

藤茶提取物的制备及其应用于修护功效的研究

孔令姗^{*}, 崔路路, 田云才
(上海致臻志臣科技有限公司, 上海, 201100)
DOI:10.61369/CDCST.2026010009

摘 要: 本文采用水提结晶的方式制备藤茶提取物 (MC), 通过 HPLC 及 UV-VIS 定性分析, SEM 表征, 考察其对脂多糖 (LPS)、H₂O₂、白细胞介素 IL-1 β 外界因子刺激的 RAW264.7 细胞和 HaCaT 细胞体外测试评价。结果显示, MC 主要为二氢杨梅素, 比较规则的棱柱形结构; CCK8 法检测显示 1.25% 以上的 MCTY (1.5%MC) 对 RAW264.7 细胞和 HaCaT 细胞的细胞活力影响较大; 0.3125% 和 0.625% MCTY 能够显著降低 LPS 刺激 RAW264.7 细胞生成 NO 和 IL-8 的量, 且优于地塞米松 (DEX); 0.3125% 和 0.625% MCTY 显著减少 H₂O₂ 刺激 HaCaT 细胞内 ROS 生成量, 加入 0.1% MCTY, 可以显著上调 IL-1 β 诱导的 HaCaT 细胞内 Keratin1、Keratin10、LOR、FLG mRNA 表达水平, 其结果具有统计学意义, 并且效果优异。有舒缓和修护的效果, 其作用机制与降低炎症反应、减少 ROS 产生、促进屏障因子和角蛋白的表达有关, 可应用于修护功效的化妆品中。



孔令姗

关键词: 藤茶提取物; 二氢杨梅素; 修护; 舒缓; 化妆品

作者简介: 孔令姗, 硕士, 上海致臻志臣科技有限公司日化活性原料研发工程师, 研究方向: 天然活性物的研究与开发。
E-mail: ylulushan2009@163.com。

藤茶 (*Ampelopsis grossedentata*) 为葡萄科蛇葡萄属植物的嫩茎叶, 学名为显齿蛇葡萄^[1], 又名莓茶、山甜茶、龙须茶、土家甘露或土家神茶, 素有“神茶”之称, 主要分布于广东、广西、云南、贵州、湖南、江西、福建等省区, 亦是国家地理标志保护产品; 藤茶是一种典型的药食两用植物, 使用历史可追溯到神农尝百草时期, 至今已有 3000 多年^[2,3]。据文献和民族使用记载, 藤茶味甘淡, 性凉, 具有清热解毒, 利湿消肿, 平肝降压、活血通络的功效^[4,5]。

藤茶是一种具有开发潜力的植物药材, 其黄酮含量高达 40% 以上, 主要成分为二氢杨梅素、杨梅素、杨梅苷、山奈酚、芹菜素、杨梅树皮素及其糖苷等, 具有调节免疫、抗炎、抑菌、抗肿瘤、抗氧化、降血脂、降血压、降血糖、保肝护肝等功效^[6-11]。藤茶作为民族特色茶药, 在少数民族及地区具有独特的应用, 土家族用于治疗口腔咽喉炎症, 瑶族用于治疗皮肤过敏、湿疹, 广西壮族外用资料痧麻等^[5], 其应用记载丰富。关于藤茶的研究报道不少, 但在化妆品领域上的应用报道较少, 本文主要是研究藤茶的提取及其在修护功效上的应用评价, 为进一步将藤茶应用在化妆品产品中提供基础。

1. 实验部分

1.1 主要材料、试剂与仪器

藤茶 (嫩叶), 张家界峰念溪有限公司; 纯化水, 自

制; 二氢杨梅素 (纯度 $\geq 98\%$), 上海诗丹德标准技术服务有限公司; 95% 乙醇、氢氧化钠、异丙醇、过氧化氢、氯仿, 中国医药集团有限公司; 甲醇 (梯度级), 默克化工技术 (上海) 有限公司; HaCaT 永生化角质形成细胞、RAW264.7 巨噬细胞, 中国科学院细胞库; 胎牛血清、双抗 (1×10^5 U/L 的青霉素、100 mg/L 的链霉素)、Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 培养基, 美国 Thermo Fisher 公司; PS, Gibco; DCFH-DA, Solarbio; Hoechst, Thermo Fisher; 抗荧光猝灭剂, Boyetime; 胰酶、CCK8、PBS, 上海泰坦科技股份有限公司; NO 检测试剂盒、ELISA 检测试剂盒, 上海源桔生物科技中心; RNA 提取试剂盒、qPCR 试剂盒, 上海翊圣生物科技有限公司; 地塞米松 (DEX)、脂多糖 (LPS)、白介素 IL-1 β , 上海碧云天生物技术有限公司; DNA 聚合酶, 日本 Takara 公司; FLG、LOR、Keratin1、Keratin10 引物, 上海铂尚生物技术有限公司。

