



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106255490 B

(45)授权公告日 2019.10.01

(21)申请号 201580023077.3

(22)申请日 2015.04.30

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 106255490 A

(43)申请公布日 2016.12.21

(30)优先权数据
1453973 2014.04.30 FR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2016.10.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2015/059544 2015.04.30

(87)PCT国际申请的公布数据
W02015/166063 FR 2015.11.05

(73)专利权人 皮埃尔·法布尔皮肤化妆品公司
地址 法国布洛涅-比扬古

(72)发明人 S·普瓦尼 H·埃尔南-皮金
J-H·索拉 G·卡亚

(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
代理人 程伟 李媛

(51)Int.Cl.
A61K 8/73(2006.01)
A61Q 19/08(2006.01)
A61K 31/737(2006.01)
A61P 17/02(2006.01)
A61K 31/728(2006.01)

审查员 张溢

权利要求书1页 说明书9页 附图2页

(54)发明名称

透明质酸和硫酸化多糖的组合

(57)摘要

本发明涉及一种组合,其包含透明质酸或其盐和分子量为5至25kDa的硫酸化多糖,其特别地用于对抗皮肤老化体征或用于治疗 and 愈合皮肤伤口。

1. 一种组合,其包含具有60至120 kDa的重量平均分子量的透明质酸或其盐和具有5至25 kDa的分子量的硫酸化多糖,所述硫酸化多糖选自硫酸化岩藻聚糖,其中透明质酸和多糖的质量比为5:3至10:1。

2. 根据权利要求1所述的组合用于制备旨在促进成纤维细胞增殖的局部药物的用途。

3. 根据权利要求1所述的组合在制备用于对抗皮肤老化体征的局部组合物中的用途。

4. 根据权利要求1所述的组合用于制备旨在治疗皮肤损伤的局部药物的用途。

5. 根据权利要求1所述的组合用于制备旨在改善皮肤愈合和恢复的局部药物的用途。

6. 一种皮肤病学或化妆品组合物,其包含作为活性成分的根据权利要求1所述的组合,和至少一种皮肤病学或化妆品学上可接受的赋形剂。

7. 根据权利要求6所述的组合物,其特征在于其进一步包含其他活性成分。

8. 根据权利要求7所述的组合物,其特征在于其他的活性成分选自抗氧化剂、愈合剂、舒缓剂、止痒剂、抗自由基剂、抗UV剂、刺激真皮大分子合成或能量代谢的试剂、保湿剂、脱色剂、抗细菌剂、抗真菌剂、抗炎剂、麻醉剂及其混合物。

9. 根据权利要求7所述的组合物,其特征在于其他的活性成分为视黄醛。

10. 根据权利要求7所述的组合物,其特征在于其他的活性成分为 δ -生育酚-吡喃葡萄糖苷。

11. 根据权利要求6所述的化妆品组合物在制备用于对抗皮肤老化体征的局部组合物中的用途。

12. 根据权利要求6所述的皮肤病学组合物用于制备旨在治疗割伤、缝合、擦伤、划伤、刮伤、手术后的疤痕或皮肤美容操作后的疤痕、浅表烧伤、晒伤的药物的用途。

透明质酸和硫酸化多糖的组合

技术领域

[0001] 本发明涉及透明质酸(acide hyaluronique)或其盐和低分子量硫酸化多糖(polysaccharide sulfaté)的新型组合;并且涉及所述组合在抗老化和愈合领域中的用途。

背景技术

[0002] 透明质酸(AH)为皮肤中具有最重要作用的分子。事实上,透明质酸为细胞外基质的主要组分。后者是指结缔组织的细胞外大分子的集合。其主要由糖蛋白、纯蛋白以及葡糖胺聚糖组成。AH为由重复的二糖单元构成的直链非硫酸化葡糖胺聚糖,所述二糖单元自身由在二聚体间以交替的 β 1-3和 β 1-4糖苷键连接的D-葡萄糖醛酸和N-乙酰基-D-葡糖胺构成(Tammi R.,Agren U.M.,Tuhkanen A.L.,Tammi M.Hyaluronan metabolism in skin.Progress in Histochemistry&Cytochemistry 29(2):1-81,1994)。在其天然形式中,AH为聚合物,其具有600,000Da至3MDa的非常高的分子量(Toole BP.Hyaluronan:from extracellular glue to peracellular cue.Nat Rev Cancer 2004,4:538-539)。

[0003] 随着年龄增长,AH的量和聚合度下降,导致更少的水保留在细胞外基质中。然后,皮肤经历老化过程,这导致纤维化的增加和弹性纤维含量的下降。在老化过程中,观察到皮肤结构和功能的改变。这种老化本质上是生理的,但也可以是光诱导的,即,由于皮肤在日光特别是紫外线下的反复暴露。皮肤老化的主要临床体征(signes clineques)为随着年龄显著增长的纹路和深皱纹的出现。沟纹和皱纹变得明显;皮肤变得凹陷并失去其紧实度;在表面上,皮肤失去其光泽。

