

# 表面活性剂组合温和性的体外和在体研究

常晓维, 方圆圆, 王雨冰, 夏丹丹, 吴瑶瑶, 王奕涵, 陈梅  
(珀莱雅化妆品股份有限公司上海研发中心, 上海, 201101)

**摘 要:** 本研究通过建立体外角质细胞模型, 对6个单一表面活性剂的细胞活力影响进行评估。之后将两性/非离子表活和甲基椰油酰基牛磺酸钠-SMCT进行二元、三元复配并检测体外IC<sub>50</sub>值和炎症因子IL-1 $\alpha$ 水平。结果表明, 在单一表活中, 非离子表活尤其是海藻糖酯THL的IC<sub>50</sub>值最高、细胞毒性最低。在表活复配体系中, 基于阴离子/两性/非离子表活复配的三元体系产生的IL-1 $\alpha$ 水平低于阴离子/两性表活复配的二元体系, 且THL显示出比烷基糖苷APG在降低炎症因子方面更好的效果。最后, 我们通过单次封闭式斑贴实验对复配体系进行了经皮水分散失率的测试, 以及红斑反应评价。并综合分析了复配体系对皮肤脂质屏障的影响和引起的细胞炎症反应, 多个因素作用下最终导致皮肤产生红斑等不良反应。

**关键词:** 表面活性剂; 温和低刺激; 细胞毒性; 炎症因子; 皮肤反应

**作者简介:** 常晓维, 博士, 珀莱雅化妆品股份有限公司上海分公司研发总监, 长期从事化妆品发用产品的基础研究、功效评价和产品开发相关工作。E-mail:changxiaowei@proya.com。



表面活性剂(以下简称表活)是一类具有特定结构和性质的化合物, 它们能够在液体表面或界面上定向排列, 从而显著降低表面张力或界面张力。阴离子型表活具有良好的去污和乳化能力, 非离子型表活则具有优异的稳定性和兼容性, 而两性离子型表活则结合了阴离子和阳离子型的特点, 可以提高泡沫质量和清洗后的肤感。因此, 在个人护理品的应用中, 常常将不同类型的表活进行组合以取得最佳的清洁发泡效果和洗感。而由于近年来敏感肌(包括敏感头皮)人群呈现了逐年递增的趋势, 如何选择和搭配不同类型的表活, 开发出清洁力和温和性兼具的个人洗护配方成为新的研究热点<sup>[1]</sup>。比如硫酸盐类阴离子表活较易引起皮肤瘙痒等反应<sup>[2]</sup>, 而使用更温和的例如氨基酸类表活, 可以降低配方对皮肤或头皮的刺激性, 避免引发炎症问题等<sup>[2]</sup>。非离子表活(包括近些年兴起的生物表活<sup>[3-5]</sup>)普遍较为温和, 且和两性、阴离子表活兼容性好, 常用于敏感肌和儿童清洁配方开发中。

表活诱发皮肤刺激的机理包括: 1. 破坏皮肤屏障: 表活能改变脂质成分和脂质排列<sup>[6-8]</sup>, 导致构成皮肤屏障砖墙结构的脂质成分溶解。2. 破坏活细胞的细胞膜: 一旦皮肤屏障遭到破坏, 表活就很容易通过角质层渗入表皮深层, 破坏角质形成细胞的膜结构, 加速刺激物进入细胞<sup>[9]</sup>。3. 促进胞内IL-1 $\alpha$ 、IL-8、TNF- $\alpha$ 等炎症因子的分泌。以上这些均会导致不同程度的皮肤炎症<sup>[10, 11]</sup>。

本研究采用人永生角质细胞为模型, 对单一表活对活细胞的影响进行评估, 然后对表活进行复配(模拟清洁基础配方), 评价复配体系对细胞活性的影响和炎症因子IL-1 $\alpha$ 水平。最后通过单次封闭式斑贴实验评估复配体系对实际皮肤生理参数的影响以及红斑反应, 并展开体外和在体实

