



(10) 申请公布号 CN 118973594 A

(43) 申请公布日 2024.11.15

(21) 申请号 202380031928.3

(22) 申请日 2023.03.28

(30) 优先权数据

FR2202864 2022.03.30 FR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2023/058067 2023.03.28

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2023/186945 FR 2023.10.05

(83) 生物保藏信息

CNCM I-5579 2020.09.09

(71) 申请人 巴斯夫美容护理法国公司

地址 法国

(72) 发明人 L·阿韦尔萨 L·达努

S·莱欧缇-欧卡姆毕

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 陈迎春 黄革生

(51) Int.Cl.

A61K 35/747 (2015.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61K 8/99 (2017.01)

A61Q 19/02 (2006.01)

权利要求书2页 说明书26页

(54) 发明名称

卷曲乳杆菌菌株和/或包含其的组合物的美容、营养或皮肤病学用途

(57) 摘要

本发明涉及卷曲乳杆菌菌株和/或包含该菌株的组合物用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防皮肤和/或粘膜上色素斑的出现和/或减少皮肤和/或粘膜上色素斑的存在和/或使皮肤和/或粘膜解毒的美容或营养用途。本发明还涉及卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的皮肤病学组合物,其用于治疗和/或预防与皮肤和/或粘膜色素沉着增加相关的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是用于使病理性皮肤和/或病理性粘膜脱色和/或预防病理性皮肤和/或病理性粘膜的色素沉着过度。

1. 卷曲乳杆菌菌株用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加的美容和/或营养用途,该卷曲乳杆菌菌株优选是以名称CNCM I-5579保藏的物种。

2. 如权利要求1所述的用途,其中该菌株特别地通过作用于黑色素的降低和/或抑制,优选地作用于黑色素的合成和/或量的降低和/或抑制,和/或通过减少和/或抑制酪氨酸酶活性,和/或通过使健康皮肤和/或健康粘膜解毒,来降低和/或抑制黑色素生成。

3. 如前述权利要求中任一项所述的用途,其用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色。

4. 如前述权利要求中任一项所述的用途,其用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性。

5. 如前述权利要求中任一项所述的用途,其用于预防健康皮肤和/或健康粘膜上色素斑,优选褐色斑点和/或老年斑的出现和/或减少健康皮肤和/或健康粘膜上色素斑,优选褐色斑点和/或老年斑的存在。

6. 如前述权利要求中任一项所述的用途,其用于使健康皮肤和/或健康粘膜解毒,特别是通过抗氧化作用和/或对脂质过氧化的作用和/或通过氧化应激诱导的谷胱甘肽的合成的增加和/或刺激。

7. 如前述权利要求中任一项所述的用途,其中该菌株以完整形式使用,特别是活的和/或失活的,特别是死的,和/或以裂解物的形式使用,和/或以其一种或多种级分的形式使用,和/或以其一种或多种代谢物,优选其分泌蛋白质组的形式使用。

8. 如前述权利要求中任一项所述的用途,其中该卷曲乳杆菌菌株是以编号CNCM I-5579保藏的菌株。

9. 如前述权利要求中一项所述的用途,其中该卷曲乳杆菌菌株以活的完整形式和/或以其一种或多种代谢物,优选其分泌蛋白质组的形式使用。

10. 如前述权利要求中一项所述的用途,其中将该卷曲乳杆菌菌株与其培养基组合。

11. 如前述权利要求中一项所述的用途,其中将该卷曲乳杆菌菌株局部应用于健康皮肤和/或健康粘膜。

12. 如权利要求11所述的用途,其中该皮肤为光型IV至VI。

13. 如前述权利要求中任一项所述的用途,使得该卷曲乳杆菌菌株以以下浓度存在于美容组合物中:相对于该组合物的总重量,按重量计 $1 \times 10^{-4}\%$ 至 10% ,优选按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与 5% 之间,并且更有利地按重量计介于 $1 \times 10^{-3}\%$ 与 0.5% 之间,所述组合物还包含至少一种美容可接受的赋形剂。

14. 一种美容护理方法,其特征在于该方法包括向健康皮肤和/或健康粘膜的至少一个区域局部应用如权利要求7至10中一项所述所定义的卷曲乳杆菌菌株或如权利要求13所述的美容组合物,用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或用于预防其增加,特别是用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防健康皮肤和/或健康粘膜色素斑的出现和/或减少健康皮肤和/或健康粘膜色素斑的存在,和/或使皮肤和/或粘膜解毒。

15. 如权利要求14所述的美容护理方法,其中如权利要求7至10中一项所述所定义的卷曲乳杆菌菌株或如权利要求13所述的美容组合物的局部应用在身体和/或面部和/或头皮的全部或部分的健康皮肤和/或健康粘膜上进行,优选在腿部、大腿、手臂、腹部、领口、颈

部、腋窝、嘴唇上进行,更优选在面部的全部或部分上进行,并且优选在脸颊、前额、下巴、嘴唇、眼周上进行。

16. 如权利要求14和15中任一项所述的美容护理方法,其中该美容组合物包含如权利要求7至10中一项所述所定义的卷曲乳杆菌菌株,该卷曲乳杆菌菌株的浓度为相对于该组合物的总重量,按重量计 $1 \times 10^{-4}\%$ 至10%,优选按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与5%之间,更有利地按重量计介于 $1 \times 10^{-3}\%$ 与0.5%之间,所述组合物还包含至少一种美容可接受的赋形剂。

17. 一种卷曲乳杆菌菌株或一种包含该菌株的药物组合物,优选皮肤病学组合物,其有利地通过局部途径用于治疗 and/或预防与皮肤和/或粘膜的色素沉着增加相关的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是用于使病理性皮肤和/或病理性粘膜脱色和/或预防病理性皮肤和/或病理性粘膜的色素沉着过度,和/或用于治疗 and/或预防与氧化应激相关的皮肤和/或粘膜的病理状况。

18. 如权利要求17所述的菌株,其中该菌株以完整形式使用,特别是活的和/或失活的,特别是死的,和/或以裂解物的形式使用,和/或以其一种或多种级分的形式使用,和/或以其一种或多种代谢物,优选其分泌蛋白质组的形式使用,并且/或者其中该菌株与其培养基组合。

19. 如权利要求17和18中任一项所述用于使用的卷曲乳杆菌菌株,其特征在于该菌株为包含至少一种皮肤病学可接受的赋形剂的药物组合物,优选皮肤病学组合物的形式。

20. 如权利要求17至19中任一项所述用于使用的卷曲乳杆菌菌株,其特征在于该菌株以以下浓度存在于药物组合物、优选皮肤病学组合物中:相对于该组合物的总重量,以按重量计 $1 \times 10^{-4}\%$ 至10%,优选按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与5%之间,更有利地按重量计介于 $1 \times 10^{-3}\%$ 与0.5%之间,所述组合物还包含至少一种药学上,优选皮肤病学上可接受的赋形剂。

21. 如权利要求17至20中任一项所述用于使用的卷曲乳杆菌菌株,其特征在于该菌株如权利要求7至10中一项所述所定义。

卷曲乳杆菌菌株和/或包含其的组合物的美容、营养或皮肤病学用途

[0001] 本发明涉及卷曲乳杆菌 (*Lactobacillus crispatus*) 菌株和/或包含该菌株的组合物用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防皮肤和/或粘膜的色素沉着增加的美容、营养和/或药物用途,特别是皮肤病学用途。

[0002] 皮肤的结构和外观随着年龄和/或在外在因素和/或内在因素的影响下改变。这些改变有很多种,包括皮肤和/或粘膜的色素沉着的改变。皮肤变得暗沉,不太明亮,缺乏光泽,其光泽度降低,并且肤色不太均匀,还伴有色素斑的出现。

[0003] 随着年龄的增长或加速衰老,特别是在辐射(通常是紫外线)或污染的作用下,这些改变(例如色素斑)的出现会加速。它们与黑色素和脂褐素的存在有关,黑色素和脂褐素在皮肤中的过量和异常分布会导致出现褐色斑点,称为老年或色素褐斑点,也称为“老年斑”。这些可以作为黑色素生成加速的标志物出现,通常被认为是不美观的。它们使肤色不均匀且暗沉。

[0004] 黑色素生成和氧化应激是美容领域众多研究和创新的主题,用于开发和改善旨在减少和/或预防健康皮肤和/或健康粘膜的色素沉着增加的美容活性剂。

[0005] 在美容和皮肤病学领域需要开发替代性天然活性成分,其能够减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防皮肤和/或粘膜的色素沉着增加,特别是保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色,特别是其光泽度和/或亮度和/或均匀性,特别是在更易出现色素斑的群体中,特别是如由Fitzpatrick分类法所定义的光型IV至VI的皮肤中。