实验室纯水机, 成都唐氏康宁科技发展有限公司; ARC HPLC, 美国 waters 公司; WB100-1F 型水浴锅、OS-30S 型搅拌机, 群安科学仪器 (浙江) 有限公司; ST-10 型过滤装置和真空泵, 海宁市益博过滤器材厂; MP31001 型电子天平 (十分之一)、FA2104J 型电子天平 (万分之一), 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; KQSK5200B 型超声波清洗器, 上海科导超声仪器有限公司; UV-19001 型紫外可见分光光度计, 岛津仪器 (苏州) 有限公司; 5425R 型高速冷冻离心机, 德国 eppendorf 公司; HERAcell

240i CO₂培养箱、Multiskan Skyhigh 1550型酶标仪, 美国 Thermo Fisher 公司; BSC-13041IIA2型生物安全柜(配备紫外灯), 苏州安泰空气技术有限公司; 紫外辐照仪, 法国 Vilber Bio imaging 公司; 倒置显微镜, leica; qTOWER³ 荧光定量基因扩增仪, 德国 Analytikjena 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 藤茶提取物(MC)的制备方法

将藤茶粉碎, 称取10g, 加水300g, 90℃水浴提取3h, 趁热过滤, 离心, 取上清液, 室温放置过夜沉降, 析出大量沉淀, 过滤, 收集沉淀, 50℃烘箱干燥3h, 得黄绿色粉末, 为藤茶提取物(MC), 将藤茶提取物(MC)溶于50% 1,3-丙二醇中, 加热搅拌至完全溶解, 过滤取上清液, 配制成质量分数为1.5%的藤茶提取液(MCTY), 用于后续实验测试。

1.2.2 藤茶提取液(MCTY)成分分析

HPLC条件: 检测方法^[12]如下: 柱子: YMC-Triart C18/S 250×4.6mm, 流速: 1mL/min, 检测波长: 292nm, 检测温度: 30℃, 流动相: 甲醇(A):水=2%~95%:98%~5%, 时间: 0~90min。

UV-VIS测试条件: MCTY用95%乙醇稀释至一定浓度, 进行紫外—可见光谱扫描, 波长范围190~600nm。

1.2.3 扫描电镜(SEM)分析^[13]

通过SEM扫描电镜观察藤茶粉末、二氢杨梅素及藤茶提取物MC的表面微观结构, 取适量的藤茶粉末及藤茶提取物MC粘着于样品台上, 置于离子键射仪, 镀一层导电金膜后, 在扫描电镜下观察; 工作条件: 加速电压10kV, 放大倍数1000×和16500×倍, 选择代表性的视野照相记录。

1.2.4 MCTY对细胞活力实验^[14]

考察MCTY对RAW264.7细胞和HaCaT细胞的细胞活力影响, 方法如下:

将2种细胞分别培养于含10%胎牛血清以及1%双抗(1×10⁵U/L的青霉素、100 mg/L的链霉素)的DMEM培养基中, 37℃、5%CO₂的培养箱中培养至细胞融合度为85%~95%; 用浓度为0.05%胰酶消化对数生长期细胞, 用含有10%血清的DMEM培养基终止消化反应。

用细胞计数板计数, 将细胞悬浮液调整至2×10⁵/mL, 按照每孔100 μL的比例接种到96孔板, 37℃、5%CO₂培养箱中培养至细胞融合度为90%~95%, 去除旧培养基, 加入100 μL含有不同浓度的MCTY无血清培养基, 每个待测液

做3个复孔。空白组无细胞, 加入200 μL PBS; 对照组含有细胞, 加入无血清的培养基100 μL, 于37℃、5%CO₂培养24 h, 每孔加入20 μL CCK8溶液, 再培养3 h, 在460 nm下测定吸光度值, 计算各组细胞活率, 如下:

细胞存活率(%) = (样品组 - 空白组) / (对照组 - 空白组) × 100%

1.2.5 MCTY对LPS刺激RAW264.7细胞产生NO和IL-8表达量的影响^[15]

LPS诱导RAW264.7细胞作为试验模型, 取对数生长期的RAW264.7细胞株, 以一定2.5×10⁶浓度接种至6孔板, 37℃、5%CO₂培养箱培养过夜; 待细胞融合度至60%~70%时, 加入待测样品, 继续培养24h, 收集上清液, 使用NO检测试剂盒和ELISA试剂盒检测NO和IL-8的含量, 每组做3次重复实验。分4组, 空白组、模型组、阳性对照组和样品组, 空白组为PBS+DMEM, 模型组为1 μg/mL LPS + DMEM, 阳性对照组为1 μg/mL LPS + 25mmol/L地塞米松 + DMEM, 样品组为1 μg/mL LPS + 浓度为0.3125%、0.625%MCTY+DMEM。

1.2.6 MCTY对H₂O₂刺激HaCaT细胞产生自由基ROS的影响^[16]

1.2.6.1 分组

HaCaT细胞培养前期同1.2.4。实验分4组, 对照组: HaCaT细胞不加200 μmol/L H₂O₂和MCTY; 模型组: HaCaT细胞只加200 μmol/L H₂O₂; 样品组: HaCaT细胞加200 μmol/L H₂O₂和0.3125%、0.625%的MCTY, 给药完成后将6孔板放置在CO₂培养箱(37℃、5%CO₂)中培养24h, 每组设2个复孔。

1.2.6.2 检测

DCFH-DA工作液按照1:1000比例稀释, 终浓度为10 μmol/L。弃培养基, PBS清洗2~3次, 每孔加入300 μL浓度为10 μmol/L的DCFH-DA工作液, 培养箱孵育30min, 孵育结束后, PBS清洗3次。每孔加入10 μg/mL hoechst 300 μL, 避光染色30min, PBS清洗3次; 取出载玻片, 加入适量抗猝灭剂进行拍照。荧光倒置显微镜采用FITC通道, 入射波长525nm, 激发波长448nm。

1.2.7 MCTY对IL-1β刺激HaCaT细胞产生基因Keratin1、Keratin10、FLG和LOR mRNA表达水平的影响^[14]

1.2.7.1 分组

HaCaT细胞培养前期同1.2.4。实验分4组, 对照组: HaCaT细胞不加10 ng/mL IL-1β和MCTY; 模型组: HaCaT

细胞只加 10ng/mL IL-1 β ；样品组：HaCaT 细胞加 10ng/mL IL-1 β 和 MCTY，给药完成后将 6 孔板放置在 CO₂ 培养箱（37℃、5%CO₂）中培养 24h，每组设 2 个复孔。培养时间结束后弃去上清；用预冷无菌 PBS 清洗 2 遍。

1.2.7.2 屏障相关因子表达测试

RT-PCR 反应检测 HaCaT 细胞屏障因子 FLG、LOR、Keratin1、Keratin10 mRNA 的表达。

1.2.7.2.1 RNA 提取

按照 RNA 提取试剂盒操作，具体流程如下：在 6 孔板每孔加入 300 μ L 裂解液，轻轻吹打 5~10 次至固悬物溶解、溶液澄清，加入等体积结合液至裂解液中，轻轻颠倒混匀 3~5 次，转移至纯化柱内，12000 r/min 离心 30 s，倒弃收集液体，加入 600 μ L 洗涤液 I，12000 rcf 离心 30 s，倒弃收集液体，加入 600 μ L 洗涤液 II，12000 r/min 离心 30s，倒弃收集液体，重复此步骤，去除残留液体，将 RNA 纯化柱置于试剂盒提供的 RNA 洗脱管中，加入 30 μ L 洗脱液，室温放置 2~3 min，12000 r/min 离心 30 s，所得溶液即为纯化的 RNA，加入适量 DEPC 水溶解 mRNA，测定浓度并按照反转录试剂盒说明书步骤反转录。