验结果的综合分析讨论, 解释了表活体系造成皮肤刺激性的不同原因, 为温和清洁产品的开发应用提供了思路。

## 1. 实验部分

### 1.1 主要试剂与仪器

月桂醇聚醚硫酸酯钠-SLES(RSAW ESB70/ZA),  $\omega$ =70%, 湖南丽臣奥威实业有限公司; 椰油酰基丙基甜菜碱-CAPB(TC-CAB 35TF),  $\omega$ =35%, 清远天赐高新材料有限公司; 甲基椰油酰基牛磺酸钠-SMCT(LUXURIACT PLUS),  $\omega$ =28%, 英诺斯派化工(北京)有限公司; 癸基葡糖苷-APG(Plantacare®2000 UP),  $\omega$ =55%, 巴斯夫(中国)有限公司; 海藻糖酯-THL(Eversoft THL-50),  $\omega$ =40%, 南京华狮新材料有限公司; 月桂基羟基磺基甜菜碱-LLS(AMPHITOL 20HD),  $\omega$ =30%, 花王(上海)化工有限公司; DMEM培养基、胎牛血清(FBS)、青霉素-链霉素(PS), 美国Thermo Fisher公司; CCK8试剂盒, 日本同仁化学Dojindo; 人IL-1 $\alpha$  Elisa试剂盒, R&D Systems; HaCaT人永生角质细胞, 中国科学院细胞库; 柠檬酸, 中粮生化能源(榆树)有限公司。电子天平, 赛多利斯; pH计, 梅特勒; Tecan Infinite 200 PRO多功能酶标仪, 瑞士Tecan集团; 12mm斑试器, Hilltop; 经皮水分流失测量仪, Delfin; 分光测色计CM-26d, KONICA MINOLTA。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 HaCaT角质细胞培养

将冻存的HaCaT细胞复苏后, 用含10%胎牛血清、 $1 \times 10^5$  U/L青霉素、100 mg/L链霉素的DMEM高糖培养基, 于37 $^{\circ}$ C, 5%二氧化碳的细胞培养箱中培养。当细胞

贴壁生长, 汇合度超过90%时, 用含0.25% EDTA的胰蛋白酶进行消化传代, 取对数生长期细胞用于实验。

### 1.2.2 CCK-8 法检测细胞活力

将 HaCaT 细胞以每孔  $5 \times 10^4$  个接种于 96 孔板中, 培养过夜后分组处理, 设置 3 个复孔, 没有细胞的孔作为空白对照。处理对应时间后加入 CCK8 溶液,  $37^\circ\text{C}$  孵育 1h 后使用多功能酶标仪检测 450nm 的吸光度。

### 1.2.3 酶联免疫吸附试验 (ELISA)

用不同浓度的表活或复配体系样品处理 HaCaT 细胞, 使其暴露于刺激源 24 小时后, 回收细胞上清液并离心, 用于测定细胞外 IL-1 $\alpha$  炎症因子的释放。具体按照试剂盒生产商的说明书进行。

### 1.2.4 单次封闭斑贴实验

受试对象纳入标准: ① 18-60 岁, 男女不限, 身体健康; ② 测试部位无影响测试的瘢痕、伤口、瑕疵等; ③ 测试部位近期 (一个月内) 未参加其他项目测试; 排除标准: ① 怀孕或哺乳期妇女; ② 有皮炎、湿疹等慢性炎症性皮肤病; ③ 体质高度敏感者等。

测试方法: 取一定量的复配体系样品稀释至 2% (w/w) 水溶液置于斑试器, 贴于受试者大臂内侧标记区域 24h 后揭掉, 清水冲洗测试部位后暴露于恒温恒湿条件 (温度  $21^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , 湿度  $50\% \pm 10\%$ ) 下平衡 30min, 分别于 1h、24h 和 48h 测试 TEWL, 红度  $a^*$  值。

### 1.2.5 数据分析

体外细胞实验结果运用 GraphPad Prism 6 统计软件的 t 检验分析进行显著性检验,  $P < 0.05$  表示存在显著性差异。

\*代表  $P < 0.05$ , \*\*代表  $P < 0.01$ , \*\*\*代表  $P < 0.001$ , \*\*\*\*代表  $P < 0.0001$ 。

人体斑贴实验的生理数据用 SPSS Statistics 26 进行分析。首先使用夏皮罗-威尔克检验法 (Shapiro-Wilk) 对数据进行正态分布检验; 如数据呈现正态分布, 则采用 T 检验; 如数据呈现非正态分布, 则采用非参数检验 (Wilcoxon 符号秩检验) 方法。  $p < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2. 结果与讨论

