

牡丹籽乙醇提取物对UVB诱导HaCaT细胞光老化的保护作用及机制研究

韩婕璐, 洪铮怡, 龚天贵, 王斌, 张蓝月

Protective Effect and Mechanism of *Paeonia suffruticosa* Seed Ethanol Extract on Photoaging of HaCaT Cells Induced by UVB

HAN Jiejun, HONG Zhengyi, GONG Tiangui, WANG Bin, and ZHANG Lanyue

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023080212>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

槐提取物和维生素C组合物对紫外照射诱导的HaCaT细胞光损伤的保护作用

Protective Effect of *Sophora japonica* L. Extract and Vitamin C Composition on Photodamage of HaCaT Cells Induced by Ultraviolet Irradiation

食品工业科技. 2024, 45(1): 303-309 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023010057>

番茄、野樱莓提取物抗光老化功效及机制研究

Anti-photoaging Effect and Mechanism of Tomato and *Aronia melanocarpa* Extract

食品工业科技. 2023, 44(16): 395-402 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022090229>

不同提取方法对牡丹籽油品质与抗氧化性的影响

Effects of Different Extraction Methods on the Quality and Antioxidant Properties of *Paeonia suffruticosa* Seed Oil

食品工业科技. 2019, 40(1): 11-16,22 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.01.003>

蜂胶乙醇提取物对小鼠主动脉内皮细胞损伤的保护作用

Protective Effects of Propolis Ethanol Extract on Mouse Aortic Endothelial Cells Injury

食品工业科技. 2021, 42(15): 332-336 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020100065>

牡丹籽中营养和功能性成分研究进展

Research Progress on the Nutritional and Functional Components of Peony(*Paeonia suffruticosa* Andr.)Seeds

食品工业科技. 2019, 40(17): 333-339 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.17.055>

泽漆醇提取物抗氧化活性及对油酸诱导HepG2细胞脂肪堆积的影响

Antioxidant Activity of *Euphorbia helioscopia* Ethanol Extract and Its Effect on Oleic Acid Induced Fat Accumulation in HepG2 Cells

食品工业科技. 2024, 45(6): 330-336 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023050131>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

韩婕珺, 洪铮怡, 龚天贵, 等. 牡丹籽乙醇提取物对 UVB 诱导 HaCaT 细胞光老化的保护作用及机制研究 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(15): 351–359. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080212

HAN Jiejun, HONG Zhengyi, GONG Tianguai, et al. Protective Effect and Mechanism of *Paeonia suffruticosa* Seed Ethanol Extract on Photoaging of HaCaT Cells Induced by UVB[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(15): 351–359. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080212

· 营养与保健 ·

牡丹籽乙醇提取物对 UVB 诱导 HaCaT 细胞光老化的保护作用及机制研究

韩婕珺¹, 洪铮怡², 龚天贵¹, 王斌¹, 张蓝月^{2,*}

(1. 美出莱(杭州)化妆品有限责任公司, 浙江杭州 311121;

2. 广东工业大学生物医药学院, 广东省植物资源生物炼制重点实验室, 广东广州 510006)

摘要:目的: 研究牡丹籽乙醇提取物对 UVB 诱导人永生角质形成细胞 (HaCaT) 光老化的保护作用及机制。方法: 通过超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS) 法分析牡丹籽乙醇提取物存在的抗光老化活性成分, 采用 UVB 刺激 HaCaT 细胞建立光老化细胞模型, 噻唑蓝比色 (MTT) 法测定细胞活力, 细胞划痕法检测牡丹籽乙醇提取物对细胞迁移能力的影响, 通过酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测影响衰老的白细胞介素-1 (Interleukin-1, IL-1)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-22 (Interleukin-22, IL-22)、干扰素- γ (Interferon- γ , IFN- γ) 和转化生长因子- β (Transforming growth factor- β , TGF- β) 等细胞因子, 以活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 和核因子- κ B (Nuclear factor- κ B, NF- κ B) 的水平为指标, 研究不同浓度的牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞的抗光老化活性及其机制。结果: 含量最多的前五种成分为单硬脂酸甘油酯 (10.73%)、芥酸酰胺 (3.17%)、5-[(2R,3S) -6-羟基-2- (4-羟基苯基) -4-[(E) -2- (4-羟基苯基) 乙烯基]-2,3-二氢 1-苯并咪唑-3-基] 苯-1,3-二醇 (2.20%)、 α , α -海藻糖 (1.90%) 和芍药内酯苷 (1.45%)。经不同浓度牡丹籽乙醇提取物处理后的 HaCaT 细胞活力均在 80% 以上, 其中浓度为 6.25 μ g/mL 的牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞无显著毒性, 并且浓度为 12.5 μ g/mL (H 组) 和 6.25 μ g/mL (L 组) 的牡丹籽乙醇提取物均能抑制 HaCaT 细胞的迁移能力, H 组能显著降低细胞 IL-1、IL-6、IL-22、IFN- γ 和 TGF- β 水平 ($P < 0.05$) 从而抵抗皮肤衰老, L 组能减少 ROS 产生, 降低 NF- κ B 蛋白因子的含量 ($P < 0.05$), 从而有效地抑制 HaCaT 细胞的光老化反应。结论: 牡丹籽乙醇提取物具有抗光老化作用, 可以改善 UVB 诱导的氧化应激和炎症反应。

关键词: 乙醇提取物, 牡丹籽, 光老化, HaCaT 细胞

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)15-0351-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080212

本文网刊:



Protective Effect and Mechanism of *Paeonia suffruticosa* Seed Ethanol Extract on Photoaging of HaCaT Cells Induced by UVB

HAN Jiejun¹, HONG Zhengyi², GONG Tianguai¹, WANG Bin¹, ZHANG Lanyue^{2,*}

(1. MCL Skincare Co., Ltd., Hangzhou 311121, China;

2. School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Guangdong University of Technology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Plant Resources Biorefinery, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Objective: To study the protective effect and mechanism of ethanol extract from *Paeonia suffruticosa* seed on photoaging of HaCaT cells induced by UVB. Method: The anti-photoaging active ingredients in the ethanol extract of *Paeonia suffruticosa* seed were analyzed using ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight-tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS), and the photoaging cell model was established by stimulating HaCaT cells with UVB. Cell viability was determined by the multiple table tournament (MTT) method. The effect of ethanol extract from

收稿日期: 2023-08-21

作者简介: 韩婕珺 (1976-), 女, 博士, 中级工程师, 研究方向: 牡丹抗衰老方向的研究, E-mail: sophia.han@mcl.cn.

* 通信作者: 张蓝月 (1986-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 天然产物的提取与活性评价, E-mail: zhanglanyue@gdut.edu.cn.

