

复合植物提取物抗敏舒缓功效的研究

吕永博¹, 彭娇龙¹, 邸太菊¹, 查沛娜¹, 任晗堃¹, 孟宏²
(1. 太和康美(北京)中医研究院有限公司, 北京, 102401;
2. 北京工商大学, 北京, 100048)

摘 要: 对龙胆、苦参、麦冬三味中药进行提取, 通过 ABTS 自由基清除、抑制炎症因子 IL-1 α 、IL-1 β 及 IL-6 释放、抑制红细胞溶血、舒缓鸡胚尿囊膜抗刺激、舒缓辣椒碱刺激以及乳酸刺痛试验, 研究复合植物提取物在抗敏舒缓方向的功效。结果显示, 2.5%(m/m) 复合植物提取物对 ABTS 抑制率达 100%, 且有良好的量效关系; 0.08%(v/v) 复合植物提取物能够抑制炎症因子 IL-1 α 、IL-1 β 及 IL-6 的释放, 5%(v/v) 能抑制红细胞溶血, 在 1%, 3%, 5%(v/v) 下, 均有拮抗 SDS 引起的刺激趋势。人体功效评价结果表明, 3%(m/m) 复合植物提取物有效舒缓辣椒碱引起的刺激以及乳酸引起的刺痛。因此, 复合植物提取物预期可发挥良好的抗敏舒缓的功效。

关键词: 苦参; 龙胆; 麦冬; 抗过敏; 功效评价

作者简介: 吕永博, 硕士, 毕业于四川大学。主要从事化妆品植物功效原料研究与开发工作, 致力于中国特色植物资源化妆品原料研发、舒敏抗刺激及婴童相关功效原料研发、化妆品科技前沿技术研究等工作。E-mail: lvyongbojtr@126.com



吕永博

引言

敏感性皮肤特指皮肤在生理或病理条件下发生的一种高反应状态, 主要发生于面部, 临床表现为受到物理、化学、精神等因素刺激时皮肤易出现灼热、刺痛、瘙痒及紧绷感等主观症状, 伴或不伴红斑、鳞屑、毛细血管扩张等客观体征^[1]。造成敏感肌的诱因复杂多样, 除了后疫情时代长期佩戴口罩之外, 不良的生活方式及生活习惯、不当的护肤手段、或是精神压力等自身因素, 以及环境污染、换季期等外部因素都可能导致肌肤屏障受损而造成肌肤敏感症状。因此, 开发具有抗敏舒缓功效的原料是应用研究的目标之一。

龙胆苦参麦冬组方是一种中药复方, 其来源可以追溯到中医药传统理论和实践经验。龙胆、苦参和麦冬是常见的中草药, 被广泛应用于中医药领域。虽然龙胆、苦参和麦冬等草本植物在中药学中有一定的舒缓和抗炎作用的报道^[2-4], 但在化妆品中的具体应用和效果方面, 目前还缺乏足够的科学研究支持。本研究中的复合植物提取物由龙胆、苦参、麦冬三种中草药通过科学组方复配而成。龙胆始载于《神农本草经》, 列为中品, 性寒、味苦, 归肝胆经, 为清肝胆湿热、泻下焦郁火之常用中药^[5]。现代研究表明, 龙胆苦苷是龙胆的主要有效成分, 可降低细胞中 IL-1 β 、PGE2、IL-6 等炎症因子水平^[6,7], 对炎性疼痛刺激有明显的镇痛作用^[3], 并能清除氧自由基、降低细胞凋亡^[8]。龙胆常与其他中药原料在外科用药及化妆品中用作抗特异性皮炎、祛湿疹、去屑止痒等功能成分^[9]。苦参是

中国传统植物药, 在抗菌、消肿、治疗皮肤病等方剂中应用广泛。苦参的主要化学成分是苦参碱、氧化苦参碱和槐根碱等生物碱类, 还含有黄酮类、三萜皂苷类以及醌类化合物等^[10], 具有抗氧化、抗病毒、抗变态反应、抗炎等生物活性和药理作用^[11,12]。麦冬为百合科植物麦冬的干燥块根, 归心、肺、胃经, 味甘、微苦, 微寒, 常以块根入药, 具有养阴生津、润肺清心的功效, 用于肺燥干咳、阴虚劳嗽、喉痹咽痛、津伤口渴、内热消渴、心烦失眠、肠燥便秘^[13]。现代研究表明, 麦冬具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗衰老和免疫调节等药理学作用^[14,15]。在临床上, 主要有养阴生津、润肺清心之功效^[16]。经研究表明, 麦冬的主要化学组分包括多糖类、皂苷类、黄酮类和甾体类等^[17]。本文主要研究组方提取制备工艺, 验证组方提取物舒敏功效, 并探究其作用机理, 以期为其在医药和化妆品领域中的应用提供理论依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

