

一种用于妆前乳的植物提取物组方 功效评价

黄红斌¹, 王寅力¹, 曾兰兰¹, 封 棣², 吴金昊³

(1. 广州卡迪莲化妆品科技有限公司, 广东 广州 510470; 2. 北京工商大学, 北京 100048;

3. 北京颐唯实检测技术有限公司, 北京 100089)

摘 要: 采用细胞学实验和人体皮肤实验相结合的方法, 对一种植物提取物组方进行抗氧化、抗衰老、保湿功效研究, 并对其进行安全性评估。细胞学测试结果表明, 复合提取液可显著清除由 H_2O_2 刺激产生的活性氧族 (ROS), 对细胞氧化损伤具有保护作用; 对基质金属蛋白酶-1 (MMP-1) 基因的表达具有显著抑制性。人体皮肤测试结果表明, 连续使用添加该植物提取物组方的妆前乳产品28天后, 受试者脸颊角质层水分含量、皮肤弹性R2值及Q1值均得到显著提升; 眼角皮肤纹理度Ra值、Rz值及Rt值均得到显著改善, 说明该产品具有提升角质层水分含量、提升皮肤弹性、淡化眼角细纹的效果; 该产品具有良好的安全性。

关键词: 妆前乳; 天然植物; 复合提取液; 功效研究

中图分类号: TQ658 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-7264 (2020) 12-0044-08

DOI: 10.3969/j.issn.1006-7264.2020.12.009

推 动化妆品市场发展的动力主要来源于护肤与彩妆两个分支, 而如今的彩妆消费者不但看重彩妆的使用效果, 还希望在使用彩妆产品时不影响自己的皮肤健康, 甚至能优化自己的皮肤现状, “彩护合一”的概念应运而生。妆前乳作为必不可少的彩妆, 其主要作用是修饰肌肤色泽不均、暗沉, 让后续上装更加贴合自然, 同时消费者更期待妆前乳产品兼具各种功能, 如保湿、抗衰、防晒等。

研究表明, 积雪草^[1]、银杏叶^[2-4]、牡丹花^[5]、大米多肽^[6,7]以及燕麦多肽^[8,9]具有各自独特的活性成分及美容功效, 并已在化妆品中得以应用。本研究前期研发出由积雪草提取物、银杏叶提取物、牡丹花提取物、大米多肽、燕麦多肽复配而成的天然植物复合提取液, 本研究中, 主要通过体外细胞学实验 (HaCaT细胞ROS清除实验和HDF细胞MMP-1基因表达实验) 及人体皮肤测试 (脸颊角质层水分含量, 皮肤弹性R2值及Q1值, 眼角皮肤纹理度Ra值、Rz值及Rt值) 相结合的方法, 对复合提取液的抗氧化、保湿、抗衰老等功效进行探究, 同时考察添加植物提取物组方的妆前乳安全性, 为化妆品及原料功效评价研究提供借鉴。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

细胞学评价实验: 由实验室自制的积雪草提取物、银杏叶提取物、牡丹花提取物、大米多肽、燕麦肽复配而成的天然植物复合提取液。

人体皮肤功效评价实验: 空白对照样品为自制妆前乳; 测试样品为添加15%天然植物复合提取液的自制妆前乳。自制妆前乳: 将水 (适量)、甘油 (2%)、丁二醇 (2%)、氯化钠 (0.6%) 加入水锅升温至85℃, 保持10 min, 降温至65℃加入1, 2-戊二醇 (1.5%) 搅拌5 min, 将环五聚二甲基硅氧烷和PEG-10 聚二甲基硅氧烷 (3.5%)、环五聚二甲基硅氧烷&丙烯酸 (酯) 类/聚二甲基硅氧烷共聚物 (3%)、苯基聚三甲基硅氧烷 (8%)、甲氧基肉桂酸乙基己酯 (5%)、甘油三(乙基己酸)酯 (4%)、辛基聚甲基硅氧烷 (3%)、聚甘油-2 异硬脂酸酯 (1.5%)、氢化卵磷脂 (适量) 加入反应锅, 均质分散均匀, 升温至65℃, 将水锅料体分3次缓慢加入至反应锅, 均质3 min, 保温搅拌10 min; 搅拌降温至45℃时加入苯氧乙醇

收稿日期: 2020-06-10

作者简介: 黄红斌 (1968-), 女, 广东人, 工程师, 电话: 13622297982, E-mail: huanghb@carslan.com.cn。

(0.5%)、(日用)香精(适量),搅拌均匀,检验合格后出料。

HDF细胞及其培养基(美国ScienCell公司); HaCaT细胞(中科院昆明细胞库); DMEM、胎牛血清、Trizol(美国ThermoFisher Scientific公司); 青链霉素、噻唑蓝(美国Sigma公司); CCK-8检测试剂盒(日本Dojindo Laboratories公司); 维生素E (V_E) (日本TCI公司); H_2O_2 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司); ROS检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); 反转录和荧光定量PCR试剂盒(日本Takara公司); 细胞培养板等塑料耗材(美国Corning公司)。HaCaT细胞完全培养基: 89% DMEM、10% 胎牛血清、1%青链霉素。测试时, 待测样品用完全培养基稀释至各测试浓度并迅速直接应用于实验。待测样品含量均以体积分数表示。