Paeonia suffruticosa seed on cell migration was detected by cell scratch assay. The related cytokines affecting senescence such as interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-22 (IL-22), interferon- γ (IFN- γ), and transforming growth factor- β (TGF- β) were detected by enzyme-linked immunosorbent (ELISA) experiment, and the levels of reactive oxygen species (ROS) and nuclear factor- κ -gene binding (NF- κ B) were used as indicators to study the anti-photoaging activity and mechanism of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract at different concentrations on HaCaT cells. Results: The top five components with the highest content were 1-stearoylglycerol (10.73%), erucamide (3.17%), 5-[(2R,3S)-6-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4-[(E)-2-(4-hydroxyphenyl)ethenyl]-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl]benzene-1,3-diol (2.20%), α,α -trehalose (1.90%) and albiflorin (1.45%). After treatment with different concentrations of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract, the viability of HaCaT cells was above 80%. The concentration of 6.25 $\mu\text{g/mL}$ of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract showed no significant cytotoxicity to HaCaT cells. Both the concentrations of 12.5 $\mu\text{g/mL}$ (H group) and 6.25 $\mu\text{g/mL}$ (L group) of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract could inhibit the migration ability of HaCaT cells. The H group significantly reduced the levels of IL-1, IL-6, IL-22, IFN- γ , and TGF- β in cells ($P < 0.05$), thereby resisting skin aging. The L group reduced ROS production and decreased the content of NF- κ B protein factor ($P < 0.05$), effectively inhibiting the photoaging response of HaCaT cells. Conclusion: Ethanol extract from *Paeonia suffruticosa* seed can improve oxidative stress and inflammation induced by UVB, and has the effect of anti-photoaging.

Key words: ethanol extract; *Paeonia suffruticosa* seed; photoaging; HaCaT cell

牡丹(*Paeonia suffruticosa*)为芍药属牡丹组植物,在我国具有悠久的栽培与药用历史^[1],据民族药记载,除牡丹组植物的根和丹皮外,花、叶和种子对皮肤护理具有良好的疗效^[2-3]。黄酮类化合物是牡丹重要的活性成分^[4],其抗氧化效果较为理想,具有很好的推广应用价值^[5-6]。目前,国内对于牡丹籽的研究并没有深入,仅对其脂肪酸组成、油脂提取工艺等方面进行了初步的研究。牡丹籽中生物活性成分组成、提取、应用及作用机制等方面都有待于进一步研究。牡丹籽油不仅具有极高的营养价值,还具有高抗氧化能力以及抗衰老能力,可抑制细胞衰老。研究发现牡丹籽油对 DPPH 自由基具有良好的清除能力,可见牡丹籽油中含有抗氧化成分,证实了其具有抗氧化活性^[7-8]。梁栋等^[9]通过体外实验研究发现牡丹籽油在 0.1% 浓度下对 UVA 诱导的 HDFn 细胞基质金属蛋白酶-1(Matrix Metalloproteinase-1, MMP-1)合成具有抑制作用,证明了牡丹籽油在 UVA 诱导下具有抗光老化功效。然而,此研究中并未对牡丹籽油的抗光老化机制进行分析,同时欠缺牡丹籽油对 UVB 诱导的抗光老化的相关机制研究。

了解皮肤老化的成因是研究抗光老化的基础。HaCaT 细胞作为人类永生生化表皮细胞,常作为研究光老化的体外模型^[10]。UVB 照射常作为评估皮肤光老化的方法。UVB 能量较强,穿透能力较浅,主要影响皮肤表皮细胞^[11]。UVB 照射导致皮肤中细胞外相关基质成分发生改变,基质成分结构改变引起功能丧失,使皮肤失去弹性、形成皱纹,引发过早老化^[12]。同时 UVB 引起皮肤炎症,诱导皮肤角质层细胞生成白细胞介素(Interleukin, ILs)和肿瘤坏死因子- β (Tumor necrosis factor- β , TNF- β),这些炎性细胞因子促使生成过多的 ROS 加剧皮肤细胞的氧化应激,进一步介导炎性因子分泌,加剧皮肤光老化程度。此外,炎症因子还能加快 MMPs 的活化,加快皮肤胶原蛋白的降解,从而加速皮肤老化^[13]。

为了更全面深入研究牡丹籽乙醇提取物的抗老化功效及机制,本研究通过 UPLC-Q-TOF-MS 分析牡丹籽乙醇提取物的成分,并利用 UVB 诱导 HaCaT 细胞体外构建抗光老化模型,探究牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞迁移能力影响,以 IL-1、IL-6、IL-22、IFN- γ 和 TGF- β 这五个细胞因子、活性氧和 NF- κ B 的浓度水平为指标,观察不同浓度的牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞的抗光老化活性,阐明牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞的抗光老化活性及其调控机制,为牡丹籽抗光老化功能性食品的开发与利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

牡丹籽 山东省菏泽市某产业园区;人角质形成细胞系 HaCaT 细胞 上海复祥生物科技有限公司;4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)、牛血清白蛋白(BSA) Sigma 公司;高糖 Dulbecco 改良 Eagle 培培养基(DMEM)、PBS、胎牛血清(FBS)、链霉素溶液 Gibco 公司;噻唑四氮唑(MTT) 上海阿拉丁生化科技有限公司;总氮测定试剂盒、DCFH-DA 荧光探针、中性红染色液 上海碧云天生物有限公司;IFN- γ 、IL-1、IL-6、IL-22、TGF- β 的 ELISA 试剂盒 江苏酶标生物技术有限公司;Cy3 连接的山羊抗兔 IgG(H+L) 武汉赛维尔生物技术有限公司;抗 NF- κ B/p65 抗体 Affinity 公司。

HH-2 数显恒温水浴锅 常州国华电器有限公司;DHG-9023A 电热恒温鼓风干燥箱 苏州江东精密仪器有限公司;RE-52AA 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;ACQUITY UPLC H-CLASS 高效液相色谱仪 Waters 公司;IX71 倒置荧光显微镜 Olympus 公司;CellXpert C170 CO₂ 培养箱 Eppendorf 公司;多功能酶标仪 Tecan 公司;SS-04B 型 UVB 仪 上海希格玛高技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 牡丹籽乙醇提取物制备 称取 200 g 牡丹籽粉碎,加入 1 L 无水乙醇,浸取 24 h,待药材与乙醇充分浸润后,在水浴锅中以 60 °C 恒温加热回流 3 h,然后用纱布过滤,取上清液。将提取液经 45 °C 旋转蒸发仪浓缩至膏状,转移至 70 °C 烘箱烘干,放入 4 °C 冰箱中备用^[14]。

1.2.2 超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱 在 UPLC-Q-TOF-MS(Thermo, Ultimate 3000 LC, Q Exactive HF), C₁₈ 柱(Zorbax Eclipse C₁₈, 1.8 μm×2.1 mm×100 mm)上进行。流动相为 A 相(0.1% 甲酸水溶液)和 B 相(乙腈),恒定流速为 0.8 mL/min,进样体积为 10 μL,梯度洗脱条件为 95%~85% A, 0~3.5 min; 85%~70% A, 3.5~6 min; 70% A, 6~6.5 min; 70%~30% A, 6.5~12 min; 30% A, 12~12.5 min; 30%~0% A, 12.5~18 min; 0% A, 18~25 min; 0%~95% A, 25~26 min; 95% A, 26~30 min。将柱温度设置为 30 °C。质谱分析条件:采用电喷雾离子源(ESI);正负离子扫描模式;扫描范围:100~1000 m/z;正离子模式下,毛细管电压:5500 V;去簇电压:80 V;去溶剂气温度:350 °C;溶剂气流速:600 L/h;碎裂电压:(30±15)eV。负离子模式下,毛细管电压:4500 V;去簇电压:80 V;去溶剂气温度:350 °C;溶剂气流速:600 L/h;碎裂电压:(-30±15)eV。通过 Thermo Xcalibur 4.1 软件对数据进行初步处理,将准确的分子量测试值与理论值进行匹配,并在 Chem Spider 和 mz Cloud 数据库中进行搜索,然后通过二级质谱的碎片离子分析和鉴定化合物的结构式,结合数据库和文献报道相关化合物及其对照品的相同或类似成分的碎片离子信息进行对比分析、确定成分^[15]。

