



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107157859 A

(43)申请公布日 2017.09.15

(21)申请号 201710555698.7

A61Q 19/00(2006.01)

(22)申请日 2017.07.04

(71)申请人 龚亚妍

地址 江西省南昌市青云谱区洪城路218号8
栋2单元301室

(72)发明人 龚亚妍

(51)Int.Cl.

A61K 8/9789(2017.01)

A61K 8/9728(2017.01)

A61K 8/64(2006.01)

A61K 8/34(2006.01)

A61K 8/81(2006.01)

A61K 8/73(2006.01)

A61K 8/49(2006.01)

A61K 8/31(2006.01)

A61Q 19/02(2006.01)

权利要求书2页 说明书8页

(54)发明名称

一种具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜
及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜及其制备方法。本发明的中药面膜以黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物、小分子灵芝多肽为中药成分,并辅以冰片粉、聚乙烯醇(PVA)、甘油、尿囊素、角鲨烷以及透明质酸钠混合制得了本发明所述的中药面膜。实验证明,使用本发明的面膜可达到祛斑、美白及滋养的目的,能够增加皮肤弹性,使皮肤细腻、光滑、有光泽,且使用天然植物提取物,安全,无任何副作用,可作为面膜类护肤产品长期使用。

1. 一种具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜,其特征在於所述的中药面膜由以下重量份的各原料制成:黄芩提取物1-2份、栀子提取物1-2份、当归提取物1-2份、丹参提取物1-2份、紫薇花提取物1-2份、小分子灵芝多肽1-2份,冰片粉0.01-0.5份、聚乙烯醇(PVA)0.1-0.5份、甘油10-20份、尿囊素2-5份、角鲨烷5-10以及透明质酸钠10-30份,加入纯净水在20℃条件下调节面膜的相对密度为1.05-1.10,调节pH值为5.0-7.5。

2. 如权利要求1所述的具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜,其特征在於所述的中药面膜由以下重量份的各原料制成:黄芩提取物1.5份、栀子提取物1.5份、当归提取物1.5份、丹参提取物1.5份、紫薇花提取物1.5份、小分子灵芝多肽2份,冰片粉0.05份、聚乙烯醇(PVA)0.3份、甘油15份、尿囊素3.5份、角鲨烷7.5以及透明质酸钠20份,加入纯净水在20℃条件下调节面膜的相对密度为1.05-1.10,调节pH值为5.5-6.5。

3. 如权利要求1或2所述的具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜,其特征在於所述的黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物以及小分子灵芝多肽分别按照以下方法制备得到:

(1) 黄芩提取物的制备:

取干燥的黄芩根粉碎成粗粉,用丙酮:水为7:3的溶液浸泡两次,每次3-7天,回收丙酮进行浓缩,合并两次浓缩液,用乙酸乙酯萃取,常压蒸馏除去乙酸乙酯,干燥,得到黄芩提取物;

(2) 栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物的制备

将栀子、当归、丹参、紫薇花干燥后分别粉碎成粗粉,按照料液比为1:50-100加入50-95%v/v的乙醇溶液,进行提取,提取温度为60-85℃,提取时间为2-5h,通过旋转蒸发仪减压蒸馏后,干燥,分别得到栀子提取物、当归提取物、丹参提取物以及紫薇花提取物;

(3) 小分子灵芝多肽的制备

a 灵芝种子的培养

取250mL三角瓶,装液量75mL,接种2~3块黄豆粒大小的灵芝斜面菌块,于旋转式摇床培养,培养条件为:30℃,150r/min,培养6~8d;种子培养基中含有:玉米粉20g/L,葡萄糖20g/L,豆饼粉10g/L,麸皮10g/L以及 KH_2PO_4 1.5g/L;

b 灵芝的发酵培养

500mL三角瓶,装液量150mL,按照接种量10%(v/v)接入灵芝种子培养液,于旋转式摇床培养;培养条件为:30℃150r/min,培养4~6d,得到灵芝发酵液;发酵培养基中含有:黄芩6.3g/L,麸皮12.0g/L,蛋白胨6.0g/L,玉米粉15.6g/L,葡萄糖6.86g/L,豆饼粉11.3g/L;

