



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111518754 A

(43)申请公布日 2020.08.11

(21)申请号 202010372675.4

A61K 9/19(2006.01)

(22)申请日 2020.05.06

A61P 17/00(2006.01)

(71)申请人 潍坊峡山源宜医学科技有限责任公司

A61K 8/99(2017.01)

地址 261000 山东省潍坊市峡山区怡峡街  
197号3号楼10层

A61K 8/9794(2017.01)

A61K 8/9789(2017.01)

A61K 8/02(2006.01)

A61Q 19/08(2006.01)

(72)发明人 张峰

(74)专利代理机构 北京智宇正信知识产权代理  
事务所(普通合伙) 11876

代理人 李明卓

(51)Int.Cl.

C12N 5/077(2010.01)

A61K 36/896(2006.01)

A61K 36/886(2006.01)

A61K 35/33(2015.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分制  
备方法、用途

(57)摘要

本发明属于皮肤修复领域,具体涉及到一种人源皮肤的成纤维细胞胞内有效成分制备方法及其用途,并且与植物提取物混合制作冻干粉,可以用于肌肤护理用品的添加,达到保护肌肤的作用。通过酶消化法获取人源皮肤成纤维细胞,反复冻融使细胞裂解,收集细胞胞内因子并补充植物提取物,两者可以相互促进,稳定并维持有效成分,补充肌肤所需成分,并维持肌肤活力。

1. 一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

取人源皮肤成纤维细胞用0.9%的生理盐水调整细胞浓度为 $1-3 \times 10^6$ 个/mL,体积为10-20mL,放置于 $-80^\circ\text{C}$ 冰箱30min冰冻,然后取出置于 $37^\circ\text{C}$ 水浴中30min,溶解后,超声震荡5min,反复3-5次,细胞完全裂解,收集细胞裂解液,即细胞碎片和细胞内容物;

将所得细胞裂解液于常温,4000r/min条件下离心10-20min,取上清液,并用 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜过滤,随后加入0.9%的生理盐水,调整至10-20ml,制得成纤维细胞胞内有效成分。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述人源皮肤成纤维细胞的获取,包括如下步骤:

将获取的人腹部全层皮肤,置于含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的PBS缓冲液中反复漂洗30-50次,去除皮下脂肪及多余组织;

将上述皮肤剪成 $1-3\text{mm}^3$ 小块,真皮侧贴于培养瓶,加入2mg/mL的II型胶原酶2-3mL,置于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中消化12-15小时;

取出消化后的皮肤,小心取出表皮组织,剩余部分用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素PBS缓冲液中反复漂洗5-10次,并彻底剪碎;

然后加入2mg/mL的II型胶原酶3-5mL,置于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中消化4-5小时;

将消化后的皮肤,用100目过滤筛过滤,PBS清洗3-5次,通过贴壁筛选,获得成纤维细胞。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,将获得的成纤维细胞进行传代培养,包括:用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的无血清培养基调整细胞浓度为 $1-3 \times 10^6$ 个/mL,于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱培养,观察细胞生长状况,当细胞密度为80%左右时,对细胞进行传代培养,收集第四代细胞,备用。

4. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,将第四代成纤维细胞用质量分数为0.25%的胰蛋白酶消化3-5min,并将消化后的细胞1000-2000r/min离心5-10min,所得沉淀用0.9%的生理盐水进行洗涤3-5次。

5. 一种如权利要求1-4任一项所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分。

6. 一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法,其特征在于,将人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分中加入植物提取物,然后进行冻干。

7. 根据权利要求6所述的制备方法,其特征在于,所述冻干粉的配方为:人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分30-50mL、木兰树皮提取物0.1-0.5mL、芦荟提取物0.1-0.2mL、仙人掌提取物0.1-0.2mL和玫瑰花提取物0.1-0.3mL。

8. 根据权利要求6或7所述的制备方法,其特征在于,所述冻干的条件为:压强为20pa, $-40^\circ\text{C}$ 下5h, $-25^\circ\text{C}$ 下4h, $10^\circ\text{C}$ 下2h, $0^\circ\text{C}$ 下2h, $25^\circ\text{C}$ 下6h。

