

化妆品安全性及功效性体外评价

暨南大学

王一飞



2014/10/13

广州暨南生物医药研究开发基地有限公司

Guangzhou(Jinan)biomedicine reserch and develepment center

公司介绍

股东

暨南大学

广州市科
技局

运作
模式

研究所 + 高新技术企业

- 👍 基因工程药物国家工程中心中试基地
- 👍 国家人事部企业博士后科研工作站
- 👍 国家教育部基因组药物工程中心
- 👍 广东省生物工程药物重点实验室
- 👍 广东高校产学研结合示范（暨研究生创新培养）基地
- 👍 广东省赛莱拉-暨南干细胞研究与储存院士工作站



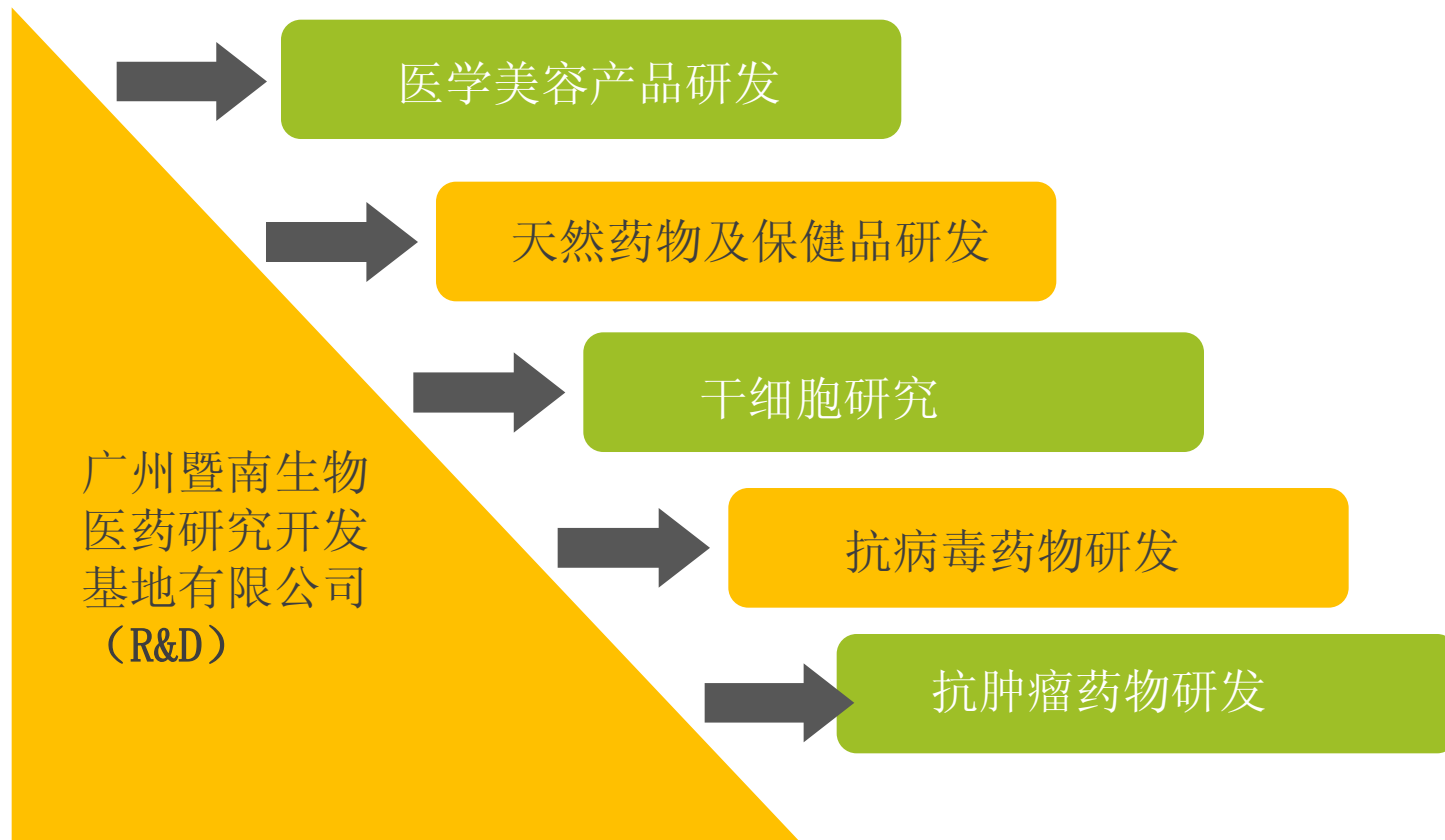
广州暨南生物医药研究开发基地有限公司

博士后科研工作站

POSTDOCTORAL PROGRAMME

中华人民共和国人事部
全国博士后管委会
二〇〇二年十月

广州暨南生物医药研究开发基地有限公司
Guangzhou(Jinan)biomedicine reserch and develepment center



医学美容

化妆品配方技术支持

美容之干细胞研发

美容之生长因子研发

化妆品安全功效评价



美容产品之生长因子

因子的种类：

bFGF,

EGF,

rhSCGF,

KGF

制备提取：

工程菌的构建 → 发酵

纯化 → 纯度及生物活

性检测 → 冻干粉的制

备

产品研发：

保湿产品；

美白产品；

防晒修复产品

广州暨南生物医药研究开发基地有限公司
Guangzhou(Jinan)biomedicine reserch and develepment center

美容产品	用途	功用
表皮细胞生长因子 (EGF) Epidermal Growth Factor	美容产品、化妆品原料	- 修复表皮的作用 - 抗衰老 - 淡化色斑 - 平复皱纹 - 滋润
角质细胞生长因子 (KGF) Keratinocyto Growth Factor	美容产品、化妆品原料	-美白消斑、防皱祛皱，使皮肤红润光泽； -全面调节皮肤营养，使皮肤充满活力，富有弹性； -各种受损皮肤的快速、高效、完美修复。
碱性成纤维细胞生长 因子 (BFGF) Fibroblast Growth Factor	美容产品、化妆品原料	各种换肤、美容术后、激光、冷冻、纹眉、洗眉、暗疮等形成的创面、凹陷性疤痕以及衰老性皮肤抗皱处理
人胎盘提取液 Human placental Extract	美容产品、化妆品原料	-防皱祛皱； -调整皮肤代谢状况，使皮肤充满活力；
人脐带提取物 Human Umbilical Extract	美容产品、化妆品原料	-防皱祛皱，使皮肤红润光泽； -抗皮肤老化； -各种受损皮肤的修复。