CO_2 细胞培养箱(德国Binder公司); 超净工作台(美国Airtech公司); AE2000倒置显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司); ME104E电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); M1000酶标仪(瑞士Tecan公司); 实时荧光定量PCR仪ViiA 7(美国ThermoFisher Scientific公司); 皮肤角质层水分含量测量仪Corneometer(德国Courage & Khazaka公司); 皮肤弹性测试仪Cutometer(德国Courage & Khazaka公司); 面部图像分析仪VISIA-CR(美国Canfield公司); 皮肤快速光学成像系统Derma TOP(德国Breuckmann公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 体外细胞学实验

1.2.1.1 HaCaT细胞毒性及ROS清除实验^[10-12]

HaCaT细胞在完全培养基中培养, 细胞长到80%以上密度时, 将细胞按 1×10^5 cells/mL密度接种于96孔板, 于37 °C, 5% CO_2 环境中培养过夜; 去除培养液, 将样品分别按0.156%, 0.313%, 0.625%, 1.25%, 2.5%和5%作用于HaCaT细胞, 每个浓度做3个复孔, 另设空白对照6孔, 在5% CO_2 、37 °C环境中孵育24 h; 每孔加入5 mg/mL的噻唑兰(MTT)溶液10 μ L, 在5% CO_2 、37 °C条件下孵育4 h; 去除培养液, 每孔加入DMSO 150 μ L, 避光孵育10 min, 混匀后用酶标仪在570 nm和680 nm波长下测定吸光值; 细胞存活率计算公式: 细胞存活率=各孔($A_{570}-A_{680}$)值/空白组($A_{570}-A_{680}$)值均值 $\times 100\%$ 。

将0.9 mmol/L H_2O_2 作用于HaCaT细胞, 于37 °C, 5% CO_2 环境中培养24 h; 去除培养液, 将样品分别按0.156%, 0.313%, 0.625%, 1.25%和2.5%作用于HaCaT细胞, 每个浓

度做3个复孔, 另设空白对照3孔及阳性对照(2 mg/mL VE)3孔, 于37 °C, 5% CO_2 环境中培养24 h; 去除培养液, 每孔加入10 μ mol/L DCFH-DA 100 μ L, 于37 °C, 5% CO_2 环境中培养20 min; 去除培养液, 用DMEM洗涤3次, 用酶标仪在488 nm和525 nm波长下测定荧光值; 相对ROS水平计算公式: 相对ROS水平=各孔荧光值/空白组荧光值均值 $\times 100\%$ 。

1.2.1.2 HDF细胞毒性及MMP-1基因表达实验^[13,14]

取对数生长期HDF细胞, 加入0.01%, 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1%和5%的待测溶液并设置空白组6孔, 在37 °C, 5% CO_2 环境中孵育24 h; 每孔加入CCK-8溶液10 μ L, 在5% CO_2 、37 °C条件下孵育2 h, 用酶标仪在450 nm波长下测定吸光值, 计算细胞存活率。

取对数生长期HDF细胞, 加入0.5%待测样品, 另设空白对照及阳性对照(0.1%的透明质酸(HA)), 每组做3个复孔, 在5% CO_2 、37 °C环境中孵育24 h; 去除培养液, 用PBS清洗1次后利用Trizol法提取mRNA; 按照反转录试剂盒说明书的指示将mRNA反转录为cDNA, 随后按照荧光定量PCR试剂盒说明书的指示检测基因表达情况, 以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法相对定量基因表达量。所得结果均表述为以GAPDH基因表达量进行校正后的数据。目的基因MMP-1引物序列上游: 5'-AAAATTACACGCCAGATTGCG-3', 下游: 5'-GGTGTGACATTACTCCAGAGTTG-3'; 目的基因GAPDH引物序列上游: 5'-AAGAAGGTGGTGAAGCAGG-3', 下游: 5'-AGGTGGAGGAGTGGGTGTCTG-3'。

1.2.2 人体皮肤功效评价实验^[15-19]

1.2.2.1 研究对象

中国健康受试者30名, 男女不限, 年龄范围在35~55周岁。

纳入标准: 皮肤干燥、肌肤松弛、有皱纹; 能很好配合实验, 研究期间保持生活规律; 能阅读和理解知情同意书的所有内容并自愿签署; 实验期间不再参与其他任何研究中心的临床试验, 并同意不使用任何对结果有影响的化妆品、药物和保健品。排除标准: 受试部位有皮肤疾病而可能影响对试验结果判断者; 高度过敏体质者; 妊娠、哺乳或在测试期间打算怀孕的女性者; 有严重心、肝、肾功能损害及严重免疫功能低下者; 有精神疾病、严重内分泌疾病者以及口服避孕药者; 30天内参加药物临床试验者或其他试验者; 2周内口服和外用可能对实验结果有影响的药物或美容产品

