



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109674735 A

(43)申请公布日 2019.04.26

(21)申请号 201910070531.0

C12N 5/04(2006.01)

(22)申请日 2019.01.25

(71)申请人 广东大鹏医药科技有限公司

地址 510610 广东省广州市天河区林和西
路167号1241房

(72)发明人 高旭华 王一飞 柏琦

(74)专利代理机构 广州胜沃园专利代理有限公司 44416

代理人 张帅

(51) Int. Cl.

A61K 8/99(2017.01)

A61K 8/9789(2017.01)

A61P 29/00(2006.01)

A61Q 17/00(2006.01)

A61Q 19/08(2006.01)

权利要求书2页 说明书10页

(54)发明名称

一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,由以下重量百分比的组分组成:金莲花干细胞提取物1-3%,甘油3-10%,矿油1-3%,丙二醇5-10%,肉豆蔻酸异丙酯2-4%,角鲨烷1-5%,鲸蜡硬脂醇1-3%,EDTA二钠0.1-0.3%,尿囊素0.5-1.5%,透明质酸钠0.1-0.5%,霍霍巴籽油0.3-0.8%,蒲桃果皮提取物1-1.5%,其余为纯水,各组分的重量百分比之和为100%。本发明还提供了其制备方法。本发明提供的润肤露具有较强的长效抑菌性能、抗衰老性能,而且安全、温和无刺激。

1. 一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其特征在於:由以下重量百分比的组分组成:金莲花干细胞提取物1-3%,甘油3-10%,矿油1-3%,丙二醇5-10%,肉豆蔻酸异丙酯2-4%,角鲨烷1-5%,鲸蜡硬脂醇1-3%,EDTA二钠0.1-0.3%,尿囊素0.5-1.5%,透明质酸钠0.1-0.5%,霍霍巴籽油0.3-0.8%,蒲桃果皮提取物1-1.5%,其余为纯水,各组分的重量百分比之和为100%。

2. 根据权利要求1所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其特征在於:所述金莲花干细胞提取物由以下步骤制成:

A. 取切除根冠的金莲花根尖,清洗,消毒,将金莲花根尖切成外植体;

B. 将步骤A得到的外植体放入诱导培养基中培养3~6天得静止中心干细胞,培养温度为 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,光照时间为14h/d;

C. 将步骤B得到的静止中心干细胞转移到生长培养基中摇床培养得单细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为 20001x ,光照时间为10h/d;

D. 将步骤C得到的单细胞进行扩大培养得金莲花干细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为 20001x ,光照时间为10h/d,冷冻、粉碎,即得金莲花干细胞提取物。

3. 根据权利要求2所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其特征在於:所述步骤A中,外植体的尺寸为 $5\text{mm}\times 5\text{mm}$ 。

4. 根据权利要求3所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其特征在於:所述步骤B中,诱导培养基为含有BA 1~3mg/L和NAA 1~3mg/L的MS培养基,其pH值为5.5~6.0。

5. 根据权利要求4所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其特征在於:所述步骤C中,生长培养基为含有BA 1~3mg/L、NAA 2~3mg/L和土豆汁8~12%的MS培养基,其pH值为5.2~5.6。

6. 根据权利要求5所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其特征在於:所述步骤D中,扩大培养使用的培养基为含有BA 0.5~1.5mg/L、NAA 1~3mg/L和土豆汁25~35%的MS培养基,其pH值为5.2~5.6。

7. 根据权利要求6所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其特征在於:所述蒲桃果皮提取物由以下步骤制成:

E. 将蒲桃果浸泡在蒸馏水中,4min后取出风干,将其表皮取下后切成条状置于沸水中,10min后取出用去离子水冲洗2min,沥干后转入烘箱中 60°C 下烘干至恒重,取出后用粉碎机粉碎过60目筛得蒲桃果皮粉;

F. 将步骤E得到的蒲桃果皮粉加入稀盐酸中,超声处理10min后转入水浴锅中提取85min得到提取液,将提取液离心分离得到上清液,将上清液边搅拌边加入2倍体积的无水乙醇中醇沉得到醇沉溶液,将醇沉溶液室温静置1h后离心分离得到沉淀,将沉淀置于烘箱中 60°C 下烘干至恒重得蒲桃果皮提取物。