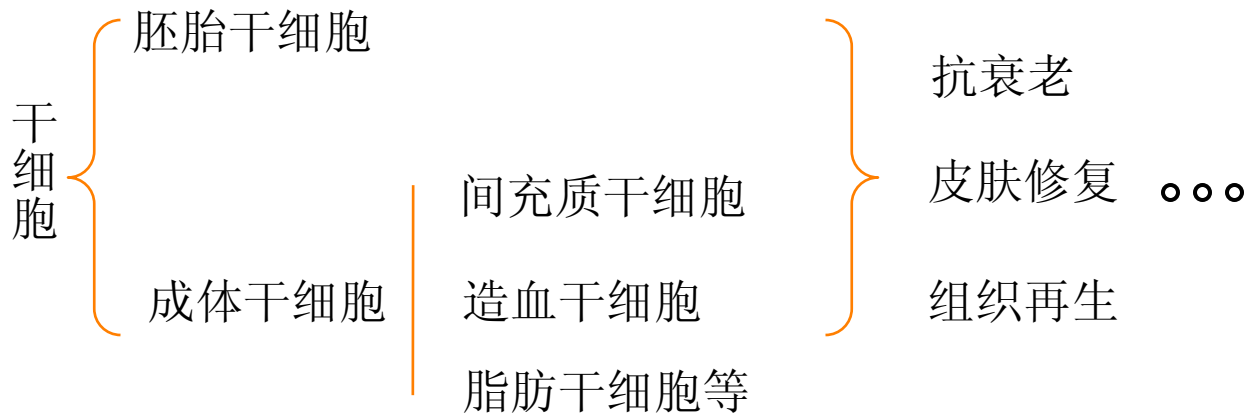


生长因子冻干粉产品

加有生物活性因子的产品

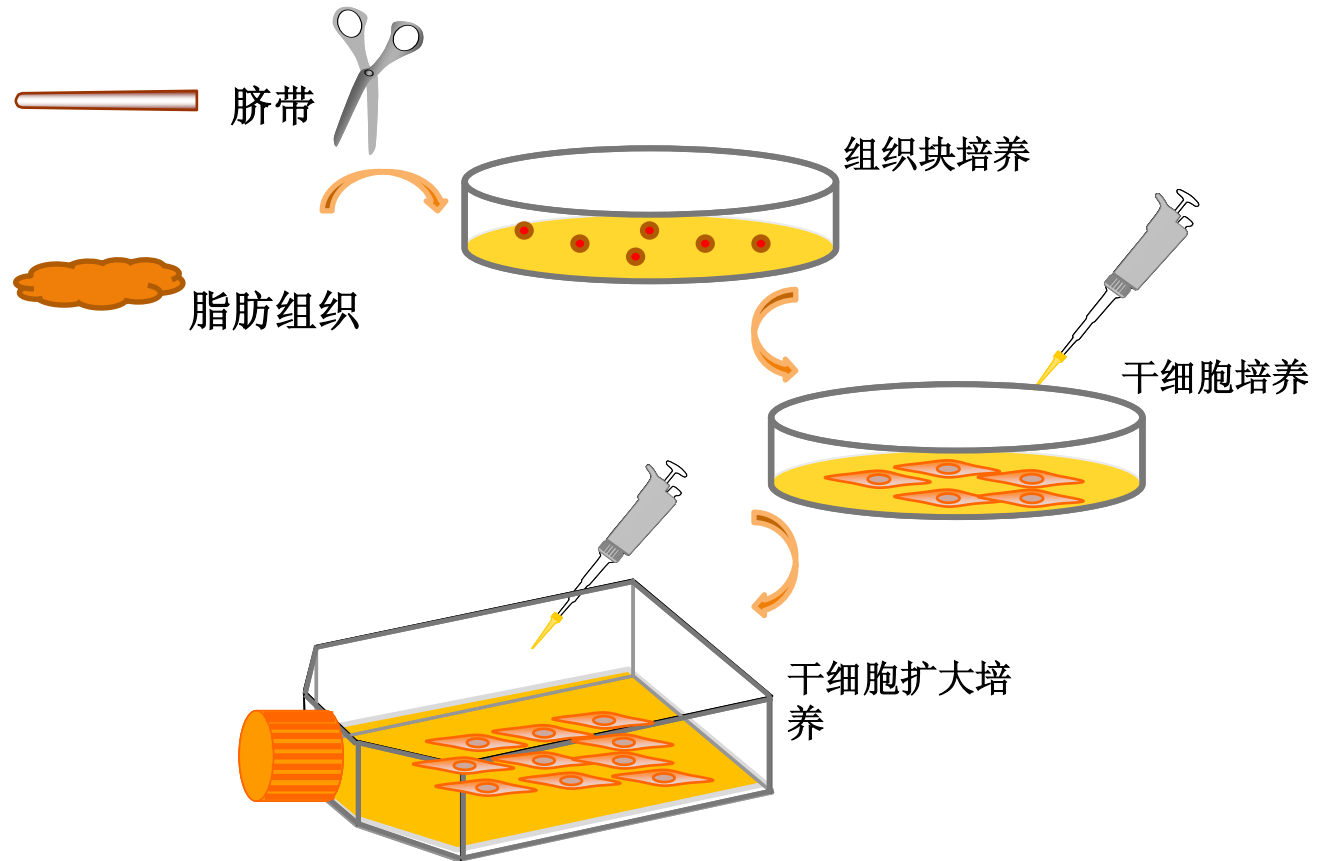


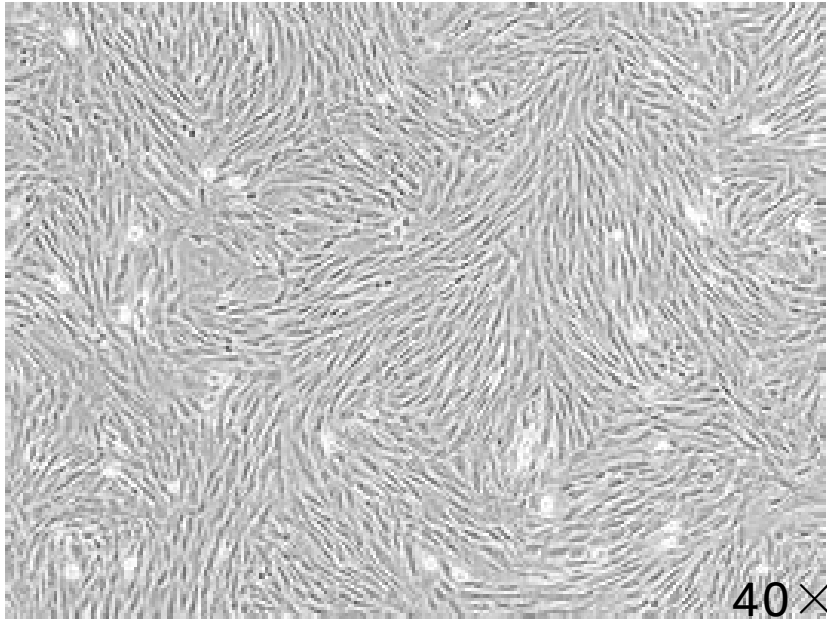
美容之干细胞



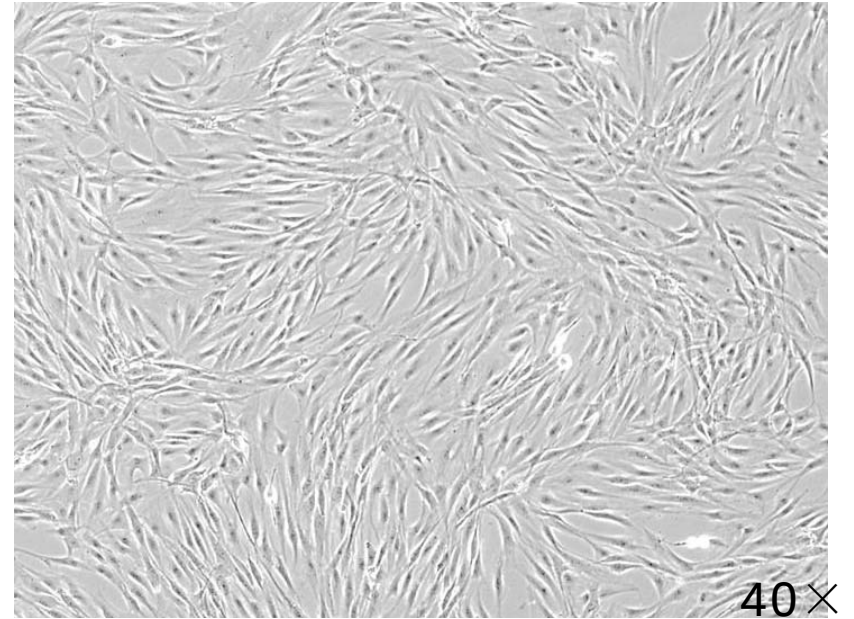
美容之干细胞

干细胞的分离培养技术





脐带间充质干细胞



脂肪干细胞



配方系列

冻干粉溶媒系列：针对不同功效需求，搭配不同的生长因子，提供功效性溶媒，如保湿加强型，美白型，紧致提升型等溶媒产品。