者；不能配合实验者；研究者认为不适于参加者。

1.2.2.2 测试安排及基本流程

测试安排：采用半脸实验，随机选择受试者一侧脸颊使用测试产品妆前乳（含天然植物复合提取液），记为实验组，另一侧脸颊使用测试产品妆前乳（空白），记为对照组。测试者定量使用，早晚各使用1次，涂抹均匀，连续使用4周。在受试者使用产品前第0天、第14天、第28天分别进行测试。

测试基本流程：受试者信息登记，核实身份信息；脸颊清洗，于恒温恒湿环境静候30 min；跟踪询问不适症状及样品使用情况；进行图像采集及数据测量（面部图像拍摄及参数分析、角质层水分含量测量、皮肤弹性测量）。

1.2.2.3 测试方法

角质层水分含量测量：采用皮肤角质层水分含量测量仪检测左、右脸颊，通过测定皮肤电容值，分析皮肤表面的含水量，测得值是相对值。测量5次取平均值，数值越高代表角质层水分含量越高。

皮肤弹性测量：采用皮肤弹性测试仪检测左、右脸颊，测量皮肤弹性R2、Q1值，测量3次取平均值。皮肤弹性Q1值是指在测试循环中皮肤回弹面积与最大拉伸之比；皮肤弹性R2值是指在测试循环中皮肤回弹量与最大拉伸之比。R2和Q1比值越接近1，弹性越好。

眼角皮肤纹理度测量：采用VISIA-CR图像拍摄面部正面、以及左侧45°和右侧45°，提高皮肤分析的可视程度；采用皮肤快速光学成像系统Derma TOP及眼角皱纹分析进行左、右眼角外侧的拍摄以及Ra值、Rz值、Rt值的检测。各检测1次。Ra为算术平均粗糙度，指皮肤轮廓上各点至中线距离绝对值的算术平均值；Rz为平均粗糙度，指5个测量段皮肤粗糙度的平均值；Rt为皮肤粗糙度，指测量段中最高峰到最低谷之间的高度。Ra值、Rz值、Rt值，数据越低，说明改善眼角皱纹粗糙度效果越好。

产品使用前后的评价结果通过统计学检验方法进行比较从而判断是否有统计学差异。测试环境为温度（21.0 ± 1）℃，湿度50.0% ± 10.0%。

1.2.3 统计方法

细胞功效评价实验：使用统计学分析软件GraphPad Prism 8，图表中数据的表述形式为mean ± SEM，数据处理采用one-way ANOVA进行分析。 $P < 0.05$ 时即具有显著性差异。

皮肤功效评价实验：统计分析软件为SPSS，对各个测

量值进行描述性统计，包括数量、均值、标准差、最小值和最大值等。在不同时间点的测量值与基础值比较，采用Shapiro-Wilk Test进行数据改善值正态分布的显著性检验，Sig.（双侧）> 0.01，则呈正态分布，进行配对t检验，显著性差异水平 α 取0.05。若Sig.（双侧）< 0.01，则呈非正态分布，进行Wilcoxon检验，显著性差异水平 α 取0.05。

使用产品后的提升/变化率=（使用后数据-使用前数据）/使用前数据×100%

1.2.4 皮肤安全性评价

通过人体试用实验观察样品对人体皮肤的安全性。受试者回访时，仔细询问、检查并记录受试者在使用样品期间所发生的任何不良事件，包括不良事件的表现、发生时间、处理措施及转归，并对不良事件与所使用样品的关系做出判断。30名受试者进行28天人体试用实验研究，参考2015年版《化妆品安全技术规范》中规定的人体试用试验皮肤不良反应分级标准进行皮肤安全性评定。在使用第14天和第28天后询问并观察受试者皮肤在测试过程中是否出现红斑、水肿、丘疹、水泡等不良反应并进行分级：无反应为0级；微弱红斑为1级；红斑、浸润、丘疹为2级；红斑、水肿、丘疹、水泡为3级；红斑、水肿、大疱为4级。

2 结果与讨论

2.1 样品对 HaCaT 细胞生存率的影响及对 ROS 的清除能力

实验利用MTT法测定样品对HaCaT细胞在24 h的细胞毒性，选择对细胞无毒性的剂量（细胞生存率≥90%）作为抗氧化功效测试剂量，实验结果见图1。由图1可知，样品在24 h时对HaCaT细胞存活率的影响呈明显剂量依赖效果，5%的样品对细胞有明显毒性，2.5%及其以下浓度对细胞存活率没有影响。选取5个无毒浓度，即0.156%，0.313%，0.625%，1.25%和2.5%，分别测试其对经0.9 mmol/L H₂O₂刺激后HaCaT细胞产生的ROS的清除能力。实验结果显示（图2，与空白对照组相比，* $p < 0.05$ ，*** $p < 0.001$ ），相对于未添加样品的空白组，2.5%的样品使相对ROS水平显著降低至77.96%，而其他浓度样品未能显著清除细胞中的ROS。阳性对照2 mg/mL的V_e也可使相对ROS水平显著降低至57.48%。

