

一种牡丹根皮植物组方的舒缓功效研究

谢文广, 刘倩, 蒋雁冰, 杨洁, 亓丰伟
(山东花物堂生物科技有限公司, 山东济南, 250101)

摘 要: 牡丹皮、苦参、灵芝是我国传统特色药用植物。为了研究温和有效的舒缓修护产品, 对牡丹皮、苦参、灵芝按一定工艺和比例进行提取, 制备了天然植物组方。并通过 LPS 诱导小鼠巨噬细胞炎症模型, 鸡胚刺激试验, 人体乳酸和辣椒碱刺激试验来验证天然植物组方的抗敏舒缓能力; 结果显示天然植物组方, 对炎症因子表达有显著性抑制作用; 并且可以拮抗 SDS 引起的鸡胚绒毛尿囊膜的刺激损伤趋势, 有一定的舒缓效果; 1% 的植物组方啮喱可以有效降低乳酸引起的志愿者皮肤刺痛、瘙痒等症状; 在 30 名志愿者参加的辣椒碱刺激实验中, 使用 TiVi 700 进行图像分析, 天然植物组方样品具有即时舒缓的作用。说明该植物组方对于解决敏感肌消费者的日常皮肤问题, 有很高应用价值。

关键词: 牡丹皮; 苦参; 灵芝; 抗敏舒缓; 化妆品

作者简介: 谢文广, 硕士, 山东花物堂生物科技有限公司基础研究研究员, 主要从事化妆品原料开发与基础研究。E-mail: saimikiya@126.com。



谢文广

敏感肌是一种亚健康状态的皮肤, 在水、冷、热或其他物理和化学因素等不应引起反应的外部刺激后, 皮肤产生的一种不愉悦的感觉, 如刺痛、烧灼感、疼痛、瘙痒等, 而在皮肤正常情况下, 一般不会产生此类感受^[1]。敏感肌不属于皮肤病的范畴, 其症状表现通常不明显, 引起原因不明确, 缓解方法不确定, 因此, 对敏感肌的护理需要通过使用针对性护理产品、调整不健康生活环境和习惯、避免接触刺激源等方式来缓解。根据世界卫生组织调查数据, 亚洲女性中超过 50% 的人群认为自己有不同程度的敏感肌症状^[2]。在秋冬换季、冷热变化、突发外界刺激、饮食睡眠不规律等因素影响下, 敏感肌人群常常容易产生一些皮肤问题。敏感肌的机制十分复杂, 通常认为包含以下几种因素:

(1) 炎症引起的皮肤敏感

皮肤中的角质形成细胞、朗格汉斯细胞、T 细胞、巨噬细胞、真皮树突状细胞以及产生白介素的细胞等, 都参与到敏感肌的应激反应过程当中。当皮肤受到外部刺激时, 角质形成细胞释放乙酰胆碱、三磷酸腺苷等激活感知神经元, 诱导释放出白介素因子 (IL), 进一步激活 T 细胞和树突细胞, 引发皮肤炎症反应和血管扩张反应, 表现为皮肤出现红斑、瘙痒、灼热等症状^[3]。

(2) 表皮屏障功能受损引起的皮肤敏感

皮肤屏障功能从广义来说包括物理屏障、微生物屏障、免疫屏障、色素屏障等与皮肤相关的各屏障功能; 狭义的皮肤屏障一般是指角质屏障和皮脂膜, 角质屏障又称“砖墙结构”, 指的是角质形成细胞与角质细胞间隙中脂质 (含神经酰胺、脂肪酸、胆固醇) 构成的结构。屏障功能受损加速水分经皮失散以及皮肤营养物质的流失, 脆弱的表

皮屏障会使得外界刺激物或过敏原的渗透增大, 且神经末梢得不到充分的保护, 更深层的肌肤暴露在微生物及外界刺激下从而诱发皮肤局部炎症状态, 出现泛红发痒、灼热刺痛等症状^[4]。

(3) 皮肤感觉神经引起的皮肤敏感

灼热、瘙痒、刺痛等敏感肌的感官表现, 这些感觉症状与皮肤的感觉神经纤维有关。皮肤神经纤维密度先天性较高或后天性增高的人群会使其比正常皮肤更容易产生灼热、刺痛、瘙痒的感觉^[5]。辣椒素或热源可激活辣椒素受体 (TRPV1), 传递热感或灼烧感。TRPV1 是一种非选择性阳离子通道, 可在纤维细胞、肥大细胞和内皮细胞上表达, 对热和 pH 值有反应, 与痛觉、灼烧感、神经源性炎症和瘙痒有关。

