

药用库拉索芦荟活性多糖的护肤特性研究

任海毅¹, 王巧娥¹, 董银卯^{1*}, 孟 宏²

1. 北京工商大学理学院 北京市植物资源研究开发重点实验室, 北京 100048

2. 中国中医科学院 针灸研究所, 北京 100700

摘要: **目的** 研究库拉索芦荟多糖的保湿特性、经皮吸收特性以及皮肤安全性。**方法** 采用超声辅助提取芦荟活性多糖, 并通过人体皮肤水分含量和水分散失量测试法对所制备的芦荟活性多糖的保湿特性(包括锁水、保水两个方面)进行评价; Franz 扩散池体外透皮吸收法评价其透皮吸收特性; 人体斑贴试验评价其皮肤安全性。**结果** 与空白对照组比较, 库拉索芦荟多糖可显著提高皮肤水合状态 ($P < 0.05$), 同时降低经皮失水 ($P < 0.05$); 多糖质量浓度为 5% 时, 皮肤渗透速率达到 $0.251 \text{ } 0 \text{ mg/(h}\cdot\text{cm}^2)$, 24 h 累计渗透量达 $(4.151 \text{ } 9 \pm 0.046 \text{ } 2) \text{ mg/cm}^2$; 人体皮肤斑贴试验中全部评定为 0 级反应。**结论** 库拉索芦荟活性多糖对皮肤具有显著的保湿功效以及较强的皮肤渗透力, 并且高度安全, 可作为优良的保湿添加剂在化妆品等肤用产品中广泛应用。

关键词: 库拉索芦荟; 多糖; 护肤功效; 皮肤渗透; 保湿

中图分类号: R986 **TQ658.2** **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 6376 (2012) 06 - 0431 - 04

Skincare characteristic of active polysaccharide from *Aloe vera*

REN Hai-yi¹, WANG Qiao-e¹, DONG Yin-mao¹, MENG Hong²

1. Beijing Key Laboratory of Plant Resource Research and Development, School of Sciences, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: **Objective** To investigate the moisturizing properties, percutaneous absorption, and skin safety of active polysaccharide from *Aloe vera* (APAV). **Methods** The APAV was extracted from *Aloe vera* by the ultrasonic assisted extraction. The moisturizing property of the prepared sample was evaluated by the human skin moisture value determination and transepidermal water loss determination. The transdermal absorption characteristics of APAV was investigated by Franz diffusion cell *in vitro* transdermal absorption method. The skin safety was investigated by the human skin patch test method. **Results** APAV could significantly improve skin hydration status ($P < 0.05$), as well as reduce the skin water loss ($P < 0.05$). When the mass concentration of APAV was 5%, the skin penetration rate was $0.251 \text{ } 0 \text{ mg/(h}\cdot\text{cm}^2)$ and the quantity of the transdermal absorption was $(4.151 \text{ } 9 \pm 0.046 \text{ } 2) \text{ mg/cm}^2$ in 24 h. The results of the human skin patch test were all in 0 level. **Conclusion** The results show that APAV has the significant moisturizing effect and strong penetration of the skin and high security on the human skin. It could be used as the moisturizing additive in cosmetic skin products.

Key words: *Aloe vera* L.; polysaccharide; skincare function; transdermal penetration; moisturizing

库拉索芦荟 *Aloe vera* L. 为百合科芦荟属多年生常绿肉质草本植物, 是一味集医疗、美容、保健等多种功能于一体的常用中药, 人类认识和使用芦荟已有 3 000 多年的历史。据史料记载芦荟自古有护肤佳品之誉, 具有优良的保湿特性^[1]。

近十年, 国内外对库拉索芦荟这种天然药用植物的化学成分和应用开发进行了广泛研究, 已经证

明芦荟中含有多糖、蒽醌、氨基酸、蛋白质、有机酸等丰富的天然活性物质, 其中芦荟多糖的含量最高, 且具有健肤美容、调节机体免疫力的良好功效^[2-3], 可广泛应用于各类化妆品、生活日用品、食品、药品、保健品中。目前, 以芦荟多糖为主要原料的化妆品、洗涤用品和功能性食品纷纷问世, 受到消费者的欢迎。鉴于此, 作者对芦荟中的活性多糖进行

收稿日期: 2012-09-25

基金项目: 十二五科技支撑计划 (2012BAD36B02); 北京市优秀人才培养资助计划 (2012D005003000008); 北京市属高等学校科学技术与研究生教育创新工程建设项目 (PXM2012_014213000068)