c 灵芝粗肽的提取

灵芝发酵液过滤浓缩后,用乙醇沉淀,上清液流经阳离子交换树脂柱,以蒸馏水洗脱后,用3w/w%的氨水洗脱,收集洗脱液中茚三酮显色部分,冻干得灵芝粗肽;

d 灵芝粗肽的酶解

将得到的灵芝粗肽用其重量5-10倍的蒸馏水溶解后,加入中性蛋白酶、木瓜蛋白酶进行酶解,中性蛋白酶与木瓜蛋白酶的重量比为1:1,酶加入总量为灵芝粗肽水溶液重量的0.05-1.0%,酶解温度为25-37℃,酶解时间为0.5-2小时,得到灵芝粗肽酶解液;加热煮沸,维持10-30分钟,使酶灭活,得到灭活液;灭活液离心去除杂质,冻干后得到小分子灵芝多肽。

4. 一种制备权利要求1-3任一项所述的具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜的方法，其特征在于包括以下步骤：

(1) 按照权利要求1或2所述的重量份称取各原料；

(2) 面膜的配制：

取聚乙烯醇(PVA)加入5倍重量份的纯净水浸泡过夜，加热溶解，然后加入黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物、甘油以及透明质酸钠，混合均匀后加入尿囊素、冰片粉、角鲨烷以及小分子灵芝多肽，搅拌均匀成稠膏，加入纯净水在20℃条件下调节稠膏的相对密度为1.05-1.10，调节pH值为5.0-7.5；

(3) 将步骤(2)所得的稠膏灭菌、分装，即得。

5. 权利要求1-4任一项所述的中药面膜在制备具有祛斑、美白及滋养功效的化妆品中的用途。

一种具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种面膜及其制备方法,特别涉及一种具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜及其制备方法。本发明属于化妆品技术领域。

背景技术

[0002] 面膜是一种敷在脸上的美容护肤品,利用覆盖在脸部的短暂时间,能够暂时隔离外界的空气与污染,提高肌肤温度,皮肤的毛孔扩张,促进汗腺分泌与新陈代谢,使肌肤的含氧量上升,有利于肌肤排除表皮细胞新陈代谢的产物和累积的油脂类物质,面膜中的水分渗入肌肤表皮的角质层,皮肤变得柔软,增加弹性。肌肤自然光亮有弹性,呈现好气色。

[0003] 斑点、暗沉、皮肤松弛等是困扰很多爱美人士的最大问题。随着年龄的增长,皮肤的胶原蛋白逐渐流失,而皮肤细胞的再生能力也在慢慢下降,随之而来的是皱纹的增长,色素的沉积。而对于年轻人来说,肌肤问题也广泛存在,长期的日晒导致的日晒斑,由于毛囊及皮脂腺阻塞,发炎所引发的一种慢性炎症性皮肤病困扰着各个年龄阶段的人们。

[0004] 目前市场上的祛斑、抗皱及消炎的美容护肤品很多,也有一些通过先进设备的治疗手段应运而生,但是其仍然难以达到令人满意的效果。一些美容护肤品含有大量的化学合成物质,长期使用不但不能解决肌肤的问题,还会增加肌肤的负担引发一些过敏反应。激光祛斑、光子嫩肤等是近年来运用比较多的技术,该手段虽然在短时期内能够有立竿见影的效果,但是效果难以维持,而且治疗费用高昂,不适宜推广使用。

[0005] 某些中药具有调理脏腑、平衡阴阳,舒肝气、通血脉、化血淤、畅循环、排毒素、溶色斑、增容颜、彻底消除色斑形成根源,平衡体内激素水平,提高机体免疫能力的的能力,能够从内到外进行调节机体,从内到外加速黑色素溶解,使肌肤光泽有弹性,白皙而又细腻,以达到治疗的目的。还能够排出由于长期使用化妆品,皮肤中超标的铅、汞等重金属离子,解决皮肤粗糙、松弛、暗沉等问题,排除毒素。本发明人在多年研究中药的基础上,提出了本发明的一种祛斑、美白及滋养面膜,其在祛斑的同时还能够达到美白及滋养的作用,而且实践证明本发明的面膜能够起到很好的治疗效果,而且安全无反复。