[0006] 存在对鉴定具有这些特性中的一种或多种,特别是具有已证明的功效和安全性的药剂的持续需要。

[0007] 特别出人意料地,本申请人已经发现卷曲乳杆菌(一种对皮肤和/或粘膜有益的共生细菌)具有减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色,优选保持和/或改善皮肤和/或粘膜肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或预防皮肤和/或粘膜的色素斑的出现和/或减少皮肤和/或粘膜的色素斑的存在的特性。

[0008] 本申请人还意外地发现,这种细菌还具有使皮肤和/或粘膜解毒的特性。

[0009] 本申请人的发明是更加有利的,因为细菌卷曲乳杆菌,并且特别是以编号CNCM I-5579保藏的卷曲乳杆菌,具有天然存在于年轻皮肤上的优点,这与迄今为止在美容和/或皮肤病学治疗中使用的细菌不同。

[0010] 本发明甚至是更有利的,因为本申请人已经证明,随着年龄增加和/或在内在因素和/或外在因素的影响下,皮肤上存在的细菌卷曲乳杆菌越来越少且丰度越来越低。因此,本发明的主题具有重新平衡和/或补充皮肤和/或粘膜的微生物群(特别是用随着时间推移和/或暴露于内在因素和/或外在因素而减少并变得更罕见的皮肤菌群细菌)的优点。

[0011] 因此,本发明的主题特别适合于治疗被称为成熟,特别是年龄超过50岁的个体的皮肤。

[0012] 根据本发明的菌株还具有作为可易于配制的且可以被容易地以工业规模制造的

成分的优点。它是皮肤和粘膜的局部可接受的活性成分,不存在过敏风险。

[0013] 已经有申请描述了卷曲乳杆菌在美容中的用途。因此,申请W0 9822082披露了可从乳酸菌中提取的鞘磷脂酶的用途,该鞘磷脂酶用于局部应用以增加皮肤和粘膜的神经酰胺水平,用于预防或治疗性处理多种病理状况。

[0014] 申请W0 2009031099披露了益生菌出于美学目的用于预防与皮肤表面治疗或与侵入性治疗相关的不适感和/或皮肤症状的出现和/或治疗其表现的用途。

[0015] 申请W0 2019/111189描述了包含益生菌,特别是副干酪乳杆菌 (*Lactobacillus paracasei*) 用于预防UV辐射诱导的炎性损伤的用途。

[0016] 然而,这些申请均未披露或暗示卷曲乳杆菌菌株和/或包含该菌株的组合物用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或用于预防其增加,特别是用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或预防皮肤和/或粘膜上色素斑的出现和/或减少皮肤和/或粘膜上色素斑的存在的美容、营养和/或药物用途,特别是皮肤病学用途。

[0017] 此外,这些申请均未披露或暗示卷曲乳杆菌菌株和/或包含该菌株的组合物用于使皮肤和/或粘膜解毒的用途。

[0018] 本发明的第一主题是卷曲乳杆菌菌株(优选以编号CNCM I-5579保藏的卷曲乳杆菌菌株)用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加的美容和/或营养用途,特别是用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防健康皮肤和/或健康粘膜上色素斑(优选褐色斑点和/或老年斑)的出现和/或减少其的存在,和/或使健康皮肤和/或健康粘膜解毒的美容和/或营养用途,特别是如由Fitzpatrick分类法定义的光型IV至VI的皮肤。在本发明的上下文中,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株特别用作美容和/或营养活性成分。

[0019] 根据该用途的特定实施例,根据本发明的菌株特别地通过作用于黑色素的降低和/或抑制,优选地作用于黑色素的合成和/或量的降低和/或抑制,和/或通过减少和/或抑制酪氨酸酶活性,和/或通过使健康皮肤和/或健康粘膜解毒,来降低和/或抑制黑色素生成。

[0020] 根据本发明的一个方面,根据本发明的菌株可以用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色。根据本发明的菌株还可以用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性。根据本发明的菌株还可以用于预防健康皮肤和/或健康粘膜的色素斑(优选褐色斑点和/或老年斑)的出现和/或减少其存在。根据本发明的菌株还可以用于使健康皮肤和/或健康粘膜解毒,特别是通过抗氧化作用和/或对脂质过氧化物的作用和/或通过氧化应激诱导的谷胱甘肽合成的增加和/或刺激。

[0021] 本发明的主题还是美容护理方法,其特征在于该方法包括将根据本发明的卷曲乳杆菌菌株(优选卷曲乳杆菌CNCM I-5579菌株),或包含该菌株的美容组合物局部应用至健康皮肤和/或健康粘膜的至少一个区域,用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或用于预防其增加,特别是用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防健康皮肤和/或健康粘膜色素斑的出现和/或减少健康皮肤和/或健康粘膜色素斑的存在,和/或

使皮肤和/或粘膜解毒。在本发明的上下文中,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株特别用作美容和/或营养活性成分。

[0022] 本发明的主题还是根据本发明的卷曲乳杆菌菌株(优选卷曲乳杆菌菌株CNCM I-5579),或包含该菌株的药物组合物(特别是皮肤病学组合物),其用于预防和/或治疗与皮肤和/或粘膜的色素沉着增加相关的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是用于使病理性皮肤和/或病理性粘膜脱色和/或预防病理性皮肤和/或病理性粘膜的色素沉着过度,以便减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是保持和/或改善病理性皮肤和/或病理性粘膜的肤色,优选保持和/或改善病理性皮肤和/或病理性粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或预防病理性皮肤和/或病理性粘膜的色素斑的出现和/或减少病理性皮肤和/或病理性粘膜的色素斑的存在,和/或使病理性皮肤和/或病理性粘膜解毒。在本发明的上下文中,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株特别用作活性成分。

[0023] 出于本发明的目的,术语“美容用途”意指非药物用途,即不旨在用于治疗用途并且应用于身体的“健康”部分、特别是皮肤和/或粘膜的“健康”区域的药物用途。

[0024] 出于本发明的目的,表述“营养用途”意指旨在用于非药物口服施用的用途,即不需要且不涉及治疗性处理的用途。

[0025] 术语“皮肤”意指身体和/或面部的任何部分的皮肤的任何区域,包括头皮。

[0026] 出于本发明的目的,表述“光型IV至VI的皮肤”应理解为意指根据Fitzpatrick量表(该量表使得可以根据个体在暴露于UV射线期间的皮肤和头发的反应对个体进行分类)分类的特定皮肤类型,和/或由皮肤科医师根据皮肤的色泽(其特别取决于黑色素细胞的活性水平、这些细胞的产生及其分组)进行如此分类。优选地,这些光型IV至VI的深色皮肤源自分别来自印度、亚洲和/或非洲的特征性种族起源。特别地,

[0027] -光型IV(地中海型)对应于浅哑光皮肤和褐色或黑色头发和褐色或深色眼睛。很少晒伤,皮肤容易晒黑,呈深褐色;

[0028] -光型V(拉丁型)对应于浅哑光皮肤、黑色头发和深色眼睛。很少晒伤,皮肤容易晒黑,呈深褐色;

[0029] -光型VI(非洲型)对应于非常深的皮肤、黑色头发和深色眼睛。晒伤是非常罕见的。

[0030] 根据本发明,“粘膜”意指眼粘膜、鼻粘膜、耳粘膜、阴道粘膜、泌尿生殖器粘膜和/或口腔粘膜,特别是口腔粘膜、唇粘膜和/或牙龈粘膜,优选眼粘膜和/或口腔粘膜,更优选唇粘膜和/或眼粘膜。有利地,所述术语不包括阴道粘膜。

[0031] 出于本发明的目的,术语“健康皮肤”或“健康粘膜”意指这样的皮肤或粘膜的区域,向该区域应用本发明的菌株,并且该区域被皮肤学家称为“非病理性的”,即没有感染、瘢痕形成、疾病、炎症或皮肤病症例如念珠菌病、脓疱病、银屑病、湿疹、痤疮或皮炎、或伤口或损伤。

[0032] 出于本发明的目的,术语“卷曲乳杆菌菌株”应理解为意指呈完整形式或呈部分形式,特别是呈裂解物形式、呈级分形式或呈代谢物形式的细菌卷曲乳杆菌。有利地,卷曲乳杆菌菌株是未经基因修饰的。

[0033] 根据本发明的卷曲乳杆菌菌株可来源于任何已知的卷曲乳杆菌物种。优选地,卷曲乳杆菌菌株是根据布达佩斯条约于2020年9月9日在巴斯德研究所(巴黎15区鲁克斯医生