作者简介: 任海毅 (1987—), 女, 在读硕士, 研究方向为中草药功效成分在化妆品中的应用。E-mail: renhaiyi@163.com

***通讯作者** 董银卯, 教授, 从事植物活性成分开发及应用研究。Tel: (010) 68987110 E-mail: ymdong2008@163.com

提取分离,并进一步对其护肤特性进行了相关研究,以此为库拉索芦荟的深度开发及其在化妆品等肤用产品中的应用提供一定的参考依据。

1 实验材料

1.1 试剂与仪器

三年生库拉索芦荟(北京昭贵公司种植基地提供)、无水葡萄糖、苯酚、浓硫酸、氯化钠均为国产分析纯。

SHZ—D 循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司),SY21—N14 电热恒温水浴锅(北京精科华瑞仪器有限公司),CTXNW—2B 超声循环提取仪(弘祥隆生物技术开发有限公司),4K—15 高速离心机(Sigma 公司),BenchTop 4K 真空冷冻干燥机(美国 Virtis 公司),UV2550 紫外可见分光光度计(北京普分通用仪器有限公司),TT—6 透皮吸收仪(天津市正通科技有限公司),Cornermeter CM825 型皮肤水分测量仪(德国 CK 公司),Tewameter TM300 型皮肤水分散失测量仪(德国 CK 公司)。

1.2 动物

SPF 级豚鼠,体质量 300~350 g,雌雄各半。北京维通利华试验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2006-0009。

2 实验方法

2.1 芦荟多糖的制备^[4]

优选植龄三年的库拉索芦荟鲜叶,洗净,沥去黄汁后去除叶皮,取内层叶肉部分(即凝胶)用蒸馏水冲洗后,切片匀浆。加入匀浆液总量 0.037 5% 的果胶酶,45 ℃ 水浴,酶解 30 min。加入匀浆液总量 0.2% 的活性碳,60 ℃ 水浴加热 30 min,吸附其中的色素等杂质。真空抽滤将活性碳和悬浮微胶粒清除,得无色透明凝胶汁,旋转浓缩至小体积,于 -40 ℃ 预冻后,真空冷冻干燥得芦荟凝胶干粉。芦荟凝胶→料液比 1:30 加入蒸馏水→超声波辅助提取→真空抽滤→滤液减压浓缩→多次醇沉、静置→离心取沉淀物→真空冷冻干燥→芦荟多糖(APAV)干粉。

采用苯酚-硫酸法^[5]测定多糖量,确定提取物中多糖量为 279.6 mg/g(芦荟多糖粗粉)。

2.2 保湿功效评价

经专业人员培训过的 20~30 岁健康受试者 30 名(男女各半),均无皮肤或系统性疾病史,受试部位无异常,且受试期间不涂抹任何与实验无关的药物或者化妆品。测试场所室温(25±1)℃,相对湿度(40±5)%,测试前使用 35 ℃ 左右的清水擦拭受试

者双臂后,于测试环境下静坐 30 min 后开始测试。

将“2.1”项下制备的芦荟多糖,配制为质量分数 0.5% 的测试样品液,以同质量浓度透明质酸钠溶液作为阳性对照,同时作空白对照。在受试者手臂内侧距手掌基部 5 cm 处标记受测区域(4 cm×4 cm),同一手臂可同时标记多个区域(间隔 1 cm),测试样品均随机分布。每个受测区域涂抹 500 μL 样品液,采用 Cornermeter CM825 与 Tewameter TM300 测试系统,分别测量 1、2、3、4 h 受试区域的皮肤水分含量和水分散失量^[6-7],以综合评价芦荟保湿性能。所有实验数据均在取得稳定信号后读数,以 6 次读数的平均值作为测量值,采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析,组间比较采用 *t* 检验。

2.3 皮肤渗透性评价

对于中药活性成分透皮吸收研究,目的是获得在正常使用情况下活性成分可能进入人体皮肤的定性或定量信息^[8],为活性成分的开发利用提供参考。本研究采用 Franz 扩散池体外透皮吸收实验^[9],用苯酚-硫酸法检测多糖的皮肤透过量。

2.3.1 离体皮肤的准备 将实验用豚鼠脱颈椎处死,迅速将其腹部毛剃净,剥离腹部皮肤并除去皮下脂肪组织,用蒸馏水反复冲洗至净,再用生理盐水冲洗至无混浊,置 -80 ℃ 冰箱中冷藏备用,一周内用完。

