

玫瑰 PDRN 的提取及其抗衰修护功效研究

徐梦详¹, 付冰清¹, 王苗苗¹, 张丽华¹, 陈燕青², 赵忻艺¹

(1. 欧诗漫生物股份有限公司杭州分公司, 浙江杭州, 310000;

2. 浙江佰花萃化妆品有限公司, 浙江杭州, 310000)

DOI:10.61369/CDCST.2026010019

摘 要: 文章针对玫瑰中多聚脱氧核糖核苷酸 (PDRN) 开展提取工艺研究并探究其抗衰修护功效。通过冻干-研磨预处理、酶解破壁、Sevag 法除杂及乙醇沉淀分步提取, 获玫瑰 PDRN 粗品, 得率 (5 ± 0.08) mg/g。抗衰实验显示, 其可显著促进人皮肤成纤维细胞增殖, 上调 COL1A1、COL3A1 表达, 下调 MMP-1 表达, 且显著降低 DPPH 水平 ($P < 0.05$); 修护实验表明, 其能显著促进 HaCaT 细胞迁移 ($P < 0.01$)。文章建立玫瑰 PDRN 标准化提取流程, 为其在抗衰修护类化妆品中的应用提供了功效依据。

关键词: 玫瑰; 多聚脱氧核糖核苷酸 (PDRN); 提取工艺; 抗衰; 修护

作者简介: 徐梦详, 研究生, 中级工程师, 现就职于欧诗漫生物股份有限公司杭州分公司, 主要从事化妆品研发工作。E-mail: xumengxiang@osm.com.cn。



徐梦详

皮肤衰老是一个复杂的生物学过程, 涉及内在因素 (如遗传、代谢) 和外在因素 (如紫外线辐射、环境污染) 的共同作用^[1]。其核心生理改变包括真皮层成纤维细胞功能衰退、细胞外基质 (Extracellular Matrix, ECM) 成分 (主要为 I 型、III 型胶原蛋白、弹性蛋白及透明质酸) 合成减少与降解增加, 导致皮肤变薄、弹性下降、皱纹形成及屏障功能受损^[2]。因此, 探索能够有效促进成纤维细胞活性、刺激 ECM 合成并增强皮肤屏障功能的生物活性物质, 对于开发抗衰老和皮肤修复策略具有重要意义, 尤其是天然活性成分的挖掘是如今抗衰化妆品研发的重要方向^[3,4]。

多聚脱氧核糖核苷酸 (PDRN) 是由 80~2200 个脱氧核苷酸对组成的 DNA 聚合物, 一般具有双螺旋结构, 通常从鲑鱼的性腺中获得^[5,6]。大量研究表明, PDRN 能够与腺苷受体 A2A 结合, 激活下游的信号通路, 从而参与抑制炎症、促进血管生成以及细胞增殖, 具有修复与组织再生作用, 并改善皮肤微循环^[6-8]。

植物作为天然生物活性物质的宝库, 多项研究也已经证实除动物外, 其基因组 DNA 同样包含具有潜在生物活性的 PDRN 片段, 可被提取用于修复屏障或抗衰等功效。从植物组织中提取高纯度、高生物活性的 PDRN, 不仅可拓展 PDRN 的来源, 避免动物源材料的限制, 也可能因其植物特有的代谢物 (如伴随提取的微量植物次级代谢物) 或特殊的结构修饰而带来独特的生物活性^[9]。玫瑰是重要的观赏性经济植物, 其提取物富含核酸类物质, 已被证实具

有抗氧化、抗炎等功效^[10,11]。此外, 玫瑰花瓣等组织同样富含 DNA。研究显示, 玫瑰 (*Rosa* 属) 基因组的 GC 含量约为 39%^[12], 与人类基因组的 41%^[13] 高度接近, 碱基组成的相似度可达约 98%。由于所有 DNA 共享相同的基本化学结构, 使得源自玫瑰的 PDRN 能够被人体的生物系统高度兼容、有效识别并高效利用, 为其在护肤品中应用提供了天然、安全的理论依据。然而, 玫瑰中 PDRN 的提取及抗衰机制未见系统研究, 尚属空白。

本研究基于冻干辅助酶解技术提取玫瑰中的 PDRN, 并通过细胞实验探究其抗氧化、促进胶原合成及细胞迁移能力, 为玫瑰 PDRN 在化妆品抗衰修护方向的应用提供理论支持。

