

茶皂苷-黄芩苷胶束的溶解性及功效性研究

蔡宝国, 栗艳婷, 王少茹, 张 健*
(上海应用技术大学香料香精技术与工程学院, 上海 200418)

摘要: **目的** 研究茶皂苷-黄芩苷胶束的溶解性及功效性。**方法** 采用溶剂蒸发法制备黄芩苷胶束, 透射电镜观察胶束形貌, 动态光散射粒度仪测定其粒径大小及分布, 红外光谱和差示扫描量热法分析所形成胶束的相互作用, 透析法考察药物体外释放特性, 体外法测定黄芩苷胶束的抗酪氨酸酶和抗 ABTS 自由基能力。**结果** 所制备的黄芩苷胶束水溶性增加了 15 倍, 透射电镜显示形成双层球形胶束, 平均粒径为 249 nm, 分散系数 (PDI) 为 0.30; 在体外 pH 6.8 磷酸缓冲液中 12 h 内累积释放度为 65.4%, 具有一定的缓释作用; 体外抗酪氨酸酶能力、清除 ABTS 自由基能力显著高于原料药。**结论** 茶皂苷-黄芩苷胶束可有效增加原料药溶解性、功效性。

关键词: 黄芩苷; 茶皂苷; 胶束; 溶解性; 功效性

中图分类号: R283.6

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)12-4109-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.12.043

黄芩苷是黄酮类化合物, 作为黄芩中的主要活性成分, 具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗抑郁、抗过敏等作用^[1-3]。此外, 黄芩苷在化妆品也占有重要地位, 其是一种具有防晒性能和美白的天然物质^[4]。但由于黄芩苷水溶性极差, 且性质不稳定, 生物利用度极低, 仅为 2.2%^[5], 限制了它在药学和化妆品领域中的应用。

提高黄芩苷溶解性的研究数量众多, 主要的制剂技术有纳米粒^[6]、纳米乳液^[7]、脂质体^[8]、固体分散体^[9]、纳米混悬液^[10]、 β -环糊精包合^[11]、聚合物胶束^[12]等, 这些技术均能在一定程度上提高黄芩苷的溶解性及其生物利用度, 但也存在局限性, 如纳米粒辅料复杂可能带来的毒副作用, 脂质体成型困难、载药量低及易泄露, 固体分散体储存时不稳定易老化, β -环糊精疏水空腔对客分子的限制, 聚合物胶束辅料的安全性等问题^[13]。茶皂苷又称茶皂素, 是一种从茶籽提取的天然非离子型表面活性剂, 结构中含有亲水性的糖体和疏水性的皂苷元, 具有独特的双亲性功能^[14], 研究和发展前景日趋广阔^[15]。鉴于现有的黄芩苷制剂未能完全满足黄芩苷的临床应用, 利用茶皂苷能够在水中自组装形成胶束的性质来增加黄芩苷的水溶性, 实现黄芩苷的传递吸收, 从而提高黄芩苷的生物利用度。

1 材料

1.1 仪器 M200PRO 多功能酶标仪 (奥地利帝肯公司); Q2000 差示扫描量热仪 (美国 TA 公司); Tecnai G2 ST 透射电子显微镜 (日本电子株式会社); 2NS3600 纳米粒度和电位仪 (英国马尔文仪器有限公司); VERTEX-70 傅里叶红外光谱仪 (德国 Bruker 公司); Agilent 1260 高效液相色谱

谱仪 (美国 Agilent 公司); UV-1800 紫外分光光度计 (日本岛津公司); RE-52AA 旋转蒸发器 (上海江仪仪器有限公司); HT-111B 恒温摇床 (上海赫田科学仪器有限公司); AL104 分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); 1620QT 超声波震荡器 (昆山市超声仪器有限公司); 1.2 试剂与药物 黄芩苷对照品 (纯度 $\geq 90\%$)、过氧化硫酸钾 (分析纯) (上海阿达玛斯试剂有限公司); 茶皂苷原料药 (纯度 $\geq 90\%$, 湖南今汉药业有限公司); 聚乙二醇-400 (PEG-400, 分析纯, 上海泰坦科技股份有限公司); 茶皂苷对照品 (纯度 98%, 上海迈瑞尔化学技术有限公司); 酪氨酸酶 (25KU, 上海威林顿生物科技有限公司); L-酪氨酸 (纯度 $\geq 99\%$, 深圳市瑞必拓科技有限公司)。超纯水 (色谱纯, 上海屈臣氏日用品有限公司)。