路28号,邮编F-75024)保藏的名称为CNCM I-5579的物种。

[0034] 这种特定卷曲乳杆菌菌株的优点在于它是第一种在皮肤上天然发现的卷曲乳杆菌。

[0035] 出于本发明的目的,表述“减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加”应理解为意指使皮肤和/或粘膜脱色、增白、增亮,预防皮肤和/或粘膜的肤色和/或色调的增加,维持和/或保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色和/或色调,并且优选减少和/或预防其黑色素生成的增加,并且更优选地全部或部分地减少和/或抑制基因和/或蛋白质表达和/或酪氨酸酶活性和/或减少和/或抑制黑色素的合成和/或量。

[0036] 皮肤的色素沉着过程也称为“黑色素生成”,并且包括范围从黑色素细胞中黑色素的合成到其借助于黑色素体转运到表皮的角质形成细胞中的许多步骤。这一过程中涉及几种蛋白质。酪氨酸酶是参与黑色素合成的关键步骤的酶;它与其他蛋白质协作将黑色素转化为真黑色素和褐黑色素,真黑色素和褐黑色素是负责色素沉着过程的黑色素。

[0037] 表述“减少和/或抑制黑色素生成”应理解为意指全部或部分地减少和/或抑制基因和/或蛋白质表达和/或酪氨酸酶活性和/或全部或部分地减少和/或抑制黑色素的合成和/或量。

[0038] 根据本发明,表述“全部或部分地减少和/或抑制酪氨酸酶活性”应理解为意指在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下,酪氨酸酶活性相对于在不存在该提取物的情况下测量的活性水平降低至少25%,优选至少50%,更优选至少75%。

[0039] 优选地,在从“正常”人黑色素细胞中提取的酪氨酸酶上测量酪氨酸酶活性,更优选地通过光度测量从“正常”人黑色素细胞中提取的酪氨酸酶在540nm处的吸光度测量黑色素的产生来测量酪氨酸酶活性,更优选地在存在根据实例1.e制备的卷曲乳杆菌菌株的情况下,有利地在实例3中所描述的条件。

[0040] 根据本发明,表述“全部或部分地减少和/或抑制黑色素的合成和/或量”意指相对于在不存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下检测到的黑色素的合成和/或量,在存在该菌株的情况下黑色素的合成和/或量减少至少10%,优选至少20%,更优选至少30%的黑色素。在本发明的优选实施例中,所讨论的是在存在根据实例1.a或根据实例1.e制备的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下,黑色素的量的减少。更优选地,使用在包含胎牛血清的培养基中在体外培养的B16黑色素细胞,有利地在实例2所描述的条件,通过在475nm处的光密度测量黑色素的量。在另一个优选的实施例中,黑色素的量通过使用“正常”人黑色素细胞和角质形成细胞的共培养物在475nm处的光密度来测量,该共培养物有利地在实例4中所描述的条件在包含生长因子的培养基中在体外培养。

[0041] 出于本发明的目的,表述“保持和/或改善肤色”应理解为意指维持肤色的光泽度和/或亮度和/或光泽和/或明度和/或肤色的均匀性和/或预防肤色的光泽度和/或亮度和/或光泽和/或明度和/或肤色的均匀性的降低和/或增加肤色的光泽度和/或亮度和/或光泽和/或明度和/或肤色的均匀性和/或降低和/或减少皮肤和/或粘膜的暗沉和/或土色肤色。

[0042] 可以通过本领域技术人员已知的测量技术研究皮肤和/或粘膜肤色的光泽度、亮度和均匀性的测量,特别是可以例如在体内通过比色法或通过图像分析来进行这些测量。后一种体内测量方法包括在应用测试产品之前和之后拍摄志愿者面部的交叉极化配置的高分辨率照片(以45°拍摄的)。基于这些数字照片,图像分析使得能够提取和量化与皮肤的

颜色、光泽度和均匀性相关的特定参数(例如L*、a*、b*、C、h°)。

[0043] 出于本发明的目的,表述“保持和/或改善肤色的光泽度”应理解为意指维持粘膜的亮度和/或光泽和/或明度和/或净度和/或预防粘膜的亮度和/或光泽和/或明度和/或净度的降低和/或增加皮肤和/或粘膜的亮度和/或光泽和/或明度和/或净度,和/或降低和/或减少皮肤和/或粘膜的暗沉和/或土色肤色。

[0044] 出于本发明的目的,表述“保持和/或改善肤色的均匀性”应理解为意指维持肤色的颜色的瑕疵和/或不规则性的量和/或程度和/或预防肤色的颜色的瑕疵和/或不规则性的量和/或程度的增加和/或降低肤色的颜色的瑕疵和/或不规则性的量和/或程度,该肤色的颜色的瑕疵和/或不规则性特别选自发红、色素斑、粉刺、雀斑和/或可见毛孔。

[0045] 皮肤肤色的均匀性和皮肤中黑色素的量的测量可以通过皮肤色素测量法(mexametry)进行。这种体内测量方法在于使用吸收/反射原理从其中推断出反映皮肤内存在的黑色素量的黑色素指数。

[0046] 有利地,在实例7所描述的条件下,优选通过应用含有根据实例1.e制备的卷曲乳杆菌菌株的霜剂对面部有色素斑的女性群体进行肤色改善的测量。

[0047] 表述“维持肤色的颜色的瑕疵和/或不规则性和/或预防肤色的颜色的瑕疵和/或不规则性的增加和/或减少肤色的颜色的瑕疵和/或不规则性”应理解为意指:在对皮肤应用28天期间,在存在根据本发明的菌株的情况下,相对于在不存在该菌株的情况下检测到的黑色素的量,预防了至少2%、有利地至少3%的皮肤中黑色素的量的增加和/或使皮肤中黑色素的量减少了至少2%、有利地至少3%;和/或,在对皮肤应用56天期间,在存在根据本发明的菌株的情况下,相对于在不存在该菌株的情况下检测到的黑色素的量,预防了至少2%、有利地至少5%的皮肤中黑色素的量的增加和/或使皮肤中黑色素的量减少了至少2%、有利地至少5%。

[0048] 表述“预防色素斑的出现和/或减少色素斑的存在”应理解为意指维持局部色素斑的色素沉着和/或预防局部色素斑的色素沉着增加和/或减少局部色素斑的色素沉着,特别是通常在面部、领口、颈部、背部、肩部和/或手部的区域上的色素斑,尤其是手背上的斑点的数量和/或强度。

[0049] 当色素斑位于暴露于UV辐射的身体部分上和/或与年龄的增长或UV诱导的衰老有关时,例如在暴露于阳光期间,色素斑特别是褐色和/或深色和/或白色斑点和/或“老年斑”。色素斑还包括雀斑和/或痣和/或炎症后斑点和/或响应于侵袭而出现的斑点,和/或激素来源的斑点(特别是在黄褐斑或黑斑(也称为妊娠面斑)的情况下),和/或药物诱导的斑点,和/或用于预防和/或对抗伴随非皮肤病理状况的皮肤和/或粘膜的不美观的色素表现。

[0050] 本申请人还发现卷曲乳杆菌菌株,特别是以名称CNCM I-5579保藏的卷曲乳杆菌菌株,可以用于使皮肤和/或粘膜(特别是健康皮肤和/或健康粘膜)解毒。

[0051] 术语“使皮肤和/或粘膜解毒”应理解为意指预防和/或完全和/或部分抑制氧化应激,特别是通过预防和/或完全和/或部分抑制自由基的形成和/或脂质过氧化物的形成和/或通过增加和/或刺激具有抗氧化和解毒特性的谷胱甘肽的合成。

[0052] 解毒使得可以保护皮肤免受外部和内部二者的侵袭,该侵袭引起易于损害其适当功能并且易于有害地改变其外观的氧化应激,特别是能够刺激皮肤细胞的保护和修复的天然系统并且限制细胞损伤的诱导的手段。

[0053] 术语“氧化应激”意指过量反应性物质,包括活性氧类和活性氮类的形成,其在皮肤经受由各种因素例如太阳紫外线、红外线和可见光、环境污染(包括臭氧和颗粒)和心理应激引起的氧化应激时形成。

[0054] 除了影响皮肤解毒系统的有效性之外,氧化应激还可以加剧色素沉着,特别是通过诱导肤色的不规则性或色素障碍。

[0055] 在本发明的优选实施例中,所讨论的是在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下,相对于在不存在该菌株的情况下检测到的DPPH[°]自由基的形成,减少和/或抑制至少10%、优选至少30%的DPPH[°](2,2-二苯基-1-苦基肼基)自由基的形成,和/或在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下,相对于在不存在该菌株的情况下检测到的细胞内自由基的释放,减少和/或抑制至少20%、优选至少50%的由氧化应激(优选UVA射线)诱导的细胞内自由基的释放。