9. 一种如权利要求1-4任一项所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分、权利要求5所述的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分或权利要求6-8任一项所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉具有如下任意一项的用途:

(1) 在延缓皮肤衰老中的用途;

(2) 在修复皮肤受损中的用途;

(3) 在制备延缓皮肤衰老或修复皮肤受损的化妆品中的用途;

(4) 在制备延缓皮肤衰老或修复皮肤受损的药物中的用途。

10. 一种延缓皮肤衰老或修复皮肤受损的化妆品或药物,其特征在於,包括权利要求1-4任一项所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分、权利要求5所述的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分或权利要求6-8任一项所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉。

## 一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分制备方法、用途

### 技术领域

[0001] 本发明属于皮肤修复技术领域,具体涉及一种人源皮肤的成纤维细胞胞内有效成分及其制备方法、用途。

### 背景技术

[0002] 人源皮肤成纤维细胞是组成皮肤真皮的主要结构成分,关系到皮肤的衰老及修复,它可以合成和分泌有效成分,对于维持皮肤的稳定具有重要作用。皮肤中胶原蛋白和许多细胞修复因子,大都来自于成纤维细胞,对于维持皮肤的活性具有重要作用。

[0003] 单一有效成分的缺失,往往可以通过添加相应细胞因子或多肽,维持皮肤的平衡。但是如何找到缺少成分,往往是根据经验,这对于皮肤的修复不能达到很好的修复。如果缺少几种,则对于皮肤的补充就更加困难。越来越多的研究表明,植物精华对于皮肤活性的维持作用,将纤维细胞的胞内有效成分,配合植物精华,保护肌肤,并维持、修复肌肤问题,变得十分必要。

### 发明内容

[0004] 因此,本发明要解决的技术问题在于提供一种人源皮肤的成纤维细胞胞内有效成分及其制备方法、用途,制备得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分配合植物精华应用于化妆品中,皮肤在修复的同时,保持肌肤活力。

[0005] 为此,本发明提供了如下技术方案:

[0006] 第一方面,本发明提供了一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法,包括如下步骤:

[0007] 取人源皮肤成纤维细胞用0.9%的生理盐水调整细胞浓度为 $1-3 \times 10^6$ 个/mL,体积为10-20mL,放置于-80℃冰箱30min冰冻,然后取出置于37℃水浴中30min,溶解后,超声震荡5min,反复3-5次,细胞完全裂解,收集细胞裂解液,即细胞碎片和细胞内容物。

[0008] 细胞裂解液于常温,4000r/min条件下离心10-20min,取上清液,并用0.22μm滤膜过滤,随后加入0.9%的生理盐水,调整至10-20ml,制得成纤维细胞胞内有效成分。

[0009] 在所述的制备方法中,所述人源皮肤成纤维细胞的获取,包括如下步骤:

[0010] 将获取的人腹部全层皮肤,置于含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的PBS缓冲液中反复漂洗30-50次,去除皮下脂肪及多余组织;

[0011] 将上述皮肤剪成 $1-3\text{mm}^3$ 小块,真皮侧贴于培养瓶,2mg/mL II型胶原酶2-3mL,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中消化12-15小时;

[0012] 取出消化后的皮肤,小心取出表皮组织,剩余部分用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素PBS缓冲液中反复漂洗5-10次,并彻底剪碎;

[0013] 然后加入2mg/mL的II型胶原酶3-5mL,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中消化4-5小时;

[0014] 将消化后的皮肤,用100目过滤筛过滤,PBS清洗3-5次,通过贴壁筛选,获得成纤维

细胞。

[0015] 在所述的制备方法中,将收集的细胞进行传代培养,包括:用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的无血清培养基调整细胞浓度为 $1-3 \times 10^6$ 个/mL,于37℃、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱培养,观察细胞生长状况,当细胞密度为80%左右时,对细胞进行传代培养,收集第四代细胞,备用。

[0016] 将第四代成纤维细胞用质量分数为0.25%的胰蛋白酶消化3-5min,并将消化后的细胞1000-2000r/min离心5-10min,沉淀用0.9%的生理盐水进行洗涤3-5次。