[0004] 硫酸化多糖尤其包含具有5至25kDa的分子量的硫酸化岩藻聚糖(fucanes sulfatés)和硫酸化石莼聚糖(ulvanes sulfatés)。

[0005] 这些低分子量硫酸化多糖具有有利的生化性质:抑制胶原和弹性蛋白的降解,重构,抗炎作用和诱导AH的产生。

[0006] 在老化期间,成纤维细胞开始衰老,并且它们的增殖能力大大降低。因此,实际上能够刺激这些细胞重新增殖是经研究用于对抗皮肤老化的一种路径。

[0007] 此外,伤口愈合是一种复杂且动态的生物过程,其调动了在正常组织修复中的许多局部和全身要素的相互作用。愈合以三个相互依赖的阶段进行:止血和炎症,增殖和重塑(General principles of wound healing.Witte MB,Barbul A.Surg Clin North Am.1997Jun;77(3):509-28.)。增殖涉及三个清晰可见的过程:肉芽化、收缩和再上皮化。

[0008] 在肉芽化期间,观察到细胞的增殖和向创面的迁移,这将干预其余的修复过程。因此,在此处发现了巨噬细胞、成纤维细胞和内皮细胞。巨噬细胞不断释放趋化因子和生长因子。成纤维细胞在伤口基部构建细胞生长所必需的新的细胞基质。这种骨架支撑细胞迁移。最终,内皮细胞触发血管芽的形成,所述血管芽将构成新的毛细血管,所述毛细血管将恢复灌注,并确保伤口中细胞的代谢活动所必需的氧气和营养物质的供应。

[0009] 伤口收缩是减小伤口尺寸的机制,成纤维细胞在这种收缩中发挥主导作用。

[0010] 再上皮化在于覆盖伤口的表皮的再生,以形成对抗外部环境的有效屏障,能够变得有颜色,并恢复其感觉和免疫功能。因此,其涉及角化细胞迁移和增殖的细胞过程,也涉及这种新上皮的分化和连接真皮与表皮的基膜的恢复。当基底细胞向着伤口中心迁移使得伤口的两个边缘接触时,发生一波细胞有丝分裂,以填充迁移所留下的空间,并在三维再生中为上皮组织提供细胞。

[0011] 角化细胞、成纤维细胞或内皮细胞的增殖阶段可以被认为是显示活性试剂的愈合活性的功能现象之一。升高的成纤维细胞增殖将参与深的伤口(抵达真皮)的愈合,而升高的角化细胞增殖将参与再上皮化。

[0012] 仍然需要提出用于对抗皮肤老化体征的新型化妆品组合物。

[0013] 申请人已表明透明质酸和低分子量硫酸化多糖对成纤维细胞增殖的协同作用的存在。这种活性在抗老化领域以及在组织再生和皮肤损伤愈合中是特别有利的。

发明内容

[0014] 本发明的目的在于一种组合,其包含透明质酸或其盐和具有5至25kDa分子量的硫酸化多糖。

[0015] 在本发明的情况下,术语“透明质酸”、“透明质酸片段”、“AH”和“透明质酸(hyaluronane)”可互换使用,以指代透明质酸。当透明质酸为盐形式时,其被称作透明质酸盐。

[0016] 在本发明的一个特别的实施方案中,组合包含透明质酸或其盐,所述透明质酸或其盐的重量平均分子量(Mw)将为50,000至750,000Da。

[0017] 在本发明的一个特别的实施方案中,AH片段或其盐的特征在于60至120kDa的重量平均分子量,通过组合了尺寸排阻色谱(SEC)和多角度光散射光度计(MALS)的分析方法测量所述分子量,所述多角度光散射光度计与粘度计(VIS)和差示折光计(RI)相结合。

[0018] 在一个特别的实施方案中,其将为透明质酸钠。

[0019] 可以使用欧洲药典的方法测量AH或其盐的分子量,所述方法用Ubbelohde毛细管粘度计测量特性粘度(参见欧洲药典7.6,透明质酸钠专论参考文献:01/2011:1472)。然后,该粘度值通过Mark-Houwink关系与平均分子量相关联。这种方法耗时长,并且需要完美的再现性。

[0020] 在本发明的情况下,通过SEC-MALS-VIS-RI方法测量AH或其盐的重量平均分子量,所述方法为组合了尺寸排阻色谱(SEC)和多角度光散射光度计(MALS)的分析方法,所述多角度光散射光度计与粘度计(VIS)和差示折光计相结合。这种技术能够获得重量平均分子量(Mw)。