1.2.3 细胞培养 细胞在含有 10% FBS 和 1% 链霉素溶液的 DMEM 培养基中进行常规传代和培养,并在含有 5% 的二氧化碳的 37 °C 培养箱中生长^[16]。

1.2.4 细胞存活率测试 MTT 试验用于检测不同浓度牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞的毒性^[17]。将 HaCaT 细胞在 96 孔板(每孔 100 μL)中以 5×10⁴ 个细胞/mL 的浓度培养 24 h。之后,用 100 μL 含有不同浓度牡丹籽乙醇提取物(100、50、25、12.5、6.25 μg/mL)基础培养基替换每孔的原完全培养基液体,并在培养箱中培养 24 h。药物作用结束后,除去含有不同药物浓度的原培养基,向每孔加入 100 μL MTT(用无血清培养基稀释到 0.5 mg/mL),并在培养箱中培养 3 h。最后,除去 96 孔板的上清液,向每孔加入 100 μL DMSO。用酶标仪在 570 nm 下检测每孔的吸光度 A 值。

1.2.5 细胞迁移划痕试验 HaCaT 细胞被播种在 24 孔板中(1×10⁶ 个细胞/孔,1 mL 培养基/孔)。在培养箱中培养 24 h 后,弃去上清液,向每孔加入 1 mL 含有不同浓度牡丹籽乙醇提取物的培养基。培养

2 h 后,UVB 照射 300 mJ/cm²,持续 15 min,并设置空白组和模型组,空白组不做照射处理,模型组给予照射。然后,用吸头排查孔底,清除刮出的细胞,并在倒置显微镜下拍照。将 24 孔板在 37 °C 培养箱中培养 24 h,在同一位置用倒置显微镜再次拍照。使用 GraphPad prism 8.0.2 计算划痕愈合率^[18]。划痕愈合率(%)=(0 h 划痕宽度-24 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度×100。划痕愈合率越高,表示细胞迁移能力越强。

1.2.6 IFN-γ、IL-1、IL-6、IL-22 和 TGF-β 的 ELISA 检测 HaCaT 细胞被播种在 6 孔板中(6×10⁵ 个细胞/孔,1 mL 培养基/孔)。在培养箱中培养 24 h 后,弃去上清液,向每孔加入 1 mL 含有不同浓度牡丹籽乙醇提取物的培养基。培养 2 h 后,UVB 照射 300 mJ/cm²,持续 15 min,并设置空白组和模型组,空白组不做照射处理,模型组给予照射。在培养箱中培养 24 h 后,用 ELISA 试剂盒检测不同组的上清液中 IFN-γ、IL-1、IL-6、IL-22 和 TGF-β 的表达水平^[19-21]。

1.2.7 细胞中 ROS 的检测 HaCaT 细胞被播种在 6 孔板中(6×10⁵ 个细胞/孔,1 mL 培养基/孔)。在培养箱中培养 24 h 后,将 6 孔板中的旧培养基换成含有不同浓度牡丹籽乙醇提取物的 1 mL 培养基。培养 2 h 后,UVB 照射 300 mJ/cm²,持续 15 min,并设置空白组和模型组,空白组不做照射处理,模型组给予照射。培养 24 h 后,弃去上清液,加入 1 mL 的 DCFH-DA(溶于无血清培养基,终浓度为 0.01 mol/L)溶液。30 min 后,用 PBS 清洗 6 孔板三次,以减少荧光背景。最后,在倒置的荧光显微镜下对 6 孔板进行拍照(FITC 刺激荧光)^[22]。

1.2.8 免疫荧光染色 HaCaT 细胞被播种在 12 孔板中(1×10⁵ 个细胞/孔,1 mL 培养基/孔)。在培养箱中培养 24 h 后,将 12 孔板中的旧培养基换成含有不同浓度牡丹籽乙醇提取物的 1 mL 培养基。培养 2 h 后,UVB 照射 300 mJ/cm²,持续 15 min,并设置空白组和模型组,空白组不做照射处理,模型组给予照射。24 h 后,用 4% 多聚甲醛溶液固定 12 孔板中的细胞,然后用 Triton X-100 处理细胞的通透性,再用 1% 牛血清白蛋白(BSA)在室温下封锁 1 h。最后,在 4 °C 下用抗 NF-κB/p65 抗体(1% BSA, 1:200)孵育细胞过夜。过夜孵化后,用 Cy3 共轭山羊抗兔 IgG(H+L)在黑暗中孵化 2 h(1% BSA, 1:800)。最后,使用 DAPI 进行双重染色并在倒置荧光显微镜下拍照^[23-24]。

1.3 数据处理

数据以平均值±标准差(SD)表示。每组样品样本数为 3。统计学意义分析采用单因素方差分析,与空白组相比 $P<0.05$ (*)显著, $P<0.01$ (**)极显著。与模型组相比 $P<0.05$ (#)显著, $P<0.01$ (##)极显著。采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件对数据进行分析及绘图处理。

2 结果与分析

2.1 牡丹籽乙醇提取物主要成分

用高效液相色谱-质谱法对乙醇提取的牡丹籽提取物进行化学成分分析。图1分别为用乙醇提取的牡丹籽提取物正、负总离子色谱图。表1为采用Xcalibur4.1软件(Thermo Fisher Inc.)进行低分辨率质谱分析得到的牡丹籽乙醇提取物的化学成分。

经分析得到20种化合物,其中通过筛选与软件匹配契合度90%以上,并且比较峰面积得到相对含量占比前五种的化合物为单硬脂酸甘油酯

(10.73%)、芥酸酰胺(3.17%)、5-[(2R,3S)-6-羟基-2-(4-羟基苯基)-4-[(E)-2-(4-羟基苯基)乙烯基]-2,3-二氢-1-苯并咪唑-3-基]苯-1,3-二醇(2.20%)、 α,α -海藻糖(1.90%)和芍药内酯苷(1.45%)。其中单硬脂酸甘油酯具有抗氧化和抗衰老的功效^[25-29]。

2.2 牡丹籽乙醇提取物对HaCaT细胞增殖的影响

不同的牡丹籽乙醇提取物浓度对UVB诱导的HaCaT细胞的保护效果不同,为了寻找牡丹籽乙醇提取物对HaCaT细胞的最佳处理浓度,用MTT法检测不同浓度的牡丹籽乙醇提取物对HaCaT细胞