[0017] 第二方面,本发明提供了一种由所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分。

[0018] 第三方面,本发明提供了一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法,将加入人源皮肤成纤维细胞有效成分中添加其他成分进行保护,然后进行冻干。

[0019] 在所述的制备方法中,所述冻干粉的配方为,每100mL含有如下组分:人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分30-50mL、木兰树皮提取物0.1-0.5mL、芦荟提取物0.1-0.2mL、仙人掌提取物0.1-0.2mL、玫瑰花提取物0.1-0.3mL。

[0020] 所述冻干的条件为:压强为20pa,依次于-40℃下5h,-25℃下4h,10℃下2h,0℃下2h,25℃下6h。

[0021] 第四方面,本发明提供了一种所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分、所述的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分或所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉具有如下任意一项的用途:

[0022] (1) 在延缓皮肤衰老中的用途;

[0023] (2) 在修复皮肤受损中的用途;

[0024] (3) 在制备延缓皮肤衰老或修复皮肤受损的化妆品中的用途;

[0025] (4) 在制备延缓皮肤衰老或修复皮肤受损的药物中的用途。

[0026] 第五方面,本发明提供了一种延缓皮肤衰老或修复皮肤受损的化妆品或药物,包括所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分、所述的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分或所述的制备方法得到的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉。

[0027] 本发明技术方案,具有如下优点:

[0028] 1. 本发明提供的一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法,通过提取人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分,添加植物提取液,可以维持有效成分的稳定性,并共同对皮肤发挥作用。

[0029] 2. 本发明提供的一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法,通过特定的培养体系和无血清培养基得到高纯度的成纤维细胞浓缩液,没有其它损害细胞的成分,操作简单,并且产量较高。

[0030] 3. 本发明提供的一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉,性质稳定,并且植物成分的添加,对于其主要作用的胞内有效成分没有影响。

[0031] 4. 本发明提供的人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分或其冻干粉,具有如下用途:在延缓皮肤衰老中的用途;在修复皮肤受损中的用途;在制备延缓皮肤衰老或修复皮肤受损的化妆品中的用途;在制备延缓皮肤衰老或修复皮肤受损的药物中的用途。

## 附图说明

[0032] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施方式,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0033] 图1是本发明实验例1中添加植物提取物对于4种细胞因子影响结果图。

## 具体实施方式

[0034] 下面通过具体的实施方案叙述本发明。除非特别说明,本发明中所用的技术手段均为本领域技术人员所公知的方法。另外,实施方案应理解为说明性的,而非限制本发明的范围,本发明的实质和范围仅由权利要求书所限定。对于本领域技术人员而言,在不背离本发明实质和范围的前提下,对这些实施方案中的物料成分和用量进行的各种改变或改动也属于本发明的保护范围。本发明所用原料及试剂均有市售。

[0035] 下述实施例中木兰树皮提取物、芦荟提取物、仙人掌提取物、玫瑰花提取物的制备方法如下:木兰树皮提取物制备方法:

[0036] (1) 将木兰树皮清洗干净,粉碎,加入到体积百分比70%的乙醇溶液中,固液比1:30,超声浸泡60min,温度控制在50℃。

[0037] (2) 将浸泡后的树皮和乙醇溶液过滤,除去树皮等沉淀。

[0038] (3) 将得到的过滤液50℃减压浓缩,得到木兰树皮浓缩液,备用。

[0039] 芦荟提取物制备方法:

[0040] (1) 将新鲜芦荟清洗干净,然后剥去外皮,将剩余部分研磨。

[0041] (2) 将研磨后的汁液等加入体积百分比80%的乙醇溶液中,固液比1:20,超声浸泡60min,温度控制在50℃。

[0042] (3) 将浸泡液过滤除去纤维等沉淀。

[0043] (4) 将得到的过滤液,在50℃减压浓缩,得到芦荟浓缩液,备用。

[0044] 仙人掌提取物制备方法:

[0045] (1) 将新鲜仙人掌清洗干净,在70℃烘箱中烘干。

[0046] (2) 将烘干的仙人掌粉碎成粉末状,然后加入到体积百分比75%的乙醇溶液中,固液比1:20,超声浸泡50min,温度控制在50℃。

[0047] (3) 将浸泡液过滤,除去沉淀。

[0048] (4) 将得到的过滤液,在50℃减压浓缩,得到仙人掌浓缩液,备用。

[0049] 玫瑰花提取物制备方法:

[0050] (1) 将玫瑰花叶片清洗干净,在70℃烘箱中烘干。

[0051] (2) 将烘干的玫瑰花叶片碎成粉末状,然后加入体积百分比90%的乙醇溶液中,固液比1:25,超声浸泡60min,温度控制在50℃。

[0052] (3) 将浸泡液过滤,除去沉淀。

[0053] (4) 将得到的过滤液,在50℃减压浓缩,得到玫瑰花浓缩液,备用。

[0054] 实施例1人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法

[0055] 本实施例提供了一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法,包括如下步

骤:

[0056] (1) 将获取的人腹部全层皮肤,置于含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的PBS缓冲液中反复漂洗40次,去除皮下脂肪及多余组织;

[0057] (2) 将上述皮肤剪成 $2\text{mm}^3$ 小块,真皮侧贴于培养瓶,2mg/mL的II型胶原酶2.5mL,置于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中消化13小时;

[0058] (3) 取出消化后的皮肤,小心取出表皮组织,剩余部分用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素PBS缓冲液中反复漂洗8次,并彻底剪碎;

[0059] (4) 然后加入2mg/mL的II型胶原酶4mL,置于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中消化4.5小时;

[0060] (5) 将消化后的皮肤,用100目过滤筛过滤,PBS清洗4次,通过贴壁筛选,获得成纤维细胞。

[0061] (6) 在所述的制备方法中,将收集的细胞进行传代培养,包括:用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的无血清培养基调整细胞浓度为 $2 \times 10^6$ 个/mL,于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱培养,观察细胞生长状况,当细胞密度为80%左右时,对细胞进行传代培养,收集第四代细胞,备用。

[0062] (7) 取第四代细胞用0.9%的生理盐水调整细胞浓度为 $2 \times 10^6$ 个/mL,体积为10-20mL,放置于 $-80^\circ\text{C}$ 冰箱30min冰冻,然后取出置于 $37^\circ\text{C}$ 水浴中30min,溶解后,超声震荡5min,反复4次,细胞完全裂解,收集细胞裂解液,即细胞碎片和细胞内容物。

[0063] (8) 细胞裂解液进行于常温,4000r/min条件下离心15min,取上清液,并用0.22 $\mu\text{m}$ 滤膜过滤,随后加入0.9%的生理盐水,调整至10-20ml,制得成纤维细胞胞内有效成分。

[0064] 实施例2人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法

[0065] 本实施例提供了一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法,包括如下步骤:

[0066] (1) 将获取的人腹部全层皮肤,置于含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的PBS缓冲液中反复漂洗30次,去除皮下脂肪及多余组织;

[0067] (2) 将上述皮肤剪成 $1\text{mm}^3$ 小块,真皮侧贴于培养瓶,2mg/mL的II型胶原酶3mL,置于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中消化12小时;

[0068] (3) 取出消化后的皮肤,小心取出表皮组织,剩余部分用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素PBS缓冲液中反复漂洗5次,并彻底剪碎;

[0069] (4) 然后加入2mg/mL的II型胶原酶5mL,置于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中消化4小时;

[0070] (5) 将消化后的皮肤,用100目过滤筛过滤,PBS清洗3次,通过贴壁筛选,获得成纤维细胞。

[0071] (6) 在所述的制备方法中,将收集的细胞进行传代培养,包括:用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的无血清培养基调整细胞浓度为 $1 \times 10^6$ 个/mL,于 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 细胞培养箱培养,观察细胞生长状况,当细胞密度为80%左右时,对细胞进行传代培养,收集第四代细胞,备用。