面膜液系列：保湿修复面膜，修复面膜，紧致面膜等产品

生长因子系列：EGF、KGF、BFGF、SCGF多种生长因子不同功效的产品

孕期护肤品配方：洁面、爽肤水、保湿乳液、膏霜、隔离防晒、体乳等

天然提取物产品系列：玫瑰花精油，岩藻多糖化妆品，海藻多糖化妆品

系列产品



冻干粉系列

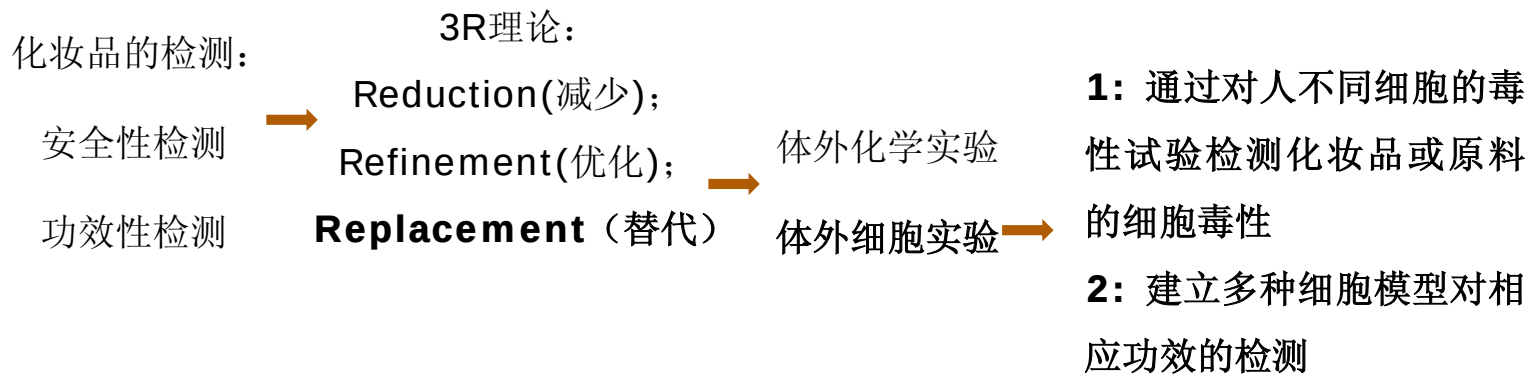


溶媒系列

化妆品安全性和功效性的体外评价



体外评价：是一种替代活体动物进行试验，以单细胞生物、微生物或细胞、组织、器官甚至电脑模拟等方法对化妆品产品或原料进行评价。