2 方法

2.1 黄芩苷胶束制备 精密称取茶皂苷 15 g, 溶于 50% 乙醇中, 60 $^{\circ}\text{C}$ 下超声提取 40 min, 过滤。分别称取黄芩苷 1 g、PEG-400 0.5 g, 混匀后加入茶皂苷滤液中, 超声提取 20 min, 85 $^{\circ}\text{C}$ 水浴旋蒸除去溶剂, 得到黄芩苷胶束的固体粉末, 加入蒸馏水溶解, 即得。

2.2 黄芩苷含量测定 精密称取黄芩苷对照品 1 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 50% 乙醇至刻度, 得到质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的贮备液, 依次稀释为 50、40、30、20、10 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液。对照品溶液和空白载体 (50% 乙醇) 在 150~500 nm 波长内进行扫描, 确定黄芩苷的最大吸收波长及空白载体的干扰。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 最大吸收波长处吸光度为纵坐标 (A) 进行回归, 计算含量。将

收稿日期: 2022-07-29

作者简介: 蔡宝国 (1964—), 男, 工程师, 从事香料研究。Tel: (021) 60873394, E-mail: baoguocai@126.com

* 通信作者: 张 健 (1968—), 女, 博士, 副教授, 从事天然药物和营养成分的分离、传递、吸收研究。Tel: 17316315028, E-mail: jianzhang@sina.com

黄芩苷胶束固体粉末和纯黄芩苷用 10 mL 蒸馏水溶解形成过饱和溶液，过滤后取上清液，用 50% 乙醇稀释至适当浓度后采用紫外分光光度法测定黄芩苷含量，代入方程中计算溶解度。

2.3 粒径和形貌测定 取新鲜制备的黄芩苷胶束溶液置于石英比色皿和 U 形电位杯中，利用动态光散射粒径仪测定黄芩苷胶束粒径，平衡 120 s，重复 3 次，取平均值。采用透射电镜观察黄芩苷胶束形态，将黄芩苷胶束溶液稀释至适宜质量浓度后，滴加于铜网上，用滤纸吸去多余液体。将铜网置于室温下自然风干，使胶束粒子在铜网上浓缩沉积，在透射电镜下进行观测并拍照，测定条件为电压 200 kV，电子束电流 102 μ A。

2.4 红外光谱和差示扫描量热分析 采用傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 对茶皂苷、黄芩苷、黄芩苷胶束进行测定，推断茶皂苷和黄芩苷的相互作用。分别取适量黄芩苷胶束、茶皂苷、黄芩苷物理混合物于氧化铝坩埚中，进行差示扫描量热 (DSC) 测试，参比对照为氧化铝坩埚，气体为氮气，升温速率为 10 $^{\circ}$ C/min，在 30~200 $^{\circ}$ C 范围内扫描，测定样品与参比的热量变化值。

2.5 体外释放试验 精密量取 1 mL 1 mg/mL 黄芩苷胶束和黄芩苷-丙二醇溶液，分别置于预溶胀、截留分子量为 15 kDa 的透析袋中，排出气泡，将透析袋两头密封后置于 100 mL 0.5% 吐温 80-pH 6.8 磷酸缓冲液中，37 $^{\circ}$ C 恒温水浴中 85 r/min 振荡，于 0.25、0.5、1、2、4、6、8、10、12 h 各取出 1 mL，并及时补充等体积等温度的样品，HPLC 法测定黄芩苷含量。参照文献 [16] 方法，色谱条件为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μ m)；流动相甲醇 (A) -0.1% 甲酸 (B)，梯度洗脱 (0~5 min，0~10% A；5~10 min，10%~60% A；10~25 min，60%~90% A；25~35 min，90%~10% A)；体积流量 0.8 mL/min；柱温 30 $^{\circ}$ C；检测波长 278 nm；进样量 10 μ L。精密吸取 0.05、0.1、0.15、0.2、0.25 mL 黄芩苷贮备液至 10 mL 量瓶中，加入 0.5% 吐温 80-pH 6.8 磷酸缓冲液混匀并定容，得到质量浓度为 5、10、15、20、25 μ g/mL 的标准溶液，计算药物累积释放量并绘制释放曲线，公式为 $E_t = \frac{V_e \sum_{i=1}^{n-1} C_i + V_0 C_n}{m}$ ，其中 E_t 为黄芩苷累积释放量， V_e 为样