[0056] 在本发明的优选实施例中,所讨论的是在存在根据实例1.a和/或1.e制备的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下,减少和/或抑制DPPH[°]自由基的自发形成。

[0057] 更优选地,在实例5.a中所描述的条件下通过在530nm处的光密度在管中测量DPPH[°]自由基的形成。

[0058] 在本发明的优选实施例中,所讨论的是在存在根据实例1.a制备的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下,减少和/或抑制由氧化应激,优选由UVA射线诱导的细胞内自由基的释放。

[0059] 更优选地,在实例5.b中所描述的条件下,通过来自正常人成纤维细胞在485nm激发波长和538nm发射波长下由DCFH-DA(2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯)探针形成DCF(2',7-二氯荧光素)所发射的荧光来测量由氧化应激(优选UVA射线)诱导的细胞内自由基的释放。

[0060] 在另一个实施例中,所讨论的是“预防和/或抑制膜脂的过氧化”,也就是说,与在不存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下检测到的脂质过氧化相比,在存在该菌株的情况下,预防和/或全部或部分地抑制至少10%、优选至少30%的由氧化应激(优选UVA射线)诱导的脂质氧化。

[0061] 在本发明的优选实施例中,所讨论的是在存在根据实例1.a制备的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下,预防和/或抑制由氧化应激(优选UVA射线)诱导的膜脂的过氧化。

[0062] 更优选地,在实例5.c中所描述的条件下,通过来自正常人成纤维细胞在532nm激发波长和560nm发射波长下由丙二醛(MDA)的形成的荧光来测量由氧化应激(优选UVA射线)诱导的膜脂的过氧化。

[0063] 根据另一个实施例,所讨论的是维持和/或刺激谷胱甘肽合成,也就是说,与在不存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下检测到的谷胱甘肽合成相比,在存在该菌株的情况下,在存在氧化应激(优选由UVA射线诱导)的情况下,预防了至少20%、优选至少50%的谷胱甘肽的表达和/或量降低,和/或增加了至少20%、优选至少50%的谷胱甘肽的表达和/或量。

[0064] 在本发明的优选实施例中,所讨论的是在存在根据实例1.a制备的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下,维持和/或刺激由氧化应激(优选UVA射线)诱导的谷胱甘肽的合

成。

[0065] 更优选地,在实例6中所描述的条件下,通过来自正常人成纤维细胞在355nm激发波长和430nm发射波长下的荧光在体外测量谷胱甘肽的合成。

[0066] 根据本发明,卷曲乳杆菌菌株可以以完整形式使用,特别是活的和/或失活的,特别是死的,和/或以裂解物的形式使用,和/或以其一种或多种级分的形式使用,和/或以其一种或多种代谢物,优选其分泌蛋白质组的形式使用。

[0067] 对于其每种形式,根据本发明的菌株可以被分离或与其培养基组合。

[0068] 优选地,根据本发明的菌株与其培养基组合使用,也就是说包含在其培养基中。

[0069] 出于本发明的目的,术语“培养基”应理解为意指含有能够培养根据本发明的卷曲乳杆菌菌株和/或使根据本发明的卷曲乳杆菌菌株增殖的营养元素的支持物。优选地,该培养基是MRS (Man, Rogosa和Sharp琼脂) 培养基。

[0070] 出于本发明的目的,术语“分离的”意指在其培养基中不与一种或多种可能与其相关的化合物混合。

[0071] 出于本发明的目的,术语“完整形式”意指其天然形式,即其中细菌包膜是完整的形式,而不是裂解形式。当以完整形式使用时,卷曲乳杆菌菌株可以是活的和/或失活的和/或死的。

[0072] 出于本发明的目的,术语“活的”是指能够在培养物中形成菌落的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株。

[0073] 活的完整形式的卷曲乳杆菌菌株的产生可以根据本领域技术人员常规已知的任何方法进行。有利地,它将根据例如在实例1.a中描述的方案进行。

[0074] 出于本发明的目的,术语“失活的”是指不再能够在培养物中暂时或确定地形成菌落的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株。

[0075] 卷曲乳杆菌菌株的灭活可以通过本领域技术人员常规已知的任何方法进行。它尤其可以通过辐照、热处理或在某些条件下通过高压处理或通过挤出灭活,有利地,它将通过热处理进行,更有利地根据例如实例1.b中描述的方案进行。

[0076] 可以通过将卷曲乳杆菌菌株在有利地从约60°C至150°C的温度下孵育给定的时间段,有利地约10s至90min,优选地约15分钟至一小时来进行热灭活。优选地,将其在约80°C下孵育约30分钟。

[0077] 出于本发明的目的,术语“死的”是指不再能够在培养物中确定地形成菌落的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株。

[0078] 出于本发明的目的,术语“裂解物”意指在被称为细胞裂解的现象破坏或溶解生物细胞后从而导致所考虑的微生物的细胞中天然包含的细胞内生物组分和细胞膜组分的片段释放而获得的物质。因此,所使用的裂解物是由根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的所有细胞内生物成分以及细胞壁和细胞膜的成分形成的。

[0079] 裂解物可以通过本领域技术人员常规已知的任何方法获得。它尤其可以通过渗透冲击、热冲击、通过超声、通过酶裂解、通过结晶或在离心类型的机械应力下,或通过增加压力或这些不同技术的组合来获得。

[0080] 优选地,裂解物将通过机械作用和压力增加的组合获得。更优选地,裂解物将根据例如在实例1.c中描述的方案获得。

[0081] 在本发明的优选实施例中,裂解物将与细菌培养基组合。

[0082] 优选地,所获得的裂解物不含有任何活性酶,特别是活性鞘磷脂酶。

[0083] 出于本发明的目的,术语“级分”应理解为意指根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的片段,其在以下方面是有效的:减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防皮肤和/或粘膜上色素斑的出现和/或减少皮肤和/或粘膜上色素斑的存在和/或使皮肤和/或粘膜解毒。该级分对应于通过裂解根据本发明的卷曲乳杆菌菌株获得的细胞内生物成分以及细胞壁和膜成分的非全部部分。

[0084] 根据本发明的特定实施例,这些级分可以是细菌原生质。根据本发明的特定实施例,该级分对应于所有细胞内生物成分,但不含有卷曲乳杆菌菌株的细胞壁和细胞膜的成分。

[0085] 根据本发明的特定实施例,所获得的级分不含有任何活性酶,特别是活性鞘磷脂酶。

[0086] 在本发明的优选实施例中,该级分将与细菌培养基组合。

[0087] 出于本发明的目的,术语“代谢物”应理解为意指来源于根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的代谢的一种或多种有机和/或无机分子,并且其还在以下方面是有效的:减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防皮肤和/或粘膜上色素斑的出现和/或减少皮肤和/或粘膜上色素斑的存在和/或使皮肤和/或粘膜解毒。优选地,这是根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的分泌蛋白质组。

[0088] 在本发明的特定实施例中,代谢物将与细菌培养基组合。

[0089] 出于本发明的目的,术语“分泌蛋白质组”应理解为意指由根据本发明的卷曲乳杆菌菌株分泌的所有有机和/或无机分子,其在以下方面是有效的:减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善皮肤和/或粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防皮肤和/或粘膜上色素斑的出现和/或减少皮肤和/或粘膜上色素斑的存在和/或使皮肤和/或粘膜解毒。

[0090] 分泌蛋白质组可以通过本领域技术人员常规已知的任何方法获得。有利地,它将根据如例如在实例1.e中描述的方案获得。

[0091] 在本发明的优选实施例中,分泌蛋白质组将与细菌培养基组合。

[0092] 根据本发明的特定实施例,代谢物和/或分泌蛋白质组不含有活性酶,特别是活性鞘磷脂酶。

[0093] 根据本发明的优选实施例,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株将以活的完整形式和/或以其一种或多种代谢物的形式,优选以其分泌蛋白质组的形式使用。

[0094] 优选地,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株将以用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防皮肤和/或粘膜色素沉着的增加的有效量使用。

[0095] 根据有利的实施例,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株不含有鞘磷脂酶。

[0096] 根据本发明的有利的实施例,将根据本发明的卷曲乳杆菌菌株局部应用于健康皮肤和/或健康粘膜。优选地,皮肤和/或粘膜为光型IV至VI。光型IV至VI如Fitzpatrick分类

法所定义。

[0097] 出于本发明的目的,术语“局部途径”意指将根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或根据本发明的包含该菌株的组合物直接局部应用和/或喷雾到所关注的皮肤和/或粘膜区域的表面上。