1. 实验部分

1.1 试剂与仪器

试剂: 玫瑰花, 云南; 纤维素酶, CAS 9012-54-8, 阿拉丁; 脱氧核糖核酸酶 I (DNase I), D7073-1, 碧云天; 胎牛血清、DMEM 培养基, Gibico; DPPH 检测试剂盒, A153-1-1, 南京建成; RNA 提取试剂盒、cDNA 逆转录试剂盒、TB Green® Premix Ex Taq™, TaKaRa; 人皮肤成纤维细胞 (HDF)、人角质形成细胞 (HaCaT), 中国科学院细胞库。

仪器: 6孔板/96孔板、10cm²培养皿, 康宁; 冻干机, 昆山市超声仪器有限公司; 高速离心机、冷冻离心机、紫外可见分光光度计, Thermo Fisher; 酶标仪, 安捷

伦；倒置显微镜，Olympus；细胞计数仪，Countstar；梯度PCR仪，TaKaRa；实时荧光定量PCR，Applied Biosystems。

1.2 实验方法

1.2.1 玫瑰 PDRN 的提取工艺

1.2.1.1 材料预处理

取新鲜玫瑰花瓣，经冷冻干燥机（-80℃，48 h）处理后，采用高速粉碎机研磨至过 200 目筛，获得玫瑰花瓣粉末，密封避光保存备用。

1.2.1.2 溶解破壁与核酸提取

按料液比 1:25（g/mL）将玫瑰粉末加入 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液中，加入 0.8%（w/v）纤维素酶与 0.2%（w/v）脱氧核糖核酸酶 I（DNase I），于 50℃恒温水浴搅拌 2h 进行酶解破壁。酶解液经 8000 r/min 离心 15 min，取上清液。

1.2.1.3 除杂与提纯

采用 Sevag 法（氯仿:正丁醇 = 5:1，v/v）脱蛋白 3 次，每次振荡 30min 后离心（4000 r/min，10 min），收集上清液。向上清液中加入 2 倍体积预冷的无水乙醇，4℃静置过夜沉淀核酸。沉淀用 70% 乙醇洗涤 2 次，真空冻干后获得玫瑰 PDRN 粗品，-20℃保存备用。

1.2.1.4 PDRN 含量测定

取 0.01g 样品加入适量 TE 溶液进行溶解，将溶解后的溶液用 TE 溶液按 1:50 稀释，采用紫外分光光度法，将粗品溶于超纯水，在 230nm、260nm、280nm 下测得吸光值，根据 OD260/OD230 和 OD260/OD280 比值判断 PDRN 的纯度，用 260 nm 下的吸光度计算 PDRN 含量。将 10 μL 样品（8 μL PDRN 样品与 2 μL Loading Buffer）点样于 0.8% 琼脂糖凝胶中，染色剂为 Gelred，电压为 80 V 条件下电泳 40min，在凝胶成像仪上观察 PDRN 片段大小、完整性及电泳条带清晰度，进行拍照。

1.2.2 细胞培养

将处于对数生长期的 HDF、HaCaT 细胞，以 6×10^4 个/mL 的细胞密度接种于 6 孔板中，每孔 2 mL，然后置于 37℃、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

1.2.3 细胞毒性检测

将 HDF、HaCaT 细胞密度调整至 3×10^4 个/mL，用排枪接种至 96 孔板，每孔 100μL。空白组加等体积不含细胞的培养基，最外圈加等体积的 PBS，以防培养液蒸发影响实验结果，最后放入培养箱中培养 24h。用 PBS 将玫瑰 PDRN 稀释至不同浓度，例如 0.05%、0.025%、0.0125%、

0.00625%、0.003%、0.0015%。从培养箱中取出 96 孔板，每孔加入 10 μL 上述不同浓度的样品，空白组和对照加入等体积 PBS，每组设 6 个复孔，然后放入培养箱中培养 24h。将 CCK8 试剂用完全培养基按照 1:10 的比例进行稀释，充分混匀。吸出 96 孔细胞培养板中的旧培养基，每孔加入 100μL 稀释后的 CCK8 试剂，放入培养箱中培养 2h。打开酶标仪，设置双波长，Lm1 为 450，Lm2 为 650 进行检测。

1.2.4 抗衰功效测定

1.2.4.1 抗氧化指标检测

VC 用 PBS 稀释成 0.01mg/mL 浓度，在各孔依次加入 0.5mg/mL 的玫瑰 PDRN、95%乙醇、DPPH 试剂，室温下静置 5min 后，在酶标仪 517nm 波长处进行测定。