功效性体外评价

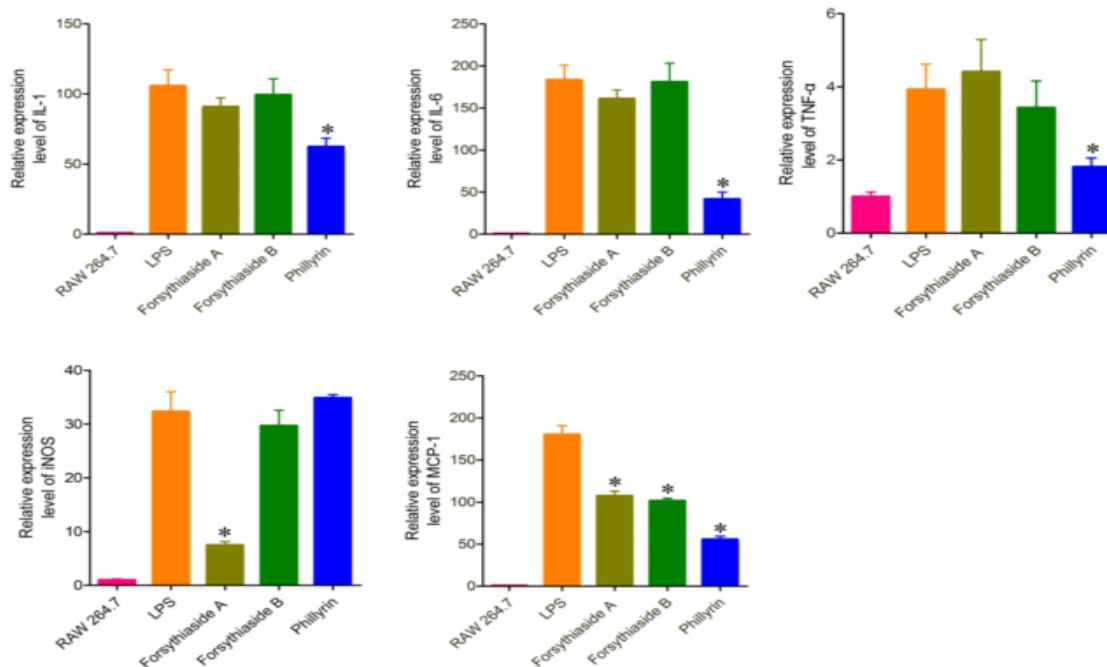
功效评价模型：采用多种类型细胞，结合不同的化学或物理手段，构建针对检测化妆品或其原料的相应功效的细胞模型，作为功效研究的替代动物实验的新的检测方法。

- 美白功效：小鼠黑素瘤细胞模型（酪氨酸酶活性抑制试验；黑色素形成试验）
- 炎症模型：小鼠巨噬细胞RAW264.7（LPS诱导）模型
- 辐射防护功效：UVA辐射3T3细胞/HaCat细胞模型
- 损伤修复功效：HaCat细胞的划痕实验
- 抗衰老模型：HaCat损伤模型（胶原酶I及羟脯氨酸的ELISA检测）结合炎症模型