2.3.2 透皮实验 常温下解冻皮肤,在 TT-6 透皮吸收装置上进行体外透皮吸收实验,释放液用量为 5.0 mL,接收液为生理盐水 12.0 mL,扩散面积为 7.159 5 cm²,设定恒温槽中温度为 (37±0.1) ℃,接受池搅拌速度为 400 r/min。于 1、2、4、6、8、10、12、24 h 时,分别取 0.6 mL 置 EP 管中,同时向接受池中补充等量的接受液。苯酚-硫酸法检测接受液中样品浓度^[5]。根据公式(1)计算累积透过量(mg/cm²)。绘制累积渗透量与时间的经皮渗透曲线,将渗透曲线尾部直线部分的累积透过量对时间进行线性回归,所得直线斜率即渗透速度 J [mg/(h·cm²)]^[10]。

$$Q = \frac{V_1 \rho_n + \sum_{i=1}^{n-1} \rho_i \times V_2}{S} \quad (1)$$

Q 为累积透过量, S 为透皮扩散面积($S=7.159 5$ cm²), V_1 为 Franz 扩散池接受液体积($V_1=12.0$ mL), ρ_n 为第 n 次取样时接受液的质量浓度(mg/mL), ρ_i 为第 i 次取样时接受液的质量浓度(mg/mL), V_2 为取样量($V_2=0.6$ mL)。

2.4 皮肤安全性评价

人体皮肤斑贴实验是检测样品对皮肤毒性的实验方法之一。本研究采用皮肤封闭型斑贴实验^[11-12],对芦荟多糖液(20、2 mg/mL)进行人体皮肤斑贴实验。

经专业人员培训过的20~30岁健康受试者30名(男女各半),无皮肤或系统性疾病史,受试部位无异常,且受试期间不涂抹任何与实验无关的药物或者化妆品。选用合格斑试材料,将受试物滴加在斑试器所附的滤纸片上置于斑试器内,用量0.025 mL。对照孔为空白对照(不置任何物质)。将加有受试物的斑试器用无刺激胶带贴敷于受试者的前臂内侧,用手掌轻压使之均匀地贴敷于皮肤上,持续24 h去除受试物斑试器,待30 min压痕消失后观察皮肤反应,另于斑贴试验后48 h再观察一次。根据《化妆品卫生规范》^[13]中皮肤反应分级标准记录。

3 结果与分析

3.1 芦荟多糖保湿功能

3.1.1 皮肤水分含量 水分含量变化反映在测试周期内实验区域水分含量随时间变化规律,其值越大,水分含量越高,反之水分含量越低。结果见图1。涂抹芦荟多糖区域的皮肤含水量逐渐增加,至1 h达到高峰,之后随时间的延长缓慢降低,保水效果一直持续到4 h测试结束;芦荟多糖的保水性能略低于同浓度的透明质酸钠,但差别很小,这表明芦荟多糖在皮肤角质层中与水结合的能力与透明质酸相当。与空白对照组相比,涂抹芦荟多糖的皮肤含水量显著增加($P<0.05$),表明芦荟多糖可以显著提升皮肤的保水功能,具有极好的保湿性能。

3.1.2 皮肤水分散失量 皮肤水分散失量反映了测试周期内,实验区域水分散失随时间的变化规律,其可用以表征测试样品的锁水性能,其值越小,水分散失越少,锁水能力越强;反之越弱。结果见图2。涂抹芦荟多糖区域的皮肤水分散失值有明显下降,

至1 h时皮肤水分散失量最低,达11.81%,之后渐趋于平稳;芦荟多糖在皮肤角质层中防止水分散失的能力与透明质酸钠相当;与空白对照组相比,涂抹芦荟多糖的皮肤水分散失显著减小($P<0.05$),这表明芦荟多糖可以提升皮肤的屏障功能,降低皮肤中水分的散失,具有很强的锁水性能。

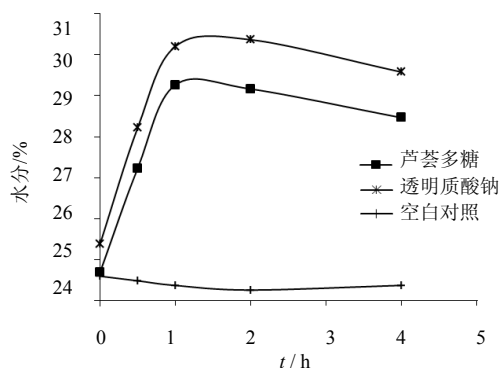


图1 皮肤水分含量变化曲线

Fig. 1 Curves of skin humidity

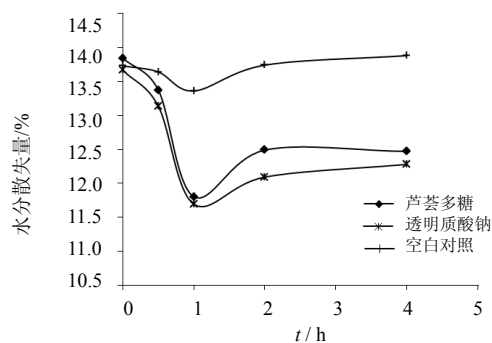


图2 皮肤水分散失变化曲线

Fig. 2 Curve of transepidermal water loss

3.2 芦荟多糖经皮渗透性

芦荟多糖含量对其累积渗透量与透皮速率的影响结果见表1与图3。表1中的数据表明,多糖在0.1%~5.0%时,多糖的渗透速率和累积渗透量随其质量浓度的增加也相应增加,当多糖质量浓度增至10.0%时,多糖的渗透速率不再增加,24 h的累积