苦参根、龙胆根、麦冬根(北京仟草中药饮片有限公司); 甘油、1, 2-戊二醇、1, 2-己二醇、无水乙醇、ABTS、维生素 C(国药集团); 小鼠巨噬细胞(RAW264.7)(中国医学科学院基础学研究所细胞资源中心); 胎牛血清(FBS, Gibco)、DMEM 高糖培养基(DMEM, Gibco); 磷酸盐缓冲液(PBS, Gibco); 二甲亚砜(DMSO, Sigma)、噻唑蓝(MTT, Sigma); 地

塞米松 (Sigma); IL-1 α ELISA 试剂盒 (Abcam); 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); 白细胞介素-6 酶联免疫检测试剂盒 (Mouse IL-6 ELISA kit, Boster); 白莱杭鸡 SPF 级受精鸡胚 (北京勃林格殷格翰维通生物技术有限公司); 十二烷基硫酸钠 (SDS, Biotopped); 生理盐水 (石家庄四药有限公司); 4% 牛红细胞 (RBC) 悬液 (北京百奥莱博生物科技有限公司)。

CO₂ 培养箱 (Thermo, 150I); 超净工作台 (苏净安泰, SW-CJ-1F); 超净台 (亚泰科隆); 倒置显微镜 (Leica); 二氧化碳培养箱 (Thermo); 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); 分析天平 (赛多利斯); 电动助吸器、离心机、移液枪 (Eppendorf)、漩涡混合器 (大龙); 微量振荡器 (大龙)。

1.2 试验方法

1.2.1 复合植物提取物的提取工艺优化

苦参根、龙胆根、麦冬根分别粉碎过筛后, 按照固定料液比加入纯水在固定温度下提取一定时间, 提取结束后冷却至室温, 过滤, 粗滤液中加入 2% 活性炭, 83 °C 脱色 1 h, 再次过滤, 加入生药材质量 1% 的蛋白酶, 粗滤液质量 0.007% 的淀粉酶, 进行除蛋白、淀粉, 53 °C 反应 30 min, 升温至 93 °C 灭菌 30 min, 浓缩, 精滤, 按照精滤液: 甘油: 戊二醇: 己二醇 = 100:5:2:1 (m/m) 进行复配, 灭菌。

考察苦参: 龙胆: 麦冬配比 (3:0.5:0.5 m/m, 3:0.5:0.5 m/m, 3:0.5:0.5 m/m), 料液比 (1:20 m/m, 1:30 m/m, 1:40 m/m) 以及提取时间 (1 h, 2 h, 3 h) 对总糖含量的影响。

1.2.2 ABTS 自由基清除试验

ABTS 自由基清除试验, 作为评价抑制氧化应激反应的一种方法, 可评估物质对氧化应激反应的抑制能力。一般情况下, ABTS 自由基清除率越大, 表明物质的抑制氧化应激反应的能力越强。ABTS 在适当的氧化剂作用下氧化生成稳定的蓝绿色阳离子自由基 ABTS⁺·, 在抗氧化物存在时, ABTS⁺· 与抗氧化成分发生反应, 使得体系颜色褪去, 在最大吸收波长下, 测定溶液的吸光度值, 即可测定并评估出产品抑制氧化应激反应的能力。试验考察了复合植物提取物 (0.1%、0.25%、0.5%、0.75%、1.0%、2.5%) 对 ABTS 自由基的清除率, 按照表 1 中各种试剂添加量配制反应体系, 反应一定时间, 734 nm 波长处测定吸光度值。

表 1 反应体系

添加试剂	受试样品	阳性物	50% 乙醇	ABTS 溶液
样品组	+	-	-	+
阳性对照组	-	+	-	+
阴性对照组	-	-	+	+
空白对照组	+	-	+	-

注: 表 1 中 “+” 表示添加, “-” 表示未添加。

ABTS 自由基清除计算公式:

$$\text{清除率} = \frac{[B+C]-A}{B} \times 100\%$$

式中:

A——试样溶液与 ABTS 溶液混合后吸光值

B——50% 乙醇与 ABTS 溶液混合后吸光值

C——50% 乙醇与试样溶液混合后吸光值

1.2.3 炎症因子释放试验

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, 如白细胞介素-1 α (IL-1 α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 等。本试验基于 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 (RAW264.7) 炎症模型, 评价样品抑制炎症因子释放的能力, 进而预测其抑制炎症反应进一步发生的能力。

本试验采用 MTT 法检测细胞活性, 筛选细胞给样的最大安全体积分数。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), 样品体积分数设置见表 2, 每个体积分数设置 3 个重复孔。具体操作步骤如下:

表 2 样品细胞毒性体积分数设定

样品名称	样品体积分数 (v/v)
复合植物	0.0024%、0.0049%、0.0098%、0.0195%、0.039%、0.078%、
提取物	0.156%、0.313%、0.625%、1.25%、2.5%、5%、10%、20%

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 °C、5% 的 CO₂ 培养箱中孵育培养 18–24 h。按表 2 中体积分数设置, 配制不同体积分数的受试物。细胞生长 18–24 h 后弃掉上清, 加入含不同体积分数受试物的培养基, 将培养板放置在 37 °C、5% 的 CO₂ 培养箱中孵育培养 18–24 h。细胞培养 18–24 h 后, 弃掉上清, 加入配制并过滤好的 MTT (0.5 mg/mL), 轻轻混匀, 37 °C 避光孵育 4 h。孵育结束后弃掉上清, 每孔加 150 μ L 的 DMSO, 震荡 20 min, 用酶标仪读取 OD_{540 nm} 值。

相对细胞活率计算公式:

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

1.2.3.1 抑制 IL-1 α 的释放

以2.2E5/孔的接种密度将细胞接种到6孔板中，每孔加2 mL细胞悬液，将接种好的细胞培养板放入培养箱中继续培养24 h(5% CO₂、37 °C)。根据表3试验分组和体积分数设置，样品组每孔加入1.8 mL含有相应体积分数受试物的培养液；阴性对照组每孔加入1.8 mL的溶剂对照培养液；阳性对照组每孔加入1.8 mL的阳性对照培养液；空白对照组每孔加入1.8 mL正常培养液。给药完成后，将6孔板放置于细胞培养箱(5% CO₂、37 °C)培养2 h。给药2 h后，各组每孔加入200 μ L配置的含LPS的工作液，置于细胞培养箱(5% CO₂、37 °C)继续培养22 h。收集细胞培养上清液，按照IL-1 α ELISA试剂盒说明书进行ELISA检测。

表3 试验分组和体积分数设置

组别	样品信息			检测系统		
	样品名称	样品体积分数	刺激条件	检测指标	检测模型	检测方法
空白对照	/	/	/			
阴性对照	/	/				
阳性对照	地塞米松	0.01%	LPS 1 μ g/mL	IL-1 α	巨噬细胞	ELISA
		1.25%				
样品组	复合植物提取物	0.313%				
		0.078%				

1.2.3.2 抑制 IL-1 β 、IL-6的释放

将细胞接种至24孔板中，37 °C，5% CO₂培养箱孵育18-24 h。根据表4配制受试物和阳性对照。根据表4试验分组和体积分数设置，待24孔板中细胞铺板生长18-24 h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体积分数样品的细胞培养基，于37 °C，5% CO₂培养箱继续培养18-24 h。培养18-24 h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18-24 h后收集上清液。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。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。

表4 试验分组和体积分数设置

序号	组别	样品信息		检测系统		
		组别名称	样品体积分数	检测项目	检测模型	检测方法
	空白对照	SC (0.1%DMSO, LPS-)	/			
组1	阴性对照	SC (0.1%DMSO, LPS+)	/			
	阳性对照	PC (地塞米松)	0.001%	IL-1 β 、IL-6	巨噬细胞	ELISA
	空白对照	BC (LPS-)	/			
组2	阴性对照	NC (LPS+)	/			
	样品组	复合植物提取物	1.25%、0.313%、0.078%			

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。

1.2.4 抑制红细胞溶血试验

1% SDS：称取0.1 g SDS，加入9.9 g去离子水，涡旋混匀；0.1% SDS：取1 mL 1%SDS，加入9 mL PBS，涡旋混匀；样品配置：将样品用PBS稀释至10%，涡旋混匀。

通过预实验调整红细胞密度与SDS加入量，使得阴性对照组红细胞溶血率在60%-90%之间。取离心管，按照表5反应体系所示，分别加入受试物、PBS、RBC悬液、SDS，并混合均匀，样品体系终体积分数即为测试体积分数；置于摇床，孵育10 min后离心；观察现象，并取上清液，测定OD₅₃₀；计算阴性组、样品组的溶血率，根据溶血率计算样品组的红细胞溶血抑制率。

表5 反应体系

添加试剂	受试样品	PBS	RBC悬液	SDS
阴性组	-	+	+	+
样品组	+	+	+	+
溶剂对照组	-	+	+	-
模型对照组	+	-	+	-

注：表5中“+”表示添加，“-”表示未添加，模型对照中受试样为去离子水。

红细胞溶血率计算公式为：

$$\text{红细胞溶血率} = \frac{OD_{\text{样品组}} - OD_{\text{溶剂对照组}}}{OD_{\text{模型对照组}} - OD_{\text{溶剂对照组}}} \times 100\%$$

红细胞溶血抑制率的计算公式为：

$$\text{红细胞溶血抑制率} = \frac{\text{阴性组溶血率} - \text{样品组溶血率}}{\text{阴性组溶血率}} \times 100\%$$