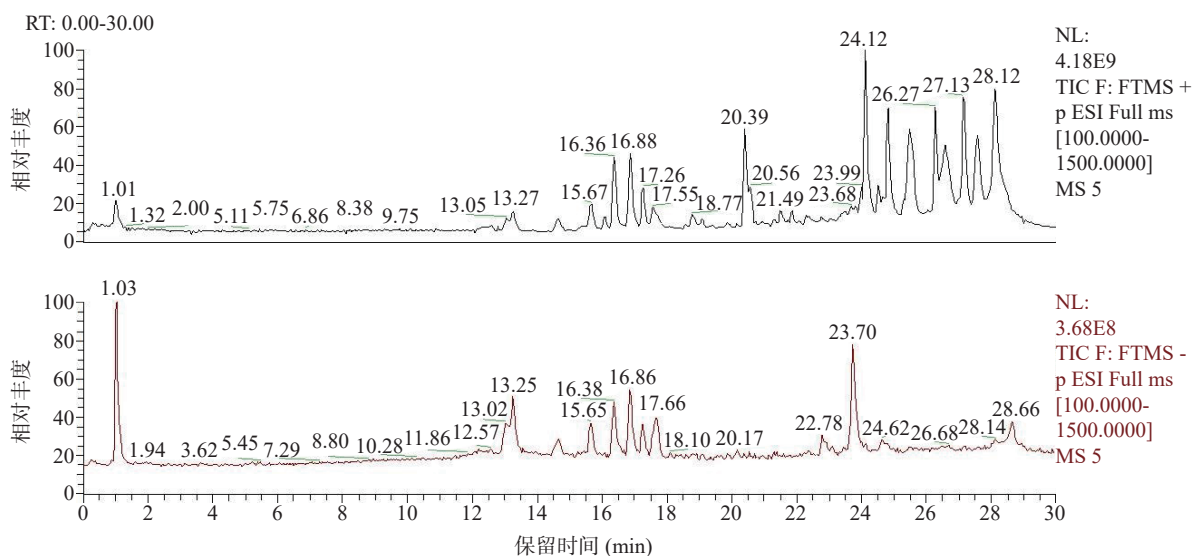


图1 牡丹籽乙醇提取物在正(A)和负(B)模式下的总离子色谱图

Fig.1 Total ion chromatogram of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract in positive (A) and negative (B) modes

表1 牡丹籽乙醇提取物的化学成分

Table 1 Chemical constituents of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract

序号	保留时间 (min)	化合物名称	分子式	相对分子质量 (m/z)	正离子(m/z) [M+H] ⁺	负离子(m/z) [M-H] ⁻	误差(ppm)
1	1.043	α,α -海藻糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.11575		341.10449	-1.34
2	1.051	棉籽糖	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	504.16915		503.16190	0.23
3	12.19	芍药内酯苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	480.16218	481.16931		-2.05
4	12.989	虎杖苷	C ₂₀ H ₂₂ O ₈	390.13065	391.13791		-2.09
5	13.286	芍药苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	480.16336	481.16561		0.42
6	15.34	白藜芦醇	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.0781	229.08562		-2.38
7	15.995	木犀草苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	286.0477	287.05423		-1.88
8	16.711	霉酚酸	C ₁₇ H ₂₀ O ₆	320.12509	321.13251		-2.82
9	16.899	5-[(2R,3S)-6-羟基-2-(4-羟基苯基)-4-[(E)-2-(4-羟基苯基)乙烯基]-2,3-二氢-1-苯并咪唑-3-基]苯-1,3-二醇	C ₂₈ H ₂₂ O ₆	454.14066		453.13422	-2.16
10	17.28	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.04716	287.05405		-2
11	19.041	N,N-二甲基癸烷基-N-氧化胺	C ₁₂ H ₂₇ NO	201.20885	202.21610		-2.05
12	20.577	双(4-乙基亚苯基)山梨醇	C ₂₄ H ₃₀ O ₆	414.203	415.19223		-2.98
13	22.49	9-O-10(E),12(E)-十八碳二烯酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	294.21858	295.22574		-3.1
14	23.424	棕榈油酸	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254.22379	255.23106		-3.12
15	23.765	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	340.24013		339.23270	-0.3
16	24.155	油酰胺	C ₁₈ H ₃₅ NO	281.27095	282.27835		-3.26
17	24.439	羽扇豆醇	C ₃₀ H ₅₀ O	426.38509	427.39233		-2.52
18	24.837	油乙酰胺	C ₂₀ H ₃₉ NO	309.30222	310.30951		-3.06
19	24.855	单硬脂酸甘油酯	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	358.30727	359.29651		-2.9
20	25.632	芥酸酰胺	C ₂₂ H ₄₃ NO	337.33336	338.34073		-3.28

活性的影响。结果显示, 经过不同浓度的牡丹籽乙醇提取物处理后的 HaCaT 细胞的活性均在 80% 以上, 最低为 85.1%, 并且与空白组相比, 12.5 μg/mL(H 组) 对 HaCaT 细胞的活力有显著的细胞毒性($P < 0.05$), 6.25 μg/mL(L 组)对 HaCaT 细胞的活力没有显著的细胞毒性作用($P > 0.05$), 而其他组的牡丹籽乙醇提取物浓度对 HaCaT 细胞有极显著的细胞毒性($P < 0.01$), 故选择 12.5 μg/mL(H 组)和 6.25 μg/mL(L 组)作为后续实验的浓度。其中, 6.25 μg/mL 的牡丹籽乙醇提取物对细胞的毒性作用最小, 而 100 μg/mL 的牡丹籽乙醇提取物对细胞的毒性作用最大(图 2)。这是由于牡丹籽油中含有丰富的不饱和脂肪酸、少量的不皂化物以及微量元素等, 具有一定的抗炎、抗氧化、抑菌等功效^[30]。

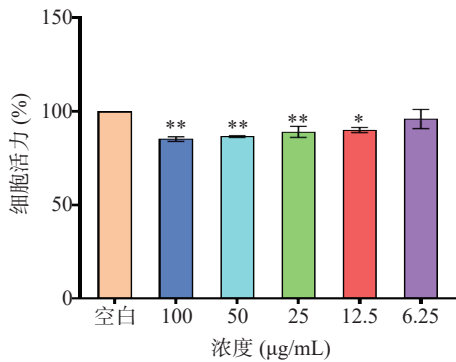


图 2 不同浓度牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞的毒性

Fig.2 Toxicity of different concentrations of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract to HaCaT cells

注: 与空白组相比, *代表差异显著($P < 0.05$); **代表差异极显著($P < 0.01$)。

2.3 牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞抗光老化作用的影响

研究表明, 当受到外界刺激时, 皮肤损伤会导致一系列的生理生化反应, 包括炎症等应激反应会被激活, 并对损伤部位做出反应, 从而促进创伤愈合^[31]。通过细胞划痕法检测不同浓度牡丹籽乙醇提取物对

HaCaT 细胞迁移的影响。在细胞划痕实验中, 图 3A 可以看出, 与空白组相比, UVB 造模的 HaCaT 细胞有明显的迁移趋势; 与 UVB 组相比, 高浓度的牡丹籽乙醇提取物可以降低 UVB 刺激的 HaCaT 细胞的迁移率, 两种浓度的牡丹籽乙醇提取物均可以抑制 UVB 诱导的 HaCaT 细胞产生的炎症, 从而抑制 HaCaT 细胞的迁移, 其中高浓度牡丹籽乙醇提取物的划痕愈合率差异显著($P < 0.05$), 低浓度牡丹籽乙醇提取物的划痕愈合率差异无统计学意义($P > 0.05$) (图 3B)。这些结果证实了牡丹籽乙醇提取物可以抑制 HaCaT 细胞的迁移能力。