品置换体积， V_0 为样品体积， C_i 为第 i 次取样时黄芩苷质量浓度， m 为黄芩苷加入量， n 为置换样品次数。

2.6 酪氨酸酶抑制率测定 参照文献 [17] 方法，分别取适量黄芩苷、黄芩苷胶束，加水溶解，制成黄芩苷浓度为 1.3 μ mol/mL 的样品。按表 1 方案设计反应液。

表 1 反应液设计方案

反应组	$V_{\text{样品}}/\text{mL}$	V_{PBS}/mL	$V_{\text{酪氨酸}}/\text{mL}$	$V_{\text{酪氨酸酶}}/\text{mL}$
1	0	2.0	1	0
2	0	1.5	1	0.5
3	0.5	1.5	1	0
4	0.5	2.0	1	0.5

取 4 mL 离心管，按照表 1 方案分别加入样品、PBS (pH 6.8)、100 U/mL 酪氨酸酶，在 37 $^{\circ}$ C 下恒温水浴 10 min，再加入 1 mL 1.5 mmol/L 酪氨酸，在 37 $^{\circ}$ C 下反应 5 min，吸取 200 μ L 各组溶液至 96 孔板中，在 475 nm 波长处测定吸光度 (A)，总测定时间为 20 min，各反应组吸光度分别为 A_1 、 A_2 、 A_3 、 A_4 ，重复 3 次，计算酪氨酸酶抑制率，公式为抑制率 = $[1 - (A_3 - A_4) / (A_1 - A_2)] \times 100\%$ 。通过 GraphPad 8.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2.7 ABTS 自由基清除率的测定 参照文献 [18] 方法，取适量 ABTS 配制成浓度为 7.4 mmol/L 的溶液，与 2.6 mmol/L 过氧化硫酸钾溶液等比例混合，室温黑暗放置 12~16 h，在 734 nm 波长处测定吸光度，无水乙醇稀释 100 倍至吸光度为 0.7，即得 ABTS 贮备液。在 96 孔板上加入 100 μ L ABTS 储备液，分别加入 50 μ L 质量浓度为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 mg/mL 的黄芩苷、黄芩苷胶束，混匀后室温放置避光反应 30 min，在 734 nm 波长处测定吸光度 (A_3)，100 μ L 乙醇与 50 μ L 黄芩苷、黄芩苷胶束测得的吸光度为 A_2 ，100 μ L ABTS 储备液加 50 μ L 乙醇测得的吸光度为 A_1 ，计算 ABTS 自由基清除率，公式为清除率 = $[1 - (A_3 - A_2) / A_1] \times 100\%$ 。

3 结果

3.1 黄芩苷胶束含量及溶解度 黄芩苷全波长扫描图谱显示，在 278 nm 波长处有最大吸收峰，但有干扰；黄芩苷在 319 nm 波长处显示第 2 个较大的吸收峰，干扰较小，故选择 319 nm 作为检测波长。黄芩苷回归方程为 $A = 51.4X + 0.168$ ($r = 0.9955$)，在 10~50 μ g/mL 范围内线性关系良好。将黄芩苷胶束粉末复溶于水，得到溶液为黄色澄清透明溶液，无不溶性颗粒，见图 1；黄芩苷溶解度为 1.823 mg/mL，比在水中的 (0.123 mg/mL) 增加了 15 倍。



图 1 黄芩苷胶束溶液形态

3.2 黄芩苷胶束粒径和形貌 黄芩苷胶束平均粒径为 249 nm，分散系数 (PDI) 为 0.30，表明它在水中分布均匀，所形成的粒径较小，在透射电镜下形成球状和壳-核结构，见图 2。黄芩苷胶束为双层球形状，外壳为整齐排列的茶皂苷，可以推测出形成疏水端朝内、亲水端朝外与水分子结合，从而增大溶解性；中间分散着少量 PEG-400，

其部分连接着黄芩苷的表面，PEG-400 上的羟基与黄芩苷的羟基可以形成氢键作用，辅助茶皂苷和黄芩苷形成胶束结构；分子间存在着相互作用力、氢键、疏水相互作用，对黄芩苷胶束的形成具有主要的作用。