在国内, 对于日常生活中敏感肌问题的护理需求越来越大, 因此, 开发出真正有效而又温和的舒缓修护产品变得十分必要。

牡丹 (*Paeonia suffruticosa* Andr.) 是毛茛科芍药属灌木, 是传统名贵花卉。《神农本草经》记载牡丹根皮: 性微寒, 味辛、苦, 归心、肝、肾经, 具有清热凉血、活血化瘀的功效, 是一种传统中药材。牡丹根皮中的化学成分复杂多样, 主要包含单萜类、酚类、三萜类、黄酮类、挥发油类和微量元素等。丹皮酚是牡丹根皮中具有代表性的化学物质, 具有优秀的抗炎功效。Yun^[6]等在体外运用反转录聚合酶, 发现丹皮酚通过下调 42 个炎症相关基因的表达发挥抗炎作用。

苦参为豆科植物苦参 (*Sophora flavescens* Ait.) 的干燥根。《本草汇言》记载: 苦参, 祛风泻火, 燥湿去虫之药也。苦参中主要含有生物碱、黄酮、萜类等化学成分。苦

参生物碱是苦参中最有代表性的成分,苦参生物碱含有孤对电子或正电荷形式的碱性氮原子,因此具有广泛的药理活性。苦参中含有的生物碱主要有苦参碱型、臭豆碱型、金雀花碱型、羽扇豆碱型、二聚苦参碱型等几种类型^[7]。安军红^[8]对苦参碱对巨噬细胞的抗炎以及抗凋亡的作用机制进行研究探讨。结果发现,苦参碱增加 mi-30b 的表达,抑制信号通路 TLR4/NF- κ B 的活化,从而增强巨噬细胞免疫调节的功能,进而保护炎症损伤的影响,造成细胞凋亡。

灵芝 (*Ganoderma lucidum*) 是担子菌门、伞菌纲、多孔菌目、灵芝科、灵芝属真菌,在我国已经有 2000 年的悠久历史,是我国传统的名贵药材之一,具有很高的药用价值和良好的药理功能。《神农本草经》中记载灵芝具有扶正固本、滋补强壮、延年益寿等功效,而且现代科学研究发现灵芝还具有抗氧化、抗炎、镇痛等药理功能。灵芝多糖和灵芝三萜是灵芝主要活性成分,目前人们发现的灵芝多糖已经超过 200 种,灵芝三萜类已经超过 300 种^{[9][10]}。Cai Z^[11]等研究发现,灵芝多糖通过抑制小鼠巨噬细胞系中几种炎症介质的产生,诱导细胞周期停滞,具有抗炎作用。

本文研究了一种有效的天然植物舒缓组方。通过将牡丹根皮、苦参、灵芝、这三种天然植物进行复配,能够抑制炎症反应、抗氧化、缓解皮肤敏感症状、抵御外界刺激源,具有较高的应用价值。

1. 实验部分

1.1 原料与仪器

1.1.1 实验原料

小鼠巨噬细胞 (RAW264.7) 购自中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心;白莱杭鸡 SPF 级受精鸡胚,购自北京勃林格殷格翰维通生物技术有限公司。胎牛血清 (FBS, Gibco)、DMEM 高糖培养基 (DMEM, Gibco)、二甲基亚砷 (DMSO, Sigma)、磷酸盐缓冲液 (PBS, Gibco)、噻唑蓝 (MTT, Sigma)、小鼠白细胞介素-1 β 酶联免疫检测试剂盒 (Mouse IL-1 β ELISA kit, Boster)、十二烷基硫酸钠 (SDS, Biotopped)、生理盐水 (石家庄四药有限公司)、孵化箱 (德国 Grum batch BSS300)、体式显微镜 (Leica S6 D);辣椒碱;乳酸。

植物组方由以下工艺制备:

称取苦参 25.8g、灵芝 12.9g、牡丹皮 1.3g,按料液比 1:20(m/m) 比例加入水,83 $^{\circ}$ C 浸泡提取 1h,得到提取液,冷

