



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 116685306 A

(43) 申请公布日 2023. 09. 01

(21) 申请号 202180084762.2

(22) 申请日 2021.12.13

(30) 优先权数据

FR2013687 2020.12.18 FR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.06.15

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/FR2021/052301 2021.12.13

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/129763 FR 2022.06.23

(71) 申请人 LVMH研究公司

地址 法国圣让德布赖埃

(72) 发明人 L·吉尔吉永 C·赫塞勒

A-L·毕鲁图 L·索碧罗

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314

专利代理师 程伟 刘彬娜

(51) Int.Cl.

A61K 8/9794 (2017.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

权利要求书1页 说明书16页

(54) 发明名称

流苏石斛提取物和包含其的非冲洗型美容组合物

(57) 摘要

本发明涉及一种用于局部施用至角蛋白材料,特别是皮肤和/或嘴唇,特别是面部和/或颈部的皮肤的非冲洗型美容组合物,其包含流苏石斛提取物。

1. 一种用于局部施用至角蛋白材料,特别是皮肤和/或嘴唇,特别是面部和/或颈部的皮肤的非冲洗型美容组合物,其包含流苏石斛提取物。

2. 根据权利要求1所述的美容组合物,其中,所述流苏石斛提取物的含量以相对于组合物的总重量以原料的重量计在0.01%至10%范围内的含量存在。

3. 根据权利要求1或权利要求2所述的美容组合物,其进一步包含天麻物种的兰科植物根提取物。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的美容组合物,其进一步包含选自抗氧化剂、润肤剂、保湿剂、抗老化剂、香料及其混合物的至少一种美容佐剂。

5. 一种流苏石斛提取物作为预防和/或减少皮肤老化的标志,特别是紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的厚度减小以及皱纹和/或细纹的出现的试剂的美容用途。

6. 一种用于对角蛋白材料,特别是皮肤和/或嘴唇的护理和/或化妆的美容方法,其包括将权利要求1至4中任一项所限定的美容组合物局部施用于所述角蛋白材料上。

7. 根据权利要求6所述的美容方法,其用于预防和/或减少皮肤老化的标志,特别是紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的厚度减小以及皱纹和/或细纹的出现。

8. 根据权利要求6或7中任一项所述的美容方法,其中,将所述美容组合物施用于老化或显示老化标志的皮肤上。

9. 一种流苏石斛提取物,其特征在于,所述流苏石斛提取物是通过至少包括以下步骤的提取方法获得的:

- a) 研磨植物材料;
- b) 至少一个提取步骤,接着是过滤步骤;
- c) 浓缩在步骤b)结束时获得的提取物;
- d) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇,优选丙二醇;
- e) 过滤,以及
- f) 获得流苏石斛提取物。

10. 根据权利要求9所述的流苏石斛提取物,其特征在于,所述流苏石斛提取物是从整个植物中获得的。

11. 一种流苏石斛提取物,其特征在于,所述流苏石斛提取物包含选自甜菜碱以及顺式和反式草木樨苷的至少一种代谢物。

12. 一种用于获得流苏石斛提取物的方法,其至少包括以下步骤:

- a) 研磨植物材料;
- b) 至少一个提取步骤,接着是过滤步骤;
- c) 浓缩在步骤b)结束时获得的提取物;
- d) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇,优选丙二醇;
- e) 过滤,以及
- f) 获得流苏石斛提取物。

13. 根据权利要求1至4中任一项所述的美容组合物、根据权利要求5所述的美容用途、根据权利要求6至8中任一项所述的美容方法、根据权利要求9至11中任一项所述的流苏石斛提取物和根据权利要求12所述的用于获得流苏石斛提取物的方法,其特征在于,所述流苏石斛提取物为马鞭石斛提取物。

流苏石斛提取物和包含其的非冲洗型美容组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及美容领域。特别地，本发明涉及一种包含流苏石斛 (*Dendrobium fimbriatum*) 物种的兰科植物提取物的非冲洗型美容组合物以及其用于预防和/或减少皮肤老化的标志的用途。本发明还涉及一种特定的流苏石斛提取物以及用于获得这种提取物的提取方法。

背景技术

[0002] 皮肤是保护生物体免受环境影响的第一道屏障。因此，受到许多因素的影响，这些因素无论是外源性起因 (例如UV辐射、温度变化、大气污染、香烟烟雾等) 还是内源性起因 (例如激素等)，可导致皮肤老化的标志。这些分别被称为外源性老化和内源性 (或生理) 老化。

[0003] 外源性老化会导致临床变化，例如皱纹深，形成失去紧致度、柔软度和弹性的皮肤，以及出现皮肤色素斑 (也称为老年斑)。同时，内源性或生理老化尤其会导致皮肤细胞更新的减慢和真皮表皮连接处的变化。真皮表皮连接处是将表皮细胞锚定在下层组织真皮上的关键。细胞外基质 (ECM) 是由以特定方式组织的大分子组装 (将它们相互连接) 而成的复杂网络。对于皮肤，它一方面赋予弹性、强度和紧缩性的特性，另一方面调节各种细胞功能，例如皮肤细胞的增殖、迁移或分化。因此，在真皮中，ECM在皮肤的生理机能上起着至关重要的作用。它的变化将直接影响皮肤的性质，主要表现为紧致度、弹性的丧失以及细皱纹或细纹的出现。

[0004] 在这种情况下，始终需要寻求新颖的“抗老化”剂，它们作用于生物靶标，以特别是预防和/或减少皮肤老化的标志。

[0005] 出乎意料地，申请人发现了流苏石斛提取物对真皮ECM的某些蛋白质的体外效果。特别地，根据本发明的流苏石斛提取物能够显著地增加弹性蛋白、原纤维蛋白1、胶原蛋白1和巢蛋白的合成。此外，该提取物还可以在体外减少成纤维细胞衰老的形态学标记物。因此，根据本发明的流苏石斛提取物具有作为抗老化剂的美容益处，特别是用于预防和/或减少老化的标志，例如紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的厚度减小以及皱纹和/或细纹的出现。

