

专业实践与教学案例

一、实践企业简介

广州环亚化妆品科技有限公司，公司总部位于广州科学城。是一家集研发、生产、销售、培训、服务等为一体的综合性民族品牌美容化妆品高新技术企业（于 2010 年获得国家高新技术企业认定），在同行业中享有盛誉。

二、专业实践收获

1、提升了专业技术能力

通过实践提升了专业技术水平，特别是化妆品原料与配方技术水平。

2、与企业合作编写教材

与环亚公司等企业共同编写化妆品质量检验技术教材（化学工业出版社出版，2021 年 8 月），与环亚公司陈庆生等高级工程师合作编写了附件 1 所示内容。

3、完成横向科研经费

通过实践提升了科研水平，完成横向技术服务到账经费 4 万元。

4、实现科技成果鉴定评价一项，达到国际领先水平

成果名称：具有防脱发功效的姜科植物活性物提取分离和构效关系研究及产业化

评价时间和结论：2021 年 9 月 17 日，达到国际领先水平。

主要成果内容：

中药的使用已超过千年的历史，在国内医学体系中有着重要的地位，而且传统中药被认为是现代药物发现的重要来源。生姜、高良姜和郁金作为姜科植物的根茎，是常见的中药材，同时也收载于 2015 版《已使用化妆品原料目录》中。中药所含的化学成份十分复杂，既有含有多种有效成份，又有无效成份，也包含有毒成份。提取其有效成分并进一步加以分离、纯化，得到有效成分群和单体是中药研究领域中的一项重要内容。传统提取方法包括水煎煮法、浸渍法、渗漉法、改良明胶法、回流法、溶剂提取法、水蒸气蒸馏法和升华法等。随着现代科学技术发展及仪器设备在中药提取工业领域的应用，出现了不少高新技术，如超临界流体萃取法、膜分离技术、超微粉碎技术、中药絮凝分离技术、半仿生提取法、超声提取法、旋流提取法、加压逆流提取法、酶法、大孔树脂吸附法、超滤法、分子蒸馏法等。中药提取物是融合现代制药新技术的新型中药产品，具有广阔的市场空间。

分子对接是通过受体的特征以及受体和药物分子之间的相互作用方式来进行药物设计的方法。主要研究分子间，如配体和受体相互作用，并预测其结合模式和亲合力的一种理论模拟方法。近年来，分子对接方法已成为计算机辅助药物研究领域的一项重要技术。分子对接方法是分子之间的空间识别和能量识别。空间匹配是分子间发生相互作用的基础，能量匹配是分子间保持稳定结合的基础。各种分子对接方法对体系均有一定的简化，根据简化的程度和方式，可以将分子对接方法分为三类：刚性对接，半柔性对接和柔性对接。

网络药理学是在现代药理学研究的基础上提出的一种新的药物设计与开发方法和策略，特别有助于提升中药研发的效率。近年来，网络药理学已经成为中药药理基础与作用机制研究的热门工具，其系统性和整体性特点为复杂中药体系的研究提供了新思路，被广泛用于筛选中药有效成分、阐释作用机制和揭示方剂配伍原理等，为中药合理使用提供技术支持。

本项目选取 3 种姜科植物生姜、高良姜和郁金作为对象，通过活性研究、成分分析、分子对接技术和生物信息学分析，获取潜在活性分子和蛋白靶点，提升作为原料使用的姜科挥发油的价值和科技含量，也必将对其之后的应用与研究提供更广泛的借鉴与参考，提升公司产品的科技含量，为公司产品的应用提供技术支持，实现公司产品的可持续发展。同时也为化妆品中功效原料的开发提供一种示范方法，对于我国植物活性物在化妆品企业中的应用和产品化具有重大意义。

（一）性能指标

1) 3 种姜科植物不同极性部位对马拉色菌和 5α-还原酶的抑制作用

生姜、高良姜、郁金挥发油对马拉色菌有很好的抑制作用。三者的水提物和 30%乙醇提取物没有抑制马拉色菌的作用。尽管 70%乙醇提取物和 95%乙醇提取物有抑制马拉色菌的作用，但远差于挥发油部位（表 1）。