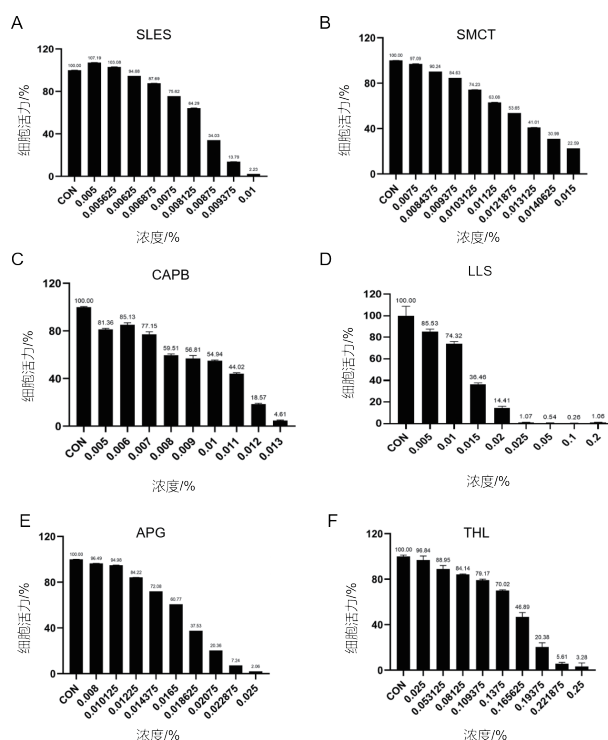
### 2.1 单一表活对角质细胞活力的影响

本研究中首先评价了单一表活对角质细胞的细胞毒性。选取了 6 种常用的表面活性剂, 包括 2 种阴离子、2 种两性离子和 2 种非离子表活。如图 1A、1B 所示, 与经典

的阴离子表活 SLES 相比, SMCT 在浓度 0.0075% 下对角质细胞存活率的影响较小 (97%)。且 SMCT 的 IC50 值 (0.01235%) 明显高于 SLES (0.00831%, 表 1)。而 SLES 在低浓度 (0.005%、0.005625%) 时细胞活力有所提升 ( $P > 0.05$ ), 这可能是由于在低浓度情况下, SLES 增加了细胞膜的通透性, 促进了培养基中大量营养物质进入细胞膜内, 从而使角质细胞增殖能力略微提升。

两性表活 CAPB 和 LLS 刺激下的角质细胞存活率分别为 54% 和 74% (浓度 0.01%), 且两者的 IC50 值都高于 SLES (图 1C 1D, 表 1)。CAPB 已被广泛应用于洗发水配方开发中, LLS 作为另一种具有甜菜碱极性基团的两性表活, 具有耐油清洗性佳、泡沫丰富绵密的特点, 因此也作为本文的主要研究对象。

烷基糖苷作为一款非离子表活, 具有良好的温和性、脱脂力和高性价比。生物技术合成 (或生物基来源) 的非离子表活, 也在近些年备受关注。生物基来源的表活中糖脂在化妆品中逐渐得到应用 [12-14]。我们选择了新兴的糖脂表活——海藻糖脂 THL 进行了研究 [15,16]。非离子表活 APG 和 THL 的 IC50 值均高于阴离子表活和两性表活 (0.01697% 和 0.1539%, 表 1)。此外, THL 对细胞活力的影响甚至低于 APG, 其可能是一种能够提升配方整体温和性的新型非离子表活。



A) SLES; B) SMCT; C) CAPB; D) LLS; E) APG; F) THL.

图 1 单一表活在不同浓度下对角质细胞的细胞活力影响:

表1 单一表活的 IC50 值

| 表面活性剂  | SLES    | SMCT    | CAPB     | LLS     | APG     | THL    |
|--------|---------|---------|----------|---------|---------|--------|
| IC50/% | 0.00831 | 0.01235 | 0.009174 | 0.01282 | 0.01697 | 0.1539 |

2.2 表活复配组合的体外刺激性评价

由于阴离子表活 SMCT 泡沫丰富，具有良好的耐油、耐硬水性能，能给皮肤及毛发带来一定的滋润感，已成为当今洗发水中替代硫酸盐表活的首选，因此在后续实验中使用 SMCT 作为主要阴离子表活进行复配。

基于 SMCT 和 2 种两性/非离子表活复配了 6 种不同的表活体系（等比例复配且总浓度相同），来研究复配物的体外刺激性。如图 2 和表 2 所示，SMCT+CAPB 和 SMCT+LLS 复配组合，IC50 值高于任何单一表活，说明阴离子/两性表活复配可以降低细胞刺激性。

对阴离子/两性/非离子表活组成的三元复配体系进行研究发现，在 SMCT+CAPB 体系中，APG 或 THL 的加入，使得 IC50 值进一步升高(图 3A、3B 和表 2)。并且 SMCT/CAPB/THL 复配体系 IC50 值 (0.01746%) 高于 SMCT/CAPB/APG 体系 (0.01436%)。在 SMCT/LLS 组合中加入 APG 或 THL 时，也可以提升 IC50 值（图 3C、3D）。说明通过复配两性、非离子表活与 SMCT 能够明显提升细胞活力。

