

以“药”转“妆”，护肤三白汤

徐敏 彭嘉萍 蓝雪莹 周雨菲 芮鸿晔 祝宝福 赵平*

广东药科大学医药化工学院

DOI:10.32629/fcmr.v8i2.20941

[摘要] 三白汤作为一种传统中药复方,在我国拥有悠久的历史。本研究旨在探讨三白汤在护肤领域的功效及其作用机制,以期中药化妆品的研发与推广提供科学依据。研究首先采用网络药理学和分子对接技术预测了三白汤的活性成分、关键作用靶点及相关信号通路,结果表明其主要活性成分包括槲皮素、山奈酚、熊果酸和柚皮素等,核心靶点涉及STAT3、AKT1、IL1B、IL6、ESR1、BCL2、TYR、TP53和EGFR等,并富集于AGE-RAGE、PI3K-Akt、MAPK、IL-17、HIF-1和FoxO等信号通路,提示其具有抑菌祛痘、抗氧化、抗衰老和美白功效。随后,通过水提和醇提两种方式对三白汤进行提取,并测定了总黄酮和总三萜皂苷的含量。体外实验、细菌实验、细胞实验、秀丽隐杆线虫模型和斑马鱼模型进一步验证了三白汤在抑菌祛痘、抗氧化抗衰老和美白方面的功效。结果显示,三白汤醇提液对痤疮丙酸杆菌和金黄色葡萄球菌具有显著抑菌作用,能有效清除DPPH、PTIO、ABTS和羟基自由基,显著延长秀丽隐杆线虫寿命,改善其运动状态,并减少脂褐素积累,同时对酪氨酸酶活性和黑色素生成具有抑制作用。最后,以Olivem1000为乳化剂,卡波940与HEC复配为增稠剂制备了三白养颜霜,并通过鸡胚绒毛尿囊膜试验和人体斑贴试验验证了其良好的安全性和低刺激性。本研究为三白汤在现代护肤品领域的应用提供了理论基础和实验支持。

[关键词] 三白汤; 网络药理学; 美白; 抑菌祛痘; 抗氧化; 抗衰老

中图分类号: R96 **文献标识码:** A

From "Medicine" to "Cosmetics": Sanbai Decoction for Skin Care

Min Xu Jiaping Peng Xueying Lan Yufei Zhou Hongye Rui Baofu Zhu Ping Zhao*

Guangdong Pharmaceutical University

[Abstract] Sanbai Decoction, a traditional Chinese medicine formula, has a long history of application in China. This study aims to investigate its efficacy and mechanisms in skin care, providing a scientific basis for the development and promotion of traditional Chinese medicine cosmetics. Firstly, network pharmacology and molecular docking were employed to predict the active ingredients, key targets, and related signaling pathways of Sanbai Decoction. The results indicated that its main active ingredients include quercetin, kaempferol, ursolic acid, and naringenin, with core targets such as STAT3, AKT1, IL1B, IL6, ESR1, BCL2, TYR, TP53, and EGFR. These targets were primarily enriched in AGE-RAGE, PI3K-Akt, MAPK, IL-17, HIF-1, and FoxO signaling pathways, suggesting its potential in antibacterial, anti-acne, antioxidant, anti-aging, and whitening effects. Subsequently, Sanbai Decoction was extracted by water and ethanol, and the contents of total flavonoids and total triterpenoid saponins were determined. In vitro experiments, bacterial assays, cell experiments, *Caenorhabditis elegans* models, and zebrafish models further validated the efficacy of Sanbai Decoction in antibacterial, anti-acne, antioxidant, anti-aging, and whitening aspects. The results showed that the alcohol extract of Sanbai Decoction exhibited significant inhibitory effects on *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus*, effectively scavenged DPPH, PTIO, ABTS, and hydroxyl radicals, significantly extended the lifespan of *C. elegans*, improved its motility, reduced lipofuscin accumulation, and inhibited tyrosinase activity and melanin production. Finally, a Sanbai skin cream was prepared using Olivem1000 as an emulsifier and a combination of Carbomer 940 and HEC as thickeners. Its safety and low irritation were confirmed through chicken embryo chorioallantoic membrane tests and human patch tests. This study provides theoretical and experimental support for the application of Sanbai Decoction in modern skin care products.

