差异显著。Note: The difference between different lowercase letters is significant at the 0.05 level.

2.7 青刺尖纯露组合物感官评价

根据表 13 青刺尖纯露组合物感官评价规则,选 12 个人对组合 1、组合 2、组合 3、组合 4、M-4 进行了测评。感官评价结果如图 7 所示,先涂抹精华油后喷青刺尖纯露组合物(见图 7A):组合 4 > 组合 3 > 组合 1 > M-4 > 组合 2;先喷青刺尖纯露组合物后涂抹精华油(见图 7B):组合 4 > 组合 3 > M-4 > 组合 1 > 组合 2。根据感官评价及护肤活性测定结果,最终选出组合 1、组合 3、组合 4、M-4,对其进行放大实验。

3 讨论与结论

通过文献中对青刺(*P. utilis*)的民族植物学研究,以青刺(*P. utilis*)的相关传统知识为线索,选取青刺茎叶作为实验材料,提取青刺尖纯露。但提取后的青刺尖纯露消费者并不是很喜欢,可能是由于纯露中含有矿物养分(单宁酸及类黄酮)及挥发性成分被蒸出的原因^[15],因此,进行了青刺尖纯露的除味试验,获得最优除味工艺为料液比 1:10 g/mL、时间 15 min、温度为 70 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.6 青刺尖纯露组合物酪氨酸酶抑制活性

对 L、M-5、M-6、N-1 样品进行组合,组合 1 = M-5 + N-1、组合 2 = M-6 + N-1、组合 3 = M-5 + L、组合 4 = M-6 + L、组合 5 = N-1 + L,测定其酪氨酸酶抑制能力,结果如图 6 所示,前四个组合酪氨酸酶抑制能力分别为($17.92 \pm 0.007\%$)、($26.27 \pm 0.005\%$)、($22.78 \pm 0.100\%$)、($24.76 \pm 0.005\%$),均接近 20% 左右,第五个组合抑制率为 0。因此,选组合 1、组合 2、组合 3、组合 4 和之前筛选出的 M-4 参与后续感官评价。

选取青刺中含有的两种活性化合物,以青刺尖纯露及对照样品(青刺果油含量 0.1%)的抗氧化活性和酪氨酸酶抑制活性为指标,对其除味前后青刺尖纯露及青刺尖纯露提取物进行抗氧化活性和酪氨酸酶抑制活性测试。结果表明,本研究提取的青刺尖纯露在除味前后均具有一定的抗氧化活性和酪氨酸酶抑制活性;按不同比例加入青刺中含有的两种活性化合物没食子酸、芦丁,及辅料柠檬酸后,表现出较好的清除 DPPH 自由基的能力和酪氨酸酶抑制能力,并且这种清除能力和抑制能力均随浓度的增加而增加,呈现出良好的活性和量效关系,且都高于对照样品(青刺果油含量 0.1%)。柠檬酸在抑制酶促褐变方面具有较为明显的功效,其添加量一般为 0.5% ~ 1.0%^[9]。验证了青刺传统护肤知识应用的安全性、有效性和皮肤化妆品的活性。

本研究对青刺尖纯露提取物中护肤活性较好的 M-5、M-6、N-1、L 两两组合后,进行青刺尖纯露组合物护肤活性测试及感官评价。结果表明,没食子酸与柠檬酸、没食子酸与芦丁的组合都表现出不俗的