[0098] 根据本发明,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株可以以活性成分的形式和/或以美容和/或营养和/或药物组合物、特别是皮肤病学组合物单独使用,优选旨在用于局部和/或口服应用,更优选用于局部应用。

[0099] 当其以根据本发明的活的完整形式使用时,并且当其以活性成分的形式单独使用时,根据本发明的菌株可以呈干燥形式,即呈粉末形式,有利地在麦芽糖糊精中,优选地菌株含量为:相对于该粉末的总重量,按该菌株的重量计10%至80% (w/w),优选地按该菌株的重量计30%至70% (w/w),更有利地40%至60% (w/w)。

[0100] 替代性地,根据本发明的活的完整形式可以在溶剂中分散和/或稀释使用。优选地,该溶剂含有按体积计小于20% (v/v)的水,更优选地按体积计小于5% (v/v)的水;更优选地,溶剂不含任何水。

[0101] 根据替代性实施例,该溶剂含有按重量计小于20% (w/w)的水,更优选地按重量计小于5% (w/w)的水,更优选地该溶剂不含有水。非常优选地,该溶剂是美容可接受的油。

[0102] 当其以其完整的失活形式(特别是死的),和/或以裂解物的形式,和/或以其一种或多种级分的形式,和/或以其一种或多种代谢物(特别是其分泌蛋白质组)的形式使用时,并且当其以活性成分的形式单独使用时,根据本发明的菌株可以呈干燥形式,即呈粉末形式,有利地在麦芽糖糊精中,优选地菌株含量为:按该菌株的重量计1%至80% (w/w),优选地按该菌株的重量计3%至50% (w/w),非常优选地相对于粉末的总重量,按该菌株的重量计约5%或20% (w/w),更优选地约10% (w/w),更优选地相对于粉末的总重量,按该菌株的重量计10% (w/w)。

[0103] 替代性地,失活的完整形式,特别是死的形式,和/或裂解物,和/或级分,和/或代谢物,特别是根据本发明的分泌蛋白质组,可以在溶剂中溶解和/或稀释和/或分散使用,该溶剂特别是极性溶剂,诸如水、醇、多元醇、二醇诸如戊二醇和/或己二醇和/或辛甘醇和/或丁二醇或其混合物,优选水-二醇或水-醇混合物,更优选包含选自己二醇、辛甘醇及其混合物的二醇。

[0104] 在另一个实施例中,可以将根据本发明的菌株掺入包含至少一种美容可接受的和/或营养可接受的赋形剂的美容和/或营养组合物中。优选地,将其掺入包含至少一种美容可接受的赋形剂的美容组合物中。

[0105] 出于本发明的目的,术语“美容可接受的”赋形剂意指局部可接受的化合物和/或溶剂,即在与皮肤(包括人头皮)和/或粘膜接触时不引起过敏反应并且无毒且化学性质稳定的化合物和/或溶剂。

[0106] 在优选的实施例中,根据本发明的菌株将单独掺入美容组合物中,也就是说,它将不用于发酵植物提取物。换言之,包含根据本发明的菌株的美容组合物不包含该菌株的任何植物提取物发酵物。

[0107] 在本发明的优选实施例中,根据本发明的菌株以有效量,即相对于组合物的总重量,按重量计 $1 \times 10^{-4}\%$ 至10% (w/w),优选地按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与5% (w/w)之间,更有

利地按重量计介于 $1 \times 10^{-3}\%$ 与 0.5% (w/w) 之间的浓度存在于美容组合物中,所述组合物还包含至少一种美容可接受的赋形剂。

[0108] 以特别有利的方式,当根据本发明的菌株以其一种或多种代谢物,特别是其分泌蛋白质组的形式使用时,其以用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防皮肤和/或粘膜色素沉着的增加的有效量,即相对于组合物的总重量,按重量计 0.05% 至 0.5% (w/w) 的浓度,更优选按重量计约 0.1% (w/w) 的浓度存在于美容组合物中,所述组合物还包含至少一种美容可接受的赋形剂。

[0109] 特别有利地,当根据本发明的菌株以活的完整形式使用时,其以用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防皮肤和/或粘膜色素沉着的增加的有效量,即相对于组合物的总重量,按重量计 0.01% 至 0.1% (w/w) 的浓度,更优选按重量计约 0.025% (w/w) 的浓度存在于美容组合物中,所述组合物还包含至少一种美容可接受的赋形剂。

[0110] 本发明的美容组合物可以选自水性或油性悬浮液或溶液、霜剂或水性凝胶或油性凝胶,特别是沐浴露、洗发水;乳剂(milk);乳液(emulsion)、微乳液或纳米乳液,特别是水包油或油包水或多重或硅基乳液;面膜;血清;洗剂;液体皂;润肤洁面皂;软膏;香膏;黄油;摩丝;贴剂;无水产品,其优选是液体、糊剂或固体,例如呈化妆粉、棍或棒的形式,特别是呈唇膏的形式。

[0111] 它也可以是化妆产品或卸妆产品。

[0112] 有利地,本发明的卷曲乳杆菌菌株或组合物旨在应用于身体和/或面部和/或头皮的全部或部分的健康皮肤和/或健康粘膜,优选腿部、大腿、手臂、腹部、颌口、颈部、腋窝或嘴唇,更优选应用于面部的全部或部分,并且优选地应用于脸颊、前额、下巴、嘴唇或眼周。

[0113] 有利地,该菌株和/或包含该菌株的组合物旨在应用于表现出暗沉肤色的健康皮肤区域和/或非均匀健康皮肤的区域和/或出现色素斑的健康皮肤的区域。

[0114] 优选地,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株特别适于配制用于皮脂腺,特别是包括头皮的皮肤和/或粘膜的中性和温和组合物。

[0115] 替代性地,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株可以是常规用于口服应用的任何呈现形式,特别是营养活性成分和/或营养组合物的形式。

[0116] 根据本发明的组合物可以含有任何合适的溶剂和/或任何合适的媒介物和/或任何合适的赋形剂,可选地与其他关注的化合物组合。

[0117] 因此,对于这些组合物,赋形剂含有例如至少一种选自包含以下的组的化合物:防腐剂、润肤剂、乳化剂、表面活性剂、保湿剂、增稠剂、调理剂、消光剂、稳定剂、抗氧化剂、纹理剂、光泽剂、成膜剂、增溶剂、颜料、染料、香料和防晒剂。这些赋形剂优选地选自由以下组成的组:氨基酸及其衍生物、聚甘油、酯、纤维素聚合物和衍生物、羊毛脂衍生物、磷脂、乳铁蛋白、乳过氧化物酶、基于蔗糖的稳定剂、维生素E及其衍生物、天然和合成蜡、植物油、甘油三酯、不皂化物、植物甾醇、植物酯、硅酮及其衍生物、蛋白质水解物、霍霍巴油及其衍生物、脂溶性/水溶性酯、甜菜碱、胺氧化物、植物提取物、蔗糖酯、二氧化钛、甘氨酸和对羟基苯甲酸酯,并且更优选地选自由以下组成的组:丁二醇、硬脂醇聚醚-2、硬脂醇聚醚-21、乙二醇-15硬脂醇醚、鲸蜡硬脂醇、苯氧基乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯、丁二醇、天然生育酚、甘油、二羟基鲸蜡基磷酸钠、异丙基鲸蜡基醚、硬脂酸乙二醇酯、三异壬精、椰油酸辛酯、聚丙烯酰胺、异链烷烃、月桂醇聚醚-7、

卡波姆、丙二醇、甘油、没药醇、二甲聚硅氧烷、氢氧化钠、PEG-30-二聚羟基硬脂酸酯、癸酸/辛酸甘油三酯、辛酸鲸蜡硬脂酯、己二酸二丁酯、葡萄籽油、霍霍巴油、硫酸镁、EDTA、环甲硅油、黄原胶、柠檬酸、月桂基硫酸钠、矿物蜡和油、异硬脂基异硬脂酸酯、丙二醇二壬酸酯、丙二醇异硬脂酸酯、PEG8、蜂蜡、来自氢化棕榈仁油的甘油酯、来自氢化棕榈油的甘油酯、羊毛脂油、芝麻油、乳酸鲸蜡酯、羊毛脂醇、蓖麻油、二氧化钛、乳糖、蔗糖、低密度聚乙烯、等渗盐水溶液及其混合物。