[0021] 这种技术能够以精确和可再现的方式表征AH的分子量(Stepan Podzimek等人 Solution of Hyaluronic Acid and Comparison of SEC-MALS-VIS Data with Off-line Capillary Viscometry. Journal of Applied Polymer Science.2009)。

[0022] 在将聚合物溶液注入色谱系统后,组合了MALS检测器的尺寸排阻色谱(SEC)能够在色谱柱中按尺寸分离这些聚合物,通过光散射测量该尺寸,并使用差示折光计或UV光谱仪将它们量化。

[0023] • 将透明质酸或其盐溶解于0.1M NaCl水溶液中,然后在填充有聚苯乙烯-二乙烯

基苯珠粒的柱上洗脱,所述珠粒具有校准孔径。大的聚合物链不会进入所有的孔,因此将在小链之前被洗脱。

[0024] • MALS检测器测量在不同角度的入射光的散射。这些角度能够通过外推测量 R_0 ,所述 R_0 是在0度角的散射。 R_0 与分子尺寸直接成比例。

[0025] • 根据以下等式(1),差示折光计的 S_i 响应与具有聚合度 i 的聚合物的总质量 C_i 成比例:

$$[0026] S_i = K' \cdot dn/dc \cdot C_i$$

[0027] 其中: S_i 因此为差示折光计的响应,

[0028] K' 为与装置相关的常数,和

[0029] C_i 为具有聚合度 i 的聚合物的总质量(重量)($C_i = N_i \times M_i$),

[0030] N_i 为摩尔质量 M_i 的链的数量。

[0031] 此外,折射率增量 dn/dc 为被研究的聚合物的特定值。

[0032] 该 dn/dc 比例可以根据用透明质酸钠示例的以下方案来测量。

[0033] a/装置和溶液的制备:

[0034] 在折光计上进行测量,所述折光计如具有氩-氦激光($\lambda=633\text{nm}$)作为入射光源的Brice-Phoenix模型。

[0035] 通过称重独立地制备待研究的各种聚合物浓度(在溶液中的持续时间=24小时)。然后,使用折光计测量各自的折射率(dn)。

[0036] b/结果

[0037] 结果以图形 $dn=f(\text{浓度})$ 的形式呈现(参见图1)。然后,确定类型 $Y=A+B \cdot X$ 的线性回归。

[0038] 对于透明质酸钠,经确定的值 A 和 B 分别为 $A=-2.030$ 和 $B=14927.911$ 。

[0039] 因此, dn/dc 比例对应于 $k \times B$,其中 k 为设备的常数,其在该示例中等于 $0.97 \cdot 10^{-5}$ 。

[0040] 对于透明质酸钠,从而以 $0.97 \cdot 10^{-5} \times 14927.911=0.145\text{ml/g}$ 评价 dn/dc 。

[0041] 下面的公式给出了所有测量的参数之间的关系:

$$[0042] R_0 = K \cdot C_i \cdot M_i$$

[0043] 其中: R_0 为散射角为0时的瑞利比,

[0044] K 为装置的常数,

[0045] C_i 为注射的溶液的聚合物的总质量,所述聚合物具有聚合度 i [根据等式(1)计算],

[0046] 和 M_i 为所寻找的聚合物链的摩尔质量。

[0047] 然后,可以根据下式计算重量平均分子量 M_w :

$$[0048] M_w = \frac{\sum C_i M_i}{\sum C_i}$$

[0049] 所有的分子量均以道尔顿表示。

[0050] 可以根据本领域技术人员已知的方法之一(如在文献EP 1987153中提及的那些)获得作为本发明目的的透明质酸或其盐。

[0051] 主要通过细菌发酵以工业方式获得AH:通过细菌合成透明质酸丝。

[0052] 因此,在本发明的一个特别的实施方案中,使用经选择的细菌菌株通过细菌发酵获得天然AH,所述AH通常具有1MDa至2MDa范围的高的分子量。

[0053] 然后,可以将获得的聚合物与细菌分离。然后将溶液纯化,然后通过受控酸水解将其水解,直至获得所期望的分子量。

[0054] 对于透明质酸钠的制备,将通过加入NaOH进行中和步骤。

[0055] 透明质酸盐将优选为透明质酸钠。

[0056] 在本发明的情况下,低分子量硫酸化多糖可以选自具有5至25kDa的分子量的硫酸化岩藻聚糖和硫酸化石莼聚糖。

[0057] 硫酸化岩藻聚糖为包含硫酸化L-岩藻糖的多糖。可以特别地从褐藻中,例如从岩藻目(Fucales)或昆布目(Laminariales)中提取这些多糖。

[0058] 硫酸化石莼聚糖为硫酸化阴离子多糖,所述多糖包含分布在重复基序(motifs)中的糖醛酸(例如葡糖醛酸、艾杜糖醛酸)和能够被硫酸化的糖(例如3-硫酸鼠李糖酯、3-硫酸半乳糖酯、3-硫酸木糖酯、3-硫酸葡萄糖酯)。主要基序为:

[0059] -石莼二糖醛酸酸3-硫酸盐(1' acide 3-sulfate ulvanobiuronique)类型A,其由通过1→4型键与β-D-葡萄糖醛酸连接的α-L-鼠李糖3-硫酸盐组成,和

[0060] -石莼二糖醛酸酸3-硫酸盐类型B,其由通过1→4型键与α-L-艾杜糖醛酸连接的α-L-鼠李糖3-硫酸盐组成。

[0061] 可以特别地从石莼或浒苔品种(石莼属(Ulva sp.)和浒苔属(Enteromorpha sp.))的绿藻中提取石莼聚糖。

[0062] 根据一个特别的实施方案,低分子量硫酸化岩藻聚糖如在WO 2010/086197中所描述。

[0063] 可以提及由藻类球型褐藻(Ascophyllum nodosum)中提取的专利市售产品Ascophyscient[®](Algues et Mer)。

[0064] 根据另一个特别的实施方案,低分子量硫酸化石莼聚糖如在WO 2013/150253中所描述。

[0065] 还可以提及由Green Tech销售的级分QT40[®],其基于来自藻类石莼莴苣(Ulva lactuca)的特别的低聚糖:磺基-低聚鼠李糖葡萄糖酸聚糖(sulpho-oligorhamnoglucuronane)。

[0066] 根据本发明的一个特别的实施方案,透明质酸与多糖的质量比为0.1至10。

[0067] 根据本发明的另一个特别的实施方案,透明质酸与多糖的质量比为0.5至5,优选为0.5至2。

[0068] 本发明进一步涉及一种透明质酸或其盐和根据本发明的低分子量硫酸化多糖(即具有5至25kDa的分子量)的组合,其用于促进成纤维细胞增殖的用途。

[0069] 本发明还涉及一种化妆品组合物,其包含作为抗老化活性成分的透明质酸或其盐和具有5至25kDa分子量的硫酸化多糖的组合,并且进一步包含至少一种化妆品学上可接受的赋形剂。

[0070] 优选地,化妆品学上可接受的赋形剂适合于局部施用。

[0071] 特别地,可接受的赋形剂能够确保良好的稳定性和舒适的质地与感觉。它们还可以为例如在化妆品中已知和常规使用的配制剂或添加剂:可以提及表面活性剂、着色剂、防腐剂、芳香剂、成膜剂、增稠剂等。

[0072] 抗老化组合物可以为通常已知用于在皮肤上局部施用的形式,即,特别是霜剂、乳剂、洗剂、精华素、面膜、皱纹填充剂、眼线膏等。

[0073] 本发明的目的在于根据本发明的组合的化妆品用途或根据本发明的该化妆品组合物用于对抗皮肤老化体征的化妆品用途。更特别地,根据本发明的组合的化妆品用途或根据本发明的化妆品组合物的化妆品用途旨在将物质恢复至皮肤,增强其紧实度,并显著减少明显的皱纹和深沟纹。

[0074] 本发明还涉及一种用于对抗皮肤老化体征的方法,其包括向需要其的人的施用,优选局部施用有效量的根据本发明的组合或根据本发明的化妆品组合物。

[0075] 本发明的另一个目的涉及一种皮肤病学组合物,其旨在加速皮肤修复从而恢复皮肤的完整性和质量,其包含作为皮肤病学或化妆品活性成分的透明质酸或其盐和上述分子量为5至25kDa的硫酸化多糖的组合,并且进一步包含至少一种皮肤病学或化妆品学上可接受的赋形剂。

[0076] 在本发明的一个优选的实施方案中,组合物旨在用于局部施用。

[0077] 皮肤病学上(药学上)或化妆品学上相容的赋形剂可以为本领域技术人员已知的任何赋形剂,所述赋形剂用于获得乳液、霜剂、香膏、油剂、洗剂、凝胶剂、发泡凝胶剂、软膏、喷雾剂等形式的用于局部施用的组合物。

[0078] 在一个优选的实施方案中,组合物将为霜剂或软膏的形式。

[0079] 在一个特别的实施方案中,根据本发明的皮肤病学和化妆品组合物包含至少一种其他的活性成分。

[0080] 这种其他的活性成分可以特别地选自抗老化剂、愈合剂、舒缓剂、止痒剂、抗氧化剂、抗自由基剂、抗UV剂、刺激真皮大分子合成或能量代谢的试剂、保湿剂、脱色剂、抗菌剂、抗真菌剂、抗炎剂或麻醉剂。