1.2.7.2.2 反转录 PCR

体系（20 μ L）：5 \times PrimeScript buffer 为 4 μ L；PrimeScript RT Enzyme Mix 1 为 1 μ L；Random 6 mers 为 2 μ L；RNA 和 ddH₂O 为 13 μ L，使 RNA 的量为 1000 ng。反应条件为 37℃，15min；80℃，5s；4℃循环；Total：approx 15min。

1.2.7.2.3 荧光定量 PCR 实验（QPCR）

体系（20 μ L）：2 \times SYBR 10 μ L，模板（逆转录得到的 cDNA 稀释 10 倍作为模板）2~5 μ L，引物 1~2 μ L，超纯水补齐体系至 20 μ L。反应条件：预变性 94℃ 5min；循环 40 次：变性 94℃ 30s，退火 60℃ 30s，延伸 72℃ 30 s（实时荧光拍照）；溶解曲线 94℃ 30 s，60℃ 30 s，72℃ 1s（升温过程实时荧光拍照）。

表1 人源基因 RT-PCR 引物序列

基因	引物方向	引物序列 (5'→3')
Keratin1	F	AGAGTGGACCAACTGAAGAGT
	R	ATTCTCTGCATTGTCCGCTT
Keratin10	F	TCCTACTTGGACAAAGTTCGGG
	R	CCCCTGATGTGAGTTGCCA
FLG	F	GGACAGGAACAATCATCGGGG
	R	CAACCTCTCGGAGTCGTCTG
LOR	F	GTCTGCGGAGGTGTTCTCTCT
	R	TGCTGGGTCTGGTGCGAGATC

1.3 结果统计分析

应用 GraphPad prism 作图，结果表示为 Mean \pm SEM。采用 t-test 或 one way ANOVA 统计分析。

2. 实验结果

2.1 MCTY 成分分析

将藤茶提取液（MCTY）进行 HPLC 和 UV-VIS 分析，可以看出藤茶提取液（MCTY）的主要成分与二氢杨梅素的出峰时间高度吻合，且其他物质的峰占比较小，并且紫外吸收光谱与二氢杨梅素的光谱图一致，说明主要成分为二氢杨梅素。

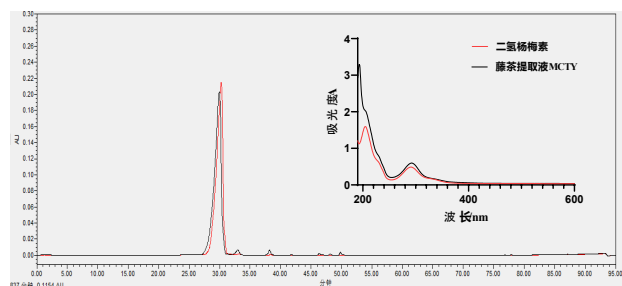


图1 MCTY 的 HPLC 和 UV-VIS 谱图

2.2 SEM 分析

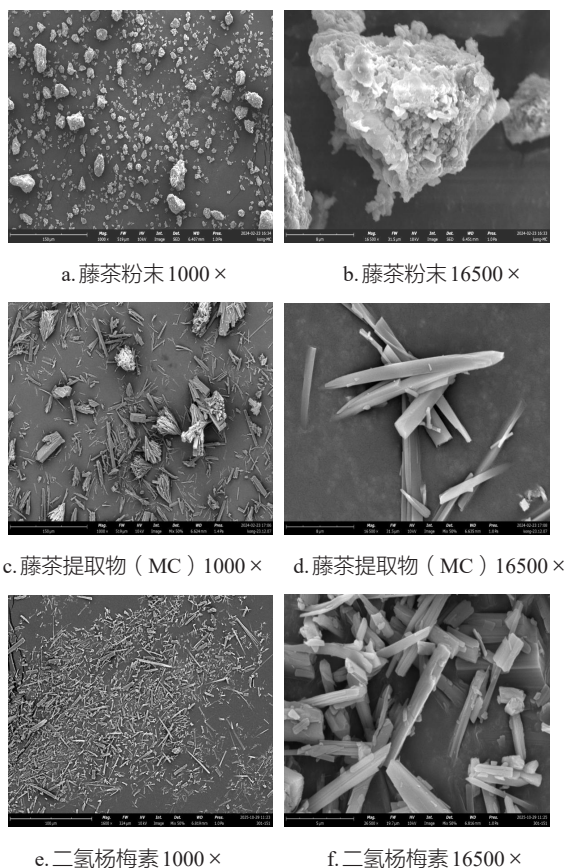
图2显示藤茶粉末、藤茶提取物 MC 和二氢杨梅素的 SEM 照片，藤茶粉末表面为层片状结构，是由一层一层堆叠起来的颗粒；藤茶提取物 MC 为一个一个表面相对光滑、尺寸均匀的扁形短棒状条聚集在一起，类似光束，其放大 16500 \times 倍，看出是一种规则的棱柱形结构，与二氢杨梅素的 SEM 一致，与文献报道结果相同^[17]。