[Key words] Sanbai Decoction; Network Pharmacology; Whitening; Antibacterial and Anti-acne; Antioxidant; Anti-aging

我国中医药美容历史源远流长,可追溯至2000多年前的秦汉时期,历代医家积累了丰富经验并创制大量疗效确切的美容古方。三白汤作为经典中医美容古方,始载于明代《医学入门》,由白芍、白术、白茯苓、甘草等比例配伍而成^[1]。传统中医认为其能补气益血、健运脾胃,可调理脾胃虚弱、气机郁滞引发的面色萎黄与色斑沉着。现代药理研究证实,方中各药分别含有的萜类、黄酮类、白术内酯、三萜类等活性成分,协同发挥美白、祛斑、祛痘、抗氧化等多重护肤功效,契合现代消费者对天然安全化妆品的需求^[2]。

但中药复方成分复杂、作用靶点与机制不明,制约了其向现代化妆品的转化。本研究采用网络药理学结合体内外实验的方法,系统探究三白汤的护肤功效与作用机制,明确其核心活性成分和关键靶点,并据此开发三白养颜霜,旨在为传统中药古方的现代化转化提供科学依据,推动中药化妆品产业发展。

1 资料与方法

1.1 材料与仪器。(1)中药材与试剂 白芍、白术、白茯苓、甘草饮片均购自仙逸堂中药饮片有限公司,经广东药科大学时军教授鉴定为正品。芦丁对照品、齐墩果酸对照品购自中国食品药品检定研究院;ABTS、PTIO、DPPH、酪氨酸酶、左旋多巴购自上海麦克林生化技术有限公司;硫乙醇酸盐培养基、营养肉汤培养基购自广东环凯微生物科技有限公司;Olivem1000、卡波940、H-EC等化妆品原料购自广州美涵日化贸易有限公司;其他试剂均为分析纯。(2)菌株、细胞与动物 痤疮丙酸杆菌、金黄色葡萄球菌购自广东省微生物菌种保藏中心;小鼠黑色素瘤细胞B16购自美国ATCC;野生型秀丽隐杆线虫N2、大肠杆菌OP50由本实验室保存;斑马鱼购自湖北创歆生物科技有限公司;SPF级白莱杭鸡受精卵购自新兴大华农禽蛋有限公司。(3)仪器 超净台(5W-CT-1FD,上海申安)、生化培养箱(HPX-9082MBE,上海博讯)、多功能酶标仪(Varioskan LUX,美国Thermo Fisher)、紫外分光光度计(UV-2600,日本岛津)、扫描电镜(JSM-7610FP LUS,日本电子)、高速分散均质机(FJ200-SH,上海沪析)、偏光显微镜(BK-POL,OPTTEC)。

1.2 网络药理学分析。通过TCMSP数据库检索白芍、白术、白茯苓、甘草的化学成分,以类药性(DL)≥0.18为标准筛选活性成分^[3]。利用SwissTargetPrediction数据库预测活性成分的作用靶点,通过Uniprot数据库校正为标准基因名^[4]。在Genecard和DisGeNET数据库中检索抑菌祛痘、美白、抗氧化抗衰老相关疾病靶点,取药物靶点与疾病靶点的交集作为潜在作用靶点。将交集靶点导入STRING数据库构建蛋白互作(PPI)网络,利用Cytoscape3.9.1软件的Cytohubba插件,采用MCC、MNC、Betweenness、EPC、Degree五种算法筛选核心靶点。通过DAVID数据库进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析,筛选P<0.05的条目。从PDB数据库获取核心靶点的3D结构,使用AutoDock Vina进行分子对接,以结合能≤-7kcal/mol为结合力较强的标准。

1.3 三白汤提取及有效成分测定。将四味中药粉碎过60目筛,按1:1:1:1比例混合。水提工艺:加20倍量蒸馏水,90℃水浴回流提取2h,过滤,滤液减压浓缩至1g/mL(生药浓度)。醇提工艺:加10倍量70%乙醇,70℃超声辅助提取2次,每次35min,合并滤液,减压浓缩至1g/mL(生药浓度)。采用三氯化铝-醋酸-醋酸钠缓冲溶液法测定总黄酮含量,以芦丁为对照品,在418nm波长处测定吸光度^[5];采用香草醛-高氯酸比色法测定总三萜皂苷含量,以齐墩果酸为对照品,在550nm波长处测定吸光度^[6]。