却至 60 $^{\circ}$ C,然后过滤得到粗滤液;在粗滤液中加入 0.2% 的中性蛋白酶、0.007% 的淀粉酶,53 $^{\circ}$ C 条件下反应 1h,升温灭菌,得到酶解液;将酶解液继续过滤得精滤液,然后放入旋蒸瓶中,减压浓缩 8-10 倍,按浓缩物可溶性固形物:糊精 = 1:4(m/m) 比例进行复配,喷雾干燥,控制进风口温度 135-140 $^{\circ}$ C,出口温度 85-90 $^{\circ}$ C,得到含有苦参、灵芝、牡丹皮提取成分的天然舒缓植物组方。

1.1.2 实验仪器

超净台 (亚泰科隆)、倒置显微镜 (Leica)、二氧化碳培养箱 (Thermo)、电动助吸器 (Eppendorf)、细胞废液抽取泵 (其林贝尔)、酶标仪 (Tecan)、孵化箱 (德国 Grum batch BSS300)、体式显微镜 (Leica S6 D)、皮肤敏感度测试仪 (TiVi 700, Wheels Bridge, 瑞典)

1.2 实验方法

1.2.1 抑制炎症因子试验方法

(一) 基于 RAW264.7 细胞的毒性检测

本试验采用 MTT 法检测细胞活性,筛选细胞给样的最大安全浓度。试验设置阴性对照 (培养基)、阳性对照 (含 5% DMSO 培养基) 和调零孔 (PBS),样品浓度设置见表 1,每个浓度设置 3 个重复孔。具体操作步骤如下:

(1) 接种:取对数生长期细胞消化后接种至 96 孔板,将培养板放置在 37 $^{\circ}$ C、5% 的 CO₂ 培养箱中孵育培养 18-24h。

(2) 配液:按表 1 中浓度设置,配制不同浓度的受试物。

表 1 样品细胞毒性浓度设定

样品名称	样品浓度 (m/v)
植物组方	0.00006%、0.00012%、0.00024%、0.00049%、0.00098%、0.00195%、0.0039%、0.0078%、0.0156%、0.0313%、0.0625%、0.125%、0.25%、0.5%、1%

(3) 给样:细胞生长 18-24h 后弃掉上清,加入含不同浓度受试物的培养基,将培养板放置在 37 $^{\circ}$ C、5% 的 CO₂ 培养箱中孵育培养 18-24h。

(4) 检测:细胞培养 18-24h 后,弃掉上清,加入配制并过滤好的 MTT (0.5mg/mL),轻轻混匀,37 $^{\circ}$ C 避光孵育 4h。孵育结束后弃掉上清,每孔加 150 μ L 的 DMSO,震荡 20min,

用酶标仪读取 OD540nm 值。

(5) 相对细胞活率计算公式:

$$\text{相对细胞活率} = \frac{\text{受试样品孔 OD} - \text{调零孔 OD}}{\text{阴性对照 OD} - \text{调零孔 OD}} * 100\%$$

(二) 基于 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症因子检测

(1) 接种: 将细胞接种至 24 孔板中, 37°C, 5%CO₂ 培养箱孵育 18-24h。

(2) 配液: 根据表 2 配制受试物和阳性对照。

(3) 给样: 根据表 2 试验分组和浓度设置, 待 24 孔板中细胞铺板生长 18-24h 后, 进行分组给样, 每个处理组设 3 个复孔。组 1 中, 空白对照与阴性对照组均加入含 0.1%DMSO 的细胞培养基, 阳性对照加入含有 0.001%地塞米松的细胞培养基; 组 2 中, 空白对照与阴性对照组均加入细胞培养基, 样品组加入含有相应浓度样品的细胞培养基, 于 37°C, 5%CO₂ 培养箱继续培养 18-24h。

表 2 试验分组和浓度设置

序号	组别	样品信息		检测系统		
		组别名称	样品浓度	检测项目	检测模型	检测方法
组 1	空白对照	SC (0.1% DMSO, LPS-)	/	IL-1 β	RAW264.7	ELISA
	阴性对照	SC (0.1% DMSO, LPS+)	/			
	阳性对照	PC (地塞米松)	0.001%			
组 2	空白对照	BC (LPS-)	/	IL-1 β	RAW264.7	ELISA
	阴性对照	NC (LPS+)	/			
	样品组	植物组方	0.0313%、 0.0625%、 0.125%			