1.2.5 鸡胚绒毛尿囊膜抗刺激试验

溶剂对照组：生理盐水，即0.9% NaCl水溶液；模型对照组：1% SDS，称取0.1 g SDS，加入9.9 g生理盐水中，涡旋混匀；阴性对照组：0.1% SDS，由1% SDS稀释10倍得到；样品组：分别用生理盐水将样品稀释成2%，6%，10%；三个体积分数分别取3 mL再加入3 mL的0.2% SDS，涡旋混匀，得最终体积分数1%，3%，5%。

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；终点评价法操作：取0.3 mL受试物直接作用于CAM，作用3 min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（0.1% SDS）6只鸡胚，并设置溶剂对照1只鸡胚。

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

表6 评分及现象

现象	严重程度	具体现象	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

终点评分法结果评价

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7对受试物眼刺激性进行分类。

表7 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
IS ≥ 16	强刺激性/腐蚀性

1.2.6 辣椒碱刺激舒缓试验

分别配置0.01%辣椒碱溶液、3%复合植物提取物啫喱。筛选8名志愿者，建立辣椒碱刺激皮肤模型，在志愿者鼻唇沟部位贴敷含0.01%辣椒碱溶液的滤纸片，贴敷3 min后取下，再静待5 min后，一侧涂抹3%复合植物提取物啫喱，另一侧不做处理，涂抹样品后重新计时，在使用样品前（辣椒碱刺激后）、使用样品后0 min、1 min、3 min、5 min、7 min，使用皮肤敏感度成像仪（TiVi 700）采集测试区域皮肤图片并分析，通过对比样品间TiVi-index平均值，从而评价样品对辣椒碱引起的皮肤刺激的舒缓效果。

1.2.7 乳酸刺激舒缓试验

分别配置10%乳酸水溶液、3%复合植物提取物啫喱。筛选10名志愿者，建立乳酸刺激皮肤模型，在志愿者鼻唇沟部位贴敷含10%乳酸水溶液的滤纸片，当受试者感受到两侧鼻唇沟处的感觉分值均≥2分时，去除滤纸，一侧涂抹3%复合植物提取物啫喱，另一侧不做处理，涂抹样品后重新计数，在使用样品前（乳酸刺激后）、使用样品后0 min、0.5 min、2.5 min、5 min、7.5 min、15 min、20 min、30 min时询问志愿者两侧测试区域皮肤的刺痛感和瘙痒感，按4分法进行评分（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），通过对比样品间分数大小，从而评价样品对乳酸引起的皮肤刺激的舒缓效果。

公式如下：

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

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，统计分析方法采用秩和检验。

2 结果与讨论

2.1 复合植物提取物提取工艺优化

由图1可知，不同配比对总糖含量有较大的影响，其

中苦参:龙胆:麦冬=3:0.5:0.5时,总糖含量最多;如图2所示,当料液比1:20时,总糖含量最多;由图3可知,随着提取时间的延长,活性成分总糖含量并未一直增加,在2h时总糖含量最高,3h时略微下降,表明最佳提取时间为2h。综上,复合植物提取物最佳提取工艺:植物配比为3:0.5:0.5,料液比为1:20,提取时间为2h。