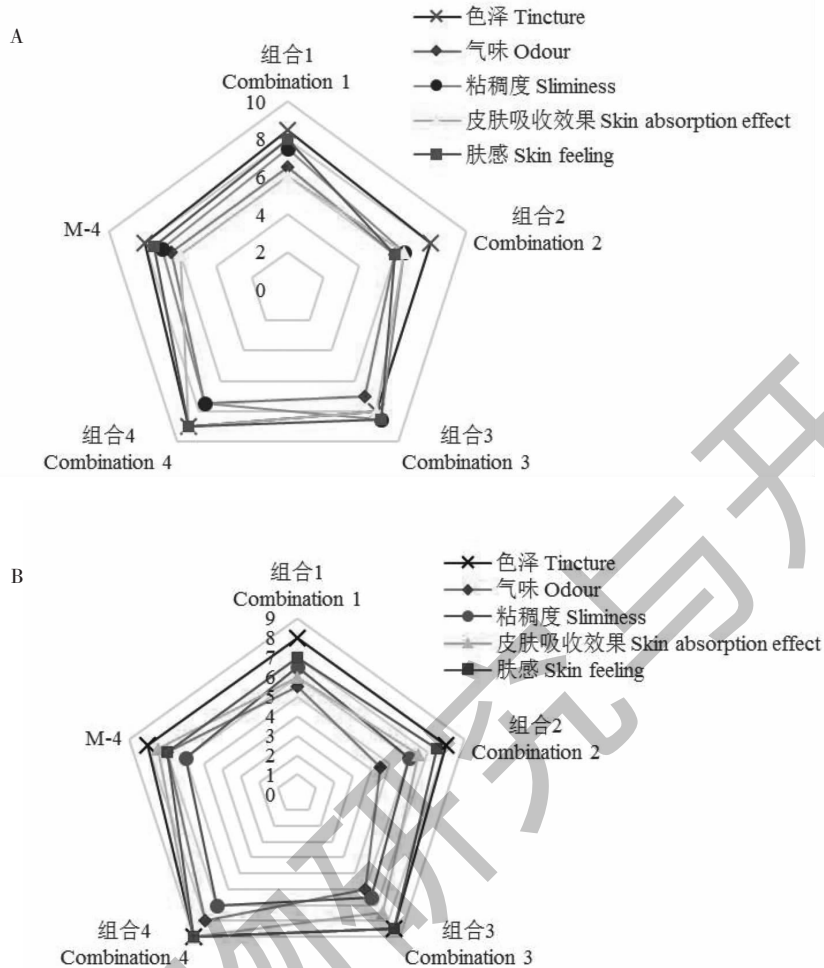


图7 青刺尖纯露组合物感官评价

Fig. 7 Sensory evaluation of the shoot of *P. utilis* pure dew composition

注:A. 先涂抹精华油后喷青刺尖纯露组合物;B. 先喷青刺尖纯露组合物后涂抹精华油。Note: A. First apply the essence oil and then spray the composition of the shoot of *P. utilis* pure dew; B. Spray the composition of the shoot of *P. utilis* pure dew first and then apply the essence oil.

抗氧化活性和酪氨酸酶抑制活性,将表现优异的四个组合与 M-4 进行感官评价后,最终选择组合 1、组合 3、组合 4、M-4。本研究选用的两种活性化合物,如没食子酸、芦丁等,具有显著的抗氧化、抗菌、美白、抗过敏、防晒^[16]、抗炎、防晒等护肤活性^[17]。 α -羟基酸是指 α 位上被羟基替代的一组有机酸,如柠檬酸、乳酸、酒石酸、苹果酸等,常作为螯合剂、pH 调节剂或香料成分被广泛应用于护肤类化妆品中,具有调理皮肤、抗老化等功效^[18]。

目前纯露的提取大多选用芳香型植物,如玫瑰、茉莉等,Wang 等^[19]对四种鲜花(玫瑰、桃花、茉莉和海棠)提取纯露,研究其抗氧化活性,结果表明,海棠纯露对 DPPH 自由基清除率最高,达 $(39.86 \pm 1.53)\%$;海棠纯露具有较强的抗氧化活性。结合本研究结果,初步说明纯露具有一定的护肤潜力,可

加大推广应用。

该研究初步结果,不仅揭示了护肤植物的安全性和有效性,也说明了传统护肤知识与传统护肤活性之间的一致性。为青刺(*P. utilis*)资源及其相关传统知识的保护、传承及深度利用,提供了一个新思路,为进一步研发青刺(*P. utilis*)资源奠定了前期应用基础,以期为进一步开发青刺(*P. utilis*)资源在医药、食品、护肤品等行业的选择应用提供了初步依据。