[0081] 根据一个特别的实施方案,根据本发明的组合物(优选化妆品组合物)进一步包含视黄醛。这种补充的抗老化活性剂是视黄酸的直接前体,具有直接细胞代谢再活化剂作用。视黄醛增加AH受体的表达,CD44,并诱导AH合成。

[0082] 因此,根据本发明的组合物包含透明质酸或其盐、低分子量硫酸化多糖和视黄醛的组合。这种组合在真皮-表皮连接和乳突真皮层中具有重构和再致密化作用。

[0083] 根据本发明的另一个实施方案,组合物将进一步包含生育酚衍生物,所述生育酚衍生物包括 δ -生育酚-吡喃葡萄糖苷:其强大的抗氧化作用保护皮肤并保持其光泽。

[0084] 因此,根据本发明的组合物包含透明质酸或其盐、低分子量硫酸化多糖和 δ -生育酚-吡喃葡萄糖苷的组合。

[0085] 根据另一个特别的实施方案,其他的活性成分将选自愈合剂、舒缓剂及其混合物。这种活性成分将优选用在皮肤病学组合物中。

[0086] 最后,本发明的另一个目的涉及一种透明质酸或其盐和低分子量硫酸化多糖的组合,或根据本发明的含有所述组合的皮肤病学组合物,其作为药物(更特别地皮肤病学药物)的用途,所述药物特别地旨在用于治疗 and 愈合皮肤损伤。

[0087] 本发明还涉及透明质酸或其盐和具有5至25kDa分子量的硫酸化多糖的组合在制备药物(更特别地皮肤病学药物)中的用途,所述药物特别地旨在用于治疗 and 愈合皮肤损伤。

[0088] 本发明还涉及一种用于治疗和愈合皮肤损伤的方法,其包括向需要其的人的施用,优选局部施用有效量的透明质酸或其盐和具有5至25kDa分子量的硫酸化多糖的组合或根据本发明的含有所述组合的皮肤病学组合物。

[0089] 根据本发明的皮肤病学和化妆品组合物特别地旨在用于皮肤的护理,所述皮肤受损于:

[0090] • 在侵入性操作/治疗之后:有或无缝合的手术操作(撕除手术(exérèsis)、削除手术(shavings))、冷冻疗法、激光消融、中度或深度去皮(peelings)、美塑疗法(mésotherapie)、刮除术(curettage),

[0091] • 浅表割伤或烧伤的创伤后阶段(post traumatique),

[0092] • 在需要愈合产品的浅表(非侵入性)操作之后,所述愈合产品加速皮肤恢复,用于长期使用(直至皮肤的完全修复),

[0093] • 在轻微的外部损伤之后:浅表擦伤,晒伤。

[0094] 根据本发明的皮肤和粘膜损伤的治疗可以特别地包括割伤、缝合、擦伤、划伤、刮伤、手术后的疤痕或皮肤美容操作后的疤痕、浅表烧伤、晒伤的治疗。

[0095] 本发明进一步涉及根据本发明的化妆品组合物旨在改善愈合和皮肤修复的用途。

[0096] 在阅读以下的结果后将更好地理解本发明,所述结果阐明本发明但并不限制其范围。

附图说明

[0097] 图1显示透明质酸钠随浓度c变化的折射率dn。

[0098] 图2显示100和1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的根据本发明的AH(HAF120)以及10和100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的Ascophyscient[®]对成纤维细胞增殖的作用。*: $p<0.05$ 和**: $p<0.01$ 。实验代表三个独立的实验。

[0099] 图3显示100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的根据本发明的AH(HAF120)、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的Ascophyscient[®]及其组合对成纤维细胞增殖的作用。*: $p<0.05$ 。实验代表三个独立的实验。

[0100] 图4显示1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的根据本发明的AH(HAF120)、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的Ascophyscient[®]及其组合对成纤维细胞增殖的作用。*: $p<0.05$ 和**: $p<0.01$ 。实验代表三个独立的实验。

具体实施方式

[0101] 实施例

[0102] 具有60至120kDa的重量平均分子量的透明质酸钠片段(HAF120)和具有低分子量(5-25kDa)的硫酸化岩藻聚糖的组合对成纤维细胞增殖的药理学评价

[0103] 方案:

[0104] 所使用的技术为在37°C在S期细胞的ADN中掺入核苷酸5-溴-2'-脱氧尿苷(BrdU),一种胸苷类似物。该技术能够将细胞量化,所述细胞在细胞周期中的进展具有增殖细胞的特征(S期或ADN合成期)。