2.3 MCTY 对细胞活力的实验结果

从图3可以看出，MCTY 对 2 种细胞的细胞活力影响比较显著，浓度在 0.625% 以内时，MCTY 对 RAW264.7 细胞无显著毒性，随着 MCTY 浓度的升高，RAW264.7 细胞活力显著下降，且下降明显，当浓度为 2.5% 时，RAW264.7 细胞活力下降至 50% 以下，浓度增至 5% 和 10% 时，RAW264.7 细胞活力基本保持不变，下降至 15%~20%；低浓度 0.325% 和 0.625% MCTY 对 HaCaT 细胞活力无显著毒性，当浓度为 1.25% 时，HaCaT 细胞活力下降至 50% 以下，浓度增至 2.5% 以上时，HaCaT 细胞活力基本保持不变，约为 10%~15%，结合上述对 RAW264.7 细胞活力影响，这可能跟 MCTY 高含量活性成分二氢杨梅素有关，因此，后续实验选择浓度为 0.325% 和 0.625% 进行测试。

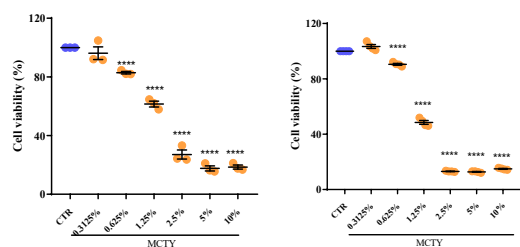
2.4 MCTY对LPS刺激RAW264.7细胞产生NO和IL-8表达量的影响结果

RAW264.7细胞在LPS诱导24小时后, NO和IL-8水平显著上升, 阳性对照物地塞米松(DEX)处理能显著降低NO和IL-8含量, 模型建立成功。图4显示, 0.3125%和0.625%的莓茶提取液MCTY能够显著降低LPS刺激RAW264.7细胞导致NO和IL-8的含量增加, 且效果优于阳性对照物地塞米松(DEX)。说明, MCTY可以降低外界刺激导致的炎症介质释放, 具有抗炎舒缓的功效, 与文献报道一致, 此外有文献报道二氢杨梅素通过抑制NF- κ B的激活以及p38和JNK的磷酸化来发挥局部抗炎作用^[18-21]。



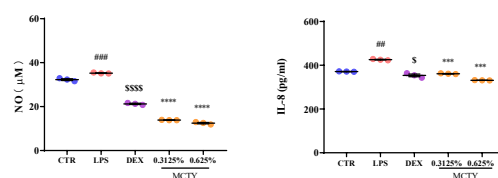
注: 采用 one way ANOVA 统计分析, **** $p < 0.0001$ 表示样品组与对照组间差异极显著。

图2 藤茶粉末、藤茶提取物MC和二氢杨梅素的SEM照片



注: 采用 t-test 或 one way ANOVA 统计分析。## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ 表示模型组与对照组差异显著, $S_p < 0.05$, $SSSS_p < 0.0001$ 表示阳性对照组与模型组差异极显著; *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ 表示样品组与对照组间差异极显著。

图3 MCTY对RAW264.7细胞(左)和HaCaT细胞(右)细胞活力影响

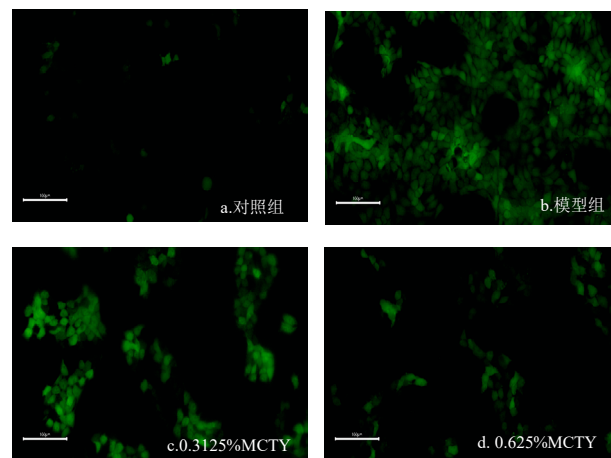


注: 采用 t-test 或 one way ANOVA 统计分析。## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ 表示模型组与对照组差异显著, $S_p < 0.05$, $SSSS_p < 0.0001$ 表示阳性对照组与模型组差异极显著; *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ 表示样品组与对照组间差异极显著。