注: BC: Blank Control 空白对照; NC: Negative Control 阴性对照; SC: 阳性物对应的阴性对照和空白对照。

(4) LPS 诱导: 培养 18-24h 后, 将板内培养基吸出, 均加入 PBS 轻洗一次, 空白对照组加入细胞培养基, 阴性对照组、样品组和阳性对照组加入含有 LPS 的细胞培养基, 37°C, 5%CO₂ 培养箱继续培养 18-24h 后收集上清液。

(5) 炎症因子含量检测: 取各孔细胞上清液, 根据 ELISA 试剂盒操作说明, 进行细胞炎症因子含量检测。

(6) 数据处理: 试验中取得的各项数据经过 Excel 软件进行处理与作图。用 SPSS 17.0 进行统计学分析, 组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 当 P<0.05 时判断为差异显著。

1.2.2 鸡胚抗刺激试验方法

(一) 试验组设置

分别设置阴性对照组 (0.10%SDS)、溶剂对照组 (生理盐水)、模型对照组 (1%SDS)、样品组。

样品前处理: 将样品溶解稀释至 4%, 2%, 1% 浓度;

再各取 3mL 并加入 3mL 0.20%SDS 涡旋混匀, 得最终浓度 2%, 1%, 0.5%。

(二) 试验流程

(1) CAM 制备: 培养鸡胚至 9 日龄, 进行照蛋检查, 用牙科锯齿弯镊剥去气室部分的蛋壳, 暴露白色蛋膜, 小心操作不破坏蛋膜完整性。用吸管滴几滴生理盐水溶液使蛋壳膜湿润, 小心用镊子去除蛋壳膜, 保证血管膜不受损。此时再次观察血管系统的结构, 并对其完整性和是否适宜用于试验做出判断。

(2) 终点评价法操作: 取 0.3 mL 受试物直接作用于 CAM, 作用 3min 后, 拍照观察并记录血管毒性效应变化程度, 即血管出血, 凝血, 血管融解的程度, 根据严重程度进行评分。每个受试物设置 6 只鸡胚, 阴性对照 (0.10% SDS) 6 只鸡胚, 并设置溶剂对照 1 只鸡胚。

(三) 试验结果评价

终点评分 (end point score, ES) 计算公式:

ES = 6 只鸡胚观察到的出血、凝血和血管融解程度得分的总和

1.2.3 人体乳酸刺痛试验方法

(一) 测试信息

表 3 测试信息表

样本量	30 人
受试者性别	女 23 人, 男 7 人
受试者年龄	37-50 岁
测试区域	左右两侧鼻唇沟
测试环境	温度: 20.0 °C~22.0 °C, 相对湿度: 44%-50%
测试周期	30 min

(二) 即时舒缓乳酸刺激试验介绍

舒缓功效通过乳酸刺痛试验进行, 试验时, 在受试者两侧鼻唇沟处同时敷贴浸透 50 μ L 10% 乳酸溶液的滤纸 (直径约 0.8 cm), 当受试者感受到两侧鼻唇沟处的感觉分值均 \geq 2 分 (中度感觉及以上) 时, 去除滤纸。由测试人员在其中一侧测试区域涂抹测试样品, 涂样量为 0.1 mL; 另一侧测试区域不做处理。在乳酸刺激终点、使用样品后 5 min、10 min、15 min、20 min、30 min, 由受试者主观评价两侧鼻唇沟处的刺痛感、瘙痒感, 按 4 分法进行评分, 评分标准: 0 分为没有感觉, 1 分为轻度感觉, 2 分为中度感觉, 3 分为重度感觉。

(三) 计算公式

$$\text{平均值 } \bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

其中, x = 个体参数测量值, n = 有效数据数量。

应用 SPSS Statistics 25 进行数据的统计分析, 统计方法采用秩和检验。

1.2.4 人体辣椒碱刺激试验方法

(一) 测试信息

表 4 测试信息表

样本量	30 人
受试者性别	女
受试者年龄	33~50 岁
测试区域	面部两侧鼻唇沟处
测试环境	温度: 21.0~22.0 °C, 相对湿度: 44%~50%
测试周期	7 min