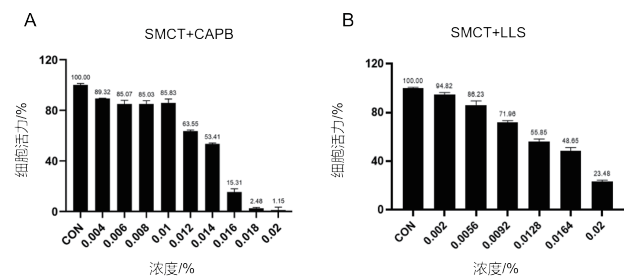


图2 二元复配表活组合对角质细胞的细胞毒性

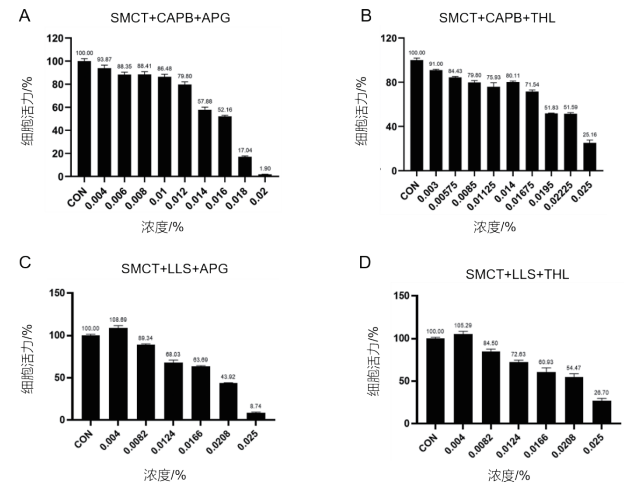


图3 三元复配表活对角质细胞的细胞毒性

表2 复配表活的 IC50 值

| 非离子表活     | /       | APG     | THL     |
|-----------|---------|---------|---------|
| SMCT+CAPB | 0.01323 | 0.01436 | 0.01746 |
| SMCT+LLS  | 0.01403 | 0.01751 | 0.01936 |

曾有报导，刺激人源角质细胞系释放白细胞介素-1 $\alpha$ （IL-1 $\alpha$ ）比细胞毒性更能反映体内红斑评分<sup>[17]</sup>；用表活干预刺激三维 EpiDerm™ 模型系统，释放的炎症细胞因子 IL-1 $\alpha$  则与人体临床结果（以 TEWL 为终点评估的皮肤屏障功能变化）之间存在良好的相关性<sup>[18]</sup>。因此对这几个复配体系也进行了炎症因子 IL-1 $\alpha$  的检测（浓度为 0.01% 时，图 4 和表 3）。SMCT+CAPB 表活组合中，不管是复配加入 APG 还是 THL，均极为显著的降低了 IL-1 $\alpha$  水平（ $P<0.0001$ ），并且复配 THL 后的炎症因子 IL-1 $\alpha$  水平比复配 APG 的体系更低（ $P<0.001$ ）。

SMCT+LLS 虽然和 SMCT+CAPB 复配体系的 IC50 值差别不大，但是它刺激角质细胞释放 IL-1 $\alpha$  (11.74 pg/mL) 水平却大幅度低于后者 (35.38 pg/mL)。加入 THL 后，炎症因子 IL-1 $\alpha$  进一步降低（ $P<0.01$ ），加入 APG 时则略有升高（11.77 pg/mL,  $P>0.05$ ），和 SMCT+LLS 二元体系无显差。综合 IC50 和炎症因子 IL-1 $\alpha$  结果，可以推测，基于 SMCT+LLS 的 3 个体系的细胞刺激性弱于 SMCT+CAPB 的 3 个体系。三元复配体系对细胞刺激水平又进一步低于对应的二元复配体系。