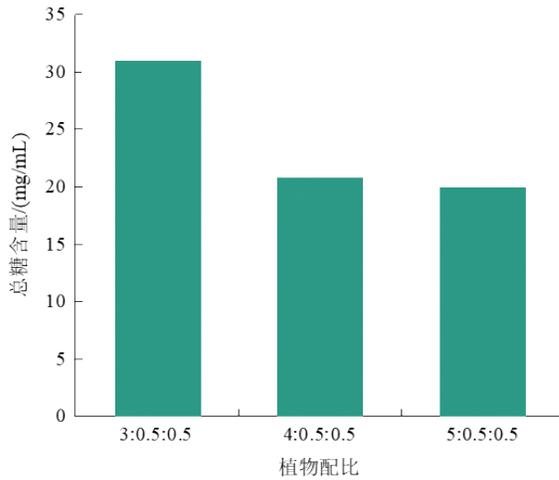


图1 植物配比对总糖含量的影响

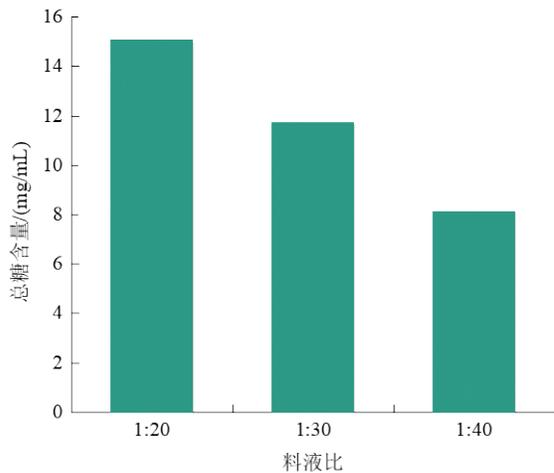


图2 料液比对总糖含量的影响

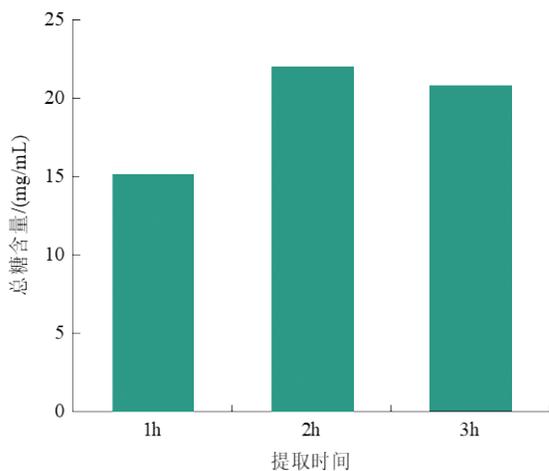


图3 提取时间对总糖含量的影响

2.2 复合植物提取物对 ABTS 自由基清除率

不同受试体积分数下的复合植物提取物对 ABTS 自由基的清除率如图4所示,随着复合植物提取物受试体积分数的增加,ABTS 自由基清除率逐渐增加,且呈现出良好的量效关系,表明复合植物提取物具有良好的清除 ABTS 自由基的能力,从而抑制氧化应激反应发生。

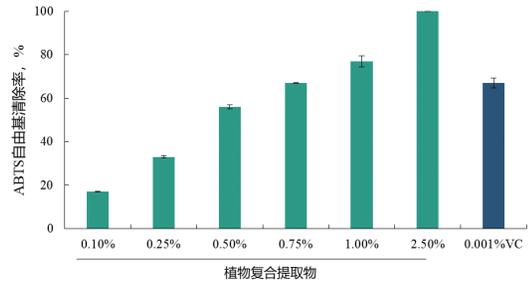


图4 复合植物提取物对 ABTS 自由基的清除作用

2.3 复合植物提取物对炎症因子的释放抑制

2.3.1 基于 RAW264.7 细胞的毒性检测结果

相对细胞活率变化趋势如图5所示,根据细胞毒性试验结果,细胞形态,最终选取复合植物提取物在细胞上的给样体积分数为0.078%、0.313%、1.25%。

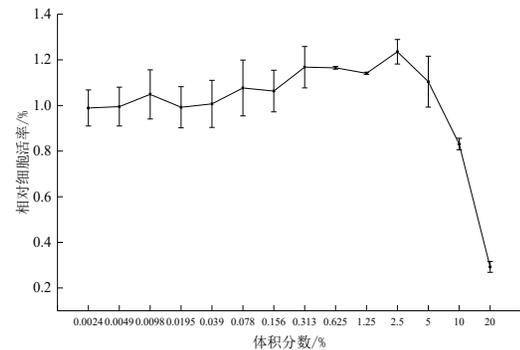


图5 复合植物提取物相对细胞活率曲线

2.3.2 复合植物提取物对 IL-1 α 的释放抑制

复合植物提取物对 IL-1 α 的释放抑制试验结果如图6所示,复合植物提取物在1.25%, 0.31%, 0.08%的体积分数下,IL-1 α 含量显著下降。结合数据分析,1.25%,

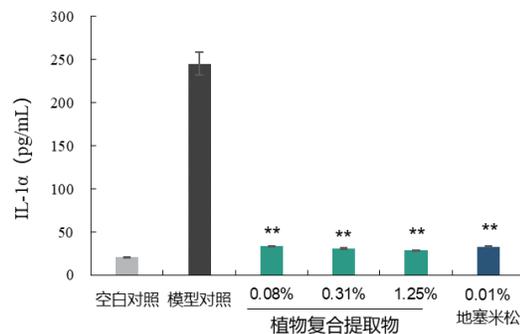


图6 复合植物提取物对炎症因子 IL-1 α 的抑制作用

图注: n=3, 采用单因素方差分析 (ANOVA), 与模型对照相比, ** $p<0.01$

0.31%，0.08%等3个体积分数处理后功效没有出现剂量依赖性，分析其原因可能是该样品的起效体积分数较低，在达到一定体积分数之后，对炎症因子的抑制达到一个平稳期，因此这3个体积分数间的功效没有显著性差异，可以再降低体积分数开展功效检测验证其剂量依赖性。