(二) 皮肤敏感度测试方法介绍

皮肤敏感度测试仪 (TiVi 700, Wheels Bridge, 瑞典) 利用红细胞对绿光的吸收特性, 对红细胞的浓度进行定量分析, 根据分析结果生成图像, 图像中用颜色表示皮肤的敏感度。图像颜色越接近红色, 即图 1 中色度尺的右侧颜色, 表示皮肤发红越严重。



图 1 皮肤敏感度测试仪图像色度尺

(三) 计算公式

$$\text{平均值 } \bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

其中, x = 个体参数测量值, n = 有效数据数量。

应用 SPSS Statistics 25 进行数据的统计分析, 统计方法采用秩和检验。

2. 结果与讨论

2.1 抑制炎症因子效果

皮肤炎症主要有三种常见类型: 皮肤刺激性反应、过敏反应和敏感反应。其中, 皮肤刺激性是指皮肤接触外界的刺激物后, 激活先天性免疫反应介导的炎症反应, 最终导致皮肤损伤的过程。巨噬细胞是生命体免疫系统的重要防线, 能够引起先天免疫反应与获得性免疫反应, 当受到外界刺激时, 巨噬细胞会表达细胞炎症因子, 过量便会引起机体免疫紊乱。

脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS), 是革兰氏阴性菌细胞壁的组成成分之一。LPS 作用于巨噬细胞时, 会诱导巨噬细胞的炎症反应, 使得细胞炎症因子大量生成, 如肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、

白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 等。基于 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 (RAW264.7) 炎症模型, 评价产品减少细胞炎症因子表达分泌的能力, 进而预测其抑制炎症反应进一步发生的能力。白细胞介素-1 β (IL-1 β) 在免疫调节和炎症反应过程中起重要作用, 被认为是炎症反应过程中引起发热反应的主要内源性介质之一, 一旦炎症因子在皮肤细胞中含量增加, 皮肤温度高于正常温度, 将加剧皮肤炎症反应。

由图 2 可知, 与 LPS 未诱导 (LPS-) 组相比, LPS 诱导 (LPS+) 引起炎症因子 IL-1 β 表达量显著升高 ($P < 0.01$), 表明 LPS 诱导造模成功; 与 SC (0.1%DMSO, LPS+) 相比, PC (地塞米松) 组地塞米松在 0.001% 给样浓度下, 可显著下调 IL-1 β 的表达量 ($P < 0.01$), 表明本次检测结果有效。与 NC (LPS+) 组相比, 植物组方在浓度为 0.125% 时, 对 IL-1 β 表达有显著性抑制作用。

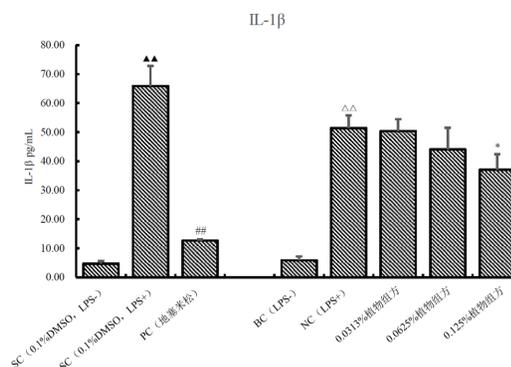


图 2 IL-1 β 释放检测结果

▲▲表示与 SC (0.1%DMSO, LPS-) 组相比, 差异极显著, $P < 0.01$;

△△表示与 BC (LPS-) 组相比, 差异极显著, $P < 0.01$;

##表示与 SC (0.1%DMSO, LPS+) 组相比, 差异极显著, $P < 0.01$;

*表示与 NC (LPS+) 组相比, 差异显著, $P < 0.05$ 。

2.2 抗刺激效果

十二烷基硫酸钠 (Sodium Dodecyl Sulfate, SDS) 对鸡胚绒毛尿囊膜 (CAM) 会产生一定的损伤, 通过对比加入样品后 SDS 与未加入样品 SDS 引起的绒毛尿囊膜毒性效应指标 (如: 出血、血管融解和凝血) 的评分差异 (见表 5), 来评价样品的抗刺激效果。加入样品后, 毒性效应越轻, 评分越低, 则认为样品抗刺激效果越好。