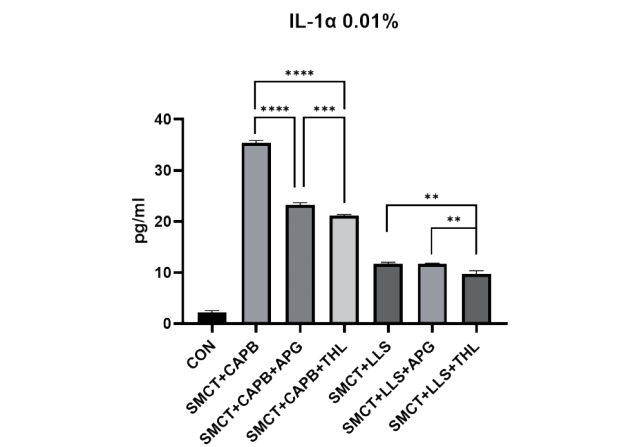


图4 不同表活组合刺激下角质细胞释放的 IL-1 $\alpha$ （测试浓度 0.01%）

表3 复配表活刺激角质细胞释放的 IL-1 $\alpha$ （测试浓度 0.01%）

| 非离子表活     | /     | APG   | THL   |
|-----------|-------|-------|-------|
| SMCT+CAPB | 35.38 | 23.30 | 21.18 |
| SMCT+LLS  | 11.74 | 11.77 | 9.71  |

2.3 表活复配体系的人体封闭式斑贴实验

之后针对 6 个表活复配体系（总表活浓度 = 18%）对

19位受试者进行了24h单次封闭式人体斑贴实验，并在斑贴器移除后1h、24h、48h进行了TEWL（经皮水分散失率）、红度a\*值测试。

TEWL值的测定结果显示（表4，图5），所有复配体系对皮肤屏障的影响都介于阳性对照0.5% SLS溶液和阴性对照清水之间，但复配样品的TEWL变化率随时间变化趋势不同，除SMCT+CAPB+APG体系显示为随时间变化TEWL上升的趋势外，其他体系均表现为下降或基本维持不变，说明斑贴器移除后角质层屏障在逐渐修复。在6组复配体系中，SMCT+CAPB+APG在1h和48h后的TEWL变化率最低，且呈现出和个别复配体系（如SMCT+CAPB）的显著性差异。SMCT+CAPB+THL组其次，在48h后的TEWL变化率回落到较低水平，并和SMCT+LLS+THL出现显著性差异。综合来看，基于SMCT+LLS的3组复配体系相对呈现较高的TEWL变化率，这可能和其较强的脂质洗脱能力有关，但需要进一步的探究。

表4 人体斑贴实验各时间点的 TEWL 值与基础值的差值

| 样品             | TEWL 均值 (g/h·m <sup>2</sup> ) |                    |                     | SEM (标准误差) |      |      |
|----------------|-------------------------------|--------------------|---------------------|------------|------|------|
|                | 1h                            | 24h                | 48h                 | 1h         | 24h  | 48h  |
| SMCT/CAPB      | 2.59 <sup>#^</sup>            | 2.52 <sup>#^</sup> | 2.65 <sup>#^</sup>  | 0.47       | 0.56 | 0.54 |
| SMCT/CAPB/APG  | 1.46 <sup>#^&amp;*</sup>      | 1.71 <sup>#^</sup> | 1.90 <sup>#^</sup>  | 0.44       | 0.36 | 0.46 |
| SMCT/CAPB/THL  | 2.53 <sup>#^</sup>            | 2.58 <sup>#^</sup> | 1.87 <sup>#**</sup> | 0.61       | 0.83 | 0.48 |
| SMCT/LLS       | 2.94 <sup>#^</sup>            | 2.72 <sup>#^</sup> | 2.37 <sup>#^</sup>  | 0.69       | 0.60 | 0.45 |
| SMCT/LLS/APG   | 2.82 <sup>#^</sup>            | 2.48 <sup>#^</sup> | 2.33 <sup>#^</sup>  | 0.84       | 0.73 | 0.70 |
| SMCT/LLS/THL   | 2.92 <sup>#^</sup>            | 2.81 <sup>#^</sup> | 2.79 <sup>#^</sup>  | 0.52       | 0.62 | 0.56 |
| 0.5%SLS (阳性对照) | 4.58 <sup>*</sup>             | 5.86 <sup>*</sup>  | 5.67 <sup>*</sup>   | 0.75       | 0.92 | 0.94 |
| 蒸馏水 (阴性对照)     | 1.30 <sup>#^</sup>            | 0.00 <sup>#^</sup> | 0.38 <sup>#^</sup>  | 0.39       | 0.22 | 0.48 |

注：\*表示与蒸馏水（阴性对照）比较有统计学差异，#表示与0.5% SLS（阳性对照）比较有统计学差异，^表示与SMCT/CAPB/APG比较有统计学差异，&表示与SMCT/LLS比较有统计学差异；\*表示与SMCT/LLS/THL比较有统计学差异，显著性水平为P<0.05。