2.3.3 复合植物提取物对 IL-1 β 的释放抑制

复合植物提取物对 IL-1 β 的释放抑制试验结果如图7所示，试验结果表明，复合植物提取物在体积分数为0.08%、0.31%、1.25%时，对 IL-1 β 表达均有显著性抑制作用。

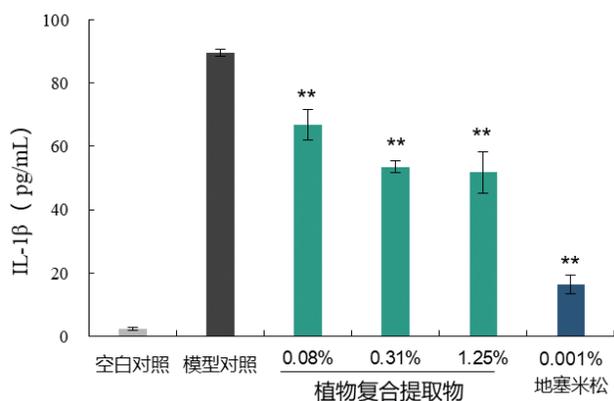


图7 复合植物提取物对炎症因子 IL-1 β 的抑制作用

图注：n=3，采用单因素方差分析（ANOVA），与模型对照相比，** $p<0.01$

2.3.4 复合植物提取物对 IL-6 的释放抑制

复合植物提取物对 IL-6 的释放抑制试验结果如图8所示，试验结果表明，复合植物提取物在体积分数为0.08%、0.31%、1.25%时，对 IL-6 表达均有显著性抑制作用。

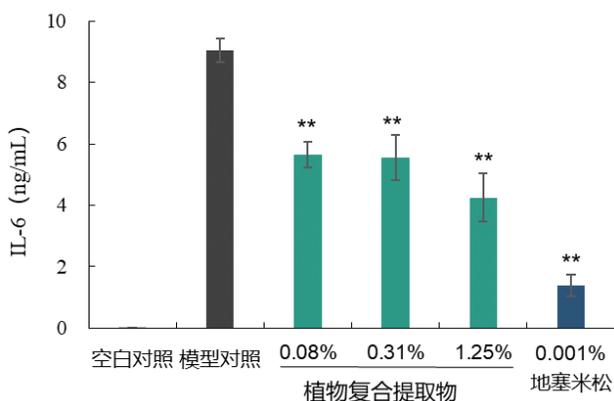


图8 复合植物提取物对炎症因子 IL-6 的抑制作用

图注：n=3，采用单因素方差分析（ANOVA），与模型对照相比，** $p<0.01$

2.4 复合植物提取物对红细胞溶血抗刺激的影响

如图9所示，通过上述结果可以看出，复合植物提取物在5.00%的体积分数下，对 SDS 引起的红细胞溶血有一定的抑制作用，随着检测体积分数增加，复合植物提取物对 SDS 引起的红细胞溶血的抑制作用呈正相关。

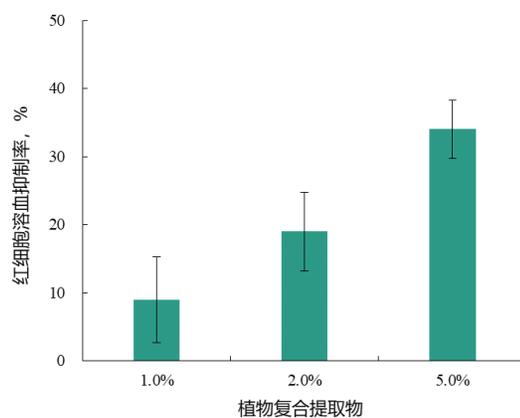


图9 复合植物提取物对 SDS 致红细胞溶血抑制情况

2.5 复合植物提取物对鸡胚绒毛尿囊膜抗刺激的影响

通过上述结果可以看出，复合植物提取物在1%，3%，5%这三个体积分数下，均有拮抗 SDS 引起的刺激趋势。基于鸡胚绒毛尿囊膜抗刺激试验，复合植物提取物有一定的舒缓趋势。

表8 试验结果

组别	样品名称	试验体积分数	终点评分
样品组	复合植物提取物	1%	8.00
		3%	9.00
		5%	8.50
对照组	阴性对照 (0.1%SDS)	/	13.50
	溶剂对照 (生理盐水)	/	0.00
	模型对照 (1%SDS)	/	18.00

2.6 复合植物提取物对舒缓辣椒碱刺激的影响

图10为使用样品前（辣椒碱刺激后）、使用样品后0 min、1 min、3 min、5 min、7 min，使用皮肤敏感度成像仪（TiVi 700）采集测试区域皮肤照片，与空白对照相比，3%复合植物提取物具有明显的舒缓辣椒碱刺激的功效。根据皮肤敏感度 TiVi-index 平均值测试结果，由图11可知，在使用样品7 min内各时间点，使用测试样品测试区域的 TiVi-index 平均值均低于空白对照，在使用测试样品后0 min、1 min、3 min和5 min，与空白对照相比差异均有统计学意义（ $P<0.05$ ）。综合以上分析，在7 min的测试周期内，3%复合植物提取物表现出对辣椒碱引起的皮肤刺激的舒缓功效。