采用终点评价法进行的试验, 应计算终点评分 (ES), 结果保留小数点后两位: 每只鸡胚记分 = 每只鸡胚观察到的

出血、凝血和血管融解程度的和；ES=6 只鸡胚得分的数学总和的平均值。根据 ES 数值按表6对植物组方眼刺激性进行分类。由表7和图3可知，植物组方在2%、1%、0.5%的浓度下，有拮抗 SDS 引起的刺激趋势，有一定的舒缓效果趋势。

表5 评分及现象

现象	严重程度	严重程度	评分
出血	无出血	均未出现出血	0
	轻度出血	仅见细小血管出血和少量出血	1
	中度出血	小血管和大血管出血，并有明显量的血液流出	2
	重度出血	几乎所有血管都出血，大量血液流出	3
血管融解	无血管融解	均未出现血管融解	0
	轻度血管融解	仅小血管融解	1
	中度血管融解	小血管和大血管融解	2
	重度血管融解	大血管和全部血管树都融解	3
凝血	无凝血	均未出现凝血	0
	轻度凝血	小血管内和（或）血管外轻度凝血，和（或）CAM 膜轻度浑浊	1
	中度凝血	中小血管内和（或）血管外中度凝血，和（或）CAM 膜中度浑浊	2
	重度凝血	全部血管内和（或）血管外重度凝血，和（或）CAM 膜重度浑浊	3

表6 终点评分法结果评价

终点评分	刺激性分类
ES ≤ 12	无/轻刺激性
12 < ES < 16	中度刺激性
ES ≥ 16	强刺激性/腐蚀性

表7 试验结果

组别	样品名称	浓度 (%)	终点评分 (ES)
样品组	植物组方	2	9.00
		1	9.50
		0.5	9.00
对照组	阴性对照 (0.1%SDS)	/	12.50
	溶剂对照 (生理盐水)	/	0.00
	模型对照 (1%SDS)	/	18.00

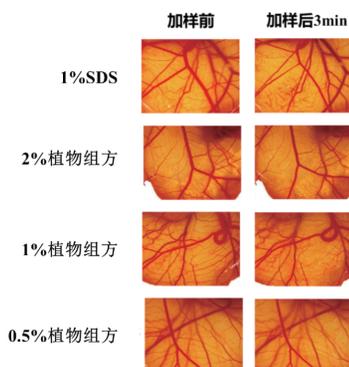


图3 加样前和加样 3 min 显微镜对照图

2.3 人体舒缓乳酸刺痛效果

舒缓功效通过乳酸刺痛试验进行，试验时，在受试者两侧鼻唇沟处同时敷贴浸透 50 μL 10% 乳酸溶液的滤纸（直径约 0.8 cm），当受试者感受到两侧鼻唇沟处的感觉分值均 ≥ 2 分（中度感觉及以上）时，去除滤纸。由测试人员在其中一侧测试区域涂抹测试植物组方啫喱样品，涂样量为 0.1 mL；另一侧测试区域不做处理。在乳酸刺激终点、使用样品后 30 min 周期内，由受试者主观评价两侧鼻唇沟处的刺痛感、瘙痒感，按 4 分法进行评分，评分标准：0 分为没有感觉，1 分为轻度感觉，2 分为中度感觉，3 分为重度感觉。

由图4可知，在使用测试样品后 0 min、0.5 min、2.5 min、5 min 和 7.5 min，志愿者主观评价使用样品的测试区域的刺痛感评分均值均低于空白，其中样品区域在使用后 0 min、0.5 min、2.5 min 和 5 min，对比有统计学意义 (P<0.05)。

由图5可知，在使用测试样品后 0 min、0.5 min、2.5 min 和 7.5 min，志愿者主观评价使用样品测试区域的瘙痒感评分均值均低于空白，其中样品区域在使用后 0 min、0.5 min 和 2.5 min，对比有统计学意义 (P<0.05)。

综上所述，在 30 min 的测试周期内，1% 植物组方样品表现出改善皮肤刺激状态的舒缓功效。

刺痛感 (n=30)