2.4 牡丹籽乙醇提取物对 UVB 诱导 HaCaT 细胞中 IL-1、IL-6、IL-22、IFN-γ 和 TGF-β 的影响

UVB 诱导 HaCaT 细胞, 可激活 NF-κB 转录因子, 促进 IL-1、IL-6 等多种炎症因子的表达^[32-33]。IL-22 可促进 HaCaT 细胞过度增殖和炎症反应^[34]。IFN-γ 具有促炎作用, IFN-γ 的表达量下降有利于机体抵抗炎症^[35]。TGF-β 是炎症发展的关键介质, 介导炎症反应^[36]。UVB 辐射 HaCaT 细胞后, 细胞内 ROS 水平上升, 诱导细胞释放大量促炎因子, 增加真皮层 MMPs 的表达, 并持续激活 NF-κB 通路, 导致皮肤衰老^[37]。IL-1、IL-6、IL-22、IFN-γ 和 TGF-β 的表达量下降有利于机体抵抗因炎症诱导的皮肤衰老。如图 4A~4E 所示, 与空白组相比, 在经过 UVB 辐射后 HaCaT 细胞中 IFN-γ、IL-1、IL-6、IL-22 和 TGF-β 的水平都显著升高($P < 0.05$), 与 UVB 组相比, 牡丹籽乙醇提取物抑制了 UVB 处理的 HaCaT 细胞中的 IFN-γ、IL-1、IL-6、IL-22 和 TGF-β 的表达, 其中高浓度牡丹籽乙醇提取物处理后的 HaCaT 细胞的 IFN-γ、IL-1、IL-6 和 TGF-β 的水平都呈现极显著性降低($P < 0.01$), IL-22 水平呈现显著性降低($P < 0.05$), 而低浓度组 HaCaT 细胞中的 IL-1、IL-6 的水平呈现极显著性降低($P < 0.01$), IL-22、TGF-β 水平呈现显著性降低($P < 0.05$)。该结果证明了牡丹籽乙醇提取物能抑制 HaCaT 细胞中炎症因子的表

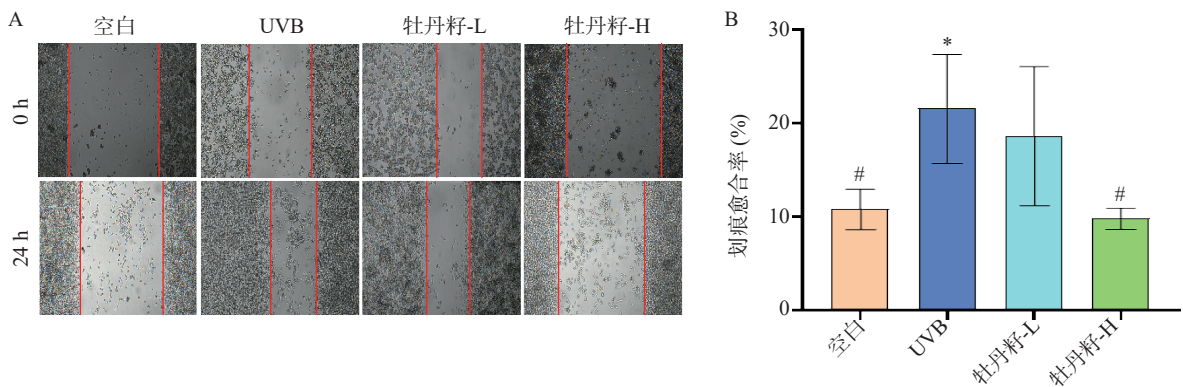


图 3 不同浓度牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞迁移能力的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract on the migration capacity of HaCaT cells

注: A. 迁移划痕试验图, B. 划痕试验愈合率; 与空白组相比, *代表差异显著($P < 0.05$), **代表差异极显著($P < 0.01$); 与 UVB 组相比, #代表差异显著($P < 0.05$), ##代表差异极显著($P < 0.01$); 图 4~图 6 同。

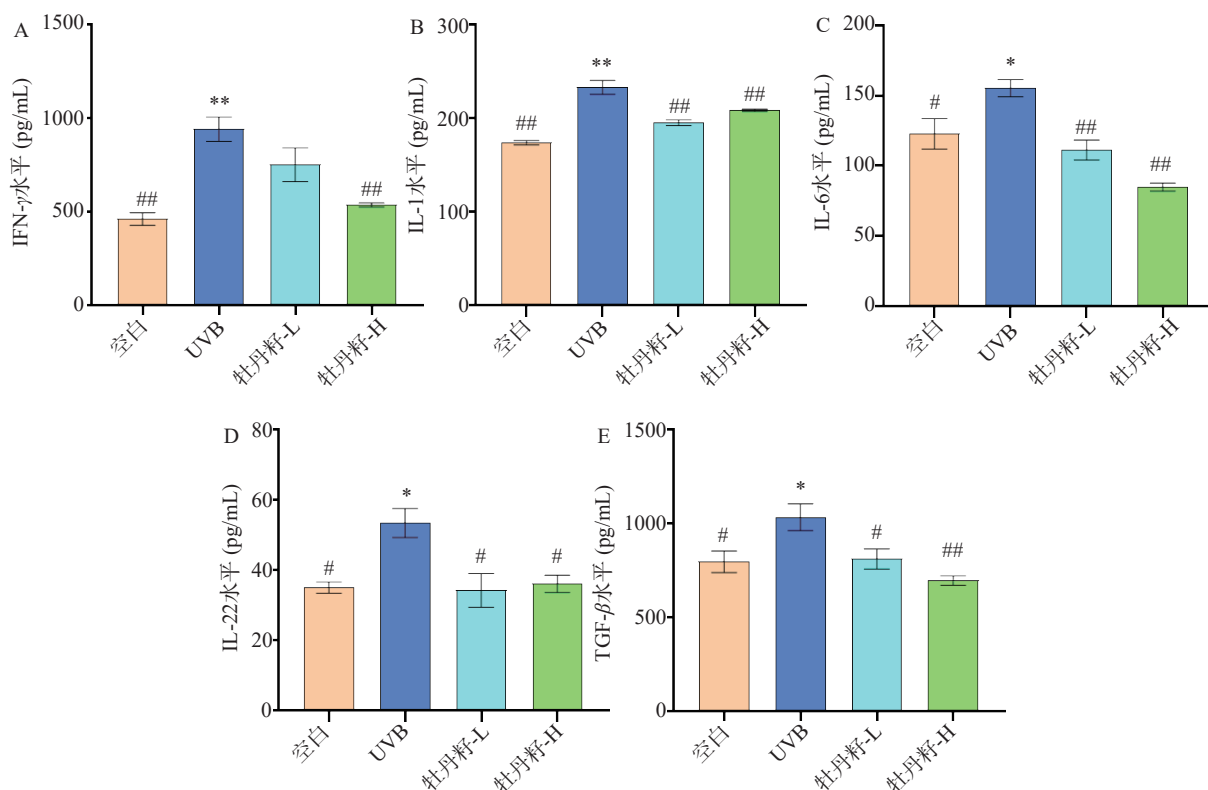


图4 不同浓度牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞因子释放量的影响

Fig.4 Effects of different concentrations of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract on the cytokine release of HaCaT cells