[0118] 许多美容活性成分是本领域技术人员已知的,用于改善皮肤(包括头皮)和/或粘膜的健康和/或物理外观。本领域技术人员知道如何配制美容、营养或皮肤病学组合物以获得最佳效果。此外,这些化合物在彼此组合时可能具有协同作用。本发明也涵盖这些组合。CTFA Cosmetic Ingredient Handbook [CTFA美容成分手册],第二版(1992)中描述了在美容和制药行业常用的多种美容和药物成分,其特别适合于局部使用。这些类别的成分的实例包含但不限于以下化合物:研磨剂、吸收剂、出于美学目的的化合物(例如香料、颜料、染料、精油)、收敛剂等(例如丁香油、薄荷醇、樟脑、桉树油、丁子香酚、乳酸薄荷酯、金缕梅精华)、祛痘剂、防絮凝剂、消泡剂、抗微生物剂(例如:碘丙基氨基甲酸丁酯)、抗氧化剂、粘合剂、生物学添加剂、缓冲剂、膨胀剂、螯合剂、添加剂、杀灭剂、变性剂、增稠剂、和维生素及其衍生物或等同物、成膜材料、聚合物、遮光剂、pH调节剂、还原剂、脱色剂或增光剂(例如:氢醌、曲酸、抗坏血酸、磷酸抗坏血酸酯镁盐、葡糖胺抗坏血酸)、调节剂(例如:湿润剂)。

[0119] 该美容组合物还可以包含与根据本发明的卷曲乳杆菌菌株具有相同特性并诱导协同或非协同作用的其他美容和/或营养剂,或具有互补作用的美容剂。

[0120] 它们可以是例如脱色和/或提亮成分和/或旨在减少皮肤上色素斑的成分,例如烟酰胺或维生素B3、熊果苷、壬二酸、抗坏血酸或其衍生物,由巴斯夫美容护理解决方案法国公司(BASF Beauty Care Solutions France)以名称Dermawhite™ WF出售的植物草莓虎耳草(*Saxifraga sarmentosa*)、番石榴(*Psidium guajava*)和番木瓜(*Carica papaya*)的提取物的组合,以名称Phytolight™ BG出售的亚硫酸盐和茶树(*Camellia sinensis*)、黄芩(*Scutellaria baicalensis*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)、苹果(*Pyrus malus*)的提取物的组合,以名称DN-Aura™出售的榔色果(*Lansium domesticum*)叶的标准化提取物,以名称Actiwhite™出售的豌豆提取物和蔗糖二月桂酸酯的组合,4-羟基苯氧基乙酸的衍生物,特别是由巴斯夫美容护理解决方案法国公司以名称Radiaskin™出售的2-(4-羟基苯氧基)丙酸,或以名称Hyalurosmooth™出售的来自狭叶番泻(*Cassia angustifolia*)种子的纯化多糖提取物,以名称X-Pressin™出售的从番木瓜(*Carica papaya*)乳液中分离的稳定化蛋白酶提取物,以名称Cytovector ferulic™出售的包封阿魏酸的阳离子脂质体,或者由巴斯夫美容护理解决方案法国公司以名称AH-Care™出售的乙醇酸和L-精氨酸的复合物。

[0121] 在可以与根据本发明的菌株组合的其他活性成分中,所讨论的可以是具有预防色素沉着的出现和/或增加肤色的光泽度的类似特性的植物提取物,特别是由申请人以名称Inolixir™出售的真菌白桦茸(*Inonotus obliquus*)的提取物、由申请人以名称Arganyl™出售的刺阿甘(*Argania spinosa*)油的提取物、由申请人以名称Purisoft™出售的辣木(*Moringa oleifera*)籽的提取物、由申请人以名称CollRepair™出售的丹参(*Salvia miltiorrhiza*)提取物和烟酰胺的组合、由申请人以名称NeurobiOx™出售的欧蓍草(*Achillea millefolium*)的提取物、以名称DN-age™出售的翅荚决明(*Cassia alata*)叶的

提取物和/或以名称Litchiderm™出售的荔枝的提取物作为抗氧化剂活性剂、由申请人以名称Lox-Age™出售的菊苣的提取物、以名称Vitacell™出售的酵母提取物、以名称Perlaura™出售的拳参(Polygonum bistorta)的提取物、以名称Hyalufix™出售的高良姜(galanga)提取物、以名称Deliner™出售的玉米提取物或以名称Epigenist™出售的地下沃安齐贾(Voandzeia subterranea)的提取物,或促进皮肤紧致的活性剂,例如由申请人以名称Dermican™出售的合成四肽、以名称Linefactor™出售的黄葵(Hibiscus abelmoschus)的提取物、以名称Proteasyl™出售的豌豆的纯化提取物、以名称Elestan™出售的马拉几蒂亚树(Manilkara multinervis)的提取物。还可以将以名称Dermagenist™出售的植物墨角兰(Origanum majorana)的提取物和/或以名称Collalift®18出售的非洲楝(Khaya senegalensis)的提取物和/或以名称Eperulin™出售的镰荚豆(Eperua falcata)的提取物或包含植物甾醇(特别地,源自菜籽油并且由申请人以名称Phytosoothe™出售的β-谷甾醇和/或菜油甾醇和/或菜籽固醇)的提取物添加至美容组合中。

[0122] 它们还可以是抗衰老活性成分和/或张力剂,用于与卷曲乳杆菌菌株产生协同作用。有利地,它们是增加胶原的基因和/或蛋白质表达的活性成分或预防胶原降解的活性成分,例如视黄醇、维生素C、由巴斯夫美容护理解决方案公司以名称Collguard™出售的多皱苞萼藤(Davilla rugosa)提取物、由申请人以名称Linefactor™出售的黄葵(Hibiscus abelmoschus)种子提取物、以名称Phytokine™出售的大豆蛋白水解产物提取物、以名称Dermican™出售的肽,或者由赛德玛公司(Sederma)以名称Matrixyl™、Matrixyl 3000™和Regestril™或由康缔肤公司(Codif)的Neuroguard、或由西莱博公司(Silab)的Eternaline™出售的产品。

[0123] 可用于本发明的张力剂可以选自合成聚合物,诸如聚氨酯胶乳或丙烯酸胶乳、天然来源的聚合物,特别是淀粉形式或角叉菜胶、藻酸盐、琼脂、结冷胶、纤维素基聚合物和果胶形式的多糖苷;植物蛋白质和蛋白质水解产物;混合硅酸盐;蜡微粒;选自例如二氧化硅、二氧化硅-氧化铝复合材料的无机填料的胶体颗粒;及其混合物。

[0124] 有利地,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株可以与选自以下的美容剂组合:苯甲酸和/或其盐、乙酰丙酸和/或其盐(例如乙酰丙酸钠)、山梨酸和/或其盐、茴香酸和/或其盐、及其混合物。

[0125] 最后,它们可以是美容成分,例如抗微生物剂、自由基清除剂、舒缓剂、镇定剂或松弛剂、作用于微循环以改善面色尤其是面部光泽度的药剂、愈合剂或减肥剂。有利地,本发明的美容和/或皮肤病学组合物还含有一种或多种张力剂和/或一种或多种抗微生物剂和/或一种或多种自由基清除剂和/或一种或多种舒缓剂和/或一种或多种减肥剂和/或一种或多种作用于微循环的药剂。

[0126] 在本发明优选方式中与非存活形式的卷曲乳杆菌菌株组合的抗微生物剂中,可提及2,4,4'-三氯-2'-羟基二苯醚(或三氯生)、3,4,4'-三氯苯胺、苯氧乙醇、苯氧丙醇、苯氧异丙醇、羟乙磺酸己脒定、甲硝唑及其盐、咪康唑及其盐、伊曲康唑、特康唑、益康唑、酮康唑、沙康唑、氟康唑、克霉唑、布康唑、奥昔康唑、磺胺康唑、硫康唑、特比萘芬、十一烯酸及其盐、过氧化苯甲酰、3-羟基苯甲酸、4-羟基苯甲酸、植酸、N-乙酰基-L-半胱氨酸、硫辛酸、壬二酸及其盐、花生四烯酸、间苯二酚、辛氧基甘油、辛酰基甘氨酸、辛甘醇、10-羟基-2-癸酸、法尼醇、植物鞘氨醇及其混合物。

[0127] 自由基清除剂可以是维生素C及其衍生物,包括抗坏血酸基葡萄糖苷、酚和多酚,特别是单宁、鞣花酸和单宁酸;表没食子儿茶素和含有它的天然提取物,特别是绿茶提取物;花色素苷;酚酸、二苯乙烯;单环或多环芳族化合物清除剂、单宁诸如鞣花酸和吲哚衍生物和/或重金属清除剂诸如EDTA、自由基清除剂诸如维生素E及其衍生物诸如生育酚乙酸酯;生物类黄酮;辅酶Q10或泛醌。