1.2.4.2 胶原蛋白表达检测

设置空白处理（对照组）、0.1%玫瑰 PDRN 浓度组每组设三个生物学重复，置于培养箱中培养 24h。培养结束后，使用 TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit 试剂盒进行 RNA 提取，使用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 将 RNA 反转录成 cDNA，利用 TB Green® Premix Ex Taq™ 试剂在 StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 系统上检测基因表达水平。引物序列如表 1 所示。

表 1 引物序列表

| 引物名称 | 引物序列（5' → 3'） |
|-----------|------------------------|
| COL 1A1-F | GATTCCCTGGACCTAAAGGTGC |
| COL 1A1-R | AGCCTCTCCATCTTTGCCAGCA |
| COL 3A1-F | GAAAGAGGATCTGAGGGCTCC |
| COL 3A1-R | AAACCGCCAGCTTTTTCACC |
| MMP-1-F | ATGAAGCAGCCCAGATGTGGAG |
| MMP-1-R | TGGTCCACATCTGCTCTTGGCA |
| GAPDH-F | GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG |
| GAPDH-R | ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA |

1.2.5 细胞迁移实验

将 HaCaT 细胞以 5×10^5 个/mL 的密度，2 mL/孔接种于 6 孔细胞培养板中，置于 37℃、5% CO₂ 浓度的二氧化碳培养箱中培养。待细胞长满后，用 200 μL 枪头沿着尺子在孔内细胞中画 3 条垂直于参考线的直线，然后后弃掉旧培养基，用 PBS 清洗 2 遍，以去除脱落的死细胞，弃掉 PBS 后，每孔加入 2 mL 的 2% FBS 1640 培养基。设置对照组（正常培养基）和实验组（含 0.05% 玫瑰 PDRN 的培养基），每组设 3 个重复，随后立即进行拍照（0h）。拍照结束后，加入相应处理的培养基将培养皿放回培养箱中继续培养，12 h 后在同一视野下观察细胞的迁移情况并拍照。通过 ImageJ 软件计算细胞迁移率。

$$\text{迁移率} = \frac{0\text{h面积} - 12\text{h面积}}{0\text{h面积}} \times 100\%$$

1.2.6 数据统计与分析

采用 GraphPad 10 软件进行非配对 T 检验分析 (T Test), 结果以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为极显著。

2. 结果与讨论

2.1 玫瑰 PDRN 提取工艺的建立与验证

采用冻干-酶解-沉淀的分步提取工艺从玫瑰花瓣中获取 PDRN, 具体流程如下: 新鲜花瓣经 -80°C 冻干 48 h 后研磨过 200 目筛, 按 1:25 料液比加入磷酸盐缓冲液, 联合使用 0.8% 纤维素酶与 0.2% DNase I 于 50°C 酶解 2 h, 经 Sevag 法脱蛋白及乙醇沉淀后获得粗品。该工艺重复 3 次实验的 PDRN 得率为 $(5.0 \pm 0.08) \text{ mg/g}$ 。紫外光谱分析显示, 玫瑰 PDRN 在 260 nm 处有特征吸收峰, 260 nm/280 nm 吸光度比值为 2.0, 表明提取物中核酸纯度较高 (图1)。通过琼脂糖凝胶电泳 (0.8% 凝胶, 80 V 电泳 40 min) 分析, 由图2可知, 提取的玫瑰 PDRN 片段大小在 100 bp 左右, 图像清晰、几乎无拖尾现象, 说明 DNase I 酶切效果良好, 成功将完整的基因组 DNA 转化为均一的 100bp 片段, 且无非特异性降解。

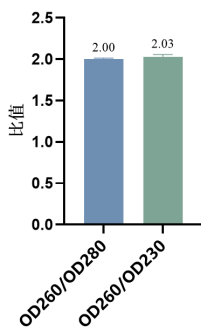


图1 玫瑰 PDRN 的吸光度

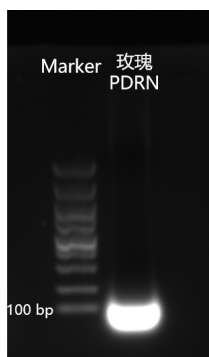


图2 玫瑰 PDRN 琼脂糖凝胶电泳

2.2 抗氧化功效

由表2可知, 玫瑰 PDRN (0.5 mg/mL) 对 DPPH 抑制率约 20.53%, 与 0.01 mg/mL 的 VC (维生素 C) 抗氧化活性相当。结果表明, 玫瑰 PDRN 有较强的抗氧化活性。