表 1 种姜科植物不同极性部位对马拉色菌的抑制作用

名称	挥发油 (2%)	水溶物 (2%)	30%乙醇提取 物 (2%)	70%乙醇提取 物 (2%)	95%乙醇提取 物 (2%)
生姜-1	++++	--	--	+	+
生姜-2	+++	--	--	--	+
生姜-3	+++	--	--	+	+
高良姜-1	+++	--	--	+	+
高良姜-2	+++	--	--	+	+
高良姜-3	+++	--	--	--	+
郁金-1	+++	--	--	--	+
郁金-2	+++	--	--	+	+
郁金-3	+++	--	--	--	--

注：抑菌圈直径 d（mm）， $d > 20$:++++; $15 < d \leq 20$:+++; $10 < d \leq 15$:++; $0 < d \leq 10$:+;没有抑菌作用：--。

生姜、高良姜、郁金三种姜科植物的挥发油对 5α-还原酶的抑制作用，通过 3 批次的对比，发现 3 种姜科植物挥发油远远强于其它极性部位的提取物，提示在挥发油中，存在一

种或多种抑制 5 α -还原酶的化合物（表 2）。

表 2 种姜科植物不同极性部位对 5 α -还原酶的抑制作用

名称	挥发油	水溶物	30%乙醇提取 物	70%乙醇提取 物（	95%乙醇提取 物（
生姜-1	78.4	12.4	13.6	20.9	36.9
生姜-2	80.2	11.0	15.7	18.7	34.2
生姜-3	74.1	12.2	12.9	22.3	34.7
高良姜-1	71.5	15.5	14.4	25.2	37.1
高良姜-2	75.0	13.2	17.9	21.8	32.5
高良姜-3	72.9	12.8	13.1	21.6	29.8
郁金-1	73.3	10.8	10.2	18.0	31.7
郁金-2	68.7	9.4	12.1	17.3	27.4
郁金-3	70.7	12.5	11.1	22.4	33.6

2) 分子对接技术和网络药理学获取潜在活性成分及体外活性验证

通过 KEGG 通路富集分析，对生姜中化合物有作用的 48 个蛋白在信号通路中的作用进行了研究，得到 118 条信号通路，根据 FDR<0.01 筛选出 20 条（表 4-7）与炎症及免疫相关的信号通路，如细胞因子-细胞因子受体相互作用（Cytokine-cytokine receptor interaction）、IL-17 信号通路（IL-17 signaling pathway）、T 细胞受体信号通路（T cell receptor signaling pathway）、Janus 激酶/信号转导与转录激活子信号通路（Jak-STAT signaling pathway）、Th17 细胞分化（Th17 cell differentiation）、磷脂酰肌醇 3 激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶信号通路（PI3K-Akt signaling pathway）。

通过 LPS 刺激的小鼠巨噬细胞 264.7 模型，在同等浓度下，发现筛选得到排名前 5 的 Gingerenone B、10-Gingerol、Gingerdione 对 TNF- α 炎症因子的产生有很好的抑制作用，优于 Nerol，抑制效果还与排名有相关性。另外，单体化合物对 TNF- α 的抑制效果低于三者的挥发油的效果（表 3）。

表 3 潜在活性成分及活性部位对 TNF- α 产生及表达的抑制作用

组别	TNF- α 含量（pn/mL）		TNF- α mRNA 相对表达	
	0.2%	1.0%	0.2%	1.0%
空白组	29.76 \pm 5.86		1.00	
模型组	3301 \pm 154		10.63 \pm 0.61	
生姜-1	2689 \pm 97	2129 \pm 138	8.00 \pm 0.90	6.47 \pm 0.51
生姜-2	2775 \pm 113	2296 \pm 82	8.07 \pm 0.49	6.63 \pm 0.42
生姜-3	2823 \pm 52	2246 \pm 129	7.57 \pm 0.45	6.27 \pm 0.45
高良姜-1	2826 \pm 126	2416 \pm 101	8.43 \pm 0.49	6.83 \pm 0.40
高良姜-2	2924 \pm 50	2400 \pm 87	8.41 \pm 1.03	6.75 \pm 0.61
高良姜-3	2835 \pm 111	2331 \pm 139	8.24 \pm 0.57	7.04 \pm 0.28
郁金-1	2835 \pm 114	2351 \pm 53	8.04 \pm 0.38	6.55 \pm 0.51