图4 MCTY对LPS刺激RAW264.7细胞产生NO(左)和IL-8(右)表达量的影响

2.5 MCTY对H₂O₂刺激HaCaT细胞产生自由基ROS的影响结果

H₂O₂通过Fenton反应产生与氧化应激相关的ROS, 诱导多种细胞凋亡; 过多的ROS是在细胞呼吸过程中, 线粒体通过电子传递和氧化磷酸化过程产生出来的副产物。这些ROS会通过导致线粒体功能障碍而引发细胞凋亡, 并损害脂质、蛋白质和DNA^[22]。本文通过DCFH-DA荧光探针监测HaCaT细胞生成ROS的量。图5显示, 与对照组相比, 模型组:H₂O₂刺激的HaCaT细胞内ROS含量明显增加, 说明本次实验模型建模成功; 经0.325%和0.625%的MCTY处理的H₂O₂刺激的HaCaT细胞内ROS含量明显降低, 且随着MCTY浓度升高, 清除ROS的作用增强, 说明MCTY可有效抑制H₂O₂刺激HaCaT细胞内ROS活性氧的升高, 具有抗氧化应激损伤的效果, 这可能跟其主要成分二氢杨梅素息息相关^[23,24]。



注: 绿色荧光代表细胞ROS含量, 荧光强度越高表示细胞内ROS含量越高。

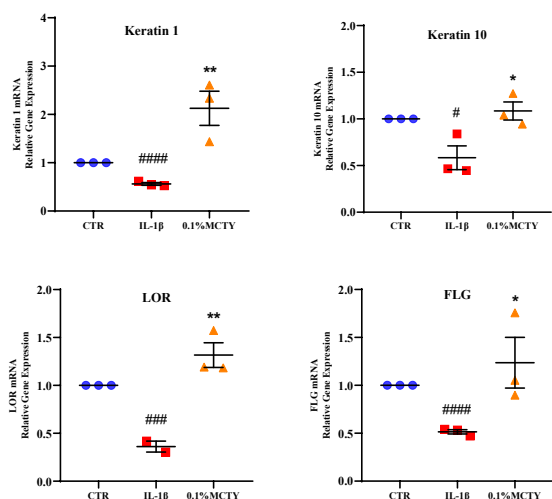
图5 MCTY对H₂O₂刺激HaCaT细胞内ROS水平的影响

2.6 MCTY对IL-1 β 刺激HaCaT细胞产生基因Keratin1、Keratin10、FLG和LOR mRNA表达水平的影响结果

IL-1 β 是一种能激活多种免疫和炎症细胞的前炎症细胞因子, 能刺激其他细胞因子的产生, 诱发机体特异性与非特异性免疫反应发生, 可引起发热反应^[25]。Keratin1、

Keratin10为表皮角蛋白,主要存在棘层和颗粒层,常被作为表皮正常分化的标志物,在维持皮肤屏障功能、细胞增殖与分化、炎症反应、伤口愈合等过程中都起着非常重要的作用^[26,27]。FLG和LOR是表皮角质层角化包膜的主要组成成分,帮助皮肤储存水分,维持表皮屏障功能正常代谢^[28]。

本实验以IL-1 β 为刺激物,诱导HaCaT细胞产生异常反应。图6看出,IL-1 β 刺激的HaCaT细胞孵育48h后,细胞内的Keratin1、Keratin10、LOR、FLG mRNA表达水平显著下降,说明模型建立成功。当加入0.1% MCTY,可以显著上调IL-1 β 诱导的HaCaT细胞内Keratin1、Keratin10、LOR、FLG mRNA表达水平,其结果具有统计学意义,并且效果优异。因此,MCTY可以通过提高角蛋白和皮肤屏障因子的表达,降低炎症因子IL-1 β 造成的HaCaT细胞损伤,重建皮肤的屏障功能。