发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题是提供一种具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜及其制备方法。

[0007] 本发明的一种具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜,其由以下重量份的各原料制成:黄芩提取物1-2份、栀子提取物1-2份、当归提取物1-2份、丹参提取物 1-2份、紫薇花提取物1-2份、小分子灵芝多肽1-2份,冰片粉0.01-0.5份、聚乙烯醇(PVA)0.1-0.5份、甘油10-20份、尿囊素2-5份、角鲨烷5-10以及透明质酸钠 10-30份,加入纯净水在20℃条件下调节面膜的相对密度为1.05-1.10,调节pH值为5.0-7.5。

[0008] 在本发明中,优选的,所述的中药面膜由以下重量份的各原料制成:黄芩提取物1.5份、栀子提取物1.5份、当归提取物1.5份、丹参提取物1.5份、紫薇花提取物1.5份、小分

子灵芝多肽2份,冰片粉0.05份、聚乙烯醇(PVA)0.3份、甘油 15份、尿囊素3.5份、角鲨烷7.5以及透明质酸钠20份,加入纯净水在20℃条件下调节面膜的相对密度为1.05-1.10,调节pH值为5.5-6.5。

[0009] 在本发明中,优选的,所述的黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物以及小分子灵芝多肽分别按照以下方法制备得到:

[0010] (1) 黄芩提取物的制备:

[0011] 取干燥的黄芩根粉碎成粗粉,用丙酮:水为7:3的溶液浸泡两次,每次3-7天,回收丙酮进行浓缩,合并两次浓缩液,用乙酸乙酯萃取,常压蒸馏除去乙酸乙酯,干燥,得到黄芩提取物;

[0012] (2) 栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物的制备

[0013] 将栀子、当归、丹参、紫薇花干燥后分别粉碎成粗粉,按照料液比为1:50-100 加入50-95%v/v的乙醇溶液,进行提取,提取温度为60-85℃,提取时间为2-5h,通过旋转蒸发仪减压蒸馏后,干燥,分别得到栀子提取物、当归提取物、丹参提取物以及紫薇花提取物;

[0014] (3) 小分子灵芝多肽的制备

[0015] a灵芝种子的培养

[0016] 取250mL三角瓶,装液量75mL,接种2~3块黄豆粒大小的灵芝斜面菌块,于旋转式摇床培养,培养条件为:30℃,150r/min,培养6~8d;种子培养基中含有:玉米粉20g/L,葡萄糖20g/L,豆饼粉10g/L,麸皮10g/L以及 KH_2PO_4 1.5g/L;

[0017] b灵芝的发酵培养

[0018] 500mL三角瓶,装液量150mL,按照接种量10%(v/v)接入灵芝种子培养液,于旋转式摇床培养;培养条件为:30℃150r/min,培养4~6d,得到灵芝发酵液;发酵培养基中含有:黄芩6.3g/L,麸皮12.0g/L,蛋白胨6.0g/L,玉米粉15.6g/L,葡萄糖6.86g/L,豆饼粉11.3g/L;

[0019] c灵芝粗肽的提取

[0020] 灵芝发酵液过滤浓缩后,用乙醇沉淀,上清液流经阳离子交换树脂柱,以蒸馏水洗脱后,用3w/w%的氨水洗脱,收集洗脱液中茚三酮显色部分,冻干得灵芝粗肽;

[0021] d灵芝粗肽的酶解

[0022] 将得到的灵芝粗肽用其重量5-10倍的蒸馏水溶解后,加入中性蛋白酶、木瓜蛋白酶进行酶解,中性蛋白酶与木瓜蛋白酶的重量比为1:1,酶加入总量为灵芝粗肽水溶液重量的0.05-1.0%,酶解温度为25-37℃,酶解时间为0.5-2小时,得到灵芝粗肽酶解液;加热煮沸,维持10-30分钟,使酶灭活,得到灭活液;灭活液离心去除杂质,得到小分子灵芝多肽。

[0023] 进一步的,本发明还提出了一种制备所述的具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜的方法,包括以下步骤:

[0024] (1) 按照以上所述的重量份称取各原料;

[0025] (2) 面膜的配制:

[0026] 取聚乙烯醇(PVA)加入5倍重量份的纯净水浸泡过夜,加热溶解,然后加入黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物、甘油以及透明质酸钠,混合均匀后加入尿囊素、冰片粉、角鲨烷以及小分子灵芝多肽,搅拌均匀成稠膏,加入纯净水在20℃条件下调节稠膏的相对密度为1.05-1.10;

[0027] (3) 将步骤(2)所得的稠膏灭菌、分装,即得。

[0028] 更进一步,本发明还提出了所述的中药面膜在制备具有祛斑、美白及滋养功效的化妆品中的用途。

[0029] 本发明的所述的各种原料药可在普通中药材商店购买得到,其规格符合国家中药材标准即可。

[0030] 黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi),本名“芩”,是为芩草,“芩”字本义为“止血草”。别名山茶根、土金茶根,因草色黄而有俗名“黄芩”。为唇形科植物,以根入药,味苦、性寒,能清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎有清热燥湿,凉血安胎,解毒功效。

[0031] 栀子(*Gardenia jasminoides* Ellis) 别名:黄栀子、山栀、白蟾,是茜草科植物栀子的果实。栀子的果实是传统中药,属卫生部颁布的第1批药食两用资源,具有护肝、利胆、降压、镇静、止血、消肿等作用。

[0032] 当归(*Angelica sinensis*),属伞形科的一种植物,多年生草本植物,具有补血活血作用以及抑菌的作用。

[0033] 丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.),为唇形科植物丹参的干燥根和根茎。具有活血祛瘀,通经止痛,清心除烦,凉血消痈之功效。

[0034] 紫薇(*Lagerstroemia indica* L.),又称痒痒花、痒痒树、紫金花、紫兰花、蚊子花、西洋水杨梅、百日红、无皮树,具有活血,止血,解毒,消肿等功效。

[0035] 灵芝(*Ganoderma lucidum* Karst) 又称林中灵、琼珍,是多孔菌科真菌灵芝的子实体。具有补气安神、止咳平喘、延年益寿的功效。

[0036] 本发明的中药面膜以黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物、小分子灵芝多肽为中药成分,并辅以冰片粉、聚乙烯醇(PVA)、甘油、尿囊素、角鲨烷以及透明质酸钠混合制得了本发明所述的中药面膜。实验证明,使用本发明的面膜可达到祛斑、美白及滋养的目的,能够增加皮肤弹性,使皮肤细腻、光滑、有光泽,且使用天然植物提取物,安全,无任何副作用,可作为面膜类护肤产品长期使用。

具体实施方式

[0037] 以下实施例是对本发明的进一步说明,不应理解为是对本发明的限制。

[0038] 实施例1 黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物的制备

[0039] (1) 黄芩提取物的制备:

[0040] 取干燥的黄芩根粉碎成粗粉,用丙酮:水为7:3的溶液浸泡两次,第一次3天,第二次7天,回收丙酮进行浓缩,合并两次浓缩液,用乙酸乙酯萃取,常压蒸馏除去乙酸乙酯,干燥,得到黄芩提取物;

[0041] (2) 栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物的制备

[0042] 将栀子干燥后粉碎成粗粉,按照料液比为1:60加入50%v/v的乙醇溶液,进行提取,提取温度为60℃,提取时间为2.5h,通过旋转蒸发仪减压蒸馏后,干燥,得到栀子提取物;

[0043] 将当归干燥后粉碎成粗粉,按照料液比为1:50加入60%v/v的乙醇溶液,进行提取,提取温度为75℃,提取时间为5h,通过旋转蒸发仪减压蒸馏后,干燥,得到当归提取物;

[0044] 将丹参干燥后粉碎成粗粉,按照料液比为1:80加入90%v/v的乙醇溶液,进行提取,提取温度为85℃,提取时间为4h,通过旋转蒸发仪减压蒸馏后,干燥,得到丹参提取物;