发明内容

[0006] 本发明的第一目的涉及一种用于局部施用至角蛋白材料，特别是皮肤和/或嘴唇，特别是面部和/或颈部的皮肤的非冲洗型美容组合物，其包含流苏石斛提取物。

[0007] 根据本发明的“非冲洗型美容组合物”意指旨在施用后与角蛋白材料保持接触以赋予其有益效果 (保湿、抗老化等) 的护理组合物，例如乳、霜、发油、药膏、棒剂、凝胶、涂剂、精华等，其与旨在施用后进行冲洗的用于清洁角蛋白材料的“冲洗型美容组合物” (例如沐浴露、洗发水) 完全不同。

[0008] 根据本发明的术语“角蛋白材料”意指皮肤和/或其附属器以及嘴唇。特别地，其包

括面部、颈部和/或身体的皮肤以及嘴唇。

[0009] 本发明还涉及一种流苏石斛提取物作为预防和/或减少皮肤老化的标志,特别是紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的厚度减小以及皱纹和/或细纹的出现的试剂的美容用途。

[0010] 本发明还涉及一种用于对角蛋白材料,特别是皮肤和/或嘴唇护理和/或化妆的美容方法,其包括将根据本发明的美容组合物局部施用于所述角蛋白材料上。

[0011] 本发明还涉及一种流苏石斛提取物,其特征在于,所述流苏石斛提取物是通过至少包括以下步骤的提取方法获得的:

[0012] a) 研磨植物材料;

[0013] b) 至少一个提取步骤,接着是过滤步骤;

[0014] c) 浓缩在步骤b)结束时获得的提取物;

[0015] d) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇,优选丙二醇;

[0016] e) 过滤,以及

[0017] f) 获得流苏石斛提取物。

[0018] 本发明还涉及一种流苏石斛提取物,其特征在于,所述流苏石斛提取物包含选自甜菜碱以及顺式和反式草木樨苷的至少一种代谢物。

[0019] 本发明还涉及一种用于获得流苏石斛提取物的方法,其至少包括以下步骤:

[0020] a) 研磨植物材料;

[0021] b) 至少一个提取步骤,接着是过滤步骤;

[0022] c) 浓缩在步骤b)结束时获得的提取物;

[0023] d) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇,优选丙二醇;

[0024] e) 过滤,以及

[0025] f) 获得流苏石斛提取物。

具体实施方式

[0026] 包含流苏石斛提取物的非冲洗型美容组合物

[0027] 在第一方面中,本发明涉及一种用于局部施用至角蛋白材料,特别是皮肤和/或嘴唇,特别是面部和/或颈部的皮肤的非冲洗型美容组合物,其包含流苏石斛提取物。

[0028] 在本发明的上下文中,“流苏石斛 (*Dendrobium fimbriatum*)”意指原产于东南亚的兰科 (*Orchidaceae*) 植物。它还被称为 *Callista fimbriata*、*Dendrobium normale*、马鞭石斛 (*Dendrobium fimbriatum* var. *oculatum*)、*Dendrobium paxtonii*、*Callista oculata*。在说明书的其余部分中,将提及流苏石斛提取物或马鞭石斛提取物。

[0029] 根据本发明,流苏石斛提取物特别是在非冲洗型美容组合物中用作美容活性成分,特别是用作“抗老化”美容活性成分。

[0030] 根据本发明的流苏石斛提取物为一种植物提取物。术语“植物提取物”通常意指通过从植物原料中提取而获得的分离物质,其本身并不预先存在于自然界中。

[0031] 术语“植物材料”或“植物原料”意指制备根据本发明的流苏石斛提取物的流苏石斛植物的全部或一部分。

[0032] 根据本发明的流苏石斛提取物尤其可以由选自根、茎、花、花瓣及其混合物的植物

材料或整个植物制备。根据本发明的流苏石斛提取物优选由整个植物制备。

[0033] 在提取步骤本身之前,可以对植物材料进行干燥、冻干和/或研磨。可选地,可以将植物材料先湿着使用,然后研磨。根据一个特别的实施方案,在提取之前对植物材料进行研磨,例如通过研钵、混合器、常规磨粉机或者本领域技术人员已知的本领域常用的任何其他方法。

[0034] 根据本发明,流苏石斛提取物为极性提取物,其有利地通过美容可接受的极性溶剂获得。术语“美容可接受”意指与角蛋白材料相容,特别是与皮肤和/或嘴唇相容。

[0035] 优选的极性溶剂为含有至少一个O-H极性共价键的化合物。特别优选的极性溶剂以溶剂或溶剂混合物的方式选自水、C1-C4醇(例如乙醇)、二醇(例如乙二醇)、甘油、丁二醇和丙二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、1,3-丙二醇及其混合物。

[0036] 根据一个优选的实施方案,流苏石斛提取物为通过在水和醇的混合物中提取植物材料而获得的水醇提取物,醇占水/醇混合物的1%至99%v/v(体积/体积)。作为非限制性的示例,可以使用包含以下水和醇的混合物来提取植物材料:10%v/v水和90%v/v醇;20%v/v水和80%v/v醇;30%v/v水和70%v/v醇;40%v/v水和60%v/v醇;50%v/v水和50%v/v醇;60%v/v水和40%v/v醇;70%v/v水和30%v/v醇;80%v/v水和20%v/v醇;90%v/v水和10%v/v醇。根据优选的实施方案,使用包含50%v/v水和50%v/v醇的混合物提取植物材料。

[0037] 流苏石斛提取物优选通过在水和乙醇混合物中,特别是在包含45%至55%v/v之间的水和45%至5%v/v之间的乙醇,优选50%v/v水与55%v/v乙醇的混合物中提取植物材料来获得。