[0105] 通常在含有10%SVF(胎牛血清)的DMEM(杜氏改良伊格尔培养基)中培养从手术废弃皮肤中分离的FNH(正常人类成纤维细胞)。在我们的实验条件下,在含有3%SVF的DMEM中

制备待测试产品的稀释液。

[0106] 首先,使细胞失去SVF持续24小时,以使细胞增殖停止,然后将它们在待评价分子的存在下在37°C在5%CO₂气氛中温育44小时。

[0107] 通过抗-BrdU抗体系统(Roche Applied Science)评价BrdU掺入,所述BrdU掺入与细胞增殖速率成比例。在450nm测量相应的吸光度(DO)。因此,该数据与细胞增殖速率成比例。

[0108] 所评价的活性剂如下:

[0109] -阳性对照:10ng/ml的EGF(表皮生长因子)

[0110] -专利市售产品 **Ascophyscient**[®] (Algues et Mer):10和100µg/ml(分别对应于0.001%和0.01%)

[0111] - 60-120kDa的根据实施例1的透明质酸钠:100和1000µg/ml(分别对应于0.01和0.1%)

[0112] -组合,其包含分别为以下各浓度的 **Ascophyscient**[®] 和60-120kDa的透明质酸钠:

[0113] - 10µg/ml+100µg/ml,

[0114] - 10µg/ml+1000µg/ml。

[0115] 结果的分析:

[0116] -表示为DO(与BrdU掺入成比例,因此与细胞增殖速率成比例)

[0117] -表示为刺激百分比:

[0118]
$$\left[\frac{\text{处理的 DO}}{\text{对照 DO}} \times 100 \right] - 100$$

[0119] -表示为平均的标准误差:esm=标准偏差(Sd)/√n

[0120] 统计分析:

[0121] 使用不成对双边学生t检验对原始DO值进行统计分析。

[0122] 然后,该测试给出p值,所述p值表征在各种条件下获得的结果的显著性。显著性的程度确立如下:

[0123] p<0.05(*)显著

[0124] p<0.01(**)非常显著

[0125] p<0.001(***)极显著

[0126] p>0.05不显著

[0127] 结果:

[0128] 在这些实验条件下,

[0129] -**Ascophyscient**[®] 以非常可再现的和统计学显著的方式诱导成纤维细胞增殖,尤其是在100µg/ml(图2)。

[0130] -单独的透明质酸钠对成纤维细胞增殖具有中等(modéré)作用(图2)。

[0131] -这两种化合物的组合以协同方式诱导成纤维细胞增殖(图3和4)。

[0132] 结论:

[0133] 在这些实验条件下, Ascophyscient[®] 以非常可再现的和统计学显著的方式诱导成纤维细胞增殖。Ascophyscient[®] 与HAF120的组合以协同方式诱导成纤维细胞增殖。

[0134] 通过诱导成纤维细胞增殖, Ascophyscient[®] 及其与60-120kDa的透明质酸钠片段的组合恢复细胞代谢, 并参与皮肤修复和对抗老化。

[0135] 示例性组合物

[0136] 实施例1:

	名称	百分比
	纯化水	适量至100%
	甘油	6
	EDTA二钠	0.1
	苯氧乙醇	0.35
[0137]	丙烯酸酯/ C10-30丙烯酸烷基酯交联聚合物 (Carbopol [®] Ultrez 21)	0.4
	聚丙烯酸酯-13和聚异丁烯和聚山梨酯20和水 (Sepiplus [™] 400)	1
	硬脂酸甘油酯和PEG-100硬脂酸酯 (Simulsol [™] 165)	4
	十六烷醇	1
	辛酸/癸酸甘油三酯 (Myritol [®] 318)	10
	聚二甲基硅氧烷 (DC 200)	4
	碳酸二辛酯	4
[0138]	60-120 kDa的根据本发明的透明质酸钠	0.5
	Ascophyscient [®]	0.3
	芳香剂	0.1

[0139] 实施例2:

[0140]

名称	百分比
纯化水	适量至100%
甘油	6
EDTA二钠	0.1
苯氧乙醇	0.35
丙烯酸酯/ C10-30丙烯酸烷基酯交联聚合物 (Carbopol [®] Ultrez 21)	0.4
聚丙烯酸酯-13和聚异丁烯和聚山梨酯20和水 (Sepiplus [™] 400)	1
硬脂酸甘油酯和PEG-100硬脂酸酯 (Simulsol [™] 165)	4
十六烷醇	1
辛酸/癸酸甘油三酯(Myritol [®] 318)	10
聚二甲基硅氧烷 (DC 200)	4
异十二烷	4
60-120 kDa的根据本发明的透明质酸钠	0.5
Ascophyscient [®]	0.3
视黄醛	0.05
芳香剂	0.1