1.4 护肤功效评价。(1)抑菌祛痘功效 采用牛津杯法测定抑菌圈直径,二倍稀释法测定最低抑菌浓度(MIC)。取对数生长期的痤疮丙酸杆菌和金黄色葡萄球菌^[7],调整菌液浓度至 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ CFU/mL,涂布于固体培养基上,放置牛津杯并加入200 μL样品,金黄色葡萄球菌37℃培养24h,痤疮丙酸杆菌37℃厌氧培养48h后测量抑菌圈直径。通过扫描电镜观察药物作用后痤疮丙酸杆菌的形态变化。(2)抗氧化抗衰老功效 采用DPPH、ABTS、PTIO和羟基自由基清除实验评价体外抗氧化活性^[8],计算半数清除浓度(IC₅₀)。将同步化的L4期秀丽隐杆线虫分为空白组、VC阳性组(10mg/mL)和三白醇提液低、中、高剂量组(5、10、15mg/mL),测定线虫寿命、产卵量、运动能力、热应激及氧化应激下的存活率,并通过荧光显微镜检测肠道脂褐素含量。(3)美白功效 采用体外酪氨酸酶抑制实验测定样品对酪氨酸酶活性的抑制率^[9],以5mg/mL熊果苷为阳性对照。培养B16细胞,采用MTT法检测细胞毒性,测定细胞内酪氨酸酶活性,通过银染法定量分析细胞内黑色素含量。收集斑马鱼胚胎,于9hpf时加入不同浓度的三白提取液,48h后在体视显微镜下观察体表黑色素生成情况^[11]。

1.5 三白养颜霜制备与安全性评价。通过单因素实验筛选乳化剂和增稠剂,考察不同配方的稳定性和感官特性。制备工艺:A相(甘油、透明质酸钠、增稠剂、去离子水)加热至85℃保温15min;B相(GTCC、乳化剂)加热至85℃保温15min;将B相缓慢加入A相,8000rpm均质3min;降温至45℃加入苯氧乙醇、乙基己基甘油和三白醇提液,4000rpm均质3min,继续搅拌至室温。通过耐热(40℃,14d)、耐寒(-5℃,14d)、冷热循环(7个循环)和离心(3000r/min,30min)实验评价稳定性。采用鸡胚绒毛尿囊膜试验(HET-CAM)和人体皮肤斑贴试验(参照2015版《化妆品卫生规范》)评价安全性。

2 结果

2.1 网络药理学分析结果。经数据库筛选,四味药材共获得276个活性成分、357个潜在作用靶点,与美白、抑菌祛痘、抗氧化抗衰老疾病靶点交集后,分别得到100个、32个、65个核心靶点。筛选获得各功效对应的11个关键靶点,其中STAT3、AKT1、IL6、TP53、EGFR、ESR1、TYR、BCL2为共有核心靶点。成分-靶点网络分析证实,鞣花素、山柰酚、熊果酸、柚皮素是三白汤核心护肤活性成分。KEGG富集结果显示,靶点主要富集于AGE-RAGE、PI3K-Akt、MAPK、

IL-17、HIF-1、FoxO等护肤关键通路。分子对接结果表明,核心成分与靶点结合活性良好,多数结合能 $\leq -7\text{kcal/mol}$,其中熊果酸与SRC蛋白结合能最低,达 -10.7kcal/mol 。

2.2提取液有效成分含量。三白醇提液中总黄酮含量为 $3.16 \pm 0.02\text{mg/g}$,总三萜皂苷含量为 $14.87 \pm 0.04\text{mg/g}$;三白水提液中总黄酮含量为 $1.40 \pm 0.01\text{mg/g}$,总三萜皂苷含量为 $34.11 \pm 0.05\text{mg/g}$ 。结果表明,70%乙醇提取更有利于黄酮类成分的溶出,而水提更有利于三萜皂苷类成分的溶出。

2.3抑菌祛痘功效结果。抑菌实验证实,三白醇提液对痤疮丙酸杆菌、金黄色葡萄球菌均具有显著浓度依赖性抑菌效果。 1mg/mL 醇提液对痤疮丙酸杆菌抑菌圈直径为 $23.07 \pm 0.19\text{mm}$,与青霉素阳性对照效果相近;对金黄色葡萄球菌抑菌圈直径为 $15.69 \pm 0.06\text{mm}$ 。其对两种致病菌的MIC值分别为 7.81mg/mL 、 15.63mg/mL 。扫描电镜观察发现,醇提液可破坏痤疮丙酸杆菌完整结构,造成菌体皱缩、细胞壁破裂、内容物外泄,通过破坏菌体形态实现抑菌作用。

2.4抗氧化抗衰老功效结果。体外抗氧化实验表明,三白醇提液自由基清除能力全面优于水提液,其DPPH、ABTS、PTIO、羟基自由基清除 IC_{50} 值分别为 0.27 ± 0.01 、 0.09 ± 0.01 、 0.35 ± 0.06 、 $8.85 \pm 0.44\text{mg/mL}$, 2mg/mL 浓度下对DPPH、ABTS自由基的清除效果与VC相当。秀丽隐杆线虫实验显示,醇提液可剂量依赖性延长线虫寿命,低、中、高剂量组寿命较空白组分别延长30.01%、43.66%、52.80%,中高剂量延寿效果优于VC对照组,且不会影响线虫生殖能力。同时,醇提液可有效改善衰老线虫运动状态、增强抗应激能力,高剂量组线虫脂褐素含量较空白组降低36.05%,抗衰老作用突出。