[0038] 根据本发明的流苏石斛提取物可以通过本领域技术人员已知的各种提取方法实施以下步骤来制备:研磨植物材料、将研磨材料分散在极性溶剂中、通过过滤使溶解相和不溶相分离、浓缩以及任选地再溶解。

[0039] 根据本发明,可以通过热回流或者在环境温度下浸泡来进行提取。也可以使用众所周知的物理化学技术,例如特别是超声波、微波、挤出、脉冲电场、亚临界水和/或低温提取来进行提取。

[0040] 优选通过热回流进行对植物材料的提取。术语“热回流”意指提取温度为至少60℃,优选至少65℃,更优选至少70℃,优选至少75℃,更优选至少80℃。

[0041] 在通过回流提取的情况下,提取的持续时间可以特别地在15至180分钟,优选30至120分钟,优选45至90分钟,50至70分钟的范围内,例如为50、55、60、65或70分钟。

[0042] 提取方法有利地包括用于从植物材料中分离液相的过滤步骤。本领域技术人员将选择合适的过滤筛,特别是过滤直径为0.1μm至0.5μm,尤其为0.2μm至0.3μm的过滤筛。

[0043] 可以将提取然后过滤的循环重复多次,以耗尽植物材料中对提取溶剂具有亲和力的物质。特别地,可以将提取/过滤循环重复至少两次,优选至少三次,或者甚至四次或更多次,例如五次。

[0044] 在每个提取/过滤循环结束时,收集溶剂并用尚未使用的溶剂代替,目的在于重复提取步骤。提取步骤的连续重复有利地使得尤其通过避免溶剂被感兴趣的分子饱和,能够从待提取的植物材料中提取大量的有益化合物。

[0045] 在连续提取步骤结束时,则将各种收集的溶剂合并。

[0046] 在耗尽了植物材料中对提取溶剂具有亲和力的物质后,可以去除提取溶剂。可选地,它可以留作其他用途。

[0047] 提取物可以有利地通过去除一部分提取溶剂来浓缩。还可以获得不含大量有机溶剂的水性浓缩物,或者甚至可以通过去除所有提取溶剂来获得干燥的剩余物。

[0048] 可选地,可以将来自提取步骤的产物冻干或雾化,以成为粉末的形式。

[0049] 优选合并并在每个提取/过滤循环结束时收集的溶剂,真空浓缩提取物,然后至少部分地蒸发乙醇。最后,则在丙二醇中稀释浓缩的提取物,然后在包装前对其进行过滤。本领域技术人员将选择合适的过滤筛,特别是过滤直径为0.1 μ m至0.5 μ m,尤其为0.2 μ m的过滤筛。

[0050] 术语“包装”意指在能够保存、存储和处理的条件下对获得的提取物进行包装。

[0051] 因此,本发明还涉及一种流苏石斛提取物,其特征在于,所述流苏石斛提取物是通过至少包括以下步骤的提取方法获得的:

[0052] a) 研磨植物材料;

[0053] b) 至少一个提取步骤,接着是过滤步骤;

[0054] c) 浓缩在步骤b)结束时获得的提取物;

[0055] d) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇,优选丙二醇;

[0056] e) 过滤,以及

[0057] f) 获得流苏石斛提取物。

[0058] 根据本发明的一个特别的实施方案,根据至少包括以下步骤的提取方法来获得流苏石斛提取物:

[0059] a) 将植物材料,优选整个植物研磨,干燥;

[0060] b) 使用水醇溶剂通过回流进行提取;

[0061] c) 过滤以回收研磨物和提取物;

[0062] d) 任选地,从在前一个提取/过滤步骤结束时收集的研磨物开始,将步骤b)和c)重复1至4次,并且在每个提取/过滤步骤结束时回收新的提取物;

[0063] e) 将在每个提取/过滤步骤结束时收集的提取物合并;

[0064] f) 蒸发一部分提取溶剂并且真空浓缩提取物;

[0065] g) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇,优选丙二醇;

[0066] h) 过滤,以及

[0067] i) 对流苏石斛提取物进行包装。

[0068] 优选使用水和乙醇的混合物作为水醇溶剂,特别是包含45%至55%v/v之间的水和45%至55%v/v之间的乙醇,优选50%v/v水和50%v/v乙醇的混合物。

[0069] 优选通过热回流进行对植物材料的提取,特别是在至少60 $^{\circ}$ C,优选至少65 $^{\circ}$ C,更优选至少70 $^{\circ}$ C,优选至少75 $^{\circ}$ C,更优选至少80 $^{\circ}$ C的温度下进行所述提取。

[0070] 每个提取/过滤循环的提取持续时间优选在15至180分钟之间,优选在30至120分钟之间,优选在45至90分钟之间,在50至70分钟之间,例如为50、55、60、65或70分钟。

[0071] 过滤步骤优选使用过滤直径为0.1 μ m至0.5 μ m,特别是0.2 μ m至0.3 μ m的过滤筛。

[0072] 根据本发明的一个特别且优选的实施方案,根据至少包括以下步骤的提取方法来获得流苏石斛提取物:

- [0073] a) 研磨干燥的植物, 优选整个植物;
- [0074] b) 在80℃下用50%乙醇回流提取1小时;
- [0075] c) 过滤以回收研磨物1和提取物X;
- [0076] d) 在80℃下用50%乙醇将研磨物1回流提取1小时;
- [0077] e) 过滤以回收研磨物2和提取物Y;
- [0078] f) 在80℃下用50%乙醇回流提取研磨物1小时;
- [0079] g) 过滤以回收研磨物3和提取物Z;
- [0080] h) 合并提取物X、Y和Z;
- [0081] i) 蒸发乙醇并且真空浓缩提取物;
- [0082] j) 添加丙二醇;
- [0083] k) 过滤, 以及
- [0084] l) 对流苏石斛提取物进行包装。

[0085] 根据本发明的提取方法获得的流苏石斛提取物具有INCI名称: WATER (and) PROPANEDIOL (and) DENDROBIUM FIMBRIATUM OCULATUM EXTRACT (水(和)丙二醇(和)马鞭石斛提取物)。