达,避免 NF-κB 通路的持续激活。这与叶希韵^[38]的研究一致,牡丹籽乙醇提取物可能通过调节 NF-κB 信号通路,抑制炎症因子如 IFN-γ、IL-1、IL-6、IL-22 和 TGF-β 的表达发挥其抗炎作用从而延缓皮肤衰老。

2.5 牡丹籽乙醇提取物对 UVB 诱导 HaCaT 细胞 ROS 水平的影响

氧的正常代谢的天然副产物是 ROS,其在细胞信号传导和体内平衡中发挥重要作用。研究发现在 UVB 的刺激下细胞内 ROS 水平显著提升,该现象会引起氧化应激造成细胞结构严重损害,诱发炎症反应,导致细胞老化和衰退从而诱发衰老^[39]。图 5A 中 UVB 照射后的 HaCaT 细胞的荧光强度有所提高,证明其 ROS 水平上升,并且给予不同浓度的牡丹籽乙醇提取物治疗后信号减弱,ROS 水平下降,并且如图 5B 所示,模型组的 HaCaT 细胞内,ROS 释放量与空白组相比呈现极显著提高($P<0.01$),在经过给予不同浓度的牡丹籽乙醇提取物共同培养细胞后,低浓度组和高浓度组的 HaCaT 细胞的 ROS 释放量与 UVB 组相比均下降。说明牡丹籽乙醇提取物能抑制 UVB 诱导的细胞氧化应激,降低细胞内 ROS 释放量,缓解 UVB 导致的细胞老化和衰退。这与 Kong 等^[40]的研究结果一致,含有芍药苷的牡丹籽乙醇提取物能够显著抑制 UVB 诱导的 HaCaT 细胞中 ROS 的产生。且 ROS 的降低可能是通过抑制 HaCaT 细胞中的 p38 和 p53 通路的激活,这是因为 ROS-p38-p53 通路参与紫外线诱导的皮肤细胞损伤

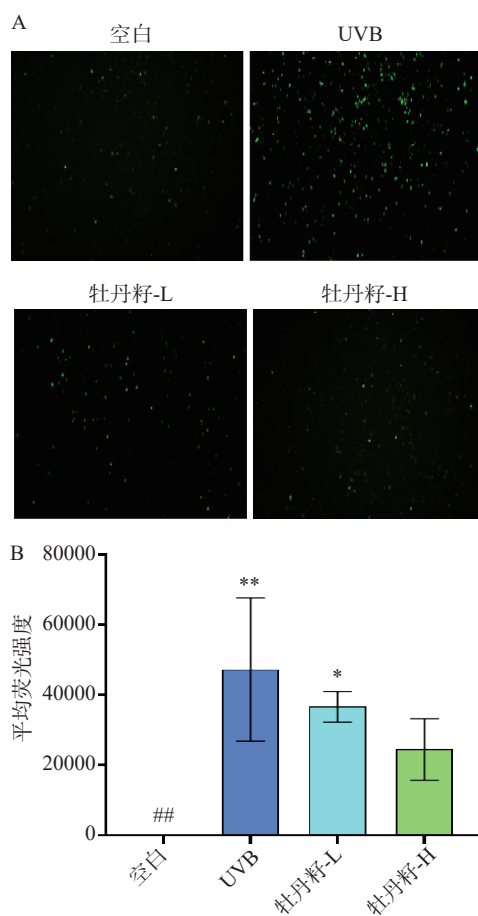


图5 不同浓度牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞内 ROS 表达的影响

Fig.5 Effects of different concentrations of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract on ROS levels in HaCaT cells

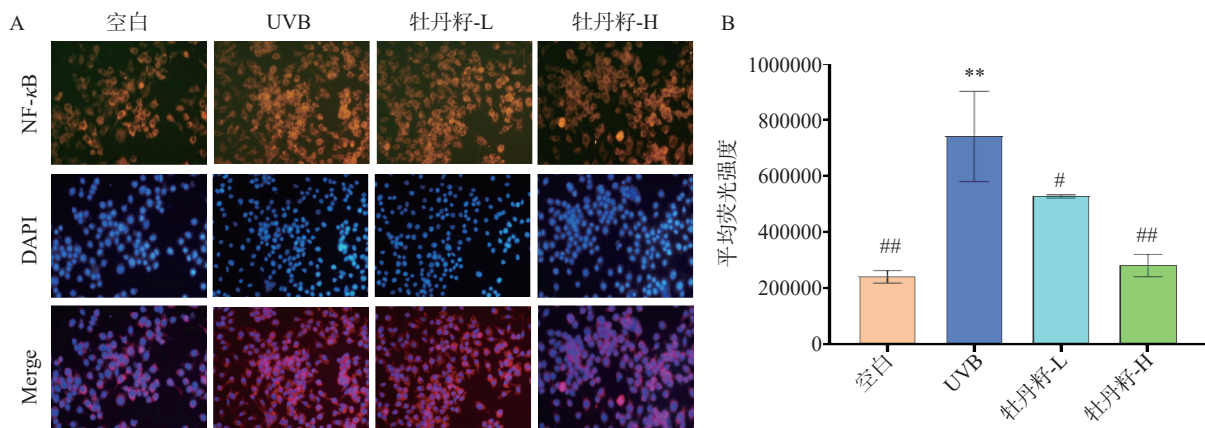


图 6 不同浓度牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞内 NF- κ B 表达的影响

Fig.6 Effects of different concentrations of *Paeonia suffruticosa* seed ethanol extract on NF- κ B expression in HaCaT cells

与凋亡^[41]。

2.6 牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞中 NF- κ B 蛋白因子的影响

NF- κ B 蛋白因子参与细胞各种免疫和炎症途径,以及细胞增殖、分化和凋亡等多种生物学过程, NF- κ B 信号通路能促进炎症因子 TNF- α 、IL-6 等的表达释放,因此抑制 NF- κ B 的表达能减少细胞内炎症反应^[42]。免疫荧光测定结果见图 6,如图 6A 所示,经过 UVB 辐射后的 HaCaT 细胞中 NF- κ B 蛋白因子较空白组相比,荧光强度有所提高,证明 UVB 诱导后的 HaCaT 细胞中的 NF- κ B 水平上升,在经过不同浓度的牡丹籽乙醇提取物治疗后,荧光强度降低,并且图 6B 中细胞在接受 UVB 刺激时,细胞内分泌的 NF- κ B 蛋白因子与空白组相比极显著增加 ($P < 0.01$),在经过不同浓度牡丹籽乙醇提取物培养后,不同浓度的牡丹籽乙醇提取物均能有效降低细胞 NF- κ B 蛋白因子的表达,其中效果极显著的是牡丹籽高浓度组 ($P < 0.01$),低浓度组与 UVB 模型组相比降低效果显著 ($P < 0.05$)。郭婷^[43]的研究也证实了牡丹籽油可能通过调控 MAPK 信号通路,抑制 NF- κ B 的活性,下调炎症因子的表达,发挥抗炎作用。