[0128] 作为包含在本发明的组合物中的舒缓剂,可使用五环三萜、熊果酸及其盐、齐墩果酸及其盐、桦木酸及其盐、水杨酸盐(并且尤其是水杨酸锌)、没药醇、尿囊素、 ω -3不饱和油、可的松、氢化可的松、吲哚美辛和倍他米松、抗炎性活性剂,并且特别是在专利申请FR 2847267中描述的那些,尤其是由申请人以名称InhipaseTM销售的葛藤(*Pueraria lobata*)根提取物,以及可可(*Theobroma cacao*)提取物。

[0129] 作用于微循环的活性成分、血管保护剂或血管扩张剂可选自类黄酮、鲁斯可皂苷元、烟酸盐和精油。

[0130] 减肥活性剂可以特别选自脂蛋白脂肪酶抑制剂,例如专利US 2003086949 (Coletica皮肤研究中心)中描述的那些以及特别是秘鲁藤本植物(绒毛钩藤(*Uncaria tomentosa*))的提取物;引流活性剂,特别是月桂酸橙皮素(FlavagrumTM)或辛酸槲皮素(FlavengerTM);磷酸二酯酶抑制剂、腺苷酸环化酶激活剂、cAMP和/或能够捕获精胺和/或亚精胺的活性剂。实例包括毛喉鞘蕊花(*Coleus Forskohlii*)根提取物、钝叶号角树(*Cecropia obtusa*)提取物、石菖(*Uva lactuca*)提取物、咖啡因、毛喉素、茶碱、可可碱和/或其衍生物、由申请人出售的称为SlimexcessTM的水解K角叉菜胶产品和/或其混合物。

[0131] 本发明的主题还是美容护理方法,其包括将根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的美容组合物局部应用至健康皮肤和/或健康粘膜的至少一个区域,用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或用于预防其增加,特别是用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色,优选用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防健康皮肤和/或健康粘膜色素斑的出现和/或减少健康皮肤和/或健康粘膜色素斑的存在,和/或使皮肤和/或粘膜解毒。

[0132] 有利地,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株,优选以根据本发明的美容组合物的形式,用于常规的局部应用,并且优选每天至少一次,有利地每天两次,持续至少10天,优选持续20天,并且更优选持续至少28天。

[0133] 有利地,根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的美容组合物的局部应用在身体和/或面部和/或头皮的全部或部分的健康皮肤和/或健康粘膜上进行,优选在腿部、大腿、手臂、腹部、领口、颈部、腋窝或嘴唇上进行,更优选在面部的全部或部分上进行,并且优选在脸颊、前额、下巴、嘴唇或眼周上进行。

[0134] 在根据本发明的美容方法的有利的实施例中,美容组合物包含相对于组合物的总重量,按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与 10% (w/w)之间,优选地按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与 5% (w/w)之间,更有利地按重量计介于 $1 \times 10^{-3}\%$ 与 0.5% (w/w)之间的浓度的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株,所述组合物还包含美容可接受的赋形剂。

[0135] 根据本发明的美容护理方法的目的是减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色,优选保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或预防健康皮肤和/或健康

粘膜上色素斑的出现和/或减少健康皮肤和/或健康粘膜上色素斑的存在,有利地包括以下步骤:

[0136] -鉴定个体的健康皮肤和/或健康粘膜的区域,对于此区域希望减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色,优选地保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或预防健康皮肤和/或健康粘膜上色素斑的出现和/或减少健康皮肤和/或健康粘膜上色素斑的存在,以及

[0137] -将根据本发明的包含卷曲乳杆菌菌株的美容组合物以以下量局部应用至健康皮肤和/或健康粘膜的该区域,该量有效地:用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加,特别是用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色,优选地用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性,和/或用于预防健康皮肤和/或健康粘膜上色素斑的出现和/或减少健康皮肤和/或健康粘膜上色素斑的存在,即卷曲乳杆菌菌株的含量为:相对于组合物的总重量,有利地按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与 10% (w/w)之间,优选地按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与 5% (w/w)之间,更有利地按重量计介于 $1 \times 10^{-3}\%$ 与 0.5% (w/w)之间。

[0138] 出于本发明的目的,术语“局部和/或口服可接受的”意指分别适用于局部和/或口服应用的成分,其对皮肤(包括头皮)无毒、无刺激性,并且不引起过敏反应,并且是化学稳定的。

[0139] 本发明的主题还是单独的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的药物组合物、优选皮肤病学组合物,其有利地通过局部途径用于治疗 and/或预防涉及色素沉着过度 and/或色素沉着增加的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是病理性皮肤和/或病理性粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性的降低,和/或病理性皮肤和/或病理性粘膜上色素斑出现的增加,和/或病理性皮肤和/或病理性粘膜的黑色素生成活性的增加,特别包括黑色素和/或酪氨酸酶活性的增加,和/或氧化应激的增加。

[0140] 特别地,本发明的主题是根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的药物组合物,优选皮肤病学组合物,其有利地通过局部途径用于治疗 and/或预防与皮肤和/或粘膜的色素沉着增加相关的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是用于使病理性皮肤和/或病理性粘膜脱色和/或预防病理性皮肤和/或病理性粘膜的色素沉着过度,和/或用于治疗 and/或预防与氧化应激相关的皮肤和/或粘膜的病理状况。

[0141] 本发明的主题还是用于治疗 and/或预防以下的方法:涉及色素沉着过度 and/或色素沉着增加的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是病理性皮肤和/或病理性粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性的降低,和/或病理性皮肤和/或病理性粘膜中色素斑出现的增加,和/或病理性皮肤和/或病理性粘膜的黑色素生成活性的增加,特别包括黑色素和/或酪氨酸酶活性的增加,和/或氧化应激的增加,所述方法包括在有需要的受试者中以药理学有效量施用(有利地局部施用)单独的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的药物组合物(优选皮肤病学组合物)。

[0142] 特别地,本发明的主题是用于治疗 and/或预防与皮肤和/或粘膜的色素沉着增加相关的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是用于使病理性皮肤和/或病理性粘膜脱色 and/或预防病理性皮肤和/或病理性粘膜的色素沉着过度,和/或用于治疗 and/或预防与氧化应激相

关的皮肤和/或粘膜的病理状况的方法,所述方法包括在有需要的受试者中以药学有效量施用(有利地局部施用)根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的药物组合物(优选皮肤病学组合物)。

[0143] 本发明的主题还是单独的根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的药物组合物(优选皮肤病学组合物)用于制备药物的用途,该药物有利地用于局部施用,用于治疗 and/或预防涉及色素沉着过度和/或色素沉着增加的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是病理性皮肤和/或病理性粘膜的肤色的光泽度和/或亮度和/或均匀性的降低,和/或病变皮肤和/或病变粘膜上色素斑出现的增加,和/或病理性皮肤和/或病理性粘膜的黑色素生成活性的增加,特别包括黑色素和/或酪氨酸酶活性的增加,和/或氧化应激的增加,

[0144] 特别地,本发明的主题是根据本发明的卷曲乳杆菌菌株或包含该菌株的药物(优选皮肤病学)组合物用于制备药物的用途,该药物有利地用于局部施用,用于治疗和/或预防与皮肤和/或粘膜的色素沉着增加相关的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是用于使病理性皮肤和/或病理性粘膜脱色和/或预防病理性皮肤和/或病理性粘膜的色素沉着过度,和/或用于治疗和/或预防与氧化应激相关的皮肤和/或粘膜的病理状况。

[0145] 出于本发明的目的,表述“治疗和/或预防皮肤和/或粘膜的病理状况以进行脱色和/或预防色素沉着过度”,特别是“治疗和/或预防与皮肤和/或粘膜的色素沉着增加相关的皮肤和/或粘膜的病理状况,特别是用于脱色和/或预防色素沉着过度”,从皮肤病学的角度理解为意指由皮肤和/或粘膜的病理状况(例如阿狄森氏病、肝功能衰竭、紫癜、黑色素瘤、黄褐斑、被描述为病理性色素沉着过度的黑色丘疹性皮肤病,或者痤疮、湿疹、特应性皮炎、酒渣鼻、玫瑰痤疮(couperose)、发红,优选选自阿狄森氏病、肝功能衰竭、紫癜、黑色素瘤、黄褐斑、黑色丘疹性皮肤病、痤疮、特应性皮炎、酒渣鼻和发红)导致的色素失调。

[0146] 出于本发明的目的,表述“治疗和/或预防与氧化应激相关的皮肤和/或粘膜的病理状况”从皮肤病学的观点理解为意指治疗和/或预防与过度氧化应激相关的多种皮肤病,包括银屑病、某些湿疹、痤疮、白癜风或可替代地某些皮肤癌,所述皮肤病优选选自白癜风。