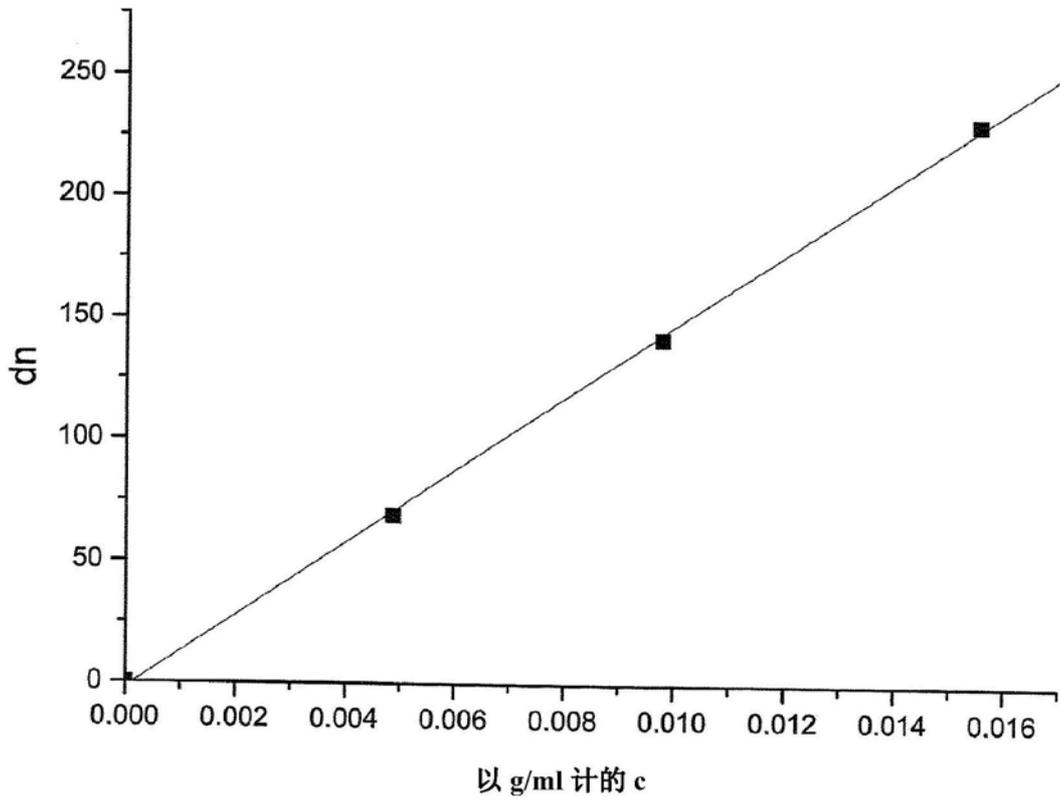


图1

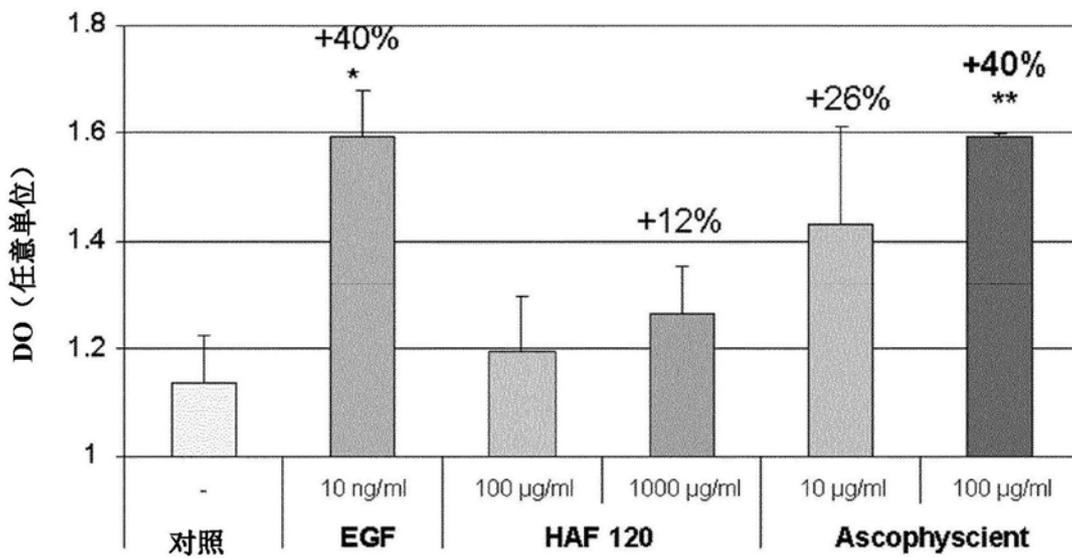


图2