[0045] 将紫薇花干燥后粉碎成粗粉,按照料液比为1:60加入70%v/v的乙醇溶液,进行提取,提取温度为80℃,提取时间为3h,通过旋转蒸发仪减压蒸馏后,干燥,得到紫薇花提取物;

[0046] 实施例2 小分子灵芝多肽的制备

[0047] 1、方法

[0048] a灵芝种子的培养

[0049] 取250mL三角瓶,装液量75mL,接种2~3块黄豆粒大小的灵芝斜面菌块,于旋转式摇床培养,培养条件为:30℃,150r/min,培养7d;种子培养基中含有:玉米粉20g/L,葡萄糖20g/L,豆饼粉10g/L,麸皮10g/L以及KH₂PO₄ 1.5g/L;

[0050] b灵芝的发酵培养

[0051] 500mL三角瓶,装液量150mL,按照接种量10%(v/v)接入灵芝种子培养液,于旋转式摇床培养;培养条件为:30℃,150r/min,培养5d,得到灵芝发酵液;

[0052] 发酵培养基中含有:黄芩6.3g/L,麸皮12.0g/L,蛋白胨6.0g/L,玉米粉15.6g/L,葡萄糖6.86g/L,豆饼粉11.3g/L;

[0053] 研究表明,向灵芝的发酵培养中加入黄芩能够显著提高灵芝发酵液的抑制酪氨酸酶的活性。

[0054] c灵芝粗肽的提取

[0055] 灵芝发酵液过滤浓缩后,用乙醇沉淀,上清液流经阳离子交换树脂柱,以蒸馏水洗脱后,用3w/w%的氨水洗脱,收集洗脱液中茈三酮显色部分,冻干得灵芝粗肽;

[0056] d灵芝粗肽的酶解

[0057] 将得到的灵芝粗肽用其重量8倍的蒸馏水溶解后,加入中性蛋白酶、木瓜蛋白酶进行酶解,中性蛋白酶与木瓜蛋白酶的重量比为1:1,酶加入总量为灵芝粗肽水溶液重量的0.1%,酶解温度为28℃,酶解时间为2小时,得到灵芝粗肽酶解液;加热煮沸,维持30分钟,使酶灭活,得到灭活液;灭活液离心去除杂质,冻干后得到小分子灵芝多肽。

[0058] 2、肽段分布测试

[0059] 2.1高效凝胶色谱测试

[0060] 液相系统:Agilent 1100;高效凝胶色谱柱:TSK-G2000 SKw1(300mm*7.8mm,平均孔径500 Å)。

[0061] 测试步骤:

[0062] 取将冻干后的小分子灵芝多肽或灵芝粗肽溶于蒸馏水中,使其浓度达到0.1w/w%,取1ml小分子灵芝多肽溶液或灵芝粗肽溶液,10,000g离心2分钟,取上清通过0.45μm一次性过滤器过滤,滤液加入进样瓶中。柱温为27℃,流动相为0.05 mol/L磷酸盐缓冲液(pH7.2),流速为0.5ml/min,检测波长280nm,进样体积20μl。

[0063] 2.2游离氨基酸含量测试

[0064] 质谱仪:3200Q Trap;液相系统:岛津UFLC系统;分析柱:氨基酸专用柱, AB Sceaix;保护柱:C18(4.0×3.0mm,5μm)Phenomenex公司。

[0065] 测试步骤:

[0066] 取20 μ L小分子灵芝多肽溶液或灵芝粗肽溶液,加入5 μ L沉淀剂,混匀,10,000g 离心2分钟,吸取上清液5 μ L加入20 μ L标记缓冲液,混匀,取上清液5 μ L加入2.5 μ L 标记试剂,混匀,室温反应30min,反应30min后加入2.5 μ L羟胺,混匀,40 $^{\circ}$ C氮气吹干,加入16 μ L内标液重组,混匀,吸取16 μ L至进样瓶中,进样5 μ L测氨基酸浓度。

[0067] 2.3测试结果

[0068] 从实验结果来看,酶解后灵芝多肽分子量介于200-1000Da的小肽含量很高,达到75%,游离氨基酸含量很低,相较于酶解前的灵芝多肽分子量大大降低。

[0069] 实施例3 本发明的面膜的制备

[0070] (1)按照以下重量份称取各原料:

[0071] 实施例1制备得到的黄芩提取物1.5重量份、栀子提取物1.5份、当归提取物 1.5份、丹参提取物1.5份、紫薇花提取物1.5份、实施例2制备得到的小分子灵芝多肽2份,冰片粉0.05份、聚乙烯醇(PVA)0.3份、甘油15份、尿囊素3.5份、角鲨烷7.5以及透明质酸钠20份;

[0072] (2)面膜的配制:

[0073] 取聚乙烯醇(PVA)加入5倍重量份的纯净水浸泡过夜,加热溶解,然后加入黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物、甘油以及透明质酸钠,混合均匀后加入尿囊素、冰片粉、角鲨烷以及小分子灵芝多肽,搅拌均匀成稠膏加入纯净水在20 $^{\circ}$ C条件下调节稠膏的相对密度为1.08,调节pH值为6.5;

[0074] (3)将步骤(2)所得的稠膏灭菌、分装,即得。

[0075] 实施例4 本发明的面膜的制备

[0076] (1)按照以下重量份称取各原料:

[0077] 实施例1制备得到的黄芩提取物2重量份、栀子提取物1份、当归提取物1份、丹参提取物2份、紫薇花提取物2份、实施例2制备得到的小分子灵芝多肽1份,冰片粉0.01份、聚乙烯醇(PVA)0.5份、甘油12份、尿囊素2.5份、角鲨烷10 份以及透明质酸钠25份;

[0078] (2)面膜的配制:

[0079] 取聚乙烯醇(PVA)加入5倍重量份的纯净水浸泡过夜,加热溶解,然后加入黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物、甘油以及透明质酸钠,混合均匀后加入尿囊素、冰片粉、角鲨烷以及小分子灵芝多肽,搅拌均匀成稠膏加入纯净水在20 $^{\circ}$ C条件下调节稠膏的相对密度为1.05调节pH值为7.0;

[0080] (3)将步骤(2)所得的稠膏灭菌、分装,即得。

[0081] 实验例1 小分子灵芝多肽的抗酪氨酸酶活性实验

[0082] 1材料:酪氨酸酶、L-酪氨酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠恒温仪、紫外分光光度计、离心机。

[0083] 实验组I:实施例2制备得到的酶解后的小分子灵芝多肽

[0084] 实验组II:实施例2制备得到的灵芝粗肽

[0085] 2试剂配制:

[0086] 1)磷酸钠缓冲液(1/15mol/L,pH=6.8):精确称取1.000g磷酸二氢钠,1.186 g磷酸氢二钠,加入少量去离子水溶解后,定容至500mL,4 $^{\circ}$ C冰箱保存备用。

[0087] 2)L-酪氨酸溶液(7.5mmol/L):精确称取L-酪氨酸0.272g,先加入数滴浓盐酸,加去离子水约50mL,微热完全溶解后,用氢氧化钠溶液调pH至7左右,加去离子水定容至

200mL。

[0088] 3、检测方法

[0089] 总反应体系为5mL。实验时,向试管中依次加入磷酸钠缓冲液、灵芝多肽 10mg/ml、酶液,于30℃水浴10min。然后加入底物L-酪氨酸,立即开始计时。测定反应20min时475nm波长下的吸光值。测定时,以相应的阴性对照为参比,用下列公式计算受试液对酪氨酸酶的抑制率,并依据浓度-酶抑制率曲线估计半数抑制浓度(IC50)的近似值。

[0090] 抑制率 = $[(A-B) / A] \times 100\%$

[0091] 其中,"A"为标准对照的吸光值,"B"为受试液的吸光值。每个实验做3个平行。抑制率高表明其对酪氨酸酶活性的抑制强度高。

[0092] 4、结果

[0093] 实验组I以及实验组II的灵芝多肽对酪氨酸酶均具有一定的抑制作用,但实验组I的酪氨酸酶抑制率(67%)显著高于实验组II(42%),说明了酶解后的小分子灵芝多肽相较于灵芝粗肽具有更强的抑制酪氨酸酶的功效。