表 2 DPPH 水平检测

| 组别 | 0.01mg/mL VC/% | 0.5 mg/mL 玫瑰 PDRN/% |
|----------|------------------|---------------------|
| DPPH 清除率 | 25.01 ± 1.96 | 20.53 ± 1.11 |

2.3 玫瑰 PDRN 对成纤维细胞、角质细胞的毒性作用

由图3可知, 在 0.05%~0.0015% 范围内, 玫瑰 PDRN 对成纤维细胞、角质细胞的存活率均在 90% 以上, 在此范围内, 说明玫瑰 PDRN 对细胞基本无毒性作用。

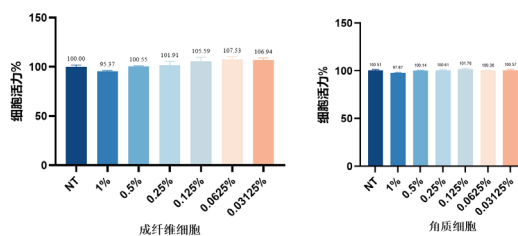


图3 玫瑰 PDRN 对成纤维细胞、角质细胞活性的影响

2.4 胶原蛋白表达

由图4可知, 与对照组相比, 0.1% 玫瑰 PDRN 可使 COL1A1、COL3A1 的表达分别提升 84%、33%, 对 MMP-1 的抑制率为 15% ($P < 0.05$)。该结果证实玫瑰 PDRN 可通过激活成纤维细胞功能, 促进细胞外基质成分合成, 从而改善皮肤衰老相关的胶原流失问题。

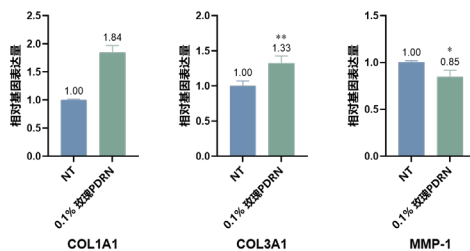


图4 玫瑰 PDRN 对 HDF 细胞基因表达的作用

2.5 细胞迁移能力

由图5可知, 0.1% 玫瑰 PDRN 处理 12 h 后, HaCaT 细胞迁移率达 $(79.26 \pm 0.056) \%$, 显著高于对照组 $(45.55 \pm 7.43) \%$ ($P < 0.01$), 表明其可通过促进角质形成细胞迁移加速皮肤修复。

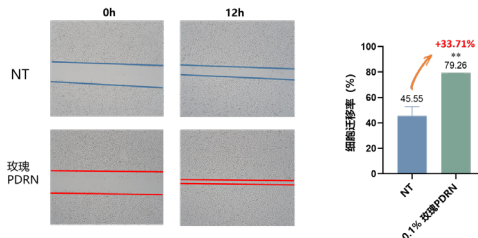


图5 玫瑰 PDRN 对角质细胞迁移的作用

3. 结论

本研究建立了一套适用于玫瑰花瓣中多聚脱氧核糖核苷酸(PDRN)的标准化提取工艺,通过冻干-酶解-沉淀的分步策略实现了PDRN的高效提取。实验结果表明,分步提取工艺可获得得率为 (5 ± 0.08) mg/g的玫瑰PDRN粗品。紫外光谱分析显示其260 nm/280 nm吸光度比值为2.0,核酸纯度较高,且玫瑰PDRN片段大小在100 bp左右(图1-2)。

细胞水平研究证实,0.5%玫瑰PDRN可减少氧自由基,DPPH水平降低20.53%(表2);同时,0.1%玫瑰PDRN能够促进COL1A1、COL3A1的表达,提升率分别为84%、33%,抑制MMP-1的表达,抑制率为15% ($P<0.01$) (图4),表明玫瑰PDRN具有抗衰老功效。在细胞划痕实验中,0.1%玫瑰PDRN处理组HaCaT细胞12 h迁移率达 $(76.3 \pm 2.9)\%$,较对照组提高33.71% ($P<0.01$)。以上结果表明玫瑰PDRN可通过促进角质形成细胞迁移加速皮肤修复,发挥修护功效(图5)。

综上,本研究建立的玫瑰PDRN提取工艺具有操作简便、重复性好的特点,所制备的玫瑰PDRN兼具抗氧化、促胶原合成及细胞修护能力,为其在抗衰老修护类化妆品中的应用提供了实验依据。后续可进一步开展动物活体实验及临床功效评价,探索玫瑰PDRN与其他天然活性成分的协同作用机制,推动其在功能性护肤品中的产业化应用。

参考文献

- [1] 吴赞, 张广献. 3组美容多肽复配中各单肽间功效的相互影响[J]. 广州化工, 2021, 49(09): 77-80.
- [2] FISHER G J, WANG B, CUI Y, et al. Skin aging from the perspec-

tive of dermal fibroblasts: the interplay between the adaptation to the extracellular matrix microenvironment and cell autonomous processes [J]. J Cell Commun Signal, 2023, 17(3): 523-9.