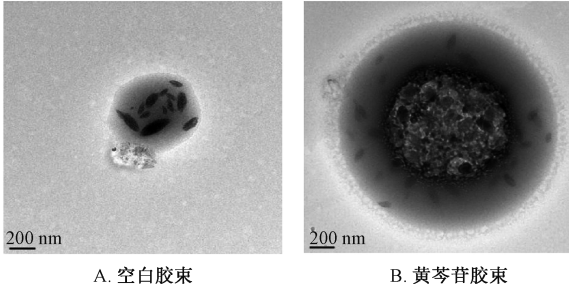


图 2 空白胶束、黄芩苷胶束透射电镜图

3.3 红外光谱分析 由图 3 可知，黄芩苷的特征吸收峰 1 409、1 564、1 662 cm^{-1} 为苯环的 C=C 伸缩振动吸收峰，900~650 cm^{-1} 为芳烃的 C-H 面外弯曲振动吸收峰，1 722 cm^{-1} 为 C=O 的伸缩振动吸收峰，1 206 cm^{-1} 为 C-O 伸缩振动吸收峰，2 891、2 982 cm^{-1} 为 C-H 伸缩振动特征峰；茶皂苷吸收峰均在黄芩苷胶束纳米粒载药系统中呈现，但黄芩苷在 1 409、1 564、1 662、1 722 cm^{-1} 处的特征峰减弱或消失，同时黄芩苷在 675、749、909 cm^{-1} 处的吸收峰也消失，表明黄芩苷被包裹进胶束体系外壳内，胶束系统已形成，其特征峰被掩盖未出现。综上所述，形成纳米胶束后黄芩苷特征峰发生变化，进一步表明黄芩苷胶束载药系统已经形成。

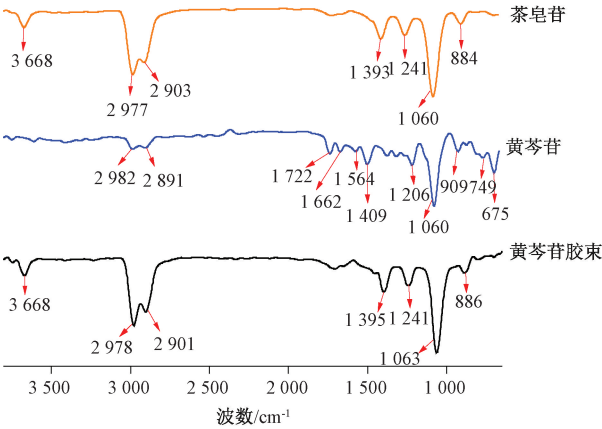


图 3 茶皂苷、黄芩苷、黄芩苷胶束红外光谱图

3.4 DSC 分析 由图 4 可知，黄芩苷与载体的物理混合物在 76.8 $^{\circ}\text{C}$ 处形成宽的吸热熔融峰，在黄芩苷胶束发生了偏移；物理混合物在 89.4 $^{\circ}\text{C}$ 处出现 1 个小的熔融吸热峰，而黄芩苷胶束曲线中未出现该熔融峰；物理混合物 160 $^{\circ}\text{C}$ 左右有 3 个尖锐的吸热熔融峰，而黄芩苷胶束中该峰消失，表明在载药黄芩苷胶束系统中黄芩苷与载体的物相状态发生了改变，印证了该载药系统的形成。