2.5美白功效结果。酪氨酸酶抑制实验表明,三白提取液对酪氨酸酶的抑制率呈剂量依赖性,醇提液美白活性显著优于水提液, 25mg/mL 醇提液抑制率可达36.91%,同浓度水提液抑制效果微弱。B16细胞实验证实, $10 \sim 20\text{mg/mL}$ 醇提液无细胞毒性,可有效降低细胞内酪氨酸酶活性,减少黑色素合成。斑马鱼活体实验显示, 0.63mg/mL 醇提液可显著淡化斑马鱼体表黑色素,美白效果与 3mg/mL 熊果苷阳性对照基本一致,美白功效明确且温和。

2.6三白养颜霜制备与安全性评价结果。通过对7种乳化剂和9种增稠剂组合的考察,确定最佳配方为:以Olivem1000为乳化剂,卡波940与HEC复配为增稠剂。制备的三白养颜霜质地均匀细腻,无颗粒和异物,光泽度好,挑起性和铺展性佳,涂抹后肤感清爽,无粘腻感。稳定性实验结果显示,产品通过了耐热、耐寒、冷热循环和离心实验,偏光显微镜观察显示液滴细小均匀,稳定性良好。

鸡胚绒毛尿囊膜试验结果显示,三白醇提液和三白养颜霜的IS值分别为0.05和0.15,均小于1,表明无眼刺激性。人体皮肤斑贴试验结果显示,30例受试者在去除斑试器后30min、24h和48h均未出现红斑、丘疹、水疱等皮肤反应,表明三白养颜霜对人体皮肤无刺激性,安全性良好。

3 讨论

本研究通过网络药理学结合体内外实验,系统阐明三白汤

“以药转妆”的护肤价值与科学内涵。三白汤富含黄酮、三萜等多类活性成分,核心功效物质为槲皮素、山柰酚等,可作用于STAT3、TYR等关键靶点,调控多条通路,实现抑菌抗炎、抗氧化、抗衰老与美白的综合效应。

提取工艺对比显示,70%乙醇超声提取利于黄酮溶出,抗氧化、美白效果更优;水提法则富集三萜皂苷,在保湿与温和抗炎方面更具潜力。体内外实验证实三白汤具备抑菌祛痘、抗氧化抗衰老、美白及温和抗炎四大核心护肤价值。

基于此开发的三白养颜霜质地清爽、稳定性好,经安全性验证无明显刺激性。本研究存在组方未优化、工艺常规、缺乏人体试验等局限,后续可进一步改进。综上,本研究为传统美容古方的现代化开发提供了范式与技术支持。

[项目来源]

广东药科大学2024年国家级大学生创新创业训练计划项目《以“药”转“妆”,护肤三白汤》,项目编号:202410573005。

[参考文献]

- [1]李挺.医学入门[M].北京:中国医药科技出版社,1995:296.
 - [2]Zhao N,Su X, Wang Y,Chen J,Zhuang W.Traditional Chinese Herbal Medicine for Whitening[J].Natural Product Communications,February,2020;15(2).
 - [3]RU J,LI P,WANG J,et al.TCMSP:a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J].Journal of Cheminformatics,2014,6(1).
 - [4]RENAUX A.UniProt:the universal protein knowledgebase[J].Nucleic Acids Res,2018,46(5):2699.
 - [5]贾俊芳,孟德新,李淑霞,等.古方三白汤不同溶剂提取物美白作用比较研究[J].化工设计通讯,2022,48(11):234-236.
 - [6]刘子祯,姜蕊,刘伟锐,等.红枣叶中三萜皂苷的提取工艺和含量测定研究[J].食品研究与开发,2016,37(1):57-59.
 - [7]SASEBOHEVY,PRAKASITA V C,ADITIYARINI D.Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong Terhadap Staphylococcus aureus dan Propionibacterium acnes Penyebab Jerawat[J].SCISCITATIO,2023,4(1).
 - [8]KRIANGKRAI W,KANTASA T,SAGASAE W,et al.Discovery of superior bioactive peptides of two edible Lentinus mushrooms protein hydrolysate in biological activities: tyrosinase inhibitory and antioxidant activity[J].Food Science and Biotechnology,2024,33(13):3105-3117.
 - [9]PING Z.Tyrosinase inhibition test and its application in efficacy evaluation of whitening cosmetics[Z].2022.
- 作者简介:**
徐敏(2006—),女,汉族,湖南常宁人,本科,从事中药化妆品研究。
- *通讯作者:**
赵平(1982—),女,汉族,湖北襄阳人,研究生,职称:副教授,从事的研究方向:化学生物学。