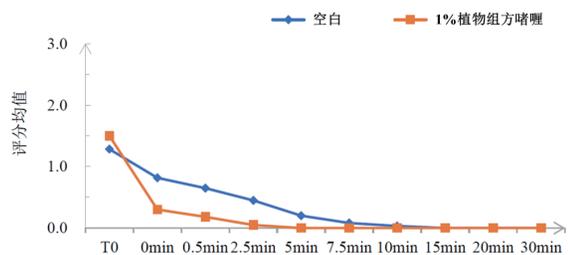


图4 涂抹 1% 植物组方啫喱 30min 内刺痛感评分均值测试结果

瘙痒感 (n=30)

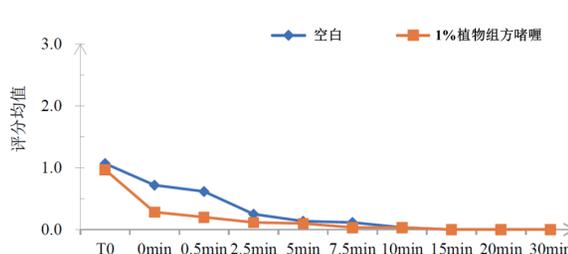


图5 涂抹 1% 植物组方啫喱 30min 内瘙痒感评分均值测试结果

2.4 人体舒缓辣椒碱刺激效果

将植物组方样品随机分布在受试者左右两侧鼻唇沟处，测试时，在受试者两侧鼻唇沟处同时敷贴浸透 30 μL 0.01% 辣椒碱水溶液的滤纸片（直径约 0.8 cm），贴敷

3 min 后取下滤纸片,再静待 5 min 后,一侧涂抹样品,涂样量为 30 μ L,另一侧不做处理(空白对照),涂抹样品后重新开始计时。使用样品前(辣椒碱刺激后)、使用样品后 0 min、1 min、3 min、5 min 和 7 min,使用 TiVi 700 采集测试区域皮肤偏振光下图片,进行图像分析得到 TiVi-index 平均值。

由图6-8测试结果显示,在使用测试样品后 7 min 内,样品测试区域的 TiVi-index 平均值变化率均低于空白组,其中样品区域在使用后 3 min,与空白组对比有统计学意义($P<0.05$)。综上所述,在 7 min 的测试周期内,1%植物组方啫喱表现出对辣椒碱引起的皮肤刺激的舒缓功效。

受试者编号	测试样品	图片类型	使用样品前	使用样品后					
				0min	1min	3min	5min	7min	
1号	1%植物组方啫喱	偏振光图片							
		TiVi 图片							
	空白对照	偏振光图片							
		TiVi 图片							
2号	1%植物组方啫喱	偏振光图片							
		TiVi 图片							
	空白对照	偏振光图片							
		TiVi 图片							

图6 使用样品前后各时间点测试区域皮肤 TiVi 700 采集和分析图片

TiVi-index平均值测试结果 (n=5)

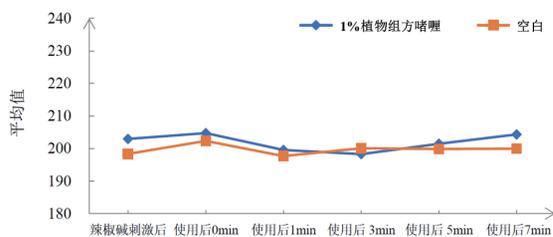


图7 皮肤敏感度 TiVi-index 平均值测试结果

TiVi-index平均值测试结果 (n=5)