参考文献

- 1 He QJ, He JW, Wang YP, et al. Overview of *Prinsepia utilis* Royle[J]. Chin J Agronomy(中国农学通报), 2016, 32: 74-78.
- 2 He JP, Li Y, Wang YP, et al. Germplasm resources of *Prinse-*

- pia utilis* Royle in Lijiang[J]. J Agr(农学学报),2020,10: 55-63.
- 3 Zhao YQ,Zhao Y,Yang LX. Ethnobotanical study on *Prinsepia utilis* and related traditional knowledge with skin care[J/OL]. Guihaia(广西植物):1-12[2023-10-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20220805.1725.002.html>.
 - 4 Lan M. *Materia Medica from Yunnan(Vol 2)*(滇南本草:第2卷)[M]. Kunming: Yunnan People's Publishing House(云南人民出版社),1975:426-427.
 - 5 He DS,. *Yulong Materia Medica(Vol. 1)*(玉龙本草:上册)[M]. Kunming: Yunnan Science and technology Press(云南科技出版社),2018:47.
 - 6 Du J. Study on ethnopharmacology of Mosuo people in Lugu lake[D]. Chengdu: Chengdu University Traditional Chinese Medicine(成都中医药大学),2006.
 - 7 Guan B. Studies on chemical constituents and antitumor activity of *Nitraria tangutorum*[D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University(上海交通大学),2013.
 - 8 Peng Y,Peng C,Wu Y, et al. Chemical profiles of the active fraction from *Prinsepia utilis* Royle leaves and its anti-benign prostatic hyperplasia evaluation in animal models[J]. BMC Complement Med Ther,2021,21:272.
 - 9 Yang LX. Investigation and evaluation of Naxi skin care plants and their traditional knowledge[D]. Beijing: Minzu University of China(中央民族大学),2015.
 - 10 Lei G,Zhang A,Liu X, et al. Study on the recovered essential oil obtained from hydrosol of *Yulania denudata* fresh flowers [J]. J Essential Oil Res,2015,27:153-159.
 - 11 Zhang HG,Zhang XB,Hu Y, et al. Preparation of rose hydrosol and its application in cosmetics[J]. Guangdong Chem Ind(广东化工),2020,47:103-104.
 - 12 Su XM,Tang HY,Lv W, et al. Application of activated carbon adsorption technology in water treatment[J]. Chem Ind Manag(化工管理),2022,9:38-40.
 - 13 Sharma OP,Bhat TK. DPPH antioxidant assay revisited[J]. Food Chem,2009,113:1202-1205.
 - 14 Liu HY,Bi YX,Qian SM, et al. Application of different sensory evaluation methods in cosmetics[J]. Frag Cosmet(香料香精化妆品),2019,5:79-82.
 - 15 Yang SH,Zeng XB,Deng YY, et al. Study on the volatile components and antibacterial activity of camphor leaf hydrolysate[J]. Guangdong Agric Sci(广东农业科学),2022,49: 88-96.
 - 16 Zheng XH,Yang J,Yang YH. Research progress on pharmacological effects of gallic acid[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志),2017,37:94-98.
 - 17 Zang ZH,Cao LP,Zhong L, et al. Research progress on pharmacological effects and preparations of rutin[J]. Herald Med(医药导报),2007,26:758-760.
 - 18 Liu TT,Li HX,Gao JM, et al. Analysis of the test results of citric acid in cosmetics[J]. J Food Safe Qual Test(食品安全质量检测学报),2021,12:309-313.
 - 19 Wang R,Zhuang YH, Ji JY, et al. Analysis of in vitro anti-ultraviolet and antioxidant activity of four aromatic pure dews [J]. Biochemical(生物化工),2022,8:40-43.