炎症模型

RAW264.7鼠巨噬细胞经LPS脂多糖诱导后可释放出炎症因子，可作为体外抗炎实验的一个细胞模型。

RAW264.7细胞模型可评价化妆品对皮肤血管老化产生的炎症因子的作用

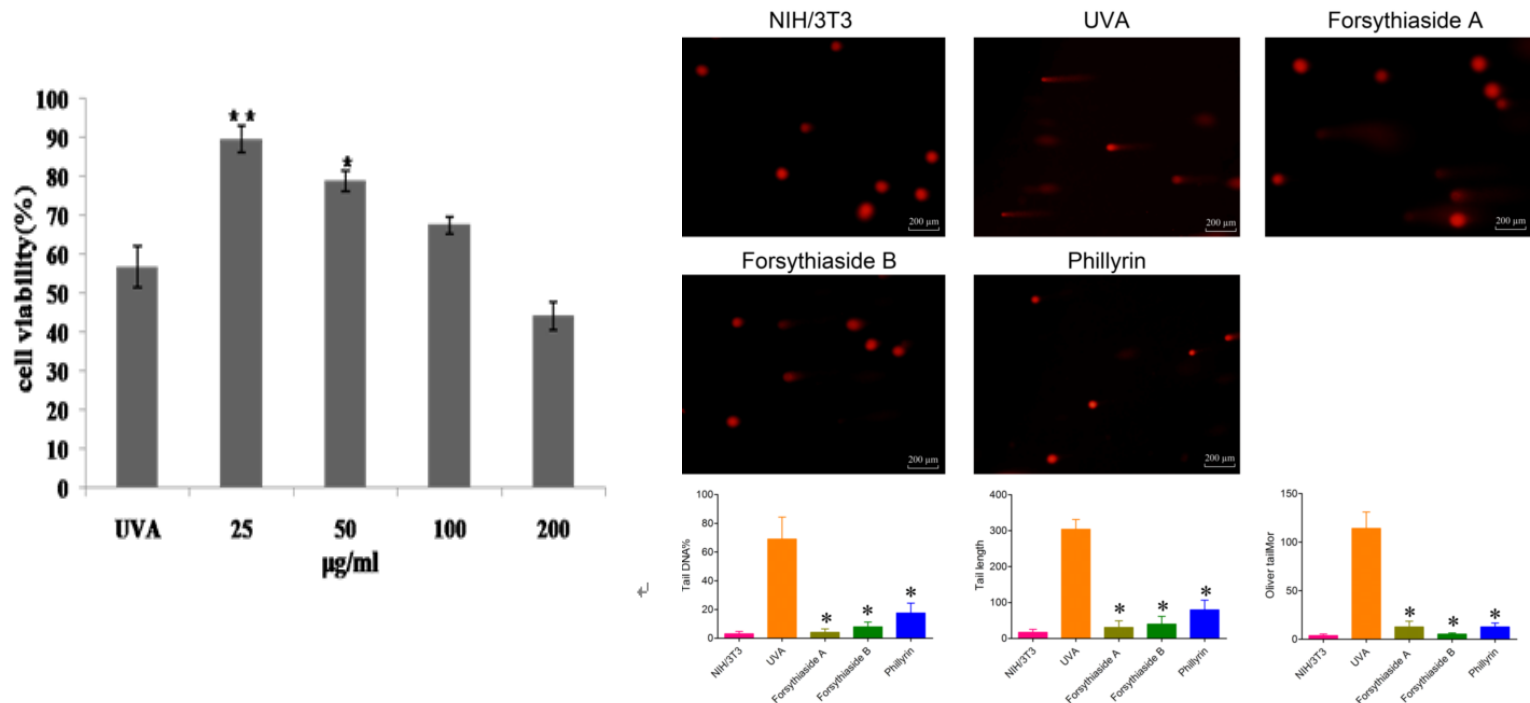


利用RAW264.7炎症模型对原料进行的抗炎效果评价，结果显示受试物对炎症因子IL-6, IL-1,TNF-α的表达均有显著地抑制作用

UVA辐射细胞损伤模型

成功构建了UVA辐射鼠成纤维细胞3T3及人角质细胞HACAT的损伤细胞模型。

用来体外检测化妆品对紫外辐射造成的细胞损伤（如细胞死亡，DNA损伤）的防护功效



结果显示了受试物对UVA对细胞增殖抑制的抵抗作用及DNA损伤的防护作用

抗衰老模型

利用成纤维细胞（HSF），人角质细胞（HaCat），对被检物质是否能提高人体皮肤成纤维细胞的1型胶原蛋白合成作用进行评价。

结合细胞损伤实验，检测受试物在细胞损伤修复的作用进行评价

分组	COL I			
	0H	6H	12H	24H
Normal	21.08 ± 2.1	40.31 ± 10.2	76.24 ± 2.9	100.76 ± 0.9