表1 不同浓度的芦荟多糖体外透皮速率和累积渗透量($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 1 Rate and quantity of transdermal penetration of APAV at different concentration ($\bar{x} \pm s, n=4$)

多糖	24 h 累积渗透量/(mg·cm ⁻²)	渗透速率/(mg·h·cm ⁻²)	Q-t 方程
0.1%	1.401 0±0.001 6	0.043 2	$Y=0.043\ 2X+0.939\ 9, r=0.987\ 9$
0.5%	2.594 0±0.004 4	0.052 9	$Y=0.052\ 9X+2.072\ 8, r=0.955\ 3$
1.0%	4.103 4±0.084 5	0.195 5	$Y=0.195\ 5X+2.134, r=0.963\ 2$
5.0%	4.151 9±0.046 2	0.251 0	$Y=0.251X+2.406\ 2, r=0.988\ 5$
10.0%	4.152 0±0.004 2	0.226 7	$Y=0.226\ 7X+2.464, r=0.994\ 4$

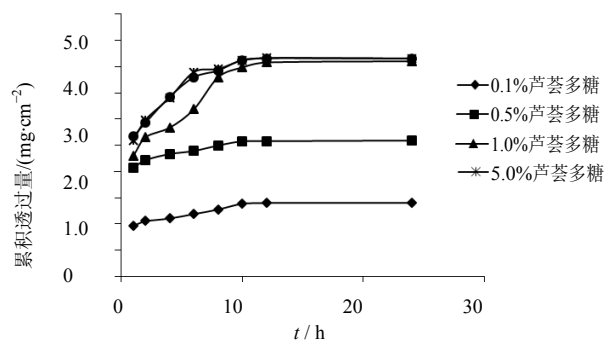


图3 芦荟多糖累积渗透曲线

Fig. 3 Curves of transdermal penetration of APAV

渗透量也无明显提高, 因此芦荟多糖的皮肤渗透的较佳质量浓度为 5.0%。

表2 人体皮肤斑贴试验结果

Table 2 Result of patch test on human skin

组别	剂量/ (mg·mL ⁻¹)	受试人数	观察时间/h	皮肤反应分级人数				
				0级反应	1级反应	2级反应	3级反应	4级反应
APAV	20	30	24	30	0	0	0	0
		30	48	30	0	0	0	0
	2	30	24	30	0	0	0	0
		30	48	30	0	0	0	0
空白对照	—	30	24	30	0	0	0	0
		30	48	30	0	0	0	0

参考文献

- [1] 杨顶权, 白彦萍, 吴荣国, 等. 芦荟在皮肤科临床的应用 [J]. 北京中医, 2005, 26(12): 799-801.
- [2] 姚立华, 何国庆, 陈启和. 芦荟活性成分的生物学作用研究进展 [J]. 科技通报, 2007, 23(6): 812-815.
- [3] 张大维, 李利. 芦荟在皮肤科应用的基础和临床研究进展 [J]. 中国美容医学, 2008, 17(11): 1702-1705.
- [4] 张霞. 库拉索芦荟中芦荟多糖提取方法的比较 [J]. 食品研究与开发, 2012, 33(2): 32-35.
- [5] 钟岩, 潘浦群, 王艳红. 苯酚-硫酸法测定鲜人参中多糖含量 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1957-1958.
- [6] 王硕, 董银卯, 何聪芬, 等. 三种芦荟胶的保湿功能评价 [J]. 日用化学品科学, 2009, 32(11): 36-38.
- [7] Serup J, Jemec G B E. *Handbook of Non-invasive Methods and the Skin* [M]. New York: CRC Press, 1995.
- [8] 程树军, 焦红. 实验动物替代方法原理与应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [9] 赵华, 林婕, 何聪芬, 等. 4种中药促透剂对不同结构类型物质的促透功效评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 34-38.
- [10] 王晖, 许卫铭, 冯小龙. 薄荷醇对两类不同性质化合物体外经兔皮吸收的影响 [J]. 中国药房, 2002, 13: 141-142.
- [11] 周成霞, 李利. 斑贴试验在皮肤科学中的应用 [J]. 临床皮肤科杂志, 2010, 39(11): 374-375.
- [12] 郑玉霞, 邢国良, 王捷, 等. 沙棘化妆品皮肤斑贴实验的人体安全性研究 [J]. 国际沙棘研究与开发, 2008, 6(2): 16-18.
- [13] 化妆品卫生规范 [S]. 2002.