8. 根据权利要求7所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其特征在於:所述步骤F中,稀盐酸的pH值为2.0,蒲桃果皮粉与稀盐酸的料液比为1:50g/mL,水浴锅的温度为 70°C ,离心分离的速度为3000r/min,离心分离的时间为5min。

9. 根据权利要求1~8任意一项所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露的制备方法,其特征在於:包括以下步骤:

G. 将肉豆蔻酸异丙酯、矿油、鲸蜡硬脂醇、角鲨烷、霍霍巴籽油混合构成油相加入油相

锅,搅拌加热至70-85℃,搅拌至完全溶解后保温制得A相;

H.将甘油、丙二醇、尿囊素、透明质酸钠、EDTA二钠、纯水、蒲桃果皮提取物混合构成水相加入水相锅,搅拌加热至70-85℃,保温15-30min使其充分溶解制得B相;

I.先将B相抽入到乳化锅中再加入A相均质5-10min,然后保温搅拌18-45min,冷却至40-45℃后加入金莲花干细胞提取物,搅拌均匀即可。

10.根据权利要求9所述的一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露的制备方法,其特征在于:所述步骤I中,均质时的搅拌速度为2000-4000r/min,保温搅拌时的温度为70-85℃,保温搅拌时的搅拌速度为30-50r/min。

一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种润肤露,特别是涉及一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露及其制备方法。

背景技术

[0002] 随着人们对日常清洁护理用品需求的不断增加,市场上产生了不同的用品,尤其是具有保湿、润肤功能的化妆品的消费市场越来越大。我们现在用的润肤露中,主要添加了去污功效的成分,其中一些润肤露中还添加了去油污的成分,去污效果较好。外在效果较好,但是不能从根本发挥作用。目前来看,现在市面上已存在的润肤露也添加了一些含有杀菌功能的成分,但是杀菌解毒效果并不理想,容易使人体有不良反应,产生一定的副作用,会给敏感皮肤带来诸多的问题,如用后皮肤出现干燥、炎症、瘙痒、红肿等过敏现象,大大限制了上述产品的应用。

[0003] 润肤露一般由纯水、甘油、矿油、丙二醇、肉豆蔻酸异丙酯、角鲨烷、鲸蜡硬脂醇、EDTA二钠等混合制成,是乳液的一种,能深入滋润干燥肌肤,补充肌肤每天流失的水份,属基础护肤之类,此外还有美白、补水、祛皱的效果。而现有的润肤露由于添加了各种化学成分,对人体有一定的刺激作用,人们对天然无添加润肤露的需求越来越大。

[0004] 金莲花来源于毛茛科多年生草本植物金莲花(*Trollius chinensis* Bge)等的干燥花,始载于《本草纲目拾遗》,又名旱金莲、金梅草、旱地莲、金疙瘩,味苦,性寒,无毒,主治口疮、喉肿、浮热牙宣、耳疼、目痛,具明目、解岚障之功效。现代药理学研究和临床应用表明,金莲花主要用于呼吸道感染、咽炎、扁桃体炎和支气管炎,具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化等活性,并在2003年被选为预防严重急性呼吸道综合征(SARS)疾病中的复合处方药物之一。

[0005] 中国专利申请CN201810171209.2公开了一种“润肤露”,包括以下份数的原料:6质量份棕榈酸辛酯,10质量份黄原胶,4质量份凡士林,1质量份单硬脂酸甘油酯,0.2质量份香精,1质量份十六醇,0.5质量份维生素C,0.5质量份三酸甘油酯,60质量份水。该专利同样存在对人体有刺激作用的问题,而且其抑菌性能和抗衰老性能均不佳。

发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题是提供一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,其具有较强的长效抑菌性能、抗衰老性能,而且安全、温和无刺激。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明的技术方案是:

[0008] 一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露,由以下重量百分比的组分组成:金莲花干细胞提取物1-3%,甘油3-10%,矿油1-3%,丙二醇5-10%,肉豆蔻酸异丙酯2-4%,角鲨烷1-5%,鲸蜡硬脂醇1-3%,EDTA二钠0.1-0.3%,尿囊素0.5-1.5%,透明质酸钠0.1-0.5%,霍霍巴籽油0.3-0.8%,蒲桃果皮提取物1-1.5%,其余为纯水,各组分的重量百分比之和为100%。

[0009] 进一步地,本发明所述金莲花干细胞提取物由以下步骤制成:

[0010] A. 取切除根冠的金莲花根尖,清洗,消毒,将金莲花根尖切成外植体;