[0086] 根据本发明的流苏石斛提取物以溶液的形式优选地包含约1%的干物质、约35%的丙二醇和约64%的水。所给出的百分比为相对于提取物总重量的重量百分比。术语“约”意指测量的比例可以变化+/-10%, 优选+/-5%, 更优选+/-2%。

[0087] 根据本发明的流苏石斛提取物, 特别是根据上述方法获得的流苏石斛提取物优选地包含通过方法EN ISO 17294-2-ICP-MS测量的在300至1000ppm范围内的总矿物含量(特别是磷、镁、钙、钠和钾)。

[0088] 根据本发明的流苏石斛提取物优选地包含通过使用蒽酮的方法(Loewus, 1952)测量的含量在0.1%至0.5%范围内的糖。

[0089] 流苏石斛提取物优选地包含通过Folin Ciocalteu方法(Ainsworth, 2007)测量的含量在0.1%至0.5%范围内的多酚。

[0090] 根据一个优选的实施方案, 通过上述方法获得的流苏石斛提取物的特征在于其包含选自甜菜碱以及顺式和反式草木樨苷的至少一种代谢物。

[0091] 因此, 本发明还涉及一种流苏石斛提取物, 其特征在于, 所述流苏石斛提取物包含选自甜菜碱以及顺式和反式草木樨苷的至少一种代谢物。

[0092] 根据一个优选的实施方案, 用于本发明的美容组合物中的流苏石斛提取物是根据如上所述的提取方法获得的。

[0093] 优选地根据至少包括以下步骤的提取方法来获得用于本发明的美容组合物中的流苏石斛提取物:

- [0094] a) 研磨干燥的植物, 优选整个植物;
- [0095] b) 在80℃下用50%乙醇回流提取1小时;
- [0096] c) 过滤以回收研磨物1和提取物X;
- [0097] d) 在80℃下用50%乙醇将研磨物1回流提取1小时;
- [0098] e) 过滤以回收研磨物2和提取物Y;
- [0099] f) 在80℃下用50%乙醇回流提取研磨物1小时;

- [0100] g) 过滤以回收研磨物3和提取物Z;
- [0101] h) 合并提取物X、Y和Z;
- [0102] i) 蒸发乙醇并且真空浓缩提取物;
- [0103] j) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇, 优选丙二醇;
- [0104] k) 过滤, 以及
- [0105] l) 对流苏石斛提取物进行包装。
- [0106] 根据另一个实施方案, 用于本发明的美容组合物中的流苏石斛提取物的特征在于其包含选自甜菜碱以及顺式和反式草木樨苷中的至少一种代谢物, 特别是甜菜碱。
- [0107] 本发明还涉及一种用于获得流苏石斛提取物的方法, 其至少包括以下步骤:
- [0108] a) 研磨植物材料;
- [0109] b) 至少一个提取步骤, 接着是过滤步骤;
- [0110] c) 浓缩在步骤b) 结束时获得的提取物;
- [0111] d) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇, 优选丙二醇;
- [0112] e) 过滤, 以及
- [0113] f) 获得流苏石斛提取物。
- [0114] 根据本发明的一个特别的实施方案, 用于获得流苏石斛提取物的方法至少包括以下步骤:
- [0115] a) 研磨干燥的植物材料, 优选整个植物;
- [0116] b) 使用水醇溶剂通过回流进行提取;
- [0117] c) 过滤以回收研磨物和提取物;
- [0118] d) 任选地, 从在前一个提取/过滤步骤结束时收集的研磨物开始, 将步骤b) 和c) 重复1至4次, 并且在每个提取/过滤步骤结束时回收新的提取物;
- [0119] e) 将在每个提取/过滤步骤结束时收集的提取物合并;
- [0120] f) 蒸发提取溶剂并且真空浓缩提取物;
- [0121] g) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇, 优选丙二醇;
- [0122] h) 过滤, 以及
- [0123] i) 包装。
- [0124] 优选使用水和乙醇的混合物作为水醇溶剂, 特别是包含45%至55% v/v之间的水和45%至55% v/v之间的乙醇, 优选50% v/v水和55% v/v乙醇的混合物。
- [0125] 优选通过热回流进行对植物材料的提取, 特别是在至少60°C, 优选至少65°C, 更优选至少70°C, 优选至少75°C, 更优选至少80°C的温度下进行所述提取。
- [0126] 每个提取/过滤循环的提取持续时间优选在30至120分钟之间, 优选在45至90分钟之间, 在50至70分钟之间, 例如为50、55、60、65或70分钟。
- [0127] 过滤步骤优选使用过滤直径为0.1 μ m至0.5 μ m, 特别是0.2 μ m的过滤筛。
- [0128] 根据本发明的一个特别且优选的实施方案, 根据至少包括以下步骤的提取方法来获得流苏石斛提取物:
- [0129] a) 研磨干燥的植物, 优选整个植物;
- [0130] b) 在80°C下用50%乙醇回流提取1小时;
- [0131] c) 过滤以回收研磨物1和提取物X;

- [0132] d) 在80℃下用50%乙醇将研磨物1回流提取1小时；
[0133] e) 过滤以回收研磨物2和提取物Y；
[0134] f) 在80℃下用50%乙醇回流提取研磨物1小时；
[0135] g) 过滤以回收研磨物3和提取物Z；
[0136] h) 合并提取物X、Y和Z；
[0137] i) 蒸发乙醇并且真空浓缩提取物；
[0138] j) 添加丁二醇、戊二醇、山梨酸钾/苯甲酸钠、甘油或丙二醇，优选丙二醇；
[0139] k) 过滤，以及
[0140] l) 对流苏石斛提取物进行包装。