3 结论

本研究通过 UPLC-Q-TOF-MS 对牡丹籽进行化学成分分析,从牡丹籽乙醇提取物中分析得到主要成分为单硬脂酸甘油酯、芥酸酰胺等化合物。采用 MTT 实验评估牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞的增殖作用,结果表明,牡丹籽乙醇提取物对 HaCaT 细胞增殖的影响较小,无明显毒性。利用 UVB 照射 HaCaT 细胞模型,划痕试验证明了牡丹籽乙醇提取物能抑制 UVB 诱导的 HaCaT 细胞迁移。另外,通过 ELISA 试验证实了牡丹籽乙醇提取物可以抑制促进细胞衰老的 IL-1、IL-6、IL-22、IFN- γ 和 TGF- β 等细胞因子的分泌。对 UVB 照射后的 HaCaT 细胞中 ROS 的测定,证实了牡丹籽乙醇提取物能有效去除细胞中的 ROS,缓解 UVB 诱导的细胞受损,延缓细胞衰老。此外,免疫荧光实验也证明牡丹籽乙醇提

取物能抑制 NF- κ B 的活性,从而下调 TNF- α 、IL-6 等炎症因子的表达,发挥抗炎作用。综上所述,牡丹籽乙醇提取物具有抵御 UVB 刺激、保护皮肤的作用,本研究为牡丹籽在食品、化妆品领域中的应用提供了一定的理论基础,为后续研发提供了思路。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] 胡云飞. 基于药物分析组合技术研究凤丹药材的道地性[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2015. [HU Y F. Research on the authenticity of Fengdan medicinal materials based on drug analysis combination technology[D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2015.]
- [2] 田给林, 赵贵红. 牡丹鲜花在食品中的应用现状及展望[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(4): 4. [TIAN G L, ZHAO G H. Food of peony flowers's exploitation and development prospects[J]. Food Research and Development, 2010, 31(4): 4.]
- [3] 龙正莉, 杨立新, 杨蓉, 等. 牡丹组植物的药用民族植物学研究及考证[J]. 广西植物, 2021, 41(2): 10. [LONG Z L, YANG L X, YANG R, et al. Medicinal ethnobotany research on *Paeonia sect. Moutan* through textual evidence[J]. Guihaia, 2021, 41(2): 10.]
- [4] 王晓, 时新刚, 郑成超, 等. 牡丹花提取物清除活性氧及对·OH 引发的 DNA 损伤的保护作用[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(7): 55-58. [WANG X, SHI X G, ZHENG C C, et al. Effects of extract from peony flowers on removal of reactive oxygen species and preventing dna damage caused by hydroxyl radical[J]. Food & Fermentation Industries, 2004, 30(7): 55-58.]
- [5] 刘建华, 董福英. 牡丹花营养成分分析及其评价[J]. 山东科学, 1999, 12(4): 3. [LIU J H, DONG F Y. The analysis and appreciation for the nutritions of peony flower[J]. Shandong Science, 1999, 12(4): 3.]
- [6] 周畅. 牡丹籽油作为化妆品基础油的开发研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2015. [ZHOU C. Research on the development of peony seed oil as a base oil for cosmetics[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2015.]
- [7] 向芳, 张国豪. 皮肤衰老的研究进展[J]. 贵州医药, 2011, 35(12): 1138-1140. [XIANG F, ZHANG G H. Advances in the study of skin aging[J]. Guizhou Medical Journal, 2011, 35(12): 1138-1140.]

- [8] ZHANG X, WANG H, XU Y, et al. Advances on the anti-inflammatory activity of oleanolic acid and derivatives[J]. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2021, 21(15): 2020–2038.
- [9] 梁栋, 房盟盟, 马康, 等. ‘凤丹’牡丹籽油抗光老化功效[J]. *林业科技通讯*, 2023(2): 76–78. [LIANG D, FANG M M, MA K, et al. Anti photoaging effect of 'Fengdan' peony seed oil[J]. *Forest Science and Technology*, 2023(2): 76–78.]
- [10] 周源, 李文宇, 范润哥, 等. 光老化人角质形成细胞模型的构建[J]. *广西医科大学学报*, 2022, 39(2): 5. [ZHOU Y, LI W Y, FAN R G, et al. Construction of photoaging human keratinocyte model[J]. *Journal of Guangxi Medical University*, 2022, 39(2): 5.]
- [11] BENNETT M F, ROBINSON M K, BARON E D, et al. Skin Immune systems and inflammation: Protector of the skin or promoter of aging?[J]. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 2008, 13(1): 15–19.
- [12] XIAO Z, YANG S, CHEN J, et al. Trehalose against UVB-induced skin photoaging by suppressing MMP expression and enhancing procollagen I synthesis in HaCaT cells[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 74: 104198.
- [13] 王学红, 尹星星, 陆杰, 等. 树莓果油抑制 UVB 诱导 HaCaT 细胞光老化的作用研究[J]. *西南农业学报*, 2023, 36(2): 9. [WANG X H, YIN X X, LU J, et al. Inhibition effects of raspberry pulp oil on photoaging of HaCaT cells induced by UVB[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 36(2): 9.]
- [14] 张红玉, 王成章, 原姣姣, 等. 牡丹籽壳提取物及不同极性部位的抗氧化活性研究[J]. *中国油脂*, 2016, 41(7): 4. [ZHANG H Y, WANG C Z, YUAN J J, et al. Antioxidant activities of peony seed shell extract and different polarity fractions[J]. *China Oils and Fats*, 2016, 41(7): 4.]
- [15] 符史良, 陈洪, 谢建英, 等. 桐花树叶醇提物的气相色谱-质谱分析[J]. *湛江海洋大学学报*, 2006, 26(4): 2. [FU S L, CHEN H, XIE J Y, et al. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis of the alcoholic extracts of the leaves of Tongkat Ali[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2006, 26(4): 2.]
- [16] 苏华振, 魏明. 寻常型银屑病皮损中 Notch1 表达及对体外培养 HaCaT 细胞的影响[J]. *中国医药生物技术*, 2019, 14(5): 412–420. [SU H Z, WEI M. Expression of Notch1 in skin lesions of patients with psoriasis vulgaris and its effects on the growth of HaCaT cells *in vitro*[J]. *Chinese Medicinal Biotechnology*, 2019, 14(5): 412–420.]
- [17] ZHANG H, SHAN Y, WU Y, et al. Berberine suppresses LPS-induced inflammation through modulating Sirt1/NF- κ B signaling pathway in RAW264. 7 cells[J]. *International Immunopharmacology*, 2017, 52: 93–100.
- [18] 李敏, 丁毅, 郭琼, 等. Hsa-let-7b-5p 靶向 Δ Np63 抑制 HaCaT 细胞的增殖, 迁移和侵袭[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2020, 29(4): 6. [LI M, DING Y, GUO Q, et al. Hsa-let-7b-5p inhibits proliferation, migration and invasion of HaCaT cells by targeting Δ Np63[J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2020, 29(4): 6.]
- [19] 孙璇, 李萍, 孙静, 等. 槐提取物和维生素 C 组合物对紫外照射诱导的 HaCaT 细胞光损伤的保护作用[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(1): 303–309. [SUN X, LI P, SUN J, et al. Protective effect of *Sophora japonica* L. extract and vitamin C composition on photodamage of HaCaT cells induced by ultraviolet irradiation[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(1): 303–309.]
- [20] 曾颖, 付桂莉. 黄芩提取物抑制 IL-22 诱导的人角质形成细胞系 HaCaT 过度增殖[J]. *基础医学与临床*, 2023, 43(1): 123–129. [ZENG Y, FU G L. Scutellaria extract inhibits IL-22-induced hyperproliferation of human keratinocyte cell line HaCaT[J]. *Basic and Clinical Medicine*, 2023, 43(1): 123–129.]
- [21] 郑柳怡, 谢凯枫, 杨九妹, 等. 玉屏风颗粒对 HaCaT 特异性皮炎细胞模型的保护作用研究[J]. *广东药科大学学报*, 2021, 37(2): 66–71. [ZHENG L Y, XIE K F, YANG J M, et al. Protective effect of Yupingfeng granule on HaCaT cell model of atopic dermatitis[J]. *Journal of Guangdong Pharmaceutical*, 2021, 37(2): 66–71.]
- [22] 张俊焱. 藏药翁布化合物及精油对紫外线 UVB 所致 HaCaT 细胞损伤的保护作用研究[D]. 西宁: 青海师范大学, 2022. [ZHANG J Y. Study on the protective effect of Tibetan medicine Wengbu compounds and essential oils on UVB-induced HaCaT cell damage[D]. Xining: Qinghai Normal University, 2022.]
- [23] LI M, DONG L, DU H, et al. Potential mechanisms underlying the protective effects of *Tricholoma matsutake* Singer peptides against LPS-induced inflammation in RAW264.7 macrophages[J]. *Food Chemistry*, 2021, 353: 129452.
- [24] 苗森, 刘佳, 谈静, 等. 芍药苷抑制 NF- κ B 通路减少银屑病 HaCaT 细胞炎症的作用研究[J]. *中医药信息*, 2023, 40(3): 47–51. [MIAO N, LIU J, TAN J, et al. Paeoniflorin Inhibiting NF- κ B pathway and reducing Inflammation of HaCaT cells in treatment of psoriasis[J]. *Information on Traditional Chinese Medicine*, 2023, 40(3): 47–51.]
- [25] 张彤. 九种野生牡丹种子和籽油化学成分及其生物活性研究[D]. 洛阳: 河南科技大学 2022. [ZHANG T. Study on the chemical composition and biological activity of seeds and seed oil of nine wild peony species[D]. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2022.]
- [26] JATTUJAN P, SRISIRIRUNG S, WATCHARAPORN W, et al. 2-Butoxytetrahydrofuran and palmitic acid from *Holothuria scabra* enhance *C. elegans* lifespan and healthspan via DAF-16/FOXO and SKN-1/NRF2 signaling pathways[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(11): 1374.
- [27] APAZA TICONA L, PEÑA-ROJAS G, ANDÍA-AYME V, et al. Anti-glycative and anti-inflammatory effects of macamides isolated from *Tropaeolum tuberosum* in skin cells[J]. *Natural Product Research*, 2022, 36(22): 5803–5807.
- [28] LIU W, YIN D X, ZHANG T, et al. Major fatty acid compositions and antioxidant activity of cultivated *Paeonia ostii* under different nitrogen fertilizer application[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2020, 17(12): e2000617.
- [29] 周景瑞, 王洪琳, 张琴, 等. 贵州地区牡丹籽油脂肪酸组成分析[J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(19): 177–179. [ZHOU J R, WANG H L, ZHANG Q, et al. Analysis of fatty acid composition of peony seed oil in Guizhou regions[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49(19): 177–179.]
- [30] 侯天兰, 王顺利, 米生权, 等. 牡丹籽油营养成分和功能作用研究进展[J]. *中国油脂*, 2021, 46(8): 51–55, 71. [HOU T L, WANG S L, MI S Q, et al. Progress on nutritional components and functional activities of peony seed oil[J]. *China Oils and Fats*, 2021, 46(8): 51–55, 71.]
- [31] GURTNER G C, WERNER S, BARRANDON Y, et al. Wound repair and regeneration[J]. *Nature*, 2008, 453(7193): 314–321.
- [32] ZHANG J, DOU W, ZHANG E, et al. Paeoniflorin abrogates DSS-induced colitis via a TLR4-dependent pathway[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2014, 306(1): G27–G36.
- [33] HIRANO T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and can-