[0011] B. 将步骤A得到的外植体放入诱导培养基中培养3~6天得静止中心干细胞,培养温度为 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,光照时间为14h/d;

[0012] C. 将步骤B得到的静止中心干细胞转移到生长培养基中摇床培养得单细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d;

[0013] D. 将步骤C得到的单细胞进行扩大培养得金莲花干细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,冷冻、粉碎,即得金莲花干细胞提取物。

[0014] 进一步地,本发明所述步骤A中,外植体的尺寸为 $5\text{mm}\times 5\text{mm}$ 。

[0015] 进一步地,本发明所述步骤B中,诱导培养基为含有BA 1~3mg/L和NAA 1~3mg/L的MS培养基,其pH值为5.5~6.0。

[0016] 进一步地,本发明所述步骤C中,生长培养基为含有BA 1~3mg/L、NAA 2~3mg/L和土豆汁8~12%的MS培养基,其pH值为5.2~5.6。

[0017] 进一步地,本发明所述步骤D中,扩大培养使用的培养基为含有BA 0.5~1.5mg/L、NAA 1~3mg/L和土豆汁25~35%的MS培养基,其pH值为5.2~5.6。

[0018] 进一步地,本发明所述蒲桃果皮提取物由以下步骤制成:

[0019] E. 将蒲桃果浸泡在蒸馏水中,4min后取出风干,将其表皮取下后切成条状置于沸水中,10min后取出用去离子水冲洗2min,沥干后转入烘箱中 60°C 下烘干至恒重,取出后用粉碎机粉碎过60目筛得蒲桃果皮粉;

[0020] F. 将步骤E得到的蒲桃果皮粉加入稀盐酸中,超声处理10min后转入水浴锅中提取85min得到提取液,将提取液离心分离得到上清液,将上清液边搅拌边加入2倍体积的无水乙醇中醇沉得到醇沉溶液,将醇沉溶液室温静置1h后离心分离得到沉淀,将沉淀置于烘箱中 60°C 下烘干至恒重得蒲桃果皮提取物。

[0021] 进一步地,本发明所述步骤F中,稀盐酸的pH值为2.0,蒲桃果皮粉与稀盐酸的料液比为1:50g/mL,水浴锅的温度为 70°C ,离心分离的速度为3000r/min,离心分离的时间为5min。

[0022] 本发明要解决的另一技术问题是提供上述润肤露的制备方法。

[0023] 为解决上述技术问题,技术方案是:

[0024] 一种含有金莲花干细胞提取物的润肤露的制备方法,包括以下步骤:

[0025] G. 将肉豆蔻酸异丙酯、矿油、鲸蜡硬脂醇、角鲨烷、霍霍巴籽油混合构成油相加入油相锅,搅拌加热至 $70\sim 85^{\circ}\text{C}$,搅拌至完全溶解后保温制得A相;

[0026] H. 将甘油、丙二醇、尿囊素、透明质酸钠、EDTA二钠、纯水、蒲桃果皮提取物混合构成水相加入水相锅,搅拌加热至 $70\sim 85^{\circ}\text{C}$,保温15-30min使其充分溶解制得B相;

[0027] I. 先将B相抽入到乳化锅中再加入A相均质5-10min,然后保温搅拌18-45min,冷却至 $40\sim 45^{\circ}\text{C}$ 后加入金莲花干细胞提取物,搅拌均匀即可。

[0028] 进一步地,所述步骤I中,均质时的搅拌速度为2000-4000r/min,保温搅拌时的温度为 $70\sim 85^{\circ}\text{C}$,保温搅拌时的搅拌速度为30-50r/min。

[0029] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0030] 1) 金莲花干细胞提取物具有优异的长效抑菌活性,使得本发明润肤露不仅具有很

强的抑菌性能,而且抑菌性能更加长效,还能从不同的时间角度进行全面的抑菌。

[0031] 2) 金莲花干细胞提取物组分能清除与延缓自由基的生成,清除其他自由基,能显著提高皮肤深层的抗氧化,让人体自主清理自由基,这三种从内而外的清除自由基使得本发明具有较强的抗衰老性能,能让皮肤达到抗衰老效果。