[3] CHEN H, LI R, ZHAO F, et al. Betulinic acid increases lifespan and stress resistance via insulin/IGF-1 signaling pathway in *Caenorhabditis elegans* [J]. Front Nutr, 2022, 9: 960239.

[4] FAN X, FAN Z, YANG Z, et al. Flavonoids-Natural Gifts to Promote Health and Longevity [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(4).

[5] ZHOU Y, ZENG X, LI G, et al. Inactivation of endothelial adenosine A(2A) receptors protects mice from cerebral ischaemia-induced brain injury [J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(13): 2250-63.

[6] COLANGELO M T, GALLI C, GUIZZARDI S. The effects of polydeoxyribonucleotide on wound healing and tissue regeneration: a systematic review of the literature [J]. Regen Med, 2020, 15(6): 1801-1821.

[7] HWANG K H, KIM J H, PARK E Y, et al. An effective range of polydeoxyribonucleotides is critical for wound healing quality [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(6): 5166-72.

[8] VERONESI F, DALLARI D, SABBIONI G, et al. Polydeoxyribonucleotides (PDRNs) From Skin to Musculoskeletal Tissue Regeneration via Adenosine A(2A) Receptor Involvement [J]. J Cell Physiol, 2017, 232(9): 2299-307.

[9] CHAE D, OH S W, CHOI Y S, et al. First Report on Microbial-Derived Polydeoxyribonucleotide: A Sustainable and Enhanced Alternative to Salmon-Based Polydeoxyribonucleotide [J]. Curr Issues Mol Biol, 2025, 47:1.

[10] 帕尔哈提·柔孜, 阿依姑丽·艾合麦提, 朱昆, 等. 玫瑰花瓣总黄酮和总多糖的体外抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2013, 34(11): 138-41.

[11] ALI M K, ASHRAF A, BISWAS N N, et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiarrheal activities of ethanolic calyx extract of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (Malvaceae) in mice [J]. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao, 2011, 9(6): 626-31.

[12] CHEN F, SU L, HU S, et al. A chromosome-level genome assembly of rugged rose (*Rosa rugosa*) provides insights into its evolution, ecology, and floral characteristics [J]. Hortic Res, 2021, 8(1): 141.

[13] PIOVESAN A, PELLERER M C, ANTONAROS F, et al. On the length, weight and GC content of the human genome [J]. BMC Res Notes, 2019, 12(1): 106.

Extraction of Rose PDRN and Its Research on Anti-aging and Repairing Efficacy

Xu Meng-xiang¹, Fu Bing-qing¹, Wang Miao-miao¹, Zhang Li-hua¹, Chen Yan-qing², Zhao Xin-yi¹
(1.Zhejiang Osman Biological Co.,Ltd, Hangzhou, Zhejiang 310000;
2.Zhejiang Floracare Cosmetics Co., Ltd. Hangzhou, Zhejiang 310000)

Abstract : This study investigates the extraction process of polydeoxyribonucleotide (PDRN) from roses and explores its anti-aging and repair efficacy. Through step-by-step extraction involving freeze-drying and grinding pretreatment, enzymatic wall breaking, impurity removal via the Sevag method, and ethanol precipitation, crude rose PDRN is obtained with a yield of (5 ± 0.08) mg/g. Anti-aging experiments show that it significantly promotes the proliferation of human dermal fibroblasts, upregulates the expression of COL1A1 and COL3A1, downregulates MMP-1 expression, and markedly reduces the DPPH level ($P<0.05$). Repair experiments demonstrate that it can significantly accelerate the migration of HaCaT cells ($P<0.01$). The study establishes a standardized extraction process for rose PDRN, providing an efficacy basis for its application in anti-aging and repair cosmetics.

Keywords : rose; polydeoxyribonucleotide (PDRN); extraction process; anti-aging; repair