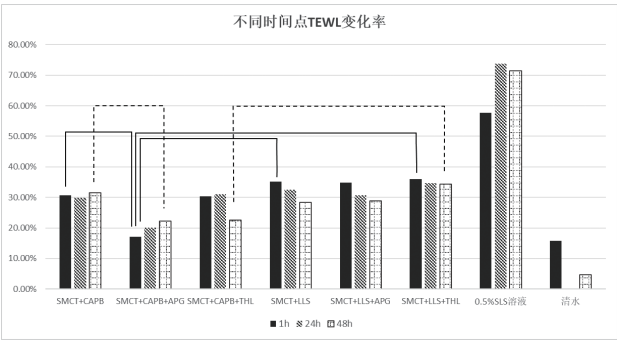


图5 人体斑贴实验 TEWL 变化率随时间的变化  
(实线—表示1h时存在显著性差异的样品，虚线---表示48h时存在显著性差异的样品)

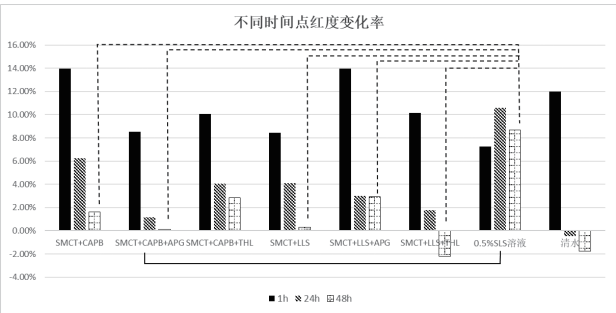
表面活性剂对皮肤产生的刺激以红斑、鳞屑以及瘙

痒、刺痛等形式显示，我们采用仪器测试实验区域的红度a\*值对皮肤红斑程度进行了客观评价（表5）。如图6所示，1h后各个样品包括清水都有明显的红度升高，而24h、48h后都有下降（除阳性对照0.5% SLS外），因此在这两个时间点的红斑反应更能体现样品的刺激性。24h后样品间及其和清水的红斑反应无显著性差别，仅样品SMCT+CAPB+APG和阳性对照间有显著性差异，而48h后各样品间及其和清水的红斑反应无显著性差别，但各样品和阳性对照都存在显差，说明6个样品的红斑反应都远好于0.5% SLS溶液。

表5 人体斑贴实验各时间点的 a\* 值与基础值差值

| 样品            | a* 值均值            |                    |                    | SEM (标准误) |      |      |
|---------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------|------|------|
|               | 1h                | 24h                | 48h                | 1h        | 24h  | 48h  |
| SMCT/CAPB     | 1.05              | 0.47               | 0.12 <sup>#</sup>  | 0.34      | 0.25 | 0.25 |
| SMCT/CAPB/APG | 0.65              | 0.09 <sup>#</sup>  | 0.01 <sup>#</sup>  | 0.30      | 0.25 | 0.27 |
| SMCT/CAPB/THL | 0.77              | 0.31               | 0.22               | 0.25      | 0.27 | 0.31 |
| SMCT/LLS      | 0.63              | 0.31               | 0.02 <sup>#</sup>  | 0.33      | 0.29 | 0.21 |
| SMCT/LLS/APG  | 1.06 <sup>#</sup> | 0.23               | 0.22 <sup>#</sup>  | 0.38      | 0.27 | 0.29 |
| SMCT/LLS/THL  | 0.80              | 0.14               | -0.17 <sup>#</sup> | 0.40      | 0.36 | 0.32 |
| 0.5%SLS       | 0.56              | 0.81 <sup>*</sup>  | 0.66 <sup>*</sup>  | 0.29      | 0.23 | 0.21 |
| 蒸馏水           | 0.89              | -0.03 <sup>#</sup> | -0.13 <sup>#</sup> | 0.33      | 0.19 | 0.22 |

注：\*表示与蒸馏水（阴性对照）比较有统计学差异，#表示与0.5% SLS（阳性对照）比较有统计学差异，显著性水平为P<0.05。



(实线—表示24h时存在显著性差异的样品，虚线---表示48h时存在显著性差异的样品)

图6 人体斑贴实验红度变化率随时间的变化

虽然红斑反应各样品间不存在显差，但在24h、48h后具有一定的区分度，而且各样品TEWL变化率在这两个时间点也存在一定的差异，结合体外细胞测试的炎症因子水平，我们将6个样品的不同方法评估结果以排序形式汇总于表6中。通过对比体外实验和人体实验的TEWL变化率排序可以发现，SMCT+CAPB+APG的体外刺激性较强，但对角质层屏障的影响却最小，实际红斑反应较低。SMCT+LLS+THL的体外刺激性最弱，但对角质屏障破坏较强，但最终的红斑评估结果仍是最