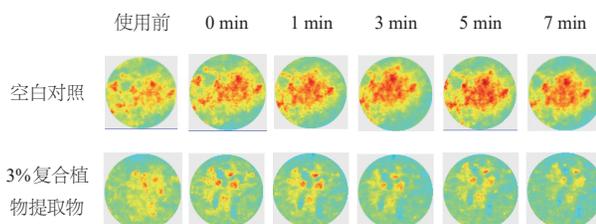


图10 使用样品前后测试区域皮肤 TiVi 700 采集和分析图片

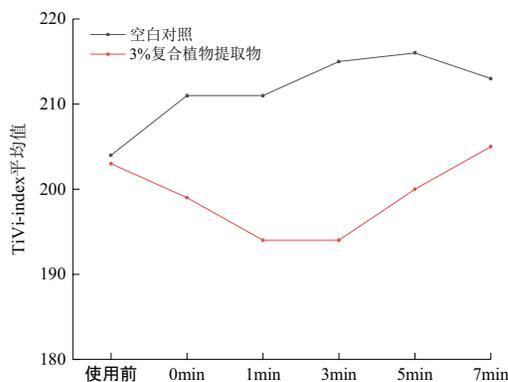


图11 复合植物提取物对辣椒碱引起皮肤刺激的舒缓作用

2.7 复合植物提取物对舒缓乳酸刺激的影响

在刺激终点 (T₀)、样品使用后 0 min、0.5 min、2.5 min、5 min、7.5 min、15 min、20 min、30 min, 受试者对两侧测试区域感受到的刺痛感、瘙痒感进行主观评价, 按4分法进行评分。关于复合植物提取物对舒缓乳酸刺痛的影响, 如图12所示, 与空白对照相比, 在使用后 0 min、0.5 min时, 复合植物提取物能显著舒缓乳酸引起的刺痛, 并在 7.5 min时刺痛完全消除。关于复合植物提取物对舒缓乳酸瘙痒的影响, 如图13所示, 在 15 min之前, 复合植物提取物舒缓皮肤瘙痒都优先于空白对照, 在 15 min时达到一致, 在 20 min时瘙痒感完全消除。表明3%复合植物提取物可即时舒缓乳酸引起的皮肤刺激。

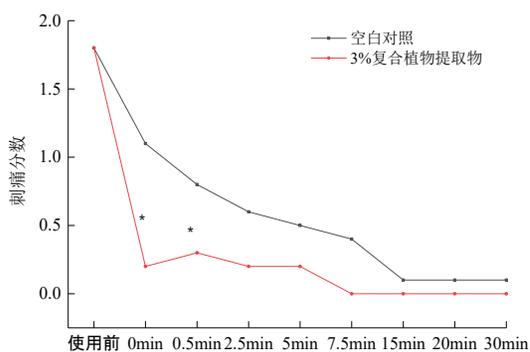


图12 复合植物提取物对乳酸引起皮肤刺痛的舒缓作用

图注: n=10, 采用秩和检验, 与空白对照相比, * $p<0.05$

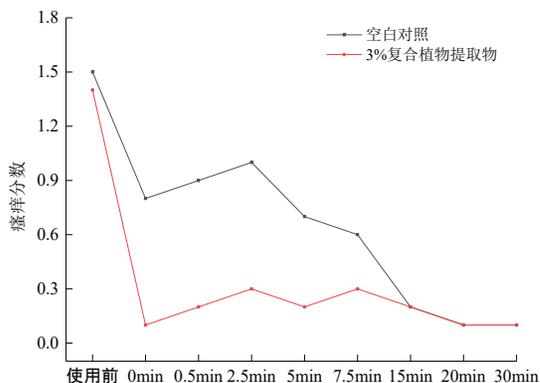


图13 复合植物提取物对乳酸引起皮肤瘙痒的舒缓作用

3 结论

通过清除 ABTS 自由基试验、抑制炎症因子 IL-1 α 、IL-1 β 及 IL-6 释放试验、抑制红细胞溶血试验、舒缓鸡胚尿囊膜抗刺激、舒缓辣椒碱刺激以及舒缓乳酸刺痛试验, 证实了复合植物提取物具有良好的清除 ABTS 自由基活性, 且有良好的量效关系, 抑制 IL-1 α 、IL-1 β 及 IL-6 释放, 抑制红细胞溶血, 有效舒缓鸡胚尿囊膜抗刺激、辣椒碱刺激以及乳酸刺痛。因此, 复合植物提取物通过科学配伍、协同增效, 作用于肌肤预期可发挥良好的舒缓的作用, 有望广泛应用于抗敏舒缓的护肤品中。