2.2 样品对 HDF 细胞生存率的影响及对 MMP-1 基因的表达

实验利用CCK-8法测定样品对HDF细胞在24 h的细胞毒

性, 选择对细胞无毒性的剂量 (细胞生存率 $\geq 90\%$) 作为抗衰老功效测试的剂量。实验结果显示 (图3), 高于1%的样品对细胞有明显毒性, 0.5%及其以下浓度对细胞存活率没有影响。选取最大安全浓度0.5%, 测试样品对HDF细胞抗衰老相关基因表达的影响。实验结果显示 (图4, 与空白对照组相比, $*p < 0.05$), 在基质金属蛋白酶-1基因MMP-1的表达上, 0.5%的样品和阳性对照0.1%的HA均具有显著抑制性且程度相近, 表明样品可以有效保护胶原蛋白及蛋白多糖, 降低老化损伤。

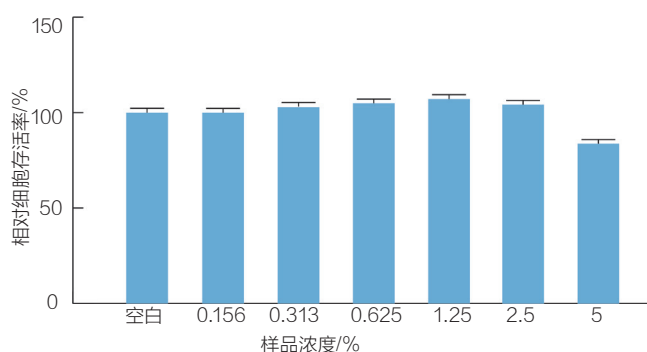


图1 样品对HaCaT细胞24 h细胞毒性

Fig.1 Cytotoxicity of the samples to HaCaT cells (24 h)

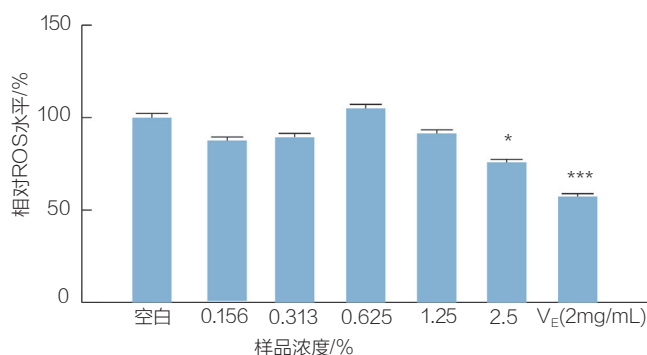


图2 样品处理24 h后对HaCaT细胞相对ROS水平的影响

Fig.2 Effects of the samples on the relative ROS level of HaCaT cells (24 h)

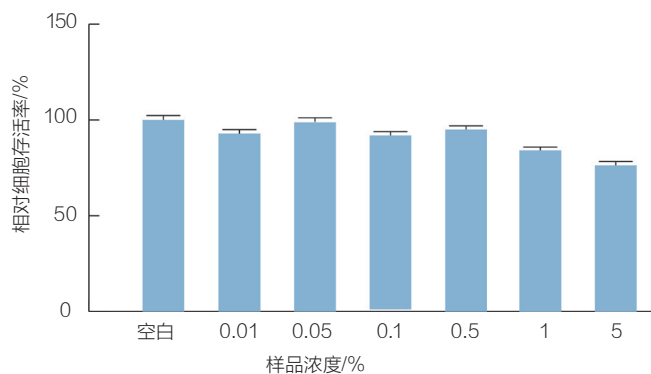


图3 样品对HDF细胞的24 h细胞毒性

Fig.3 Cytotoxicity of the samples to HDF cells (24 h)