[0072] (7) 取人源皮肤成纤维细胞用0.9%的生理盐水调整细胞浓度为 $1 \times 10^6$ 个/mL,体积为10mL,放置于 $-80^\circ\text{C}$ 冰箱30min冰冻,然后取出置于 $37^\circ\text{C}$ 水浴中30min,溶解后,超声震荡

5min,反复5次,细胞完全裂解,收集细胞裂解液,即细胞碎片和细胞内容物。

[0073] (8) 细胞裂解液进行于常温,4000r/min条件下离心20min,取上清液,并用用0.22 $\mu$ m滤膜过滤,随后加入0.9%的生理盐水,调整至10ml,制得成纤维细胞胞内有效成分。

[0074] 实施例3人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法

[0075] 本实施例提供了一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分的制备方法,包括如下步骤:

[0076] (1) 将获取的人腹部全层皮肤,置于含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的PBS缓冲液中反复漂洗50次,去除皮下脂肪及多余组织;

[0077] (2) 将上述皮肤剪成3mm<sup>3</sup>小块,真皮侧贴于培养瓶,2mg/mL的II型胶原酶2mL,置于37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中消化15小时;

[0078] (3) 取出消化后的皮肤,小心取出表皮组织,剩余部分用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素PBS缓冲液中反复漂洗10次,并彻底剪碎;

[0079] (4) 然后加入2mg/mL的II型胶原酶3mL,置于37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中消化5小时;

[0080] (5) 将消化后的皮肤,用100目过滤筛过滤,PBS清洗5次,通过贴壁筛选,获得成纤维细胞。

[0081] (6) 在所述的制备方法中,将收集的细胞进行传代培养,包括:用含100U/mL青霉素和100g/mL链霉素的无血清培养基调整细胞浓度为3 $\times$ 10<sup>6</sup>个/mL,于37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱培养,观察细胞生长状况,当细胞密度为80%左右时,对细胞进行传代培养,收集第四代细胞,备用。

[0082] (7) 取人源皮肤成纤维细胞用0.9%的生理盐水调整细胞浓度为3 $\times$ 10<sup>6</sup>个/mL,体积为20mL,放置于-80 $^{\circ}$ C冰箱30min冰冻,然后取出置于37 $^{\circ}$ C水浴中30min,溶解后,超声震荡5min,反复3次,细胞完全裂解,收集细胞裂解液,即细胞碎片和细胞内容物。

[0083] (8) 细胞裂解液进行于常温,4000r/min条件下离心10min,取上清液,并用用0.22 $\mu$ m滤膜过滤,随后加入0.9%的生理盐水,调整至20ml,制得成纤维细胞胞内有效成分。

[0084] 实施例4人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法

[0085] 本实施例提供了一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法,包括如下步骤:

[0086] 将实施例1制备的成纤维细胞的细胞胞内有效成分浓缩液含有如下组分:人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分40mL、木兰树皮提取物0.3mL、芦荟提取物0.15mL、仙人掌提取物0.15mL、玫瑰花提取物0.2mL。

[0087] 将上述混合液置于压强为20pa,依次-40 $^{\circ}$ C下5h,-25 $^{\circ}$ C下4h,10 $^{\circ}$ C下2h,0 $^{\circ}$ C下2h,25 $^{\circ}$ C下6h,制得人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉。

[0088] 实施例5人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法

[0089] 本实施例提供了一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法,包括如下步骤:

[0090] 将实施例2制备的成纤维细胞的细胞胞内有效成分浓缩液含有如下组分:人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分30mL、木兰树皮提取物0.5mL、芦荟提取物0.1mL、仙人掌提取物0.2mL、玫瑰花提取物0.1mL。



[0091] 将上述混合液置于压强为20pa,依次-40℃下5h,-25℃下4h,10℃下2h,0℃下2h,25℃下6h,制得人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉。

[0092] 实施例6人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法

[0093] 本实施例提供了一种人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉的制备方法,包括如下步骤:

[0094] 将实施例3制备的成纤维细胞的细胞胞内有效成分浓缩液每100mL含有如下组分:人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分50mL、木兰树皮提取物0.1mL、芦荟提取物0.2mL、仙人掌提取物0.1mL、玫瑰花提取物0.3mL。