郁金-2	2933±102	2487±100	7.96±0.77	6.77±0.39
郁金-3	2918±52	2364±54	8.39±0.34	6.92±0.45
Gingerenone B	2812±116	2405±159	8.74±0.61	7.15±0.45
10-Gingerol	2831±126	2364±62	8.64±0.46	7.42±0.49
Gingerdione	2853±77	2455±45	9.22±0.78	8.21±0.95
Nerol (2900±77	2470±83	9.02±0.56	7.43±0.91

在同等浓度下，发现筛选得到排名前 5 的 Gingerenone B 和 10-Gingerol 对 IL-6 炎症因子的产生有很好的抑制作用，优于 Gingerdione 和 Nerol，抑制效果还与排名有相关性。另外，Gingerenone B 和 10-Gingerol 对 IL-6 的抑制效果接近三者的挥发油的效果（表 4）。

表 4 潜在活性成分及活性部位对 IL-6 产生及表达的抑制作用

组别	IL-6 含量 (pn/mL)		IL-6 mRNA 相对表达	
	0.2%	1.0%	0.2%	1.0%
空白组	39.33±4.04		1.00	
模型组	5048±153		13.40±0.60	
生姜-1	4601±162	3556±259	9.70±0.76	7.85±0.53
生姜-2	4549±67	3658±204	9.62±0.17	7.68±0.50
生姜-3	4583±94	3559±186	9.33±0.38	7.34±0.61
高良姜-1	4559±103	3817±184	9.87±0.82	7.82±0.56
高良姜-2	4547±139	3555±223	9.30±0.66	8.17±0.52
高良姜-3	4512±153	3730±155	9.85±0.57	7.83±0.87
郁金-1	4741±143	3850±97	9.64±0.39	7.91±0.37
郁金-2	4746±111	3880±143	9.37±0.38	7.76±0.36
郁金-3	4717±192	3931±131	9.16±0.73	8.07±0.40
Gingerenone B	4637±138	3539±127	9.79±0.43	7.56±0.57
10-Gingerol	4698±169	3576±122	9.47±0.43	7.75±0.51
Gingerdione	4681±166	3713±120	9.55±0.46	7.51±0.57
Nerol	4559±135	3650±175	9.10±0.77	7.73±0.38

生姜挥发油、高良姜挥发油、郁金挥发油、Gingerenone B、10-Gingerol、Gingerdione、Nerol 这 7 种物质在 1%和 0.5%的浓度下，对马拉色菌的抑制作用非常接近。当稀释到 8 倍和 16 倍之后，生姜挥发油、Gingerenone B 和 10-Gingerol 比其他挥发油和化合物有更好的抑菌活性（表 5）。

表 5 潜在活性成分及活性部位对马拉色菌的抑制作用

成分	起始浓度(1%)	稀释 2 倍	稀释 4 倍	稀释 8 倍	稀释 16 倍
生姜挥发油-1	+++	+++	+++	++	++
生姜挥发油-2	++++	+++	++	+	+
生姜挥发油-3	+++	+++	++	++	+

高良姜挥发油-1	+++	+++	++	+	+
高良姜挥发油-2	+++	+++	++	+	+
高良姜挥发油-3	+++	+++	++	+	-
郁金挥发油-1	+++	+++	++	+	+
郁金挥发油-2	++++	+++	++	+	-
郁金挥发油-3	+++	+++	++	+	-
Gingerenone B (Com72)	++++	+++	++	++	+
10-Gingerol (Com29)	++++	+++	++	++	+
Gingerdione (Com87)	++++	+++	++	+	+
Nerol (Com 42)	+++	+++	++	+	+