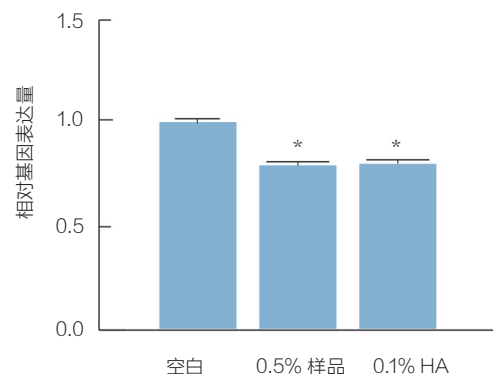


图4 样品对HDF细胞MMP-1基因表达的影响

Fig.4 Effects of the samples on the expression of MMP-1 gene in HDF cells

2.3 皮肤功效测试

2.3.1 角质层水分含量

受试者使用产品前, 实验组与对照组脸颊角质层水分含量基础值 (第0天) 无显著性差异 ($p > 0.05$); 连续使用实验组产品14天后, 受试者脸颊角质层水分含量提升12.82%, 显著好于使用前 ($p < 0.001$), 且显著好于对照组 ($p < 0.001$); 连续使用实验组产品28天后, 受试者脸颊角质层水分含量提升15.57%, 显著好于使用前 ($p < 0.001$), 且显著好于对照组 ($p < 0.001$)。结果说明, 连续使用实验组产品28天后, 可以显著提升脸颊角质层水分含量, 且提升效果显著好于对照组, 实验组测试产品具有提升角质层水分含量的效果。角质层水分含量统计结果见表1, 表中“n.s.”表示无统计学差异, $p > 0.05$; “*”表示有显著性差异, $0.01 \leq p < 0.05$, “**”, $0.001 \leq p < 0.01$; “***”, $p < 0.001$ 。

2.3.2 皮肤弹性R2值

受试者使用产品前, 实验组脸颊皮肤弹性R2值基础值 (第0天) 显著性高于对照组 ($p < 0.05$); 连续使用实验组产品14天后, 受试者脸颊皮肤弹性R2值提升5.48%, 显著好于使用前 ($p < 0.001$), 且显著好于对照组 ($p < 0.001$); 连续使用实验组产品28天后, 受试者脸颊皮肤弹性R2值提升12.39%, 显著好于使用前 ($p < 0.001$), 且显著好于对照组 ($p < 0.001$)。结果说明, 连续使用实验组产品28天后, 可以显著提升脸颊皮肤弹性R2值, 且提升效果显著好于对照组, 实验组测试产品具有提升皮肤弹性的效果。皮肤弹性R2值统计结果见表2, 表中“n.s.”表示无统计学差异, $p > 0.05$; “*”表示有显著性差异, $0.01 \leq p < 0.05$, “**”, $0.001 \leq p < 0.01$; “***”, $p < 0.001$ 。

表1 角质层水分含量统计结果

Tab.1 Statistical results of the moisture content in stratum corneum

角质层水分含量	组别	第0天	第14天	第28天
平均值	对照组	42.62	45.35	47.03
	实验组	41.17	46.45	47.58
标准误SE值	对照组	1.87	1.88	2.01
	实验组	2.26	2.40	2.29
Δ 差值	对照组		2.73	4.41
	实验组		5.28	6.41
变化率/%	对照组		6.41	10.35
	实验组		12.82	15.57
P (使用后v.s.使用前)	对照组		0.000 1***	0.000 1***
	实验组		0.000 1***	0.000 1***
P (对照组v.s.实验组)		0.222 2	0.000 8***	0.000 3***

表2 皮肤弹性R2值统计结果

Tab.2 Statistical results of the R2 value for skin elasticity

角质层水分含量	组别	第0天	第14天	第28天
平均值	对照组	0.556 7	0.553 4	0.559 7
	实验组	0.525 6	0.554 4	0.590 7
标准误SE值	对照组	0.011 2	0.012 4	0.012 0
	实验组	0.013 5	0.011 9	0.010 7
Δ 差值	对照组		-0.003 3	0.003 0
	实验组		0.028 8	0.065 1
变化率/%	对照组		-0.59	0.54
	实验组		5.48	12.39
P (使用后v.s.使用前)	对照组		0.403 5	0.431 0
	实验组		0.000 1***	0.000 1***
P (使用后v.s.使用前)		0.021 7*	0.000 1***	0.000 1***

2.3.3 皮肤弹性Q1值

受试者使用产品前，实验组与对照组脸颊皮肤弹性Q1值基础值（第0天）无显著性差异（ $p > 0.05$ ）；连续使用实验组产品14天后，受试者脸颊皮肤弹性Q1值提升4.41%，显著好于使用前（ $p < 0.01$ ），且显著好于对照组（ $p < 0.05$ ）；连续使用实验组产品28天后，受试者脸颊皮肤弹性Q1值提升7.60%，显著好于使用前（ $p < 0.001$ ），且显著好于对照组（ $p < 0.001$ ）结果说明，连续使用实验组产品28天后，可以显著提升脸颊皮肤弹性Q1值，且提升效果显著好于对照组，实验组测试产品具有提升皮肤弹性的效果。皮肤弹性Q1值统计结果见表3，表中“n.s.”表示无统计学差异， $p > 0.05$ ；“*”表示有显著性差异， $0.01 \leq p < 0.05$ ，“**”， $0.001 \leq p < 0.01$ ；“***”， $p < 0.001$ 。