[0032] 3) 本发明的有效成分为天然植物的干细胞提取物,所以安全、温和无刺激。

[0033] 4) 本发明通过灭酶、超声辅助提取、酸水解乙醇沉淀方法制得了蒲桃果皮提取物,其也具有较强的抗氧化活性,因此能进一步提高润肤露的抗衰老性能;此外,蒲桃果皮提取物还具有较好的抗炎活性和稳定性,能有效提高润肤露的抗炎性能和分散稳定性。

具体实施方式

[0034] 下面将结合具体实施例来详细说明本发明,在此本发明的示意性实施例及其说明用来解释本发明,但并不作为对本发明的限定。

[0035] 实施例1

[0036] 润肤露,由以下重量百分比的组分组成:金莲花干细胞提取物2%,甘油8%,矿油3%,丙二醇7%,肉豆蔻酸异丙酯2%,角鲨烷3%,鲸蜡硬脂醇2%,EDTA二钠0.2%,尿囊素1.5%,透明质酸钠0.4%,霍霍巴籽油0.8%,蒲桃果皮提取物1%,其余为纯水,各组分的重量百分比之和为100%。

[0037] 金莲花干细胞提取物由以下步骤制成:

[0038] A. 取切除根冠的金莲花根尖,清洗,消毒,将金莲花根尖切成尺寸为5mm×5mm的外植体;

[0039] B. 将步骤A得到的外植体放入诱导培养基中培养3天得静止中心干细胞,培养温度为 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,光照时间为14h/d,诱导培养基为含有BA 1mg/L和NAA 3mg/L的MS培养基,其pH值为5.6;

[0040] C. 将步骤B得到的静止中心干细胞转移到生长培养基中摇床培养得单细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,生长培养基为含有BA 1.5mg/L、NAA 2mg/L和土豆汁9%的MS培养基,其pH值为5.2;

[0041] D. 将步骤C得到的单细胞进行扩大培养得金莲花干细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,冷冻、粉碎,即得金莲花干细胞提取物,扩大培养使用的培养基为含有BA 0.5mg/L、NAA 3mg/L和土豆汁25%的MS培养基,其pH值为5.6。

[0042] 蒲桃果皮提取物由以下步骤制成:

[0043] E. 将蒲桃果浸泡在蒸馏水中,4min后取出风干,将其表皮取下后切成条状置于沸水中,10min后取出用去离子水冲洗2min,沥干后转入烘箱中 60°C 下烘干至恒重,取出后用粉碎机粉碎过60目筛得蒲桃果皮粉;

[0044] F. 将步骤E得到的蒲桃果皮粉加入pH值为2.0的稀盐酸中,蒲桃果皮粉与稀盐酸的料液比为1:50g/mL,超声处理10min后转入 70°C 的水浴锅中提取85min得到提取液,将提取液3000r/min速度下离心分离5min得到上清液,将上清液边搅拌边加入2倍体积的无水乙醇中醇沉得到醇沉溶液,将醇沉溶液室温静置1h后离心分离得到沉淀,将沉淀置于烘箱中 60°C 下烘干至恒重得蒲桃果皮提取物。

[0045] 实施例1的制备方法包括以下步骤:

[0046] G.将肉豆蔻酸异丙酯、矿油、鲸蜡硬脂醇、角鲨烷、霍霍巴籽油混合构成油相加入油相锅,搅拌加热至70℃,搅拌至完全溶解后保温制得A相;

[0047] H.将甘油、丙二醇、尿囊素、透明质酸钠、EDTA二钠、纯水、蒲桃果皮提取物混合构成水相加入水相锅,搅拌加热至70℃,保温30min使其充分溶解制得B相;

[0048] I.先将B相抽入到乳化锅中再加入A相均质10min,均质时的搅拌速度为2000r/min,然后70℃下保温搅拌45min,保温搅拌时的搅拌速度为30r/min,冷却至40℃后加入金莲花干细胞提取物,搅拌均匀即可。

[0049] 实施例2

[0050] 润肤露,由以下重量百分比的组分组成:金莲花干细胞提取物2.5%,甘油6.5%,矿油2.5%,丙二醇8%,肉豆蔻酸异丙酯3%,角鲨烷3%,鲸蜡硬脂醇3%,EDTA二钠0.3%,尿囊素1%,透明质酸钠0.3%,霍霍巴籽油0.7%,蒲桃果皮提取物1.2%,其余为纯水,各组分的重量百分比之和为100%。

[0051] 金莲花干细胞提取物由以下步骤制成:

[0052] A.取切除根冠的金莲花根尖,清洗,消毒,将金莲花根尖切成尺寸为5mm×5mm的外植体;

[0053] B.将步骤A得到的外植体放入诱导培养基中培养4天得静止中心干细胞,培养温度为25±2℃,光照时间为14h/d,诱导培养基为含有BA 2mg/L和NAA 2mg/L的MS培养基,其pH值为5.5;

[0054] C.将步骤B得到的静止中心干细胞转移到生长培养基中摇床培养得单细胞,培养温度为23~25℃,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,生长培养基为含有BA 2mg/L、NAA 2.5mg/L和土豆汁10%的MS培养基,其pH值为5.5;

[0055] D.将步骤C得到的单细胞进行扩大培养得金莲花干细胞,培养温度为23~25℃,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,冷冻、粉碎,即得金莲花干细胞提取物,扩大培养使用的培养基为含有BA 1mg/L、NAA 2mg/L和土豆汁30%的MS培养基,其pH值为5.5。

[0056] 蒲桃果皮提取物的制备步骤同实施例1。

[0057] 实施例2的制备方法包括以下步骤:

[0058] G.将肉豆蔻酸异丙酯、矿油、鲸蜡硬脂醇、角鲨烷、霍霍巴籽油混合构成油相加入油相锅,搅拌加热至75℃,搅拌至完全溶解后保温制得A相;

[0059] H.将甘油、丙二醇、尿囊素、透明质酸钠、EDTA二钠、纯水、蒲桃果皮提取物混合构成水相加入水相锅,搅拌加热至75℃,保温25min使其充分溶解制得B相;

[0060] I.先将B相抽入到乳化锅中再加入A相均质8min,均质时的搅拌速度为3000r/min,然后75℃下保温搅拌40min,保温搅拌时的搅拌速度为35r/min,冷却至42℃后加入金莲花干细胞提取物,搅拌均匀即可。

[0061] 实施例3

[0062] 润肤露,由以下重量百分比的组分组成:金莲花干细胞提取物3%,甘油7%,矿油2%,丙二醇9%,肉豆蔻酸异丙酯3.5%,角鲨烷5%,鲸蜡硬脂醇2.5%,EDTA二钠0.25%,尿囊素0.5%,透明质酸钠0.5%,霍霍巴籽油0.5%,蒲桃果皮提取物1.5%,其余为纯水,各组分的重量百分比之和为100%。

[0063] 金莲花干细胞提取物由以下步骤制成:

[0064] A. 取切除根冠的金莲花根尖,清洗,消毒,将金莲花根尖切成尺寸为5mm×5mm的外植体;

[0065] B. 将步骤A得到的外植体放入诱导培养基中培养5天得静止中心干细胞,培养温度为 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,光照时间为14h/d,诱导培养基为含有BA 3mg/L和NAA 1mg/L的MS培养基,其pH值为6.0;

[0066] C. 将步骤B得到的静止中心干细胞转移到生长培养基中摇床培养得单细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,生长培养基为含有BA 2.5mg/L、NAA 3mg/L和土豆汁11%的MS培养基,其pH值为5.4;

[0067] D. 将步骤C得到的单细胞进行扩大培养得金莲花干细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,冷冻、粉碎,即得金莲花干细胞提取物,扩大培养使用的培养基为含有BA 0.5mg/L、NAA 1.5mg/L和土豆汁35%的MS培养基,其pH值为5.2。

[0068] 蒲桃果皮提取物的制备步骤同实施例1。

[0069] 实施例3的制备方法包括以下步骤:

[0070] G. 将肉豆蔻酸异丙酯、矿油、鲸蜡硬脂醇、角鲨烷、霍霍巴籽油混合构成油相加入油相锅,搅拌加热至 85°C ,搅拌至完全溶解后保温制得A相;

[0071] H. 将甘油、丙二醇、尿囊素、透明质酸钠、EDTA二钠、纯水、蒲桃果皮提取物混合构成水相加入水相锅,搅拌加热至 85°C ,保温15min使其充分溶解制得B相;

[0072] I. 先将B相抽入到乳化锅中再加入A相均质5min,均质时的搅拌速度为4000r/min,然后 85°C 下保温搅拌18min,保温搅拌时的搅拌速度为50r/min,冷却至 45°C 后加入金莲花干细胞提取物,搅拌均匀即可。