[0141] 剂量

[0142] 根据本发明，流苏石斛提取物以对获得所需效果有效的量用于美容组合物中。在一个特别的实施方案中，流苏石斛提取物以相对于组合物的总重量以原料的重量计在0.01%至10%范围内，优选在0.1%至10%，特别是0.2%至5%，优选0.3%至3%范围内的含量存在于所述美容组合物中，所述含量与相对于组合物的总重量以干物质的重量计在0.0001%至0.1%，优选0.002%至0.05%，更优选0.003%至0.03%范围内的含量相对应。

[0143] 在一个特别且优选的实施方案中，用于本发明的美容组合物中的流苏石斛提取物为以FINGE GOLD ORCHID名称出售的产品。

[0144] 在一个优选的实施方案中，包含流苏石斛提取物的所述美容组合物为用于对角蛋白材料，特别是皮肤和/或嘴唇，特别是面部和/或颈部的皮肤护理和/或化妆的组合物。

[0145] 根据某些实施方案，除了流苏石斛提取物之外，本发明的美容组合物还可以包含至少一种其他植物提取物，例如天麻(*Gastrodia elata*)物种的兰科植物提取物，优选具有以下INCI名称的提取物：GASTRODIA ELATA ROOT EXTRACT。天麻提取物以有效量存在于本发明的组合物中，以用于获得所需效果，特别是用于预防和/或减少皮肤老化的标志，特别是紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的厚度减小以及皱纹和/或细纹的出现。特别地，所述天麻提取物以相对于组合物的总重量以原料的重量(产品的重量)计在0.01%至10%，特别是0.02%至5%，优选0.05%至4%范围内的含量存在，所述含量与相对于组合物的总重量以干物质的重量计在0.0001%至0.1%，优选0.0002%至0.05%，更优选0.0005%至0.04%范围内的含量相对应。

[0146] 根据某些实施方案，本发明的美容组合物至少包含根据本发明的流苏石斛提取物，并且还包含本领域技术人员已知的一种或多种美容上可接受的赋形剂，目的在于获得用于局部施用的组合物，例如乳剂、霜、发油、油包水或水包油乳液、药膏、棒剂、凝胶、涂剂、精华或粉末形式的组合物。

[0147] 根据组合物的性质，一种或多种美容上可接受的赋形剂将选自聚合物、表面活性剂、流变剂、香料、电解质、pH调节剂、抗氧化剂、防腐剂、染料、珍珠母、颜料及其混合物。

[0148] 本发明的美容组合物可以是适于局部施用在角蛋白材料，特别是皮肤和/或嘴唇，特别是面部和/或颈部的皮肤上的任何剂型，此外包含根据本发明的流苏石斛提取物和选自抗氧化剂、润肤剂、保湿剂、抗老化剂、香料及其混合物中的至少一种美容佐剂。

[0149] 美容用途和方法

[0150] 以下描述的美容方法和美容用途旨在施用于角蛋白材料，特别是健康的角蛋白材

料,优选健康的皮肤和/或嘴唇,特别是健康的嘴唇(“健康”的受试者)。

[0151] 根据本发明的术语“健康的角蛋白材料”意指未表现出可能是病理状态一部分的疾病或病症的角蛋白材料(“不健康”的受试者受到病理的影响)。在说明书的其余部分中,健康的皮肤和/或嘴唇或者皮肤和/或嘴唇将被可互换地提及。

[0152] 如以下实施例所示,根据本发明的流苏石斛提取物能够显著地增加细胞外基质的多种蛋白质的合成,特别是弹性蛋白、原纤维蛋白1、胶原蛋白1和巢蛋白的合成。因此,根据本发明的流苏石斛提取物具有美容益处,特别是作为美容“抗老化”活性成分。

[0153] 术语美容“抗老化”活性成分意指根据本发明的流苏石斛提取物对预防和/或减少皮肤老化的标志(特别是紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的减小厚度以及皱纹和/或细纹的出现)并增加细胞寿命有效。

[0154] 因此,本发明还涉及一种如上所述的流苏石斛提取物作为预防和/或减少皮肤老化的标志,特别是紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的厚度减小以及皱纹和/或细纹的出现的试剂的非治疗性美容用途。

[0155] 根据一个特别且优选的实施方案,本发明涉及流苏石斛提取物的用途,其特征在于,所述流苏石斛提取物是以FINGE GOLD ORCHID名称出售的。

[0156] 根据本发明的优选实施方案,本发明涉及流苏石斛提取物的用途,其特征在于,所述流苏石斛提取物是通过至少包括以下步骤的提取方法获得的:

[0157] a) 研磨植物材料;

[0158] b) 至少一个提取步骤,接着是过滤步骤;

[0159] c) 浓缩在步骤b)结束时获得的提取物;

[0160] d) 添加丙二醇;

[0161] e) 过滤,以及

[0162] f) 获得流苏石斛提取物。

[0163] 根据一个优选的实施方案,本发明涉及流苏石斛提取物的用途,其特征在于,所述流苏石斛提取物包含选自甜菜碱以及顺式和反式草木樨苷的至少一种代谢物,特别是甜菜碱。

[0164] 本发明还涉及一种用于对角蛋白材料,特别是皮肤和/或嘴唇护理和/或化妆的美容方法,其包括将如上所述的美容组合物局部施用于所述角蛋白材料上。

[0165] 根据另一个特别的实施方案,在本发明的美容用途或方法中使用的美容组合物进一步包含天麻物种的兰科植物提取物,优选具有以下INCI名称的提取物: GASTRODIAELATAROOT EXTRACT。

[0166] 根据本发明,美容方法旨在预防和/或减少皮肤老化的标志,特别是紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的厚度减小以及皱纹和/或细纹的出现。

[0167] 将美容组合物优选施用于老化或表现出老化标志的皮肤上。

[0168] 现在将在以下非限制性实施例中说明本发明。除非另有说明,否则百分比(%)以相对于组合物的总重量以原料(RM)重量表示。

[0169] 实施例

[0170] 实施例1:制备流苏石斛提取物

[0171] 步骤1:将整个干燥的石斛植物进行研磨;