3.5 对体外释放的影响 由于黄芩苷基本不溶于水，因此导致其需要溶液形式的给药途径困难，一般可以用丙二醇辅助其溶解。黄芩苷胶束、黄芩苷-丙二醇溶液体外释放曲

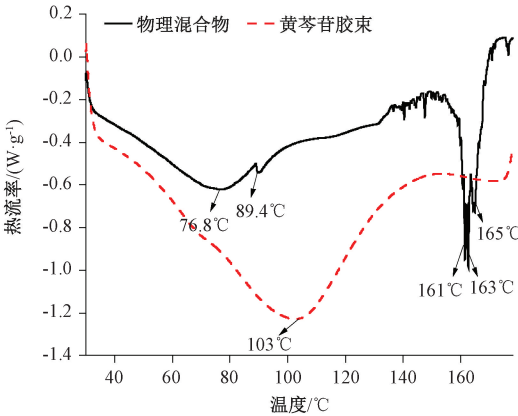


图 4 物理混合物、黄芩苷胶束差热分析图

线见图 5，在 pH 6.8 磷酸缓冲液中，黄芩苷-丙二醇溶液呈现突释的趋势，在 2 h 时的释放量达到 43.3%；黄芩苷胶束呈现出较缓慢的释放趋势，在 2 h 时的释放量为 26.0%；黄芩苷-丙二醇溶液从 2~6 h 的释药量迅速增大呈直线上升，达到 80% 以上；黄芩苷胶束溶液释放曲线较平缓，12 h 时的累积药物释放量为 65.4%，表明黄芩苷胶束具有缓释效果，推测胶束可能存在氢键、疏水相互作用力，并且电镜照片显示黄芩苷被包裹于胶束的中心，从而使其具有缓慢释放的特性。另外，黄芩苷胶束的缓慢释放特性可以使包载的黄芩苷免受皮肤环境或其他外侧环境的破坏，保持黄芩苷的药理活性，从而有利于增加黄芩苷的吸收利用度。

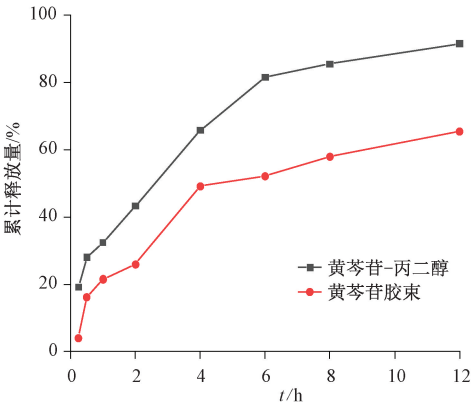
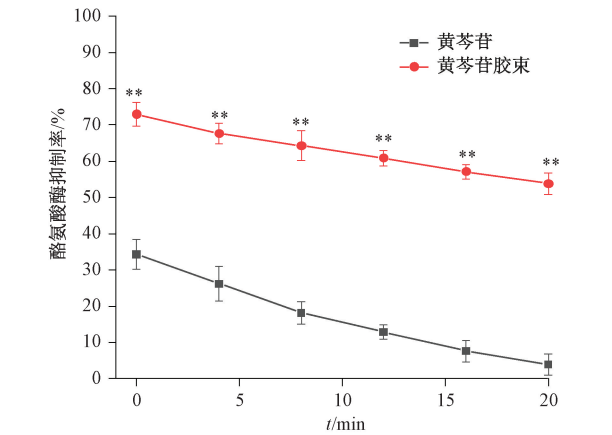


图 5 黄芩苷胶束、黄芩苷-丙二醇体外释放曲线

3.6 对酪氨酸酶抑制率的影响 酪氨酸酶是黑色素产生的关键酶，它控制着黑色素的形成过程，其活性程度对色素的沉积起主要作用，黑色素水平的增加会导致人体皮肤的色素沉着障碍，如黄褐斑、雀斑、老年斑和恶性黑色素瘤^[19]。由图 6 可知，黄芩苷与黄芩苷胶束的起始抑制率分别为 34.4%、73.0%，即黄芩苷胶束对酪氨酸酶的抑制率显著优于黄芩苷；黄芩苷胶束对酪氨酸酶的抑制率随着时间延长下降较黄芩苷缓慢，20 min 时后者降低至 3.93%，而前者仍达 53.86%。黄芩苷胶束化后，黄芩苷被包载在紧密排列的胶束内核中，阻止了与外界空气的接触，有效提高了黄芩苷的稳定性，同时延缓了其释放至环境的时间，

使其能够长时间保留药物性质，起到缓释作用。茶皂苷对酪氨酸酶作用的报道极少^[20]，黄芩苷胶束对酪氨酸酶的抑制作用可能包含了茶皂苷对酶的共同作用，目前其在胶束中作用大小的强度影响尚待进一步研究。黄芩苷本身具有美白特性，通过制备成黄芩苷胶束增大了其对酪氨酸酶活性的抑制，有助于多巴色素的还原，从而减少和抑制黑色素的生成，达到美白祛斑的作用。