表3 皮肤弹性Q1值统计结果

Tab.3 Statistical results of the Q1 value for skin elasticity

皮肤弹性Q1值	组别	第0天	第14天	第28天
平均值	对照组	0.478 6	0.483 4	0.488 5
	实验组	0.476 6	0.497 6	0.512 8
标准误SE值	对照组	0.010 4	0.009 6	0.008 0
	实验组	0.008 9	0.009 9	0.008 2
Δ 差值	对照组		0.004 8	0.009 9
	实验组		0.021 0	0.036 2
变化率/%	对照组		1.00	2.07
	实验组		4.41	7.60
P 值(使用后v.s.使用前)	对照组		0.468 3	0.003 4**
	实验组		0.005 3**	0.000 1***
P 值(使用后v.s.使用前)		0.842 2	0.021 8*	0.000 1***

2.3.4 皮肤纹理度Ra值

受试者使用产品前，实验组与对照组脸颊皮肤纹理度Ra值基础值（第0天）无显著性差异（ $p > 0.05$ ）；连续使用实验组产品14天后，受试者眼角皮肤纹理度Ra值改善3.15%

(绝对值), 显著好于使用前 ($p < 0.001$), 且好于对照组; 连续使用实验组产品28天后, 受试者眼角皮肤纹理度Ra值改善4.72% (绝对值), 显著好于使用前 ($p < 0.001$), 且显著好于对照组 ($p < 0.01$)。结果说明, 连续使用实验组产品28天后, 可以显著改善眼角皮肤纹理度Ra值, 且改善效果显著好于对照组, 实验组测试产品具有淡化眼角细纹的效果。皮肤纹理度Ra值统计结果见表4, 表中“n.s.”表示无统计学差异, $p > 0.05$; “*”表示有显著性差异, $0.01 \leq p < 0.05$, “**”, $0.001 \leq p < 0.01$; “***”, $p < 0.001$ 。

表4 皮肤纹理度Ra值统计结果
Tab.4 Statistical results of the Ra value for skin texture

皮肤纹理度Ra值	组别	第0天	第14天	第28天
平均值	对照组	0.025 0	0.024 4	0.024 7
	实验组	0.025 4	0.024 6	0.024 2
标准误SE值	对照组	0.000 2	0.000 2	0.000 2
	实验组	0.000 2	0.000 1	0.000 1
Δ差值	对照组		-0.000 6	-0.000 3
	实验组		-0.000 8	-0.001 2
变化率/%	对照组		-2.40	-1.20
	实验组		-3.15	-4.72
P值(使用后v.s.使用前)	对照组		0.024 4*	0.107 9
	实验组		0.000 7***	0.000 1***
P值(使用后v.s.使用前)		0.083 0	0.523 6	0.005 3**

2.3.5 皮肤纹理度Rz值

受试者使用产品前, 实验组与对照组脸颊皮肤纹理度Rz值基础值(第0天)无显著性差异 ($p > 0.05$); 连续使用实验组产品14天后, 受试者眼角皮肤纹理度Rz值改善5.36% (绝对值), 显著好于使用前 ($p < 0.01$), 且显著好于对照组 ($p < 0.05$); 连续使用实验组产品28天后, 受试者眼角皮肤纹理度Rz值改善9.08% (绝对值), 显著好于使用前 ($p <$

0.001), 且显著好于对照组 ($p < 0.05$)。结果说明, 连续使用实验组产品28天后, 可以显著改善眼角皮肤纹理度Rz值, 且改善效果显著好于对照组, 实验组测试产品具有淡化眼角细纹的效果。皮肤纹理度Rz值统计结果见表5, 表中“n.s.”表示无统计学差异, $p > 0.05$; “*”表示有显著性差异, $0.01 \leq p < 0.05$, “**”, $0.001 \leq p < 0.01$; “***”, $p < 0.001$ 。

表5 皮肤纹理度Rz值统计结果
Tab.5 Statistical results of the Rz value for skin texture

皮肤纹理度Rz值	组别	第0天	第14天	第28天
平均值	对照组	0.110 9	0.111 2	0.110 8
	实验组	0.115 6	0.109 4	0.105 1
标准误SE值	对照组	0.001 7	0.001 8	0.001 7
	实验组	0.002 2	0.001 7	0.001 4
Δ差值	对照组		0.000 3	-0.000 1
	实验组		-0.006 2	-0.010 5
变化率/%	对照组		0.27	-0.09
	实验组		-5.36	-9.08
P值(使用后v.s.使用前)	对照组		0.874 8	0.991 8
	实验组		0.003 7**	0.000 2***
P值(对照组v.s.实验组)		0.085 6	0.029 6*	0.010 4*

2.3.6 皮肤纹理度Rt值

受试者使用产品前, 实验组与对照组脸颊皮肤纹理度Rt值基础值(第0天)无显著性差异 ($p > 0.05$); 连续使用实验组产品14天后, 受试者眼角皮肤纹理度Rt值改善8.80% (绝对值), 显著好于使用前 ($p < 0.001$), 且显著好于对照组 ($p < 0.001$); 连续使用实验组产品28天后, 受试者眼角皮肤纹理度Rt值改善7.56% (绝对值), 显著好于使用前 ($p < 0.001$), 且显著好于对照组 ($p < 0.05$)。结果说明, 连续使用实验组产品28天后, 可以显著改善眼角皮肤纹理度Rt值, 且改善效果显著好于对照组, 实验组测试产品具有淡化眼角细纹的效果。皮肤纹理度Rt值统计结果见表6, 表中