[0073] 实施例4

[0074] 润肤露,由以下重量百分比的组分组成:金莲花干细胞提取物1%,甘油3%,矿油1.5%,丙二醇10%,肉豆蔻酸异丙酯4%,角鲨烷1%,鲸蜡硬脂醇1%,EDTA二钠0.1%,尿囊素0.8%,透明质酸钠0.2%,霍霍巴籽油0.3%,蒲桃果皮提取物1.4%,其余为纯水,各组分的重量百分比之和为100%。

[0075] 金莲花干细胞提取物由以下步骤制成:

[0076] A. 取切除根冠的金莲花根尖,清洗,消毒,将金莲花根尖切成尺寸为5mm×5mm的外植体;

[0077] B. 将步骤A得到的外植体放入诱导培养基中培养6天得静止中心干细胞,培养温度为 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,光照时间为14h/d,诱导培养基为含有BA 1.5mg/L和NAA 2.5mg/L的MS培养基,其pH值为5.7;

[0078] C. 将步骤B得到的静止中心干细胞转移到生长培养基中摇床培养得单细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,生长培养基为含有BA 1mg/L、NAA 2.5mg/L和土豆汁12%的MS培养基,其pH值为5.6;

[0079] D. 将步骤C得到的单细胞进行扩大培养得金莲花干细胞,培养温度为 $23\sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,冷冻、粉碎,即得金莲花干细胞提取物,扩大培养使用的培养基为含有BA 1.5mg/L、NAA 1mg/L和土豆汁32%的MS培养基,其pH值为5.4。

[0080] 蒲桃果皮提取物的制备步骤同实施例1。

[0081] 实施例4的制备方法包括以下步骤:

[0082] G.将肉豆蔻酸异丙酯、矿油、鲸蜡硬脂醇、角鲨烷、霍霍巴籽油混合构成油相加入油相锅,搅拌加热至80℃,搅拌至完全溶解后保温制得A相;

[0083] H.将甘油、丙二醇、尿囊素、透明质酸钠、EDTA二钠、纯水、蒲桃果皮提取物混合构成水相加入水相锅,搅拌加热至80℃,保温20min使其充分溶解制得B相;

[0084] I.先将B相抽入到乳化锅中再加入A相均质6min,均质时的搅拌速度为3500r/min,然后80℃下保温搅拌25min,保温搅拌时的搅拌速度为45r/min,冷却至44℃后加入金莲花干细胞提取物,搅拌均匀即可。

[0085] 实施例5

[0086] 润肤露,由以下重量百分比的组分组成:金莲花干细胞提取物1.5%,甘油10%,矿油1%,丙二醇5%,肉豆蔻酸异丙酯2.5%,角鲨烷2%,鲸蜡硬脂醇1.5%,EDTA二钠0.15%,尿囊素1.2%,透明质酸钠0.1%,霍霍巴籽油0.4%,蒲桃果皮提取物1.1%,其余为纯水,各组分的重量百分比之和为100%。

[0087] 金莲花干细胞提取物由以下步骤制成:

[0088] A.取切除根冠的金莲花根尖,清洗,消毒,将金莲花根尖切成尺寸为5mm×5mm的外植体;

[0089] B.将步骤A得到的外植体放入诱导培养基中培养4天得静止中心干细胞,培养温度为25±2℃,光照时间为14h/d,诱导培养基为含有BA 2.5mg/L和NAA 1.5mg/L的MS培养基,其pH值为5.9;

[0090] C.将步骤B得到的静止中心干细胞转移到生长培养基中摇床培养得单细胞,培养温度为23~25℃,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,生长培养基为含有BA 3mg/L、NAA 2mg/L和土豆汁8%的MS培养基,其pH值为5.3;

[0091] D.将步骤C得到的单细胞进行扩大培养得金莲花干细胞,培养温度为23~25℃,光照强度为2000lx,光照时间为10h/d,冷冻、粉碎,即得金莲花干细胞提取物,扩大培养使用的培养基为含有BA 0.5mg/L、NAA 2.5mg/L和土豆汁27%的MS培养基,其pH值为5.3。

[0092] 蒲桃果皮提取物的制备步骤同实施例1。

[0093] 实施例5的制备方法包括以下步骤:

[0094] G.将肉豆蔻酸异丙酯、矿油、鲸蜡硬脂醇、角鲨烷、霍霍巴籽油混合构成油相加入油相锅,搅拌加热至75℃,搅拌至完全溶解后保温制得A相;