[0094] 实验例2 面膜中中药成份对细胞内酪氨酸酶活性以及黑色素合成抑制实验

[0095] 本发明发明人前期工作中从大量的中药材中筛选出了有利于肤质改善的中药材,并通过对其提取方法进行研究,得到了适合每一种药物的提取方法,进一步的,为了得到具有祛斑、美白及滋养作用的中药面膜,本发明发明人进行二次筛选,并通过不同组合验证其美容效果,最终确定了本发明的中药成分组合,对于这些中药对细胞内酪氨酸酶活性以及黑色素合成抑制进行了以下研究。

[0096] 1、实验分组

[0097] 实验组I:黄芩提取物

[0098] 实验组II:栀子提取物

[0099] 实验组III:当归提取物

[0100] 实验组VI:丹参提取物

[0101] 实验组V:紫薇花提取物

[0102] 实验组VI:小分子灵芝多肽

[0103] 实验组VII:黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物以及小分子灵芝多肽按照重量比1.5:1.5:1.5:1.5:1.5:2混合得到的组合物。

[0104] 分别取上述物质加蒸馏水制成3w/w%的溶液,用于以下实验。

[0105] 2、方法

[0106] 2.1酪氨酸酶活性抑制试验

[0107] 取对数生长期的小鼠黑色素瘤B16细胞,接种于6孔细胞培养板,培养过夜。分别加入终体积分数为1%的上述溶液,以未处理组作细胞对照组,每组2个复孔。培养48h后用PBS洗涤1次,每孔加入100μL裂解液,刮取收集细胞,离心取上清液。取50μL细胞上清液至96孔板,再加入50μL 1%L-多巴溶液,于37℃孵育1 h。M3读板仪于475nm处读取吸光度值。

[0108] 相对酪氨酸酶活性 = $(\text{测定孔吸光度值} - \text{空白对照组吸光度值}) / (\text{细胞对照组吸光度值} - \text{空白对照组吸光度值}) \times 100\%$ 。

[0109] 2.2黑色素合成抑制实验

[0110] 取对数生长期的小鼠黑色素瘤B16细胞,接种于T25细胞培养瓶,培养过夜。分别加

入终体积分数为1%的上述溶液,以未处理组作为细胞对照组。培养48h后用PBS洗涤1次,加入1mL 1mol/L NaOH溶液,刮取收集细胞,放入80℃水浴中30min,取上清液加入96孔板,M3读板仪于475nm处读取吸光度值。

[0111] 相对黑色素含量 = (测定孔吸光度值 - 空白对照组吸光度值) / (细胞对照组吸光度值 - 空白对照组吸光度值) × 100%。

[0112] 3、结果

[0113] 面膜中中药成份对细胞内酪氨酸酶活性以及黑色素合成抑制情况如下表1所示:

[0114] 表1面膜中中药成份对细胞内酪氨酸酶活性以及黑色素合成的抑制

[0115]

| 分组 | 酪氨酸酶活性 (%) | 黑色素合成 (%) |
|--------|------------|------------|
| 实验组I | 85.25±4.56 | 89.45±5.23 |
| 实验组II | 75.69±5.47 | 82.26±4.23 |
| 实验组III | 65.25±2.45 | 85.89±5.25 |

[0116]

| | | |
|--------|------------|------------|
| 实验组VI | 78.56±4.12 | 91.56±1.23 |
| 实验组V | 64.78±5.25 | 90.14±8.71 |
| 实验组VI | 52.78±2.37 | 81.24±5.36 |
| 实验组VII | 38.78±1.56 | 75.05±4.27 |
| 对照组 | 100±2.38 | 100±1.59 |

[0117] 从表1结果可以看出,再用量相同的情况下,黄芩提取物、栀子提取物、当归提取物、丹参提取物、紫薇花提取物以及小分子灵芝多肽按照重量比1.5:1.5:1.5:1.5:1.5:2混合得到的组合物相较于单味组分能够显著提高对小鼠黑色素瘤B 16细胞内的酪氨酸酶活性以及黑色素合成的抑制,说明上述组分具有协同促进作用。