注：抑菌圈直径 d (mm)， $d>20$:++++; $15<d\leq 20$:+++; $10<d\leq 15$:++; $0<d\leq 10$:+;没有抑菌作用：--。

3) 3 种植物的制备工艺优化及其体外活性和安全评价

制备生姜挥发油提取最佳工艺条件：均质压力为 60MPa、均质时间 5.5min、蒸馏液料比 7L/kg。制备高良姜挥发油提取最佳工艺条件：均质压力为 60MPa、均质时间 14.5min、蒸馏液料比 7L/kg。制备郁金挥发油提取最佳工艺条件：均质压力为 70MPa、均质时间 12.5min、蒸馏液料比 5.5L/kg。

根据响应面优化法得出的工艺参数，对生姜、高良姜、郁金进行提取，制备出相对应样品，分别为生姜挥发油-4（提取率为 2.37%）、高良姜挥发油-4（提取率为 2.14%）、郁金挥发油-4（提取率为 1.84%），其提取率均高于单一的水蒸气提取法。功效评价结果表明这 3 个制备样品都对马拉色菌和 TNF- α 的产生有很好的抑制作用（表 6 和表 7）。通过进行红细胞溶血实验，这 3 个制备样品在 1%的浓度下没有刺激作用（表 8）。

表 6 制备挥发油对马拉色菌的抑制作用

样品	起始浓度(1%)	稀释 2 倍	稀释 4 倍	稀释 8 倍	稀释 16 倍
生姜挥发油-4	++++	+++	+++	++	++
高良姜挥发油-4	++++	+++	++	++	+
郁金挥发油-4	++++	+++	++	++	+

注：抑菌圈直径 d (mm)， $d>20$:++++; $15<d\leq 20$:+++; $10<d\leq 15$:++; $0<d\leq 10$:+

表 7 制备挥发油对 5 α -还原酶的抑制作用

样品	抑制率 (%)
生姜挥发油-4	82.6
高良姜挥发油-4	78.9
郁金挥发油-4	76.0

表 8 制备挥发油溶血能力实验结果

样品	L/D	分级
----	-----	----

生姜挥发油-4	416	无刺激性
高良姜挥发油-4	243	无刺激性
郁金挥发油-4	262	无刺激性

注：L/D>100：无刺激；10<L/D≤100：微刺激性；1<L/D≤10：轻度刺激性；0.1<L/D≤1：中毒刺激性；L/D≤0.1：重度刺激性

4) 产品性能及功效评价稳定性

本项目中所使用的姜科挥发油组合物添加入产品中，对微生物稳定性无不良影响，对体系的防腐功效还有一定促进效果，经防腐挑战测试结果显示合格，可在配方中正常添加。

取30 mL精华液和洗发水分别置于透明密封样瓶，于-15、25、40和48℃下放置30天后观察其稳定性，结果如表9所示。由表4测试结果可知，精华液和洗发水均无分层、泛粗及变色。本项目产品的稳定性均无问题。

表 9 产品 30 天温度梯度稳定性测试结果

产品名称	稳定性			
	θ/℃			
	-15	25	40	48
精华液	好	好	好	好
洗发水	好	好	好	好

保湿性能：将以上原料应用于产品配方中，产品的保湿效果如表所示，制备而成的中药化妆品具有优秀的即时保湿能力，且有良好的持水功效，能较好地为皮肤补充水分，使肌肤变得柔软光滑，改善皮肤干燥的状况（表10）。

表 10 产品的平均水和度

样品	水合度 (%)				
	0	0.5	1	2	4
精华液	22.5	45.6	43.4	40.6	32.7

温和性能：样品在25%以下呈现不溶血，比较半数红细胞溶血浓度HC50，说明面霜的温和度最高，比较血红蛋白变性指数DI，各样品无明显差异，血红蛋白几乎不变性，L/D显示，几款产品均无刺激性，安全性高（表11）。