[0095] H.将甘油、丙二醇、尿囊素、透明质酸钠、EDTA二钠、纯水、蒲桃果皮提取物混合构成水相加入水相锅,搅拌加热至75℃,保温25min使其充分溶解制得B相;

[0096] I.先将B相抽入到乳化锅中再加入A相均质7min,均质时的搅拌速度为2000r/min,然后75℃下保温搅拌30min,保温搅拌时的搅拌速度为40r/min,冷却至43℃后加入金莲花干细胞提取物,搅拌均匀即可。

[0097] 参比实施例1

[0098] 组分中不包括金莲花干细胞提取物,其他组分以及制备方法与实施例3相同。

[0099] 参比实施例2

[0100] 用普通的水提法制得的金莲花提取物代替金莲花干细胞提取物,其他组分以及制备方法与实施例3相同。

[0101] 参比实施例3

[0102] 组分中不包括蒲桃果皮提取物,其他组分以及制备方法与实施例3相同。

[0103] 对比例:申请号为CN201810171209.2的中国专利的实施例1。

[0104] 实验例一:安全性测试

[0105] 测试方法为:选取72名试用者,平均分成6组,每组试用者分别每天涂实施例1-5、对比例早晚各1次,24h后试用者观察皮肤反应,测试结果如表2所示:

[0106]

实施例1	皮肤未出现不良反应
实施例2	皮肤未出现不良反应
实施例3	皮肤未出现不良反应
实施例4	皮肤未出现不良反应
实施例5	皮肤未出现不良反应
对比例	皮肤出现不良反应

[0107] 表1

[0108] 由表1可以看出,试用者在试用本发明实施例1-5后皮肤未出现不良反应,表明本发明对人体皮肤安全温和无刺激。

[0109] 实验例二:抑菌性能测试

[0110] 供试菌种为枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌,参考GB/T 7918.1-1987分别测定实施例1-5、参比实施例1-3、对比例在测试后供试菌种的菌落数,菌落数越小抑菌性能越强。测试结果如表2所示:

[0111]

	枯草芽孢杆菌菌落数 (CFU/mL)	大肠杆菌菌落数 (CFU/mL)	金黄色葡萄球菌菌落数 (CFU/mL)
实施例 1	36	25	30
实施例 2	35	24	33
实施例 3	33	22	28
实施例 4	37	27	32
实施例 5	36	26	31
参比实施例 1	228	219	222
参比实施例 2	79	68	74
参比实施例 3	34	23	29
对比例	252	235	266

[0112] 表2

[0113] 由表2可以看出,本发明实施例1-5的菌落数均明显低于对比例,表明本发明具有较强的抑菌性能,其中实施例3的抑菌性能最好。参比实施例1-3的部分组分与实施例3不同,参比实施例1的菌落数大幅度上升,说明金莲花干细胞提取物是提高抑菌性能的关键;参比实施例2的菌落数小幅度上升,说明金莲花干细胞提取物对抑菌性能的提高效果优于

普通水提法制得的金莲花提取物;参比实施例3的菌落数与实施例1-5相当,说明蒲桃果皮提取物对抑菌性能无影响。

[0114] 实验例三:长效抑菌性能测试

[0115] 测试方法同实验例二,将实施例1-5、参比实施例1-3、对比例室温放置3个月后测定枯草芽孢杆菌菌落数,计算出菌落数上升率,菌落数上升率=(放置后枯草芽孢杆菌菌落数-放置前枯草芽孢杆菌菌落数)/放置前枯草芽孢杆菌菌落数 \times 100%,菌落数上升率越小长效抑菌性能越强。测试结果如表3所示:

[0116]

	菌落数上升率(%)
实施例1	95.1
实施例2	95.3
实施例3	95.0
实施例4	95.6
实施例5	95.2
参比实施例1	336.5
参比实施例2	147.8
参比实施例3	95.5
对比例	368.7

[0117] 表3

[0118] 由表3可以看出,本发明实施例1-5的菌落数上升率均明显低于对比例,表明本发明具有较强的长效抑菌性能,其中实施例3的长效抑菌性能最好。参比实施例1-3的部分组分与实施例3不同,参比实施例1的菌落数上升率大幅度上升,说明金莲花干细胞提取物是提高长效抑菌性能的关键;参比实施例2的菌落数上升率小幅度上升,说明金莲花干细胞提取物对长效抑菌性能的提高效果优于普通水提法制得的金莲花提取物;参比实施例3的菌落数上升率与实施例1-5相当,说明蒲桃果皮提取物对长效抑菌性能无影响。