bFGF	27.96 ± 1*#	39.99 ± 10.6#	67.91 ± 5.4*	99.19 ± 2.8
EGP	68.81 ± 4.3*	71.48 ± 4.8	76.77 ± 10.8	110.25 ± 2.0

与Normal组比较，*P<0.05；与EGP组比较，#P<0.05

分组	Hyp			
	0H	6H	12H	24H
Normal	73.16 ± 6.2	76.35 ± 2.2	89.57 ± 6.9	110.72 ± 8.7
bFGF	82.16 ± 4.4#	93.93 ± 9.5	104.72 ± 4.7	129.83 ± 1.5#
EGP	97.58 ± 0.8*	107.18 ± 12.3*	107.32 ± 5.6	145.09 ± 16.7*

与Normal组比较，*P<0.05；与EGP组比较，#P<0.05

结果显示受试物对细胞的胶原酶I的合成具有显著地促进作用

美白功效检测模型

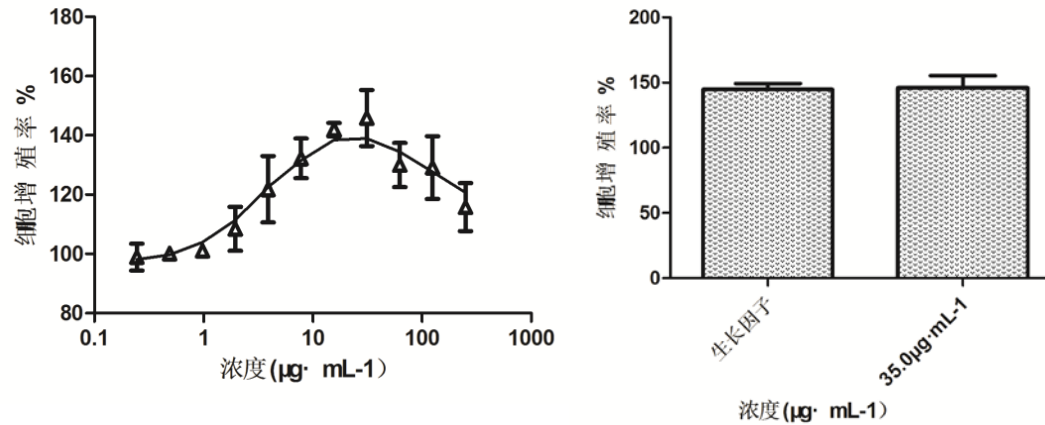
黑色素细胞受紫外辐射后，启动保护机制产生黑色素。黑色素可吸收紫外保护皮肤。但过量的黑色素会在皮肤上形成色素沉淀与色斑。因此化妆品原料和产品对黑色素的抑制作用时检验其美白效果的重要指标之一。