表 11 各种红细胞溶血实验结果

样品	L/D	评价
精华液	2514	无刺激性
洗发水	2756	无刺激性

对细胞保护和促生作用：如表 12 所示，以未加任何细胞发酵液的细胞作空白对照，样

板对成纤维细胞增殖有显著的促进作用，尤其是精华液产品的细胞存活率接近 128%。由表可看出，使用精华液和洗发水产品后细胞存活率明显增大，有效促进成纤维细胞增殖，具有一定的细胞保护和促生作用。

表 12 样板作用后的成纤维细胞存活率

样品	成纤维细胞存活率/%
空白对照	98±7.32
精华液	128.94±11.25
乳液	113.75±8.56

产品功效评价：表 13 记录受试群体在斑贴测试中的反应结果。结果表明，市售洗发水有一定的刺激作用，受试群体总计 1 次阳性反应；而本项目制备的洗发水没有任何的过敏和刺激现象，说明该产品的温和性较一般洗发水产品要好。开发的洗发水在涂抹性、湿发顺滑度、去屑效果、抗瘙痒效都有很高的评价，优于市售洗发水（表 14）。

表 13 斑贴试验结果

贴皮次数	市售洗发水	洗发水	空白实验
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	1次	0	0
结束后第6天	0	0	0
合计	1次	0	0

表 14 产品效果评价结果

	涂 抹 性	湿发顺 滑 度	干发顺 滑 度	控油效果	去 屑 效 果	抗 瘙 痒 效	整体状况
洗发水	7.8	8.1	6.0	7.2	8.6	8.4	7.7
市售洗发水	7.5	7.4	6.2	6.8	7.7	7.1	6.8

（二）成果的创造性、先进性

（1）获得了对马拉色菌和 5α-还原酶有抑制作用的姜科植物活性成分，明确了特征成分以及具有抑菌、防脱、抗炎活性的重要成分。

首先，通过水蒸气蒸馏法获得了生姜、高良姜、郁金三种姜科植物的挥发油，并采用大孔树脂 D101 柱层析方法得到了 4 种不同极性部位的提取物。根据各类成分极性特点，系统比较 3 种姜科植物不同部位提取物生物活性筛选，发现了生姜挥发油、高良姜挥发油、郁金挥发油对马拉色菌和 5α-还原酶具有非常显著的抑制作用。

其次，通过 GC-MS 法分析，明确了不同批次生姜挥发油中 45 个共有成分，不同批次高良姜挥发油中 33 个共有成分，不同批次郁金挥发油中 29 个共有成分。

最后，通过 LPS 刺激的小鼠巨噬细胞 264.7 模型，发现在一定浓度范围 Gingerenone B、10-Gingerol、Gingerdione 对 TNF- α 和 IL-6 炎症因子的产生及 mRNA 的表达有很好的抑制作用，也对马拉色菌有很强的抑制作用。在一定的稀释范围下，生姜挥发油、Gingerenone B 和 10-Gingerol 比其他挥发油和化合物有更好的抑菌活性。

(2) 运用网络药理学和分子对接技术探讨生姜挥发油改善脱发症状的作用机制，证实了生姜挥发油中活性作用靶点。

通过中药系统药理学数据平台和 BATMAN-TCM 平台检索生姜成分；利用 GeneCard 和 UniProt 数据库检索人类脱发症的相关基因；利用 Sybyl7.3 软件进行分子对接，筛选出活性化合物及其作用靶点构建化合物-靶点网络及蛋白-蛋白互作 (PPI) 网络，进行基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。生姜挥发油中共鉴定出 105 个成分，化合物-靶点网络包含 48 个活性化合物和相应靶点 48 个，关键靶点涉及 6-Methylgingediacetate、10-Gingediol、Gingerenone B、10-Gingerol、Gingerdione 等。PPI 网络包含 40 个蛋白，关键蛋白涉及 TNF、IL6、ALB、IL10、IL17A 等。GO 功能富集分析相关条目 722 个，KEGG 通路富集筛选得到 118 条信号通路涉及 Cytokine-cytokine receptor interaction、IL-17 signaling pathway、T cell receptor signaling pathway、Jak-STAT signaling pathway 等。研究结果表明生姜挥发油可通过调控炎症和免疫等相关信号通路，达到改善由炎症和免疫反应引起脱发症。有效预测了潜在的作用靶点，推断了生姜、高良姜和郁金中治疗脱发的化合物的结构特点，并对部分进行功效验证，符合现今功效化妆品原料开发需求，为原料和产品的宣称提供了科学基础。