“n.s.”表示无统计学差异， $p>0.05$ ；“*”表示有显著性差异， $0.01\leq p<0.05$ ，“**”， $0.001\leq p<0.01$ ；“***”， $p<0.001$ 。

表6 皮肤纹理度Rt值统计结果
Tab.6 Statistical results of the Rt value for skin texture

皮肤纹理度Rt值	组别	第0天	第14天	第28天
平均值	对照组	0.164 2	0.159 7	0.159 5
	实验组	0.169 3	0.154 4	0.156 5
标准误SE值	对照组	0.002 2	0.002 1	0.001 8
	实验组	0.001 7	0.001 4	0.001 3
Δ差值	对照组		-0.004 5	-0.004 7
	实验组		-0.014 9	-0.012 8
变化率/%	对照组		-2.74	-2.86
	实验组		-8.80	-7.56
P值(使用后 v.s.使用前)	对照组		0.035 8*	0.033 9*
	实验组		0.000 1***	0.000 1***
P值(使用后 v.s.使用前)		0.067 4	0.000 9***	0.011 0*

2.3.7 产品淡化眼角细纹有效例
选取1例使用实验组测试产品28天后，淡化眼角细纹效果明显的受试者030号，见图5a (VISIA-CR Standard 2光源模式照片) 和5b (Derma TOP彩色图、棕色图、倒模图模式照片)。

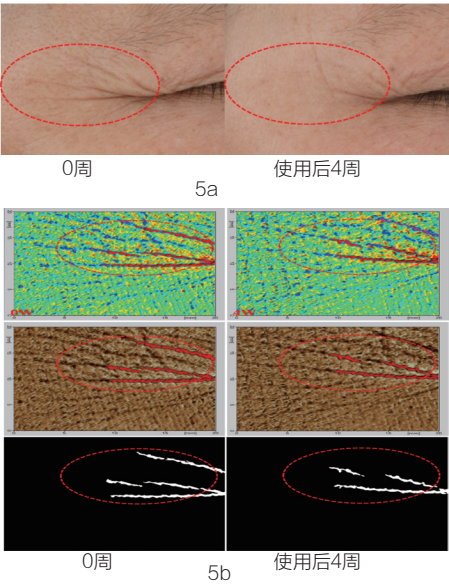


图5 淡化皱纹有效例
Fig.5 Effective cases of wrinkle diminishing

2.4 安全性评价结果

30名受试者进行28天人体试用实验研究，未见红斑、水肿、丘疹、水疱、大疱等任何皮肤不良反应，参考2015年版《化妆品安全技术规范》中规定的人体试用试验皮肤不良反应分级标准，评定实验组和对照组测试样品具有良好的安全性。

3 结论

通过天然植物提取液复合物对HaCaT的细胞毒性、ROS的清除能力，以及对HDF的细胞毒性和衰老相关基因表达的影响的测试，结果表明，样品含量在2.5%及以下时对HaCaT细胞无明显毒性；样品含量在2.5%时可显著清除HaCaT细胞中由H₂O₂刺激产生的ROS，因此对细胞氧化损伤具有保护作用；样品含量在0.5%及以下时对HDF细胞无明显毒性；样品含量在0.5%时对MMP-1的表达具有显著抑制性，表明样品可以保护胶原蛋白及蛋白多糖，降低老化损伤。

添加了天然植物提取液复合物的妆前乳产品通过30例皮肤干燥、肌肤松弛、有皱纹的中国健康受试者的28天产品连用，人体皮肤安全性好，连续使用实验组测试产品28天后，受试者脸颊角质层水分含量、皮肤弹性R2值及Q1值均得到显著提升，眼角皮肤纹理度Ra值、Rz值及Rt值均得到显著改善，且实验组改善效果显著好于对照组，说明添加了天然植物提取液复合物的妆前乳产品具有提升角质层水分含量、提升皮肤弹性、淡化眼角细纹的效果。

参考文献：

[1] 聂艳峰. 积雪草提取物的制备及其在化妆品中的应用[D].广州：暨南大学，2017.

[2]张蓓蓓，刁婷婷，戴明珠，等. 传统活血类中药的美容药理及其作为植物提取物在现代化妆品中的应用[J]. 中国现代应用药学，2016，33(9)：1221-1226.

[3] 魏学立，曲玮，梁敬钰.银杏的研究进展[J]. 海峡药学，2013，25(2)：1-8.

[4] 蒋瑶，孔荔，童杰，等. 含银杏药妆品的研究进展[J]. 长沙医学院学报，2018，16(2)：33-36.