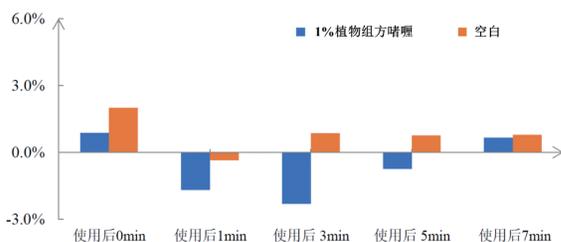


图8 皮肤敏感度 TiVi-index 平均值相对使用前均值的变化率

3. 结论

通过对牡丹皮、苦参、灵芝按一定工艺和比例进行提取,制备了天然舒缓植物组方。通过 LPS 诱导小鼠巨噬细胞(RAW264.7)炎症模型,评价植物组方减少细胞炎症因子表达分泌的能力,结果显示在浓度为 0.125%时,对 IL-1 β 表达有显著性抑制作用;通过对比加入样品后 SDS 与未加入样品 SDS 引起的绒毛尿囊膜毒性效应指标,表明植物组方的抗刺激效果,2%、1%、0.5%浓度下的植物组方,可以拮抗 SDS 引起的刺激趋势,有一定的舒缓效果趋势;涂抹 1%的植物组方啫喱,在 30min 内可以有效降低乳酸引起的刺痛、瘙痒等症状;在 30 名志愿者参加的辣椒碱刺激实验中,使用 TiVi 700 采集测试区域皮肤偏振光下图片,进行图像分析,植物组方样品测试区域的 TiVi-index 平均值变化率均低于空白组,有即时舒缓的作用。该植物组方来源天然,且用到了多种中国传统特色植物,对于解决敏感肌消费者的皮肤问题,有很高应用价值。

参考文献

- [1] Adeline Bataille A B C L. Sensitive Skin: Lessons From Transcriptomic Studies[J]. Frontiers in Medicine, 2019(6).
- [2] 龚述辉. 中国敏感肌市场现状和产品趋势洞察 [J]. 日用化学科学, 2020, 43(10): 5-7.
- [3] Kim J, Kim B E, Leung D. Pathophysiology of atopic dermatitis: Clinical implications[J]. Allergy Asthma Proc, 2019, 40(2): 84-92.
- [4] 廖勇, 敖俊红, 杨蓉娅. 敏感性皮肤研究进展 [J]. 实用皮肤病学杂志, 2017(10): 227-230.
- [5] HUET F, MISERY L. Sensitive skin is a neuropathic disorder[J]. Experimental Dermatology, 2019(1): 139-141.
- [6] Yun C S, Choi Y G, Jeong M Y, et al. Moutan Cortex Radicis inhibits inflammatory changes of gene expression in lipopolysaccharide-stimulated gingival fibroblasts [J]. J Nat Med, 2013, 67(3): 576-589.
- [7] 张晓娟, 于孙婉琪. 苦参化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2023, 40 (12) : 79 - 87.
- [8] 安军红. 苦参碱对巨噬细胞免疫调节和凋亡的影响及机制研究 [D]. 大理: 大理大学, 2023: 3-10.
- [9] 朱玲, 史吉平, 王晨光, 等. 灵芝多糖的提取方法及其功能特性研究进展 [J]. 现代化工, 2017, 37(1): 55-59.
- [10] Huie C W, Di X. Chromatographic and electrophoretic methods for Lingzhi pharmacologically active components[J]. Journal of chromatography B, 2004, 812(1/2): 241-257.
- [11] Cai Z, Wong CK, Dong J, et al. Anti-inflammatory activities of Ganoderma lucidum (Lingzhi) and San-Miao-San supplements in MRL/lpr mice for the treatment of systemic lupus erythematosus[J]. Chin. Med, 2016, 11(1): 23.

The Soothing Effect of a Plant Composition with *Moutan Cortex*

Xie Wen-guang, Liu Qian, Jiang Yan-bing, Yang Jie, Qi Feng-wei
(Shandong Huawutang Biotechnology Co., Ltd., Jinan, Shandong , 250101)

Abstract : Mudanpi (*Moutan Cortex*), *Sophora flavescens*, and *Ganoderma lucidum* are traditional medicinal plants. In order to develop gentle and effective soothing products, a natural plant composition was prepared by extracting *Moutan Cortex*, *Sophora flavescens*, and *Ganoderma lucidum* as certain processes and ratios. And the anti-allergic soothing ability of the natural plant composition was studied through LPS-induced mouse macrophage inflammation model, chicken embryo stimulation test, human lactate and capsaicin stimulation test; The results showed that the natural plant composition had a significant inhibitory effect on the expression of inflammatory factors; And it can counteract the stimulation and damage of chorioallantoic membrane caused by SDS, with a certain soothing effect; The gel with 1% plant composition can effectively reduce symptoms such as skin pain and itching caused by lactic acid on volunteers; In a capsaicin stimulation experiment involving 30 volunteers, TiVi 700 was used for image analysis, and the sample with natural plant composition showed an immediate soothing effect. This plant composition has high application value in solving the skin problems of sensitive-skin consumers.

Keywords : *moutan cortex*; *sophora flavescens*; *ganoderma lucidum*; anti-allergic soothing; cosmetics