[0118] 实验例3 临床试验例

[0119] 为了验证本发明的面膜的效用,对100名志愿者在自愿的情况下试用本发明实施例3制备得到的面膜,每周使用三次,间隔使用,连续使用3个月,进行效果观察。100名志愿者,年龄25-55岁,平均年龄35岁,其中皮肤有斑者54例,包括各种原因形成的色斑,如日晒斑、黄褐斑、黑斑等。皮肤有皱纹者25例,包括不同程度的前额、上下眼睑、眼外眦、颊、颈部、下颏、口周的皱纹。皮肤有不同程度的青春痘、痤疮等患者21例,其中有部分患者同时兼具2-3种症状,分开统计。面膜使用前,对每名患者的具体情况进行详细记录,三个月后,观察使用效果,按照以下所述的疗效标准进行统计,结果如表2所示:

[0120] 疗效标准:

[0121] 显效:斑点基本或完全消失,皱纹不明显,痤疮粉刺等明显得到抑制,红肿等情况消失;

[0122] 有效:斑点颜色变浅,变小,皱纹变短变浅,痤疮粉刺等不再发生,变小,颜色接近正常肤色;

[0123] 无效:面部病症无变化。

[0124] 表2三个月后观察结果统计

[0125]

| 组别 | 总人数 | 显效 | 基本有效 | 无效 | 总有效率 |
|------|-----|----|------|----|-------|
| 祛斑效果 | 54 | 30 | 20 | 4 | 92.6% |
| 抗皱效果 | 25 | 15 | 7 | 3 | 88% |
| 消炎效果 | 21 | 10 | 9 | 2 | 90.5% |

[0126] 三个月内,受试的100明志愿者中无一出现不良反应,停用后一个月进行跟踪观察,患者没有出现病情反复的情况,说明本发明的面膜在祛斑、美白、抗皱、消炎方面效果显著,且安全无反复。

[0127] 下面就其中一些典型病例做详细说明:

[0128] 病例1:王某某,女,34岁已婚,北京人。王女士32岁怀孕,怀孕的初期一切都正常,没有异常反应。从第五个月开始,脸部开始出现黄褐斑,开始色斑少而浅,后来色斑逐渐增多并且颜色加深。产后,脸上也留下了很多黄褐斑,整张脸给人感觉就是花花的,总好像没洗干净,年龄也显得老了许多。曾经尝试过各种祛斑产品,但是都无功而返,使用本发明的面膜一个月后,色斑开始变淡了,肤色亮度也提高了不少,三个月疗程结束,其脸上的色斑就基本上全都消除了,皮肤变得白皙,也更有弹性和光泽。

[0129] 病例2:李某某,女,25岁未婚,河北石家庄人。李小姐因工作压力,不知不觉中在两颊上出现了黄褐斑,尝试过多种方法,包括内服外敷的药物多达十几种,但是效果不理想,停药后斑点就会又长出来,皮肤也因此越来越糟,粉刺和痤疮也开始出现了。脸颊,额头处都出现了又红又肿的粉刺黑头,为此李小姐十分痛苦,使用本发明的面膜三个月后,李小姐脸上的黄褐斑明显消失了,整张脸都明亮了起来,脸颊以及额头的粉刺也平了,颜色也逐渐接近正常肤色,皮肤变得细嫩光滑。

[0130] 病例3:白某,女,45岁已婚,四川人。由于年龄的原因,白女士的额头及眼部、嘴角周围都出现了深深浅浅的皱纹,白女士的工作性质决定了她经常需要加班熬夜,睡眠质量也不是很好,因此皮肤松弛,整个人看上去比同龄人要老许多。眼周还有大大小小的色斑,为此,白女士痛苦不已。白女士试用了本发明的面膜三个月后,眼角,嘴角的皱纹都明显变浅,一些小的细纹已经消失不见了,皮肤光泽紧致且富有弹性,脸部的轮廓更加明显,眼周的色斑也消失了,整个人看上去年轻了很多。

[0131] 尽管已用具体实施例来说明和描述了本发明,然而应意识到,在不背离本发明的精神和范围的情况下可以作出许多其它的更改和修改。因此,这意味着在所附权利要求中包括属于本发明范围内的所有这些变化和修改。