[5] 陈佳龄，张凯，孙永，等. 牡丹花水提液清除羟自由基及抑制酪氨酸酶活性的研究[J]. 日用化学工业，2014，44(12)：692-713.

[6] 杨兰花，王旭强. 80%大米多肽应用于化妆品安全性研究[J]. 香料香精化妆品，2011，10(5)：27-28.

- [7] 李火云, 万岳鹏, 曾茜, 等. 大米多肽抗衰老功效研究[J]. 香料香精化妆品, 2015(6): 37-40.
- [8] FENG BING, MA LAIJI, YAO JINJING, et al. Protective effect of oat bran extracts on human dermal fibroblast injury induced by hydrogen peroxide [J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2013, 14(2): 97-105.
- [9] 胡腾根. 燕麦多肽的酶法制备及其抗氧化性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [10] SANDEEP R V, THIYAGARAJAN O SIVAPRAKASAM. Protective effects of triphala on dermal fibroblasts and human keratinocytes [J]. PLOS ONE, 2016(4): 127.
- [11] 步犁. 利用多种细胞筛选抗氧化物质方法的研究[D]. 广州: 广东药学院, 2013.
- [12] 熊丽丹, 唐洁, 李利. 白果内酯和银杏内酯B对过氧化氢诱导人角质形成细胞氧化损伤的保护作用[J]. 日用化学工业, 2019, 49(8): 531-536.
- [13] 李艳飞, 木其日, 其木格, 等. 长波紫外线对人角质形成细胞分泌MMP-1 mRNA, MMP-3 mRNA及MMP-9 mRNA的影响[J]. 内蒙古医学杂志, 2018, 50(7): 769-771.
- [14] 王瑶, 覃昌焘, 马琴琴, 等. 水蛭素对压应力作用下牙龈成纤维细胞胶原纤维 I 和基质金属蛋白酶 1 表达的影响[J]. 广西医科大学学报, 2016, 33(2): 243-247.
- [15] 国家食品药品监督管理局. 化妆品安全技术规范 (2015 版)[A]. 北京: 2015.
- [16] 盘瑶, 赵华. 化妆品功效评价(VI)—化妆品人体功效评价的实验设计[J]. 日用化学工业, 2018, 48(6): 314-321.
- [17] 王鹏, 张云贤, 杜玉兰, 等. 一款美白产品的功效研究[J]. 日用化学工业, 2020, 43(5): 36-39.
- [18] 唐莉, 李利, 邓次. 女性皮肤弹性与年龄和部位的相关性研究[J]. 中国美容医学, 2005, 14(6): 743-745.
- [19] 张洁尘, 陈祥生, 侯伟. 女性外眦皱纹(鱼尾纹)分型及相关因素的分析[J]. 中国皮肤性病杂志, 2010, 24(6): 493-498.

Efficacy evaluation of a formula of plant extracts used in the makeup base

HUANG Hong-bin¹, WANG Yin-li¹, ZENG Lan-lan¹, FENG Di², WU Jin-hao³

(1. Guangzhou Cadlin Cosmetics Technology Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 510470, China; 2. Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 3. Beijing EWISH Testing Technology Co., Ltd., Beijing 100089, China)

Abstract: A formula of plant extracts was studied in cytological and human skin experiments, and its safety profile was also evaluated. The experimental results demonstrated the antioxidation, anti-aging and moisturizing effects thereof. Cytological test results showed that the formula of plant extracts could significantly scavenge the reactive oxygen species (ROS) generated by H₂O₂ stimulation, indicating that it could protect cells from oxidative damage; it also showed significant inhibitory effect on the expression of the matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) gene. Human skin test results showed that, after 28 days of continuous use of the makeup base product containing the formula of plant extracts, the moisture content of stratum corneum at the cheek and the skin elasticity (R2 and Q1 values) were significantly improved; the parameters of skin texture of canthus (Ra, Rz and Rt values) were significantly improved, indicating that the product had the effects of increasing the moisture content of the stratum corneum, enhancing the elasticity of the skin, and diminishing the fine lines and wrinkles around the eyes. This product had a good safety profile.

Key words: makeup base; natural plant; compound extract; efficacy study

(本文编辑 张 静)

中国日化院耿涛院长当选中国洗协副理事长

中国洗涤用品工业协会第八届三次理事会于2020年11月11日在浙江省杭州市召开, 中国日化院耿涛院长出席会议并当选为中国洗协第八届理事会副理事长。依托中国日化院设立的中国洗协表面活性剂专业委员会、中国洗协科学技术专业委员会、全国表面活性剂和洗涤用品标准化技术委员会、全国食品用洗涤消毒产品标准化技术委员会在会议中分别提交了关于2020年工作总结和2021年工作计划的报告。会议同期, 由中国洗涤用品工业协会主办的“第40届(2020)中国洗涤用品行业年会”和“2020(第13届)中国国际日化产品原料及设备包装展览会”先后召开和举办。