- [0172] 步骤2:在80℃下用50%乙醇回流提取1小时;
- [0173] 步骤3:过滤,使得能够回收研磨物1和提取物X;
- [0174] 步骤4:在80℃下用50%乙醇将研磨物1回流提取1小时;
- [0175] 步骤5:过滤,使得能够回收研磨物2和提取物Y;
- [0176] 步骤6:在80℃下用50%乙醇将研磨物2回流提取1小时;
- [0177] 步骤7:过滤,使得能够回收研磨物3和提取物Z;
- [0178] 步骤8:合并提取物X、Y和Z;
- [0179] 步骤9:蒸发乙醇并真空浓缩提取物;
- [0180] 步骤10:添加丙二醇;
- [0181] 步骤11:过滤,以及
- [0182] 步骤12:将流苏石斛提取物进行包装。
- [0183] 由此获得的提取物具有INCI名称:WATER/AQUA,PROPANEDIOL DENDROBIUM FIMBRIATUM OCULATUM EXTRACT。其干物质含量为1%,其包含35%和64%的水。
- [0184] 实施例2:根据实施例1制备的流苏石斛提取物的植物化学特性。
- [0185] 在该研究中,申请人研究了通过实施例1的方法获得的流苏石斛提取物的植物化学特性。
- [0186] 2.1.通过离心分配色谱法对提取物进行分级
- [0187] 相继进行了两次CPC实验。
- [0188] 2.1.1.CPC 1
- [0189] 在CPC中,将预先溶解在固定相/流动相混合物中的干提取物注入预先平衡的柱(FCPE300® (Rousselet Robatel Kromaton))中。流速为20mL/min,柱的转速为1200rpm。三相溶剂体系对应于正庚烷/甲基叔丁基醚/乙腈/水(1/1/1/1,v/v),以上升模式进行分离。
- [0190] 在整个实验(洗脱和挤出)过程中收集了20ml的级分,并根据它们的薄层层析谱合并。由此获得四个级分。
- [0191] 通过挤出回收了保留在柱内的所有化合物并进行真空干燥以实施CPC 2注射。
- [0192] 2.1.2.CPC2
- [0193] 在CPC中,将预先溶解在固定相/流动相混合物中的干提取物注入预先平衡的柱(FCPE300® (Rousselet Robatel Kromaton))中。流速为20mL/min,柱的转速为1200rpm。三相溶剂体系对应于正庚烷/甲基叔丁基醚/乙腈/水(1/1/1/1,v/v),以上升模式进行分离。
- [0194] 在整个实验(洗脱和挤出)过程中收集了20ml的级分,并根据它们的薄层层析谱合并。由此获得9个级分。
- [0195] 2.2.对主要代谢物进行NMR分析与鉴定
- [0196] 将每个级分的等分试样F1至F13溶解在DMSO-d₆中,并在配备有冷冻探针的Bruker Avance AVIII-600波谱仪(Karlsruhe,German)上通过298K下的¹³C NMR进行分析。在处理波谱后,使用Natexplore开发的计算机脚本,自动收集所有¹³C NMR信号的绝对强度,并将其分组在一系列级分的波谱中。对所得表格进行层次组类分析(PermutMatrix,1.9.3,LIRMM, Montpellier, France)。在二维图上以树状图的形式观察所得到的¹³C NMR化学位移

簇。为了鉴定代谢物,将HCA获得的每个¹³C NMR化学位移簇手动提交至ACD/NMR Workbook Suite 2012(ACD/Labs,Ontario,Canada)数据库管理软件(其包括低分子量天然产物的结构和预测的化学位移)的结构搜索引擎。在含有已推测性鉴定的化合物的级分上进行了2D NMR实验(HSQC、HMBC和COSY),以确定在去重复化过程结束时由数据库提出的分子结构。

[0197] 表1中呈现出了通过NMR鉴定的每个级分中的主要代谢物。

[0198] 表1:CPC的级分的质量和整体组成。Maj=主要;Med=中等;Min=次要

[0199] [表1]

CPC 级分	质量 (mg)	%粗提取物	组成
[0200]	洗脱物 1	26	1.3%
	洗脱物 2	21	1.0%
	洗脱物 3	14	0.7%
	洗脱物 4	16	0.8%
			脂肪酸混合物 (多不饱和的和饱和的脂肪酸或醇)
[0201]	洗脱物 5	112	5.6%
	洗脱物 6	135	6.7%
	洗脱物 7	51	2.5%
	洗脱物 8	59	2.9%
	洗脱物 9	28	1.4%
	洗脱物 10	51	2.5%
	洗脱物 11	142	7.1%
	洗脱物 12	1321	65.7%
	洗脱物 13	35	1.7%

[0202] 2.3. 结论

[0203] 在两个相继的实验中,通过CPC技术将粗提取物分级成总共13个级分。极性最低的级分F1-F4(占粗提取物质质量的约3.8%)由长链烷(脂肪酸或醇)组成。中等极性的级分F5-F10(占粗提取物质质量的约21.6%)含有多种多酚(草木樨酸、石斛酚、二氢草木樨苷)以及香豆素、丁香醛和多种酚酸(例如邻香豆酸、香草酸、对羟基苯甲酸和3-羟基-3-(2-羟基苯基)-丙酸)。在这些级分中还鉴定出其他非酚酸(乙酰丙酸、辛二酸、2,4-二甲基-5-氧代四

氢呋喃-3-羧酸和1,3,4-戊烷三羧酸)。在挤出步骤中回收的极性最高的级分F11-F13(占粗提取物质量的约74.5%)主要由单糖以及二氢草木樨苷、反式草木樨苷、顺式草木樨苷、甘油、胆碱、甜菜碱、尿苷和腺苷组成。