利用黑色素瘤细胞（**B16**）模型检测受试物对黑色素形成，以及相关的酪氨酸酶的活性抑制作用评价其美白功效。

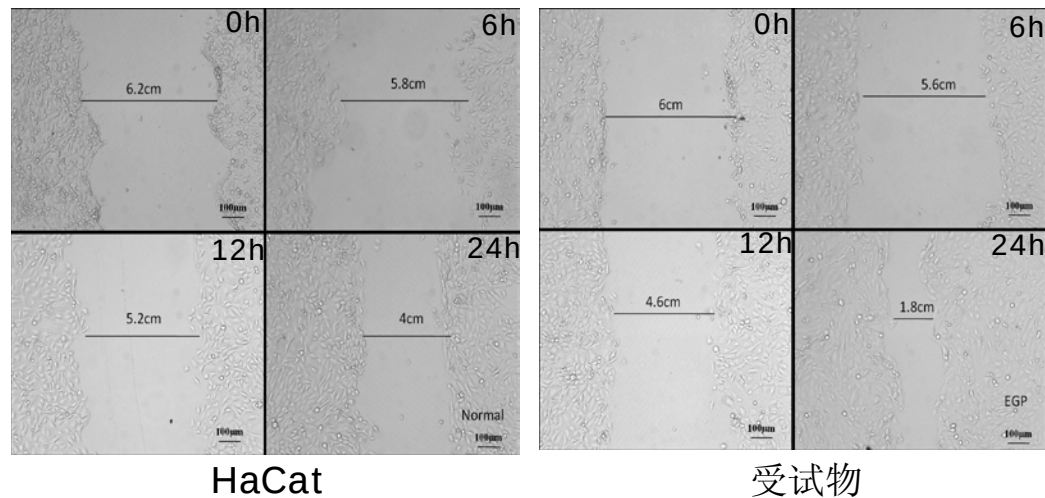
损伤修复模型

随着年龄的增加，皮肤接受外来环境（物理损伤，化学试剂等）的影响，造成皮肤的日益老化，在老化的过程中，细胞的损伤逐渐积累，进一步加速了皮肤老化。化妆品原料或产品是否对细胞的损伤具有修复功能，也是特殊功效的评价指标之一。

利用**HaCat**细胞建立划痕实验模型，检测受试物是否对细胞具有促增殖及修复划痕的作用，作为其是否具有修复皮肤损伤的辅助性依据。



A 受试物对HaCat具有显著的促增殖效果



B 受试物对细胞划痕具有明显的促愈合修复效果

安全性体外评价

➤ 细胞毒性评价:

利用不同的细胞，如表皮细胞，成纤维细胞，胚胎干细胞等，检测受试物对其的细胞形态，贴壁率以及细胞增殖等方面的影响，为受试物对皮肤或器官组织影响提供辅助性的检测依据

刺激性评价：成体干细胞模型，HaCat细胞模型

光毒性评价：UVA辐射小鼠成纤维细胞3T3损伤模型

➤ 检测方法:

细胞增殖的MTT检测实验；

BalB/C 3T3（HaCat）细胞中性红吸收实验；

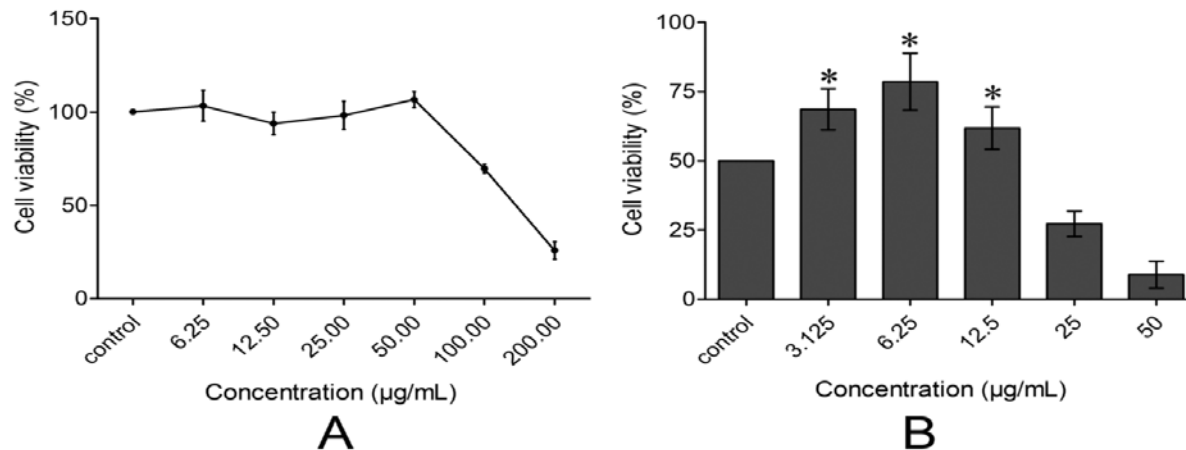
基因组损伤检测 Comet assay （预测遗传毒性）；

HepG2/蛋白含量检测实验（预测肝毒性）；

胚胎干细胞的增殖实验MTT法（预测对胚胎发育的毒性）

细胞增殖实验/MTT法

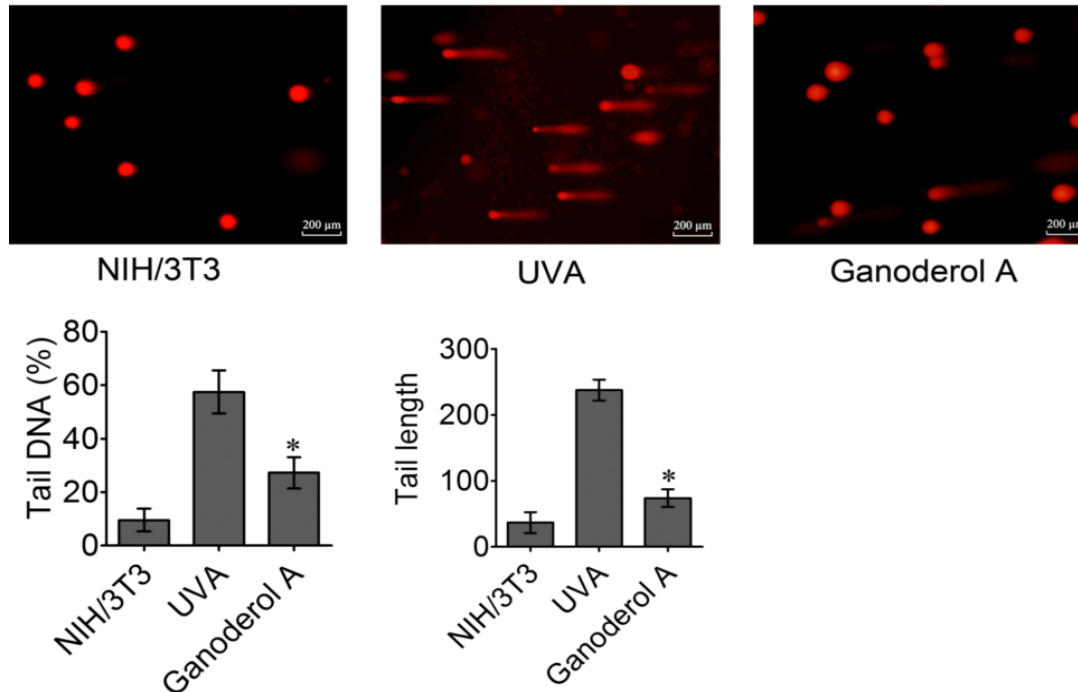
原理：**MTT**可被活细胞内的线粒体里的琥珀酸脱氢酶氧化为蓝紫色甲臞颗粒，颗粒产生量与活细胞的数量呈正比。**MTT-甲臞**溶于适当溶剂后机壳采用分光光度计进行定量测定。以此得到细胞的存活率，来衡量受试物对细胞增殖的毒性作用。



图中数据显示受试物在不同浓度对细胞的增殖率的影响，可以看出在高浓度对细胞具有抑制增殖的毒性作用

DNA基因组损伤实验 Comet assay

原理：细胞经过化学因素，UV辐射等处理，可导致细胞基因组的损伤，是得细胞DNA断裂，经过凝胶电泳后染色，在显微镜下可观察到细胞基因组呈彗星状。可以对受试物进行遗传毒性评价的辅助依据。



广州暨南生物医药研究开发基地有限公司
Guangzhou(Jinan)biomedicine reserch and develepment center

合作高校

中国科学院

耶鲁大学医学院干细胞中心

日本长崎大学

日本山梨大学

美国彼得堡大学

美国克莱姆森大学

美国密西西比大学国家天然产物研究中心

合作企业



谢
谢

