

团 体 标 准

T/LNPC 019-2024

化妆品原料修护功效评价试验方法

Test method for rehabilitation efficacy of cosmetic ingredients

2024 年 12 月 23 日 发布

2024 年 12 月 30 日 实施

辽宁省品牌建设促进会 发 布

目 次

前 言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 原理 1

5 仪器及设备 1

6 试剂和耗材 1

7 试验步骤 1

 7.1 体外模型的准备 1

 7.2 给予化妆品原料 2

 7.3 活细胞成像 2

8 结果计算 2

9 结果判定 2

参 考 文 献 3

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》、GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的规定起草。

本文件由辽宁省品牌建设促进会提出并归口。

本文件提出单位：肽悦（沈阳）生物科技有限责任公司

本文件起草单位：肽悦（沈阳）生物科技有限责任公司、辽宁省药品检验检测院、沈阳药科大学、辽宁花青农业科技有限公司、中科院沈阳应用生态研究所、辽宁天安生物制药股份有限公司

本文件主要起草人：王福鑫、周训勇、张怡轩、赵龙山、李嘉文、矫筱蔓、刘智勇、徐秋阳、李莹、孔祥翔、马冬梅、张智琦、张轶、张国英、王雅琼

化妆品原料修护功效评价试验方法

1 范围

本文件规定了基于体外人皮肤模型的化妆品原料的修护功效试验方法。
本文件适用于具有生物学修护作用的化妆品原料修护功效试验。
本文件可作为化妆品原料修护功效试验方法之一，对化妆品原料修护功效进行评价。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

受损后的皮肤屏障不仅无法有效阻止外界的不良物质和病原菌的侵入，还可能导致皮肤干燥、过敏等不良反应。皮肤屏障功能的破坏涉及角质层和真皮层。细胞在接收到迁移信号或感知到某些化学物质的浓度梯度后，会产生移动。这一过程参与了许多生理和病理的活动。在单层细胞培养中人为制造一个空白区域，称为“划痕/伤口”，其边缘的细胞会逐渐生长迁移至空白区域，促使“划痕/伤口”愈合。

本文件旨在构建“划痕/伤口”模型，通过检测加入化妆品原料后不同时间点细胞的愈合率，评价化妆品原料是否对皮肤有修复功效。

5 仪器及设备

- 5.1 生物安全柜。
- 5.2 倒置显微镜。
- 5.3 CO₂培养箱：37℃，95%相对湿度、5% CO₂/空气。
- 5.4 分析天平：精度 0.1mg。
- 5.5 微量移液器：5000 μL、1000 μL、200 μL、20 μL。

6 试剂和耗材

- 6.1 人皮肤成纤维细胞（HSF 细胞）。
- 6.2 HSF 细胞专用培养基。
- 6.3 0.25%胰蛋白酶（无菌）。
- 6.4 PBS 磷酸盐缓冲液（无菌）。
- 6.5 细胞划痕试验插件（无菌）。

7 试验步骤

7.1 体外模型的准备

7.1.1 细胞培养

将人真皮成纤维细胞用胰蛋白酶作用5min~10min后，用培养基终止消化，巴氏吸管吹打细胞使其成为单细胞悬液。加入适量培养基稀释细胞悬液使其密度约为 1×10^4 个/mL。将细胞划痕试验插件（2孔）插件置于24孔板底部，用微量移液器吸取细胞悬液接种到插件的孔中，然后置于CO₂培养箱培养约48h。

7.1.2 制造划痕

待细胞生长到融合度为95%时，取出插件，24孔板底部即产生均一的无细胞间隙。

7.2 给予化妆品原料

试验设置对照组和化妆品原料组。称取一定量的化妆品原料，将其用HSF细胞专用培养基稀释到试验浓度。化妆品原料浓度：通过细胞毒性检测试验确定化妆品原料的浓度范围。

用微量移液器吸干24孔板内的培养基；加入0.5mLPBS清洗细胞一次，再吸干各孔。对照组每孔加入0.5mLHSF细胞专用培养基，化妆品原料组每孔加入0.5mL含有化妆品原料的培养基。随后将24孔板置于CO₂培养箱中继续培养24h和48h。

7.3 活细胞成像

在给予化妆品原料后的0h、24h和48h分别对制造的间隙在显微镜下进行观察和拍摄，并使用软件对细胞间隙面积进行测量。

8 结果计算

$$hr = (S_{终} - S_{初}) / S_{初} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中：

hr：愈合率，%；

$S_{终}$ ：最终间隙面积；

$S_{初}$ ：初始间隙面积。

9 结果判定

符合以下条件说明化妆品原料具有修护功效：

与对照组相比，化妆品原料组的愈合率大于对照组，且具有显著性差异（ $p < 0.05$ ）。

参 考 文 献

- [1] 国家药品监督管理局. 化妆品安全技术规范2015版. 2015年12月23日.
 - [2] 国家药品监督管理局. 化妆品功效宣称评价规范. 2021年4月9日.
-