[0119] 实验例四:抗衰老性能测试

[0120] 分别测定实施例1-5、参比实施例1-3、对比例的 $ABTS^+$ ·清除率、 $HO\cdot$ 清除率、 O_2^- ·清除率,清除率越高抗衰老性能越强。测试结果如表4所示:

[0121]

	$ABTS^+$ ·清除率(%)	$HO\cdot$ 清除率(%)	O_2^- ·清除率(%)
实施例1	95.0	71.3	86.5
实施例2	95.2	71.6	86.8
实施例3	94.9	71.5	86.3
实施例4	94.8	71.2	86.6
实施例5	95.0	71.2	86.4
参比实施例1	83.7	60.0	75.7

[0122]

参比实施例 2	87.1	63.4	79.0
参比实施例 3	84.3	61.1	76.4
对比例	25.6	17.8	20.9

[0123] 表4

[0124] 由表4可以看出,本发明实施例1-5的三项清除率均明显高于对比例,表明本发明具有较强的抗衰老性能,其中实施例3的抗衰老性能最好。参比实施例1-3的部分组分与实施例3不同,参比实施例1、2的三项清除率有大幅度下降,说明金莲花干细胞提取物和蒲桃果皮提取物均能提高抗衰老性能;参比实施例2的三项清除率的下降幅度大于参比实施例1,说明金莲花干细胞提取物对抗衰老性能的提高效果优于普通水提法制得的金莲花提取物。

[0125] 实验例五:抗炎性能测试

[0126] 测试方法为:选取72名脸部有炎症的试用者,平均分成9组,每组试用者分别每天涂实施例1-4、参比实施例1-12、对比例两次,4周后试用者评价各自脸部的炎症改善程度,分为明显改善、有效改善、无效三个等级,计算出抗炎有效率,抗炎有效率=(明显改善的人数+有效改善的试用者人数)/试用者总人数×100%。测试结果如表5所示:

[0127]

	抗炎有效率(%)
实施例1	90.3
实施例2	88.9
实施例3	91.7
实施例4	87.5
实施例5	90.3
参比实施例1	90.3
参比实施例2	88.9
参比实施例3	25
对比例	11.1

[0128] 表5

[0129] 由表5可以看出,本发明实施例1-5的抗炎有效率均明显高于对比例,表明本发明具有较强的抗炎性能。参比实施例1-3的部分组分与实施例3不同,参比实施例3的抗炎有效率大幅度下降,说明蒲桃果皮提取物是提高抗炎性能的关键;参比实施例1、2的抗炎有效率与

[0130] 实施例1-5一样,说明金莲花干细胞提取物、普通水提法制得的金莲花提取物对抗炎性能无影响。

[0131] 实验例六:分散稳定性测试

[0132] 测试方法为:将实施例1-5、参比实施例1-3、对比例置于离心机中,室温下3000r/min速度下离心30min,观察有无沉淀分层变色现象。测试结果如表6所示:

[0133]

实施例1	未出现沉淀分层变色现象
实施例2	未出现沉淀分层变色现象
实施例3	未出现沉淀分层变色现象
实施例4	未出现沉淀分层变色现象
实施例5	未出现沉淀分层变色现象
参比实施例1	未出现沉淀分层变色现象
参比实施例2	未出现沉淀分层变色现象
参比实施例3	出现沉淀分层变色现象

[0134] 表6

[0135] 由表6可以看出,本发明实施例1-5经过分散稳定性测试后均未出现沉淀分层变色现象,表明本发明具有较好的分散稳定性。参比实施例1-3的部分组分与实施例3不同,其中参比实施例3出现沉淀分层变色现象,说明蒲桃果皮提取物是提高分散稳定性的关键。

[0136] 上述实施例仅例示性说明本发明的原理及其功效,而非用于限制本发明。任何熟悉此技术的人士皆可在不违背本发明的精神及范畴下,对上述实施例进行修饰或改变。因此,举凡所属技术领域中具有通常知识者在未脱离本发明所揭示的精神与技术思想下所完成的一切等效修饰或改变,仍应由本发明的权利要求所涵盖。