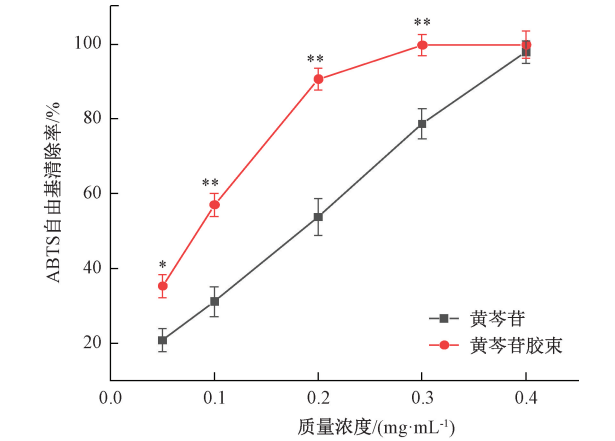
注：与黄芩苷比较，** $P<0.01$ 。

图 6 黄芩苷胶束、黄芩苷对酪氨酸酶抑制率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.7 对 ABTS 自由基清除率的影响 由图 6 可知，黄芩苷胶束、黄芩苷对 ABTS 自由基均具有较强的清除作用，并呈浓度依赖性；在质量浓度 0~0.4 mg/mL 范围内，黄芩苷胶束对 ABTS 自由基的清除率始终高于黄芩苷，为 0.1 mg/mL 时就达到了 ABTS 的半数有效自由基清除率以上，清除率为 57.1%，此时黄芩苷对 ABTS 自由基清除率仅为 31.2%，其半数有效清除率为 0.2 mg/mL；黄芩苷胶束在 0.3 mg/mL 的清除率已经达到最大清除率，接近 100%。茶皂苷具有一定的抗氧化能力^[21]，其对 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟基自由基 ($\cdot OH$) 清除能力以及抗坏血酸的 IC_{50} 在 6~10 mg/mL 之间^[22-23]，而黄芩苷胶束清除 ABTS 自由基的 IC_{50} 低于 0.1 mg/mL，与茶皂苷单独作用相差较大，推测原因可能是黄芩苷形成胶束后，在水中溶解度提高，从而其生物活性也得到相应的提升。结果表明经胶束化后可以有效的提高黄芩苷清除自由基的能力，从而提高黄芩苷的抗氧化能力。

4 讨论

采用溶剂蒸发法制备得到黄芩苷胶束固体颗粒制剂，该颗粒复溶于水中能得到澄清透明的胶束溶液，红外光谱和差示扫描图谱分别显示在胶束中某些黄芩苷特征峰消失及热吸收物相变化，进一步表明胶束系统的形成。胶束化后黄芩苷在水中的溶解性比未经制备的黄芩苷增大了 15 倍。透射电镜结果表明黄芩苷能够包载于圆形胶束内壳中，一定程度上能够保护黄芩苷，增强其稳定性。体外释放实验表明黄芩苷胶束具有缓释特性，能够延长黄芩苷的释放，使其具有更长的作用时间，这一性能可以克服黄芩苷很快



注：与黄芩苷比较，** $P<0.01$ ，* $P<0.05$ 。

图 7 黄芩苷胶束、黄芩苷对 ABTS 自由基清除率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

被酶代谢消除的缺点，延长药物的作用时间，能够有利于到达病灶部位发挥作用。通过比较相同浓度的黄芩苷胶束和黄芩苷对酪氨酸酶抑制率的结果显示黄芩苷胶束的抑制率显著高于黄芩苷的抑制率，而且随着时间的增加黄芩苷胶束对酪氨酸酶的抑制率下降较为缓慢，增加黄芩苷的作用。黄芩苷胶束对 ABTS 自由基具有良好的清除效果，低浓度下就具有较大的清除能力，黄芩苷胶束对 ABTS 自由基的清除能力提高了 2 倍。

综上所述，黄芩苷胶束可以有效的增大黄芩苷溶解性和稳定性，并且能够在一定程度上提高其功效性及其利用度，本研究采用的制备方法简单，易于工艺放大，安全性较高，由于本研究开发的黄芩苷胶束所用的原辅料安全可靠，且茶皂苷具有一定的抑菌美白等功效，与黄芩苷协同可能会发挥更大的效果，可以有广泛应用于医药和化妆品领域内的潜力。

参考文献：

[1] Dinda B, Dinda S, DasSharma S, et al. Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalein against inflammatory disorders [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 131: 68-80.

[2] Chen J C, Li Z L, Chen A Y, et al. Inhibitory effect of baicalin and baicalein on ovarian cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(3): 6012-6025.