好的。而样品 SMCT+CAPB+APG 的体外刺激性虽然较强，但其对角质屏障影响最小，因而红斑反应也很小。整体来看，SMCT+LLS 的三个复配体系对屏障的影响大于 SMCT+CAPB 复配体系，因此在实际人体红斑反应上体现为表活复配体系对屏障损伤和对活细胞刺激性的综合影响。整合细胞及人体实验 TEWL 变化率后的综合排序，和人体红斑的结果较为符合，SMCT+CAPB 的刺激性最强，SMCT+CAPB+APG 和 SMCT+LLS+THL 分别因较小的屏障破坏度和细胞温和性实际产生的皮肤红斑也较小。

表6 复配表活的体外细胞和人体斑贴刺激性排序

| 复配表活          | 细胞 IL-1 $\alpha$ | TEWL 变化率 | 红斑变化率 | 细胞+TEWL 综合排序* |
|---------------|------------------|----------|-------|---------------|
| SMCT+CAPB     | 1                | 4        | 1     | 2.5           |
| SMCT+CAPB+APG | 2                | 6        | 5     | 4             |
| SMCT+CAPB+THL | 3                | 5        | 2     | 4             |
| SMCT+LLS      | 4                | 2        | 3     | 3             |
| SMCT+LLS+APG  | 4                | 2        | 3     | 3             |
| SMCT+LLS+THL  | 6                | 1        | 6     | 3.5           |

\*细胞+TEWL 综合排序为细胞 IL-1 $\alpha$  和 TEWL 变化率的排序平均值

3. 结论

我们通过建立体外人角质细胞模型对6个不同性质的单一表活、基于 SMCT 和其他两性/非离子表活的复配体系进行细胞活力和 IC50 值的评估，以及炎症因子 IL-1 $\alpha$  的测定。单一表活对细胞活力的影响，按照 IC50 值刺激性由小到大排序为：THL<APG < LLS < SMCT < CAPB<SLES，非离子表活刺激性最低而阴离子表活最强。而通过对复配体系的体外刺激性测定发现，IC50 值的差异不明显，但 SMCT+LLS 复配的三个体系整体上刺激细胞产生 IL-1 $\alpha$  水平低于 SMCT+CAPB 体系，且非离子表活的加入可以降低阴离子+两性表活复配二元体系的 IL-1 $\alpha$  水平。

在封闭式斑贴实验中对 TEWL 和红斑反应随时间变化情况都进行了测定，皮肤红斑作为表活体系刺激性的典型人体反应，未能有效的在6个复配体系中得到区分。但通过对体外细胞炎症因子水平、TEWL、红度  $a^*$  值变化率进行综合分析，可以发现红斑反应可能为结合了屏障损伤（TEWL 相关）和活细胞刺激后的最终效果。也就是说，表面活性剂（体系）对皮肤的刺激性，是由对皮肤屏障的破坏进而造成单体对表皮层的渗透，之后进入细胞后引起一系列炎症反应所导致的。然而本研究中仍存在难以解释

的情况，如 SMCT+CAPB+THL 三元体系对细胞的刺激性中等、对屏障损伤很小，但红斑反应较强，这可能和人体斑贴（相对于细胞实验）高浓度情况下的表活胶束行为及表活-皮肤相互作用有关，还需在以后的研究中进一步探索。

参考文献

[1] D' souza p, Rathi S K. Shampoo and conditioners: what a dermatologist should know? [J]. Indian journal of dermatology, 2015, 60(3): 248–54.

[2] 王云, 刘武良, 刘培等, 洗发水导致头疼的原因分析及对策 [J], 广东微量元素科学, 2013, 20, 67–70.

[3] Mueller J J, Wenk H H. Biosurfactants–Nature's Solution for Today's Cleaning Challenges [J]. Chimia, 2021, 75(9): 752–756.

[4] Karnwal A, Shrivastava S, Al-tawaha A R M S, et al. Microbial biosurfactant as an alternate to chemical surfactants for application in cosmetics industries in personal and skin care products: a critical review [J]. BioMed Research International, 2023, 2023(1): 2375223.

[5] Adu S A, Naughton P J, Marchant R, et al. Microbial biosurfactants in cosmetic and personal skincare pharmaceutical formulations [J]. Pharmaceutics, 2020, 12(11): 1099.