- cer[J]. *International Immunology*, 2021, 33(3): 127-148.
- [34] 孙奇. IL-22—炎症性疾病关键因子[J]. *免疫学杂志*, 2011, 27(9): 821-825. [SUN Q. IL-22: The key cytokine in inflammatory diseases[J]. *Immunological Journal*, 2011, 27(9): 821-825.]
- [35] 章昊旻, 王子, 郭元睿, 等. 清疣饮调控 S1P/S1PR5 信号通路对 HaCaT 炎症模型的影响[J]. *环球中医药*, 2023, 16(12): 2434-2443. [ZHANG H M, WANG Z, GUO Y R, et al. Qingbi decoction regulate and control the S1P/S1PR5 signaling pathway to influence HaCaT inflammation model[J]. *Global Traditional Chinese Medicine*, 2023, 16(12): 2434-2443.]
- [36] STEWART A G, THOMAS B, KOFF J. TGF- β : Master regulator of inflammation and fibrosis[J]. *Respirology*, 2018, 23(12): 1096-1097.
- [37] 甘嘉荷, 廖勇. 皮肤炎症性衰老与治疗策略[J]. *实用皮肤病学杂志*, 2022, 15(1): 35-40. [GAN J H, LIAO Y. Skin inflammation and treatment strategies[J]. *Journal of Practical Dermatology*, 2022, 15(1): 35-40.]
- [38] 叶希韵. 紫外线致皮肤光老化研究进展[J]. *生物学教学*, 2015, 40(11): 2-5. [YE X Y. Research progress of skin photoaging caused by ultraviolet rays[J]. *Biology Teaching*, 2015, 40(11): 2-5.]
- [39] 刘少英, 孟祥瑞, 张祥奎, 等. 皮肤光老化机制及抗光老化药物[J]. *生理科学进展*, 2018, 49(4): 265-269. [LIU S Y, MENG X J, ZHANG X K, et al. The mechanism of skin photoaging and anti photoaging drugs[J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2018, 49(4): 265-269.]
- [40] KONG L, WANG S, WU X, et al. Paeoniflorin attenuates ultraviolet B-induced apoptosis in human keratinocytes by inhibiting the ROS-p38-p53 pathway[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 13(4): 3553-3558.
- [41] 刘爱华. p53 和 p38 对 UV 诱导的细胞凋亡的抑制效应及其机制研究[D]. 广州: 第一军医大学, 2008. [LIU A H. Study on the inhibitory effects and mechanisms of p53 and p38 on UV-induced cell apoptosis[D]. Guangzhou: First Military Medical University, 2008.]
- [42] 杨玲, 胡中华. 中波紫外线对 HaCaT 细胞 NF- κ B 及 miRNA 表达的影响及调控机制研究[J]. *皮肤病与性病*, 2023, 45(1): 1-6. [YANG L, HU Z H. Expression levels of NF- κ B and microRNA and involved mechanisms in HaCaT cells induced by ultraviolet B[J]. *Dermatology and Venereology*, 2023, 45(1): 1-6.]
- [43] 郭婷. 牡丹籽油抗炎作用的分子机理研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2020. [GUO T. Study on the molecular mechanism of anti-inflammatory effect of peony seed oil[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2020.]