[0204] 在以下实施例中测试了由此获得和描述的提取物的生物效应。

[0205] 实施例3:流苏石斛对正常人成纤维细胞的真皮细胞外基质标记物的表达的影响

[0206] 在该研究中,申请人希望评估根据实施例1制备的兰科流苏石斛提取物对培养的正常人成纤维细胞(NHF)中参与细胞外基质(ECM)合成的各种蛋白质的表达的影响。

[0207] 3.1. 正常人成纤维细胞的培养与处理

[0208] 正常人成纤维细胞(NHF)来自37岁女性捐献者的腹部成形术。在第5代(P5)时将细胞接种在96孔板的补充有10%胎牛血清的DMEM 1g/L葡萄糖培养基中,接种密度为每孔15000个细胞。

[0209] 在乙醇中以50μg/ml的浓度使用干的流苏石斛提取物。

[0210] 在融合(D1)时,在DMEM 1g/L葡萄糖培养基+10%FCS(胎牛血清)中用上述提取物处理NHF。对于每种条件,以n=4进行处理,持续5天,其中在D3对单层进行再处理。对于对照(未处理)条件,用新鲜培养基代替培养基。

[0211] 3.2. 免疫标记

[0212] 3.2.1. 标记方案

[0213] 在处理结束时,用PBS(PBS片剂,Invitrogen GIBCO)冲洗细胞三次,然后用福尔马林(福尔马林溶液10%中性缓冲液,Sigma)固定10分钟。

[0214] 用PBS冲洗3次后,用或不用(取决于所研究的标记物)0.1%PBS Triton(Triton X-100,Sigma)溶液使细胞膜可渗透化。然后用PBS再次冲洗它们3次。

[0215] 在环境温度下用1%PBS/BSA溶液(白蛋白,来自牛血清,Sigma)覆盖细胞30分钟。

[0216] 然后用稀释在1%PBS/BSA中的对应于标记的每种蛋白质(参见表1)的一抗溶液代替1%PBS/BBSA溶液。然后将板在4℃下培养过夜。

[0217] 然后用PBS冲洗细胞三次,而后根据待靶向的一抗,用二抗溶液(参见表1)和稀释在1%PBS/BSA中的1/1000th的DAPI(4',6'-二脒基-2-苯基吡啶,二盐酸盐,Invitrogen Molecular Probes)覆盖细胞。在环境温度下将这些板在黑暗中保持一个小时。

[0218] 然后吸取二抗溶液,用PBS冲洗细胞两次并用蒸馏水冲洗细胞一次。在每个孔中放入1mL PBS。将板保持在4℃和黑暗中,直到获得图像。

[0219] 表2:一抗和使用条件的列表

[0220] [表2]

[0221]

靶标的名称	供应商	参考号	渗透化	稀释	物种
弹性蛋白	Abcam	Ab 23747	-	1/200	Rb
原纤维蛋白1	Thermo	MA12770	-	1/200	Ms
胶原蛋白1	Novotec	20111	-	1/200	Rb
巢蛋白1	R&D system	AF2570	+	1/200	山羊

[0222] 3.2.2. 通过HCS进行图像采集

[0223] 用来自Thermo Cellomics的ArrayScan XTi对板进行扫描。

[0224] 采集条件:

[0225] 检测:DAPI:滤波器XF53_386_23

[0226] Alexa Fluor 568:滤波器XF53_572_15

[0227] 分辨率:1104x 1104

[0228] 物镜:10x干燥

[0229] 图像数量:每孔25个。

[0230] 3.2.3. 图像分析

[0231] 然后使用ArrayScan系统的分析软件通过Spot检测器生物应用程序对图像进行分析。

[0232] 该程序(流水线)可以检测靶蛋白的对应于其表达红色标记。测量区域的表面被定义为图像的整个表面。

[0233] 通过检测DAPI的蓝色标记对细胞核进行计数来确定细胞数量。

[0234] 根据标记物和它们的细胞表达,结果可以通过以下方式表达:

[0235] -检测到的标记的强度(阈值)/细胞编号:例如,该方法用于量化纤维形式的结构。

[0236] -全部视野中的标记的强度/细胞编号:该方法在不考虑结构的情况下提供了所研究标记物的合成的一般量化。

[0237] 3.3. 统计分析

[0238] 结果的统计分析包括计算平均值、标准差和置信区间($\alpha=0.05$)。

[0239] 通过Student检验测量了在对照样品和处理样品之间观察到的这些比率差异的显著性。如果Student检验的值小于0.05,则认为具有显著性。

[0240] 3.4. 结果

[0241] [表3]

[0242]		流苏石斛50 μ g/mL
	弹性蛋白	+96%
	原纤维蛋白1	+35%
	胶原蛋白1	+41%
	巢蛋白	+52%

[0243] 结果表明,用根据本发明的流苏石斛提取物处理NHF诱导了对弹性蛋白的表达的极强烈刺激(+96%)。它还诱导了对其他ECM标记物的表达的强烈刺激,例如原纤维蛋白1、胶原蛋白1和巢蛋白(+35%至+52%)。

[0244] 总之,这些结果表明,根据本发明的流苏石斛提取物能够显著地增加皮肤环境的细胞外基质的多种组分的合成。因此,该提取物具有与皮肤的生理功能结合使用的美容益处,特别是预防和/或预防皮肤紧致度的丧失、弹性的丧失、皮肤的厚度减小和/或皱纹和/或细纹的出现。

[0245] 实施例4:流苏石斛或天麻提取物对NHF寿命的影响

[0246] 在该研究中,申请人希望评估根据实施例1制备的兰科流苏石斛提取物对正常人成纤维细胞的寿命的影响。

[0247] 4.1 研究方案

[0248] 4.1.1. 通过流式细胞术研究的衰老成纤维细胞的模型

[0249] 将来自捐献者(58岁女性捐献者)真皮的成纤维细胞培养并通过一系列传代使其

老化,传代使其具有老化表型(衰老成纤维细胞的模型)。

[0250] 通过流式细胞术测量了衰老的某些形态标记物。该技术有利地使得能够以非常高的流速并以定量的方式研究大量细胞(数万个)的光学特性(荧光、与细胞形态相关的光的漫射等)。因此,可以得出具有统计意义的数据。