参考文献

- [1] 何黎, 郑捷, 马慧群, 等. 中国敏感性皮肤诊治专家共识 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2017,31(01):1-4.
- [2] Mubashir K, Ganai Bashir A., Ghazanfar K, et al. Anti-inflammatory and immuno-modulatory studies on LC-MS characterised methanol extract of *Gentiana kurroo* Royle[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2017, 17, 78.
- [3] MA H Y, HUANG Q, QU W S, et al. In vivo and in vitro anti-inflammatory effects of *Sophora flavescens* residues[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018, 224: 497-503.
- [4] ZHAO J W, CHEN D S, DENG C S, et al. Evaluation of anti-inflammatory activity of compounds isolated from the rhizome of *Ophiopogon japonicus*[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2017, 17, 7.
- [5] 张堇詠, 尹海波, 张建逵, 等. 中药龙胆的本草考证 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019,25(13):163-169.
- [6] ZHAO L, YE J, WU G T, et al. Gentiopicroside prevents interleukin-1 beta induced inflammation response in rat articular chondrocyte[J]. J. Ethnopharmacol., 2015, 172: 100-107.
- [7] ZHANG Q L, ZHANG J, XIA P F, et al. Anti-inflammatory activities of gentiopicroside against iNOS and COX-2 targets[J]. Chin. Herb. Med., 2019, 11(01): 108-112.
- [8] 肖琨珉, 孔晨帆, 姚树坤. 龙胆苦苷对过氧化氢诱导 HepG2 细胞氧化应激损伤的保护作用研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2019,14(11):1530-1534.
- [9] 韩萍, 李洪海, 马诗经, 等. 一种龙胆提取物的抗皮肤干燥症瘙痒作用及其机制 [J]. 香料香精化妆品, 2021(6):27-31.
- [10] 马雪宁, 杨素清, 张君成, 等. 苦参药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2023,25(01):152-156.
- [11] 顾关云, 肖年生, 蒋昱. 苦参的化学成分、生物活性和药理作用 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(05):265-271.
- [12] HONG M H, LEE J Y, JUNG H, et al. *Sophora flavescens* Aiton inhibits the production of pro-inflammatory cytokines through inhibition of the NF kappaB/IkappaB signal pathway in human mast cell line (HMC-1)[J]. Toxicol. In Vitro, 2009, 23(2): 251-258.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:144-145.

[14] 林晓, 周强峰, 徐德生. 麦冬药理作用研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2004(06):59-61.

[15] 迟宇昊, 李暘, 申远. 麦冬化学成分及药理作用研究进展 [J].

新乡医学院学报, 2021,38(02):189-192.

[16] 常思潮, 常惟智. 麦冬的药理作用及复方临床应用研究进展 [J]. 光明中医, 2023,38(12):2443-2446.

[17] 万梅绪, 原景, 张燕欣, 等. 麦冬提取物及其有效成分的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023,46(08):1819-1826.

Study on Anti-Allergic and Soothing Effect of Compound Plant Extract

Lv Yong-Bo¹, Peng Jiao-Long¹, Di Tai-Ju¹, Zha Pei-Na¹, Ren Han-Kun¹, Meng Hong²

(1.Beijing Academy of TCM Beauty Supplements Co., Ltd., Beijing 102401;

2.Beijing Technology and Business University, Beijing 100048)

Abstract : In this paper, *Sophora flavescens*, *Gentiana scabra* and *Ophiopogon japonicus* were extracted, and the effects of compound plant extracts on anti-sensitivity and relief were studied through ABTS free radical scavenging test, inhibition of inflammatory factors IL-1 α , IL-1 β and IL-6 release test, inhibition of red blood cell hemolysis, relieving chicken embryo allantoic membrane anti-irritation test, relieving capsaicin irritation test and lactic acid stinging test. The results showed that the inhibition rate of the compound plant extract with mass fraction of 2.5%(m/m) to ABTS was 100%, and there was a good dose-effect relationship. The compound plant extract with 0.08%(v/v) can inhibit the release of inflammatory factors IL-1 α , IL-1 β and IL-6, inhibit the hemolysis of red blood cells at 5%(v/v), and antagonize the stimulation trend caused by SDS at 1%, 3% and 5%(v/v). The results of human efficacy evaluation showed that the compound plant extract with a mass fraction of 3%(m/m) effectively relieves the irritation caused by capsaicin and the stinging caused by lactic acid. Therefore, the compound plant extract is expected to play a good anti-sensitivity and soothing effect.

Keywords : *sophora flavescens*; *gentiana scabra*; *ophiopogon japonicus*; anti-allergic; efficacy valuation