[3] Zhang R Y, Ma Z X, Liu K L, et al. Baicalin exerts antidepressant effects through Akt/FOXG1 pathway promoting neuronal differentiation and survival [J]. *Life Sci*, 2019, 221: 241-248.

[4] 谢艳君, 孔维军, 杨美华, 等. 化妆品中常用中草药原料研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(20): 3925-3931.

[5] Huang T, Liu Y N, Zhang C L. Pharmacokinetics and bioavailability enhancement of baicalin; a review [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2019, 44(2): 159-168.

[6] Jin S Y, Han J, Jin S X, et al. Characterization and

evaluation in vivo of baicalin-nanocrystals prepared by an ultrasonic-homogenization-fluid bed drying method[J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(1): 71-80.

[7] Wu L, Bi Y J, Wu H F. Formulation optimization and the absorption mechanisms of nanoemulsion in improving baicalin oral exposure [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2018, 44 (2): 266-275.

[8] 谭裕君, 李楠, 向燕, 等. 胆酸-黄芩苷脂质体的制备[J]. *中成药*, 2019, 41(3): 495-500.

[9] Ashok K J, Poonam J, Kanakaraju M, *et al.* Solid-state properties, solubility, stability and dissolution behaviour of co-amorphous solid dispersions of baicalin[J]. *Cryst Eng Comm*, 2020, 22(37): 6128-6136.

[10] Xie J, Luo Y J, Liu Y, *et al.* Novel redispersible nanosuspensions stabilized by co-processed nanocrystalline cellulose-sodium carboxymethyl starch for enhancing dissolution and oral bioavailability of baicalin[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 353-369.

[11] Li J, Chen Q, Zhang S R, *et al.* Maltosyl- β -cyclodextrin mediated Supramolecular Host-Guest inclusion complex used for enhancing baicalin antioxidant activity and bioavailability[J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2019, 54: 101346.

[12] Jangid A K, Agraval H, Rai D B, *et al.* Baicalin encapsulating lipid-surfactant conjugate based nanomicelles; preparation, characterization and anticancer activity[J]. *Chem Phys Lipids*, 2020, 233: 104978.

[13] 黄婷, 向东, 刘东, 等. 提高黄芩苷生物利用度的研究进展[J]. *现代中药研究与实践*, 2018, 32(4): 82-86.

[14] 马园园, 吴扬. 茶皂苷的生物活性及应用研究进展[J]. *茶叶通讯*, 2021, 48(1): 15-19.

[15] Zhu Z B, Wen Y, Yi J H, *et al.* Comparison of natural and synthetic surfactants at forming and stabilizing nanoemulsions: tea saponin, quillaja saponin, and Tween 80 [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2019, 536: 80-87.

[16] Jin S Y, Han J, Jin S X, *et al.* Characterization and evaluation *in vivo* of baicalin-nanocrystals prepared by an ultrasonic-homogenization-fluid bed drying method[J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(1): 71-80.

[17] Mikayoulou M, Mayr F, Temml V, *et al.* Anti-tyrosinase activity of South African Aloe species and isolated compounds plicataloside and aloesin[J]. *Fitoterapia*, 2021, 150: 104828.

[18] Coulombier N, Nicolau E, Le D, *et al.* Impact of light intensity on antioxidant activity of tropical microalgae[J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(2): 122.

[19] Wuttisin N, Boonmak J, Thaipitak V, *et al.* Anti-tyrosinase activity of orange peel extract and cosmetic formulation[J]. *Int Food Res J*, 2017, 24(5): 2128-2132.

[20] Ma Y Y, Wu Y. Research progress on the bioactivity and application of tea saponin[J]. *J Tea Commun*, 2021, 48(1): 15-19.

[21] Guo N, Tong T T, Ren N, *et al., et al.* Saponins from seeds of *Genus Camellia*: phytochemistry and bioactivity [J]. *Phytochemistry*, 2018, 149: 42-55.

[22] 郭海阳, 莫林兰, 谭海生, 等. 茶皂苷的美白功效及其抑菌和抗氧化活性研究[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(6): 83-89.

[23] Ye Y, Xing H T, Chen X L. Anti-inflammatory and analgesic activities of the hydrolyzed sasanquasaponins from the defatted seeds of *Camellia oleifera* [J]. *Arch Pharm Res*, 2013, 36(8): 941-51.