[0251] 将待研究的细胞置于培养基的悬浮液中。在细胞仪中,细胞被一个接一个地送入分析室,在分析室它们经受多个激光束,这些激光束可以测量或评估细胞参数。

[0252] 与激光束相反测量的衍射光用于评估细胞的尺寸(前向散射参数,FSC)。在侧面测量的衍射光(侧面散射参数,SSC)给出了细胞粒度的测量。这种粒度对应于细胞的复杂性,例如细胞器的密度、蛋白质聚集体以及内部或表面的不规则性。随着衰老,细胞的尺寸和粒度增加,特别是在细胞器氧化损伤、脂褐质累积或甚至大分子损伤之后。

[0253] 4.1.2. 正常人成纤维细胞的培养与处理

[0254] 将根据本发明的流苏石斛提取物的效果与天麻物种的兰科植物根提取物的效果进行比较性评估。

[0255] 流苏石斛提取物:

[0256] -亲代溶液:在(50:50)EtOH/H₂O混合物中的1%(10mg/mL干提取物)

[0257] -最终溶液:0.0006%,即6μg/mL(在培养基中以1/1666.6稀释)天麻提取物:

[0258] -亲代溶液:含有1%根提取物的100%BG(丁二醇)/H₂O(50:50)

[0259] -最终溶液:0.06%(在培养基中以1/1666.7稀释)

[0260] 处理条件:

[0261] -未处理:10%(FCS)

[0262] -Ct1 Exp BG/H₂O(50:50) 1/400

[0263] -天麻0.06%(对应于6μg/mL干提取物)

[0264] -流苏石斛6μg/mL干提取物

[0265] 将第4.1.1节中获得的衰老成纤维细胞接种在补充有10%FCS的DMEM 1g/L葡萄糖培养基中,并在上述条件下在D1、D4、D6、D8、D11和D13进行处理。

[0266] 在D14,冲洗细胞并通过用 Accutase® 处理来回收细胞,然后通过流式细胞术测量形态衰老标记物。

[0267] 4.2. 结果

[0268] 对于参数FSC和SSC中的每一个,在将细胞与成分接触14天后,比较4种条件:

[0269] - (1):早期传代的未处理细胞(第7代)

[0270] - (2):未处理的细胞延迟传代(第28代)=老化细胞

[0271] - (3):用天麻(对应于6μg/mL干提取物)处理的后期传代细胞(P28)

[0272] - (4):用流苏石斛(6μg/mL干提取物)处理的后期传代细胞(P28)

[0273] 4.2.1. FSC的测量

[0274] [表4]

[0275]

条件	传代	成分	FSC	比较	p
(1)	7	NT	337056 +/- 9714	-	
(2)	28	NT	423576 +/- 10297	+27.5% vs. (1)	< 0.001
(3)	28	GE	355221 +/- 3842	-16.2% vs. (2)	< 0.001
(4)	28	DF	361729 +/- 3887	-14.6% vs. (2)	= 0.001

[0276] 在老化的成纤维细胞中,细胞的尺寸明显更高。用流苏石斛处理减少了细胞衰老的这种形态标志。

[0277] 4.2.2.SSC的测量

[0278] [表5]

[0279]

条件	传代	成分	SSC	比较	p
(1)	7	NT	557682 +/- 13918	-	
(2)	28	NT	704152 +/- 31509	+26.3% vs. (1)	= 0.002
(3)	28	GE	684407 +/- 8569	-2.8% vs. (2)	ns
(4)	28	DF	651868 +/- 10784	-7.3% vs. (2)	= 0.053

[0280] 在老化的成纤维细胞中,细胞的粒度明显更高。用流苏石斛处理减少了细胞衰老的这种形态标志,而天麻提取物未显示出任何效果。

[0281] 因此,结果表明,用根据本发明的流苏石斛提取物处理具有对抗成纤维细胞衰老的益处。这种效果明显优于天麻提取物。

[0282] 最后,这种提取物可以用作抗老化活性成分。

[0283] 实施例5:美容配方

[0284] 5.1.霜形式的组合物

[0285] [表6]

	成分	按重量计的%
[0286]	水性（水）	QSP100
	辛酸/癸酸甘油三酯	20.000
	甘油	5.000
	戊二醇	3.000
	硬脂酸甘油酯	1.500
	荷荷巴油的酯	1.000
	聚甘油-3	2.000
	硬脂醇聚醚-21	1.000
	聚甲基丙烯酸甲酯	1.000
	卡波姆	0.200
	醋酸生育酚	0.200
	蝴蝶兰提取物	0.002
	流苏石斛提取物	0.500

[0287] 除了在施用时具有令人愉快的质地外,该组合物还具有显著的抗老化效果,特别是预防面部和颈部的皮肤失去紧致度和弹性。

[0288] 5.2. 涂剂形式的组合物

[0289] [表7]

	成分	按重量计的%
[0290]	水性（水）	QSP100
	甘油	3.0000
	戊二醇	2.0000
	PEG-8	2.0000
	PEG-7 椰酸甘油酯	1.0000
	苯氧乙醇	0.8903
	PEG-60 氢化蓖麻油	0.5000
	柠檬酸钠	0.0850
	透明质酸钠	0.0400
	柠檬酸	0.0138
		0.0090
[0291]	PEG-40 氢化蓖麻油	0.0003
	蝴蝶兰提取物	0.4000
	流苏石斛提取物	

[0292] 施用在皮肤上,尤其是面部上,该组合物提供了紧致和光滑的抗老化作用。

[0293] 参考文献

[0294] Loewus, Improvement in Anthrone Method for Determination of Carbohydrates; Analytical Chemistry, 24(1), 219-219-January 1952.

[0295] Ainsworth,E.,Gillespie,K.Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent.Nat Protoc 2,875-877(2007)。