[6] Froebe C, Simion F, Rhein L, et al. Stratum corneum lipid removal by surfactants: relation to in vivo irritation [J]. Dermatology, 1990, 181(4): 277–83.

[7] Mukherjee S, Yang L, Vincent C, et al. A comparison between interactions of triglyceride oil and mineral oil with proteins and their ability to reduce cleanser surfactant–induced irritation [J]. International Journal of Cosmetic Science, 2015, 37(4): 371–8.

[8] Purohit P, Chandar P, Vilinska A, et al. Effect of mixed surfactants on stratum corneum: a drying stress and R aman spectroscopy study [J]. International Journal of Cosmetic Science, 2014, 36(4): 379–85.

[9] Krzyzaniak J F, Yalkowsky S H. Lysis of human red blood cells 3: Effect of contact time on surfactant–induced hemolysis [J]. PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 1998, 52(2): 66–9.

[10] Welss T, Basketter D A, Schröder K R. In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models [J]. Toxicology in vitro, 2004, 18(3): 231–43.

[11] Mizutani T, Mori R, Hirayama M, et al. Sodium lauryl sulfate stimulates the generation of reactive oxygen species through interactions with cell membranes [J]. Journal of oleo science, 2016, 65(12): 993–1001.

[12] Monteiro S A, Sasaki G L, de Souza L M, et al. Molecular and structural characterization of the biosurfactant produced by Pseudomonas aeruginosa DAUPE 614[J]. Chemistry and physics of lipids, 2007, 147(1): 1–13.

[13] Sánchez M, Aranda F J, Espuny M J, et al. Aggregation behaviour of a dirhamnolipid biosurfactant secreted by Pseudomonas aeruginosa in aqueous media[J]. Journal of colloid and interface science, 2007, 307(1): 246–253.

[14] Van Hamme J D, Singh A, Ward O P. Physiological aspects: Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology[J]. Biotechnology advances, 2006, 24(6): 604–620.

[15] Lang S, Philp J C. Surface-active lipids in rhodococci[J]. Antonie van leeuwenhoek, 1998, 74: 59–70.

[16] Marqués A M, Pinazo A, Farfan M, et al. The physicochemical properties and chemical composition of trehalose lipids produced by *Rhodococcus erythropolis* 51T7[J]. Chemistry and physics of lipids, 2009, 158(2): 110–117.

2009, 158(2): 110–117.

[17] Ward R K, Hubbard A W, Sulley H, et al. Human keratinocyte cultures in an in vitro approach for the assessment of surfactant-induced irritation[J]. Toxicology in vitro, 1998, 12(2): 163–173.

[18] Walters R M, Gandolfi L, Mack M C, et al. In vitro assessment of skin irritation potential of surfactant-based formulations by using a 3-D skin reconstructed tissue model and cytokine response[J]. Alternatives to Laboratory Animals, 2016, 44(6): 523–532.

## Screening Mild Surfactant Complex Based on In vitro and In vivo Methods

Chang Xiao-wei, Fang Yuan-yuan, Wang Yu-bing, Xia Dan-dan, Wu Yao-yao, Wang Yi-han, Chen Mei  
(Shanghai R&D Center of Proya Cosmetics Co., Ltd., Shanghai, 201101)

**Abstract :** In this study, an *in vitro* human keratinocyte model was established to evaluate the effects of six surfactants on cell viability. Amphoteric/nonionic surfactant and sodium methylcocoyl taurate SMCT were then combined as binary or ternary complex, in order to detect their impacts on keratinocyte (IC<sub>50</sub> value and IL-1 $\alpha$  level). The results showed that non-ionic surfactant, especially the trehalolipid THL, shows the lowest cell toxicity ( highest IC<sub>50</sub> value ). The ternary complex based on the anionic/amphoteric/non-ionic combinations produced lower levels of IL-1 $\alpha$  than the binary complex (based on anionic/amphoteric surfactants). Besides, compared to the alkyl polyglycoside APG, the addition of THL into the binary complex showed better performance in reducing the IL-1 $\alpha$  level. Afterwards, the single application closed patch test was performed using 6 complex systems, in which the transdermal water loss rate (TWEL) and the erythema reaction were measured. Finally, the influence of the complex systems on the stratum corneum barrier and cellular inflammatory reaction was analyzed, revealing the adverse effects of skin irritation like erythema were caused by multiple factors.

**Keywords :** surfactant; mild and low irritation; cytotoxicity; inflammatory factor ; skin reaction