注:采用t-test统计分析。[#] $p < 0.05$,^{##} $p < 0.01$,^{###} $p < 0.001$,^{####} $p < 0.0001$ 表示模型组与对照组差异显著,^{*} $p < 0.05$,^{**} $p < 0.01$ 表示样品组与对照组间差异极显著。

图6 MCTY对IL-1 β 刺激HaCaT细胞分泌Keratin1、Keratin10、LOR、FLG基因mRNA的表达影响

3. 实验结论

藤茶是一种富含黄酮类成分的野生植物,其总黄酮含量远超于其他植物,藤茶中的黄酮类化合物多以黄酮醇为主,其中二氢杨梅素和杨梅素是最主要的活性成分^[29]。本文采用结晶析出的方式制备藤茶提取物,进行HPLC及UV-VIS定性分析、SEM表征,结果表明MC基本为二氢杨梅素;同时对藤茶提取物进行细胞体外测试评价,结果显示MCTY能够显著降低LPS诱导RAW264.7巨噬细胞产生NO和IL-8的量,减少H₂O₂刺激HaCaT细胞内ROS生

成,上调IL-1 β 刺激HaCaT细胞内Keratin1、Keratin10、LOR、FLG mRNA表达水平,具有舒缓和修护的功效,其作用机制与降低炎症反应、减少ROS产生、促进屏障因子和角蛋白的表达有关,为藤茶的进一步在化妆品上的应用提供依据。

参考文献

- [1]中国科学院研究所.中国高等植物图鉴(第2册)补编[M].北京:科学出版社,1979:353.
- [2]刘畅,邓薇,刘小英,等.藤茶生物活性成分及其制备工艺研究进展[J].食品工业,2015,36(2):233-237.
- [3]Lu A, Tang Y, Ran R, et al. Brain genomics of intracerebral hemorrhage[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2006, 26(2):230-252.
- [4]韩碧群,彭勇,肖培根.中国别样茶的整理研究[J].中国现代中药,2013,26(4):259-269.
- [5]石依姗,肖凌,聂晶.中国特色民族药材藤茶的资源调查[J].中药材,2020,43(5):1076-1080.
- [6]曾春晖,杨柯.广西藤茶总黄酮对金黄色葡萄球菌抗菌机制研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,10(19):249-252.
- [7]Ghaffari M A, Mojab S. Influence of flavonols as in vitro on low density lipoprotein glycation[J]. Iran Biomed J, 2007, 11(3):185-191.
- [8]吴瑛,吴彬,万婧,等.藤茶提取物改善2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的作用[J].第三军医大学学报,2015,37(5):454-458.
- [9]王婉莹.藤茶传统药理学及抗氧化活性的初步研究[D].北京:北京协和医学院研究生院,2014.
- [10]李峰.藤茶中抗氧化活性物质的提取及其二氢杨梅素生理活性分析[D].镇江:江苏大学,2017.
- [11]孔琪.显齿蛇葡萄提取物与主要黄酮类化合物及衍生物的抗菌抗氧化活性研究[D].贵阳:贵州师范大学,2015.
- [12]陈文生,洪亮等. HPLC测定不同方法提取野生藤茶中的二氢杨梅素[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版),2013,31(5):72-75.
- [13]孔令珊.白芨多糖得提取与功效研究[D].上海:上海应用技术学院,2014.
- [14]孔令珊,田云才,刘佳月. 椴子果油制备及其舒缓和修护功效[J]. 香料香精化妆品,2024,10(5):86-92,164.
- [15]孔令珊,戴钰,田云才,等. 红参提取液的制备及其化妆品应用研究[J]. 日用化学品科学,2024,47(3):61-66.
- [16]郑海音,杨英祥,沙玫,等.制藤茶水提取物对大鼠急性咽炎作用及炎症因子的影响[J]. 江西中医药大学学报,2020,32(1):87-90.
- [17]Hongchao Hu, Fan Luo, Mingjie Wang, et al. New Method

for Extracting and Purifying Dihydromyricetin from *Ampelopsis grossedentata*[J]. ACS Omega 2020, 5, 13955–13962.

[18] 罗非君, 丁锦屏. 藤茶及二氢杨梅素的生物学功能研究进展 [J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(2): 8-21.