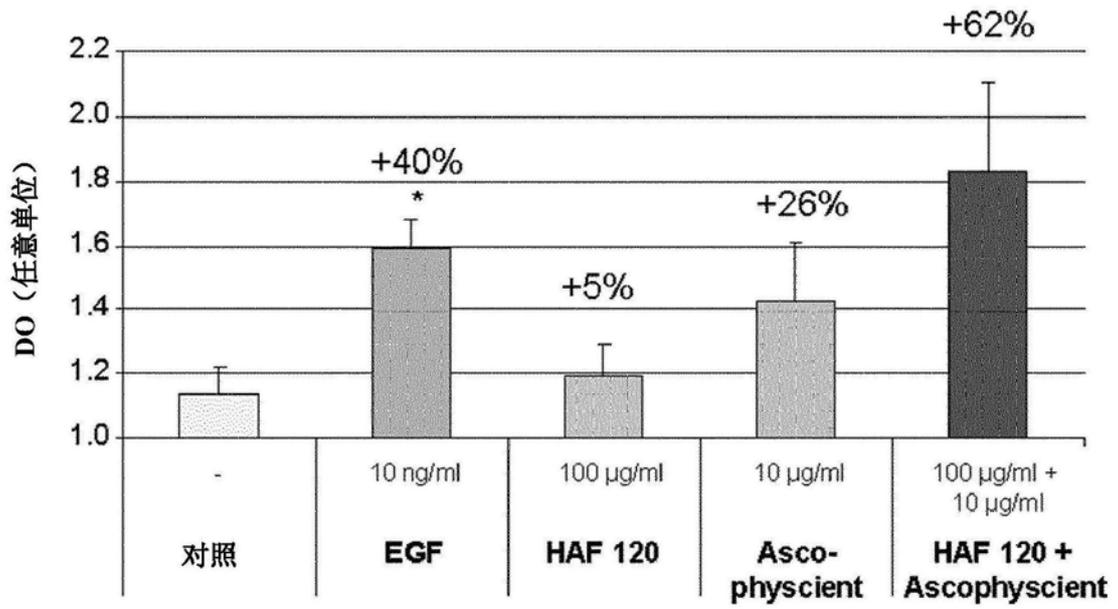


图3

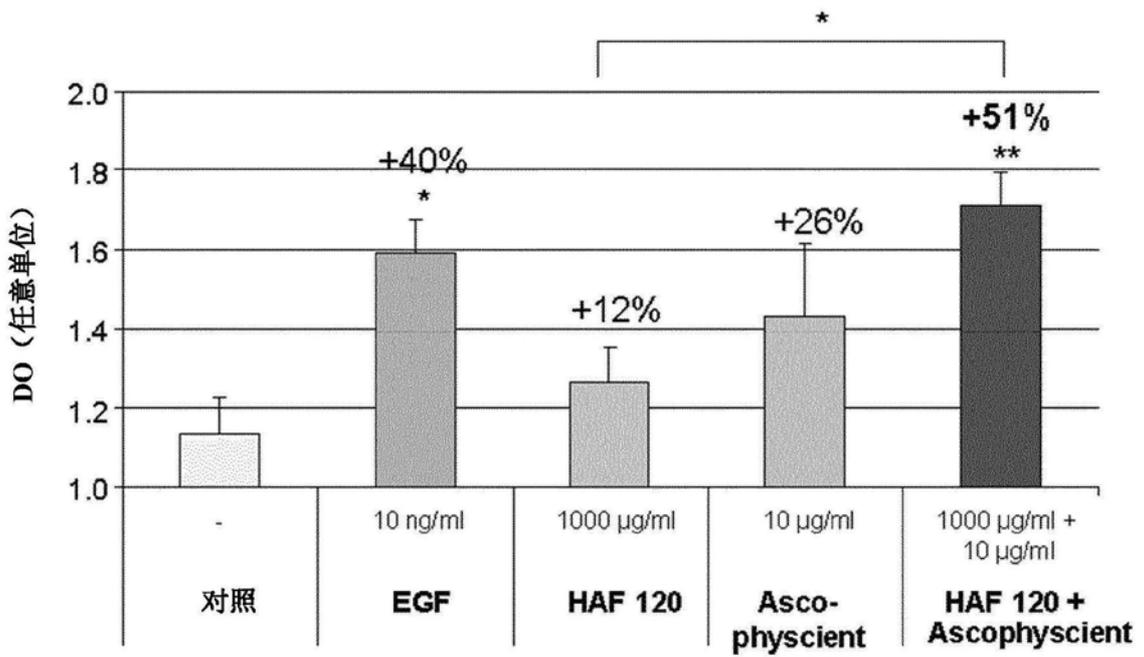


图4