[0095] 将上述混合液置于压强为20pa,依次-40℃下5h,-25℃下4h,10℃下2h,0℃下2h,25℃下6h,制得人源皮肤成纤维细胞胞内有效成分冻干粉。

[0096] 实验例1添加植物提取物对于成纤维细胞胞内有效成分的影响

[0097] 以未加入植物提取物的成纤维细胞裂解液(实施例1制备)为空白,加入提取液(实施例4制备)为对照,采用ELISA试剂盒,按照试剂盒的说明,对4种对皮肤起主要作用的细胞因子进行检测,试剂盒均来自R&D公司,实验结果见图1。

[0098] 检测结果如图1所示,两组之间变化很小, $P>0.05$ ,说明添加植物提取液对于4种对皮肤起主要作用的细胞因子没有影响。

[0099] 本发明中所描述的具体实施例仅是对本发明精神做举例说明,本发明所属技术领域的技术人员可以对所描述的具体实施例做相应的修改和补充或采用类似的方式替代,但并不会偏离本发明的精神或者超越所附权利要求书所定义的范围。尽管本发明已作出详细的说明书并引证了一些具体实施例,但是对本领域所熟练技术人员来说,只要不离开本发明的精神和范围可做相应变化或修正是显然的。

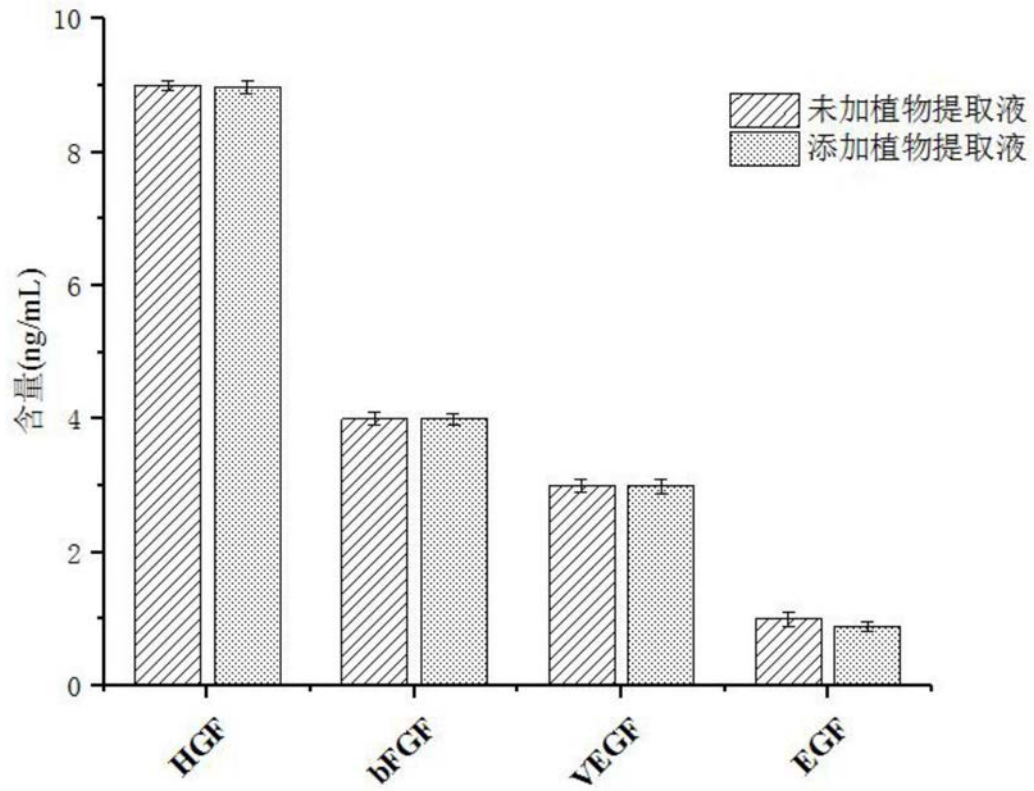


图1