[19] CHEN Y L, ZHANG Y L, DAI Y C, et al. Systems pharmacology approach reveals the antiinflammatory effects of *Ampelopsis grossedentata* on dextran sodium sulfate-induced colitis basic study[J]. World Journal of Gastroenterology, 2018, 24(13): 1398-1409.

[20] PENG J, ZHANG J, ZHANG L, et al. Dihydromyricetin improves vascular hyporesponsiveness in experimental sepsis via attenuating the over-excited MaxiK and KATP channels[J]. Pharmaceutical Biology, 2018, 56(1): 344-350.

[21] 刘雯, 覃洁萍, 潘真真, 等. 基于灰色关联分析的藤茶提取物体外抗炎作用的谱-效关系研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(20): 2071-2075.

[22] Kou, X. Shen, K. An, Y. et al. Ampelopsin inhibits H₂O₂-induced apoptosis by ERK and Akt signaling pathways and up-regulation of heme oxygenase-1 (Review)[J]. Phytotherapy research: PTR, 2012, 26(7).

[23] Hongliang Li, Qisheng Li, Zhaowen Liu, et al. The

Versatile Effects of Dihydromyricetin in Health [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017: 1-10.

[24] Chervet, A., Nehme, R., Decombat, C., et al. Exploring the Therapeutic Potential of *Ampelopsis grossedentata* Leaf Extract as an Anti-Inflammatory and Antioxidant Agent in Human Immune Cells[J]. Int. J. Mol. Sci. 2024, 25(416): 1-17.

[25] GAUSS K A, NELSON-OVERTON L K, SIEMSEN D W, et al. Role of NF- κ B in transcriptional regulation of the phagocyte NADPH oxidase by tumor necrosis factor- α [J]. Journal of Leukocyte Biology, 2007, 82(3): 729-741.

[26] 王大虎, 王爱学, 张晓光, 等. 角蛋白1和角蛋白10在毛发红康疹中的表达及意义 [J]. 临床皮肤科杂志, 2014, 43(1): 16-18.

[27] 郭金竹, 铁璐, 王文慧. 角蛋白10的功能与相关皮肤病 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 2022, 36(1): 118-122.

[28] KIM Y, LIM K M. Skin barrier dysfunction and filaggrin [J]. Archives of Pharmacal Research, 2021, 44(1): 36-48.

[29] 谷美仪, 梁冠男, 金琦芳, 等. 不同成熟期藤茶叶片中二氢杨梅素生物合成的转录组分析 [J/OL]. 分子植物育种 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220624.1114.002.html>.

Preparation of *Ampelopsis grossedentata* Extract and Application in Repairing Effects Research

Kong Ling-shan*, Cui Lu-lu, Tian Yun-cai
(Shanghai AZ Science and Technology Co., Ltd., Shanghai 201100)

Abstract : In this study, *Ampelopsis grossedentata* extract (MC) was prepared by water extraction and crystallization. MC was qualitatively analysed by HPLC and UV-VIS, and was assayed by SEM for microstructure characterization. The in vitro tests were carried out to evaluate the effects of MC on RAW264.7 cells and HaCaT cells stimulated by lipopolysaccharide (LPS), H₂O₂ and interleukin IL-1 β . The results showed that the main component of MC was dihydromyricetin, with a regular prismatic structure. The CCK8 assay indicated that MCTY(1.5% MC) at concentrations above 1.25% significantly affected the cell viability of RAW264.7 cells and HaCaT cells. 0.3125% and 0.625% MCTY could significantly lower the production of NO and IL-8 in LPS-stimulated RAW264.7 cells, better than dexamethasone (DEX). 0.3125% and 0.625% MCTY significantly reduced the intracellular ROS production in H₂O₂-stimulated HaCaT cells. 0.1% MCTY could significantly up-regulate the mRNA expression levels of Keratin1, Keratin10, LOR and FLG in IL-1 β -induced HaCaT cells, and the results were statistically significant and excellent. MC has a soothing and repairing effect, that mechanism of action is related to reducing inflammatory responses, reducing ROS production, and promoting the expression of barrier factors and keratins. It can be applied in cosmetics with repairing functions.

Keywords : *ampelopsis grossedentata* extract; dihydromyricetin; repairing; soothing; cosmetics

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告