(3) 采用高压均质联用蒸馏法，结合响应面法优化了 3 种姜科挥发油的提取工艺，实现了 3 种挥发油的高效制备。

影响挥发油提取的因素很多，从提取工艺上考虑，可把控的因素有均质压力、均质时间和蒸馏液料比。先对单因素进行考察，确定实验因素水平。采用响应面分析法分别对生姜挥发油、高良姜挥发油、郁金挥发油提取工艺进行设计和优化，获得了 3 种挥发油优化后的提取工艺参数。通过工艺验证，生姜挥发油、高良姜挥发油、郁金挥发油提取率均高于单一水蒸气提取法。高压均质联用蒸馏法制备挥发油与单一水蒸气提取法相比，大大降低了提取所用时间及能耗，提升了生产效率，节省了生产制备的成本。3 个制备样品都对马拉色菌和 TNF- α 的产生有很好的抑制作用，在 1% 的浓度下没有刺激作用，是能够广泛应用的、安全有效的特色植物提取物。

4、专业实践过程凝炼形成了 3 个教学案例

在专业实践过程中，通过与企业工程师共同解决生产质量问题时，凝炼出了 3 个案例用于教学：

生产案例 1 乳液黏度不达标

问题：某一公司在生产乳液时，在配制好后检验发现太稀，粘度不达标。

原因分析：出现这种情况的原因可能是：(1) 不同批次的原料对产品的粘度有影响；(2)

生产时均质力度过强或者均质时间过长。经排查，工厂发现出现这类问题一般都是均质时间过长导致的。

处理方法：为了让粘度达标，补加一点增稠剂（如赛比克 305 等），然后再搅拌均匀即可。

生产案例 2 乳液黏度偏低

事故问题：某一公司生产乳液粘度出现不稳定现象，有时生产出来产品的粘度偏低。

原因分析：该乳液配方中使用了卡波和 Seppic305 作为增稠剂。生产过程中，如果工艺是采用把卡波在乳化前投入乳化锅均质分散，再乳化，卡波被过度均质，导致卡波中的链出现断裂，做出来的产品就容易粘度偏低；另一个，由于 305 这种原料放置容易分层（油层漂在上面，聚合物沉底），而在称料时没有预先把 305 搅匀再称，影响了对产品的增稠。

处理方法：根据分析，由于乳液粘度是偶尔出现不稳定，不是长期的，如果是卡波被过度均质而断裂的话应该是每批都一致，所以排除这个原因。那就应该是 305 的问题。经过与配料员沟通，发现配料员有时在计量 305 前并不搅拌均匀就称料了，上面这层 305 含有聚合物含量少，而下层的聚合物含量多，导致乳液产品粘度不稳定。为此，公司针对 305 配料制订一项规定，要搅拌均匀才能进行计量。此后，该种乳液的粘度就不再出现不稳定现象。

生产案例 3 面膜液出现白色细小晶体析出

问题：某企业生产了一款面贴膜精华液时，产品耐寒检验时发现-10℃出现白色细小晶体析出

分析：经过分析是尿囊素的使用量过大，低温发生析出。尿囊素溶于热水、微溶于常温水，低温时在水中的溶解度进一步降低。设计配方时需考虑到温度对原料溶解度的影响。

解决办法：降低尿囊素在膏体中的比例，透明膏体控制在 0.20%以下，由于该产品市场需求量较大，通过等比例增加该膏体中其他成分含量，来降低尿囊素的含量，从而未造成膏体的浪费。

龚盛昭

2021 年 9 月 18 日