[0147] 根据本发明的卷曲乳杆菌菌株可以是包含至少一种药学和/或皮肤病学上可接受的赋形剂的药物组合物、优选皮肤病学组合物的形式。在本发明的一个实施例中,所述组合物局部和/或口服应用,优选局部应用。

[0148] 有利地,其相对于该组合物的总重量以按重量计 $1 \times 10^{-4}\%$ 至 10% (w/w)、优选按重量计介于 $1 \times 10^{-4}\%$ 与 5% (w/w)之间、更有利地按重量计介于 $1 \times 10^{-3}\%$ 与 0.5% (w/w)之间的浓度存在于药物组合物、优选皮肤病学组合物中,所述组合物还包含至少一种药学上可接受的,优选皮肤病学上可接受的赋形剂。

[0149] 通过阅读以下附图和实例的描述将更好地理解本发明。

[0150] 下面呈现了参考本发明的描述的实例。这些实例出于说明性目的给出,并且决不应该限制本发明的范围。每个实例具有一般范围。

[0151] 实例形成本发明的组成部分,并且任一特征也形成本发明的组成部分,从包括实例在内的说明书整体来看,该任一特征无论怎样都相比于任何现有技术具有新颖性。

[0152] 而且,在实例中,除非另有说明,否则所有百分比均以重量计,除非另有说明,否则温度以摄氏度表示,并且除非另有说明,否则压力为大气压。

[0153] 实例

[0154] 实例1.不同形式的卷曲乳杆菌的制备

[0155] 实例1.a:活的完整形式的卷曲乳杆菌的产生。

[0156] 将分离的卷曲乳杆菌细菌 (CNCM I-5579) 接种在MRS型培养基 (Man, Rogosa, Sharpe琼脂) 中,在37°C下厌氧孵育。将pH维持在pH=6的值,并将培养基孵育24h。在孵育结束时,将培养基离心,将细胞浓缩物在麦芽糖糊精存在下冷冻干燥,最终麦芽糖糊精的量相对于成分的总重量为按重量计50% (w/w)。

[0157] 实例1.b:失活的完整形式的卷曲乳杆菌的产生

[0158] 将分离的卷曲乳杆菌细菌 (CNCM I-5579) 接种在MRS型培养基中,在37°C下厌氧孵育。将pH维持在pH=6的值,并将培养基孵育24h。在孵育结束时,将培养基离心并通过在80°C下加热30分钟将细胞浓缩物灭活。然后将细胞浓缩物重悬于甘油中。

[0159] 实例1.c:卷曲乳杆菌细菌裂解物的产生

[0160] 将分离的卷曲乳杆菌细菌 (CNCM I-5579) 接种在MRS型培养基中,在37°C下厌氧孵育。将pH维持在pH=6的值,并将培养基孵育24h。在孵育结束时,将整体在高压匀浆器中处理。然后将裂解物重悬于甘油中。

[0161] 实例1.d:卷曲乳杆菌细菌分泌蛋白质组的产生

[0162] 将分离的卷曲乳杆菌细菌 (CNCM I-5579) 接种在MRS型培养基中,在37°C下厌氧孵育。将pH维持在pH=6的值,并将培养基孵育24h。在孵育结束时,过滤培养基以回收细菌分泌蛋白质组。然后将分泌蛋白质组在甘油中稀释。

[0163] 实例1.e:粉末形式的卷曲乳杆菌细菌分泌蛋白质组的产生

[0164] 将分离的卷曲乳杆菌细菌 (CNCM I-5579) 接种在MRS型培养基中,在37°C下厌氧孵育。将pH维持在pH=6的值,并将培养基孵育24h。在孵育结束时,过滤培养基以回收细菌分泌蛋白质组。然后用麦芽糖糊精喷洒分泌蛋白质组,使最终麦芽糖糊精的量相对于成分的总重量为90% (w/w)。

[0165] 实例2:在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下黑色素细胞的黑色素合成的抑制。

[0166] 将B-16鼠系的黑色素细胞以8000个细胞/cm²的比例接种在96孔板中,然后在37°C、5%CO₂和95%相对湿度下在补充有10%FCS (胎牛血清) 的MEM培养基 (最低必需培养基) 中培养3天。

[0167] 然后除去培养基,并用200μl上述培养基替换,并添加1μM用作黑色素合成刺激剂的NDP-α-MSH (促黑色素激素类似物),并在存在0.1% (w/w) 浓度的根据实例1.a的卷曲乳杆菌菌株的情况下进行5天。

[0168] 将没有添加根据本发明的菌株但添加了1μM NDP-α-MSH或添加了0.01% (w/w) 曲酸的相同培养基用作操作对照 (分别作为黑色素刺激剂对照和黑色素抑制剂对照)。

[0169] 将没有添加根据本发明的菌株但具有乙醇的相同培养基用作对照 (Control)。

[0170] 在孵育5天之后,用氢氧化钠 (NaOH) 或氢氧化钾 (KOH) 溶液裂解细胞。在475nm处测量吸光度。

[0171] 黑色素的量是从由各种浓度的商业合成黑色素组成的标准范围曲线推导的。

[0172] 将吸光度结果相对于在不存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下用相同细胞培养基 (对照) 获得的吸光度进行归一化。给出的结果对应于6次重复 (n=6) 的平均值。

[0173] 结果

	对照 (乙醇)	NDP- α -MSH 1 μ M (黑色素模拟 对照)	曲酸 0.01% (w/w) (黑 色素抑制对 照)	本发明的产品 卷曲乳杆菌 (实例 1.a, 0.1% w/w)
[0174] 平均黑色素 (%)	24	100	18	48
标准偏差	4	8	4	5
统计学/ NDP- α -MSH	(*) P < 0.001 (学 生 T 检验)	不适用	(*) P < 0.001 (学 生 T 检验)	(*) p < 0.05 (单因素 ANOVA)

[0175] 根据实例1.a的卷曲乳杆菌菌株(其是本发明的产品)示出对在体外培养的鼠系B-16的黑色素细胞的52%的显著黑色素合成抑制。因此,该菌株可以用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加。

[0176] 实例3:在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下酪氨酸酶活性的抑制。

[0177] 酪氨酸酶是合成负责肤色的黑色素的过程中的关键酶。使用的酪氨酸酶是从正常人黑色素细胞中提取的。

[0178] 将浓度为0.05% (w/w)的根据实例1.e的卷曲乳杆菌菌株或浓度范围为0.25mM至8mM的参考化合物(曲酸)与酶一起在冰上预孵育10分钟。然后将酪氨酸酶底物,即终浓度为1mM的L-酪氨酸添加至培养基中,并将板在37°C下孵育24小时。

[0179] 将没有添加根据本发明的菌株但具有乙醇的相同酶提取物用作对照(Control)。

[0180] 通过使用酶标仪在540nm处通过光密度(OD)测量黑色素的产生来评估酶活性。

[0181] 还在没有添加底物的情况下(n=1)进行光密度测量,以检测根据实例1.e的卷曲乳杆菌菌株或参考化合物的任何干扰(每个测试浓度)。

[0182] 根据下式计算酪氨酸酶活性的抑制百分比:

[0183] %抑制: $100 - [\text{OD值} / \text{对照的平均OD} \times 100]$

[0184] 所有实验条件均在n=3下进行。通过非配对学生t检验进行组间比较。

	未处理对照 (乙醇)	本发明的产品卷曲乳杆菌 (实例 1.e, 0.05% (w/w))
[0185] 平均人酪氨酸酶抑制 (%)	0	99
与平均值的偏差	3	0
统计学/对照	不适用	*** (p < 0.001)

[0186] 根据本发明实例1.e的卷曲乳杆菌菌株示出对从人黑色素细胞中提取的酪氨酸酶活性的99%的显著抑制。因此,由于这种抑制酪氨酸酶活性的作用,卷曲乳杆菌菌株可用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加。

[0187] 实例4:在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下在黑色素细胞和角质形成细胞的共培养物中黑色素合成的抑制。

[0188] 将正常人角质形成细胞和新生人黑色素细胞分别以20000个细胞/²和10 000个细胞/cm²接种,然后在37°C下在5%CO₂和95%相对湿度下在补充有生长因子的用于黑色素细胞的培养基和用于角质形成细胞的培养基的50%/50% (v/v)混合物中培养7天。

[0189] 在培养一周之后,将培养基用不含抗生素的DMEM培养基(杜尔贝科(Dulbecco)改良最低必需伊格尔(Eagle)培养基)和不含生长因子的黑色素细胞培养基的混合物替换,并补充有40μM油酸。

[0190] 将没有添加根据本发明的菌株的该培养基用作未处理对照(Control)。

[0191] 将根据实例1.e获得的卷曲乳杆菌细菌的分泌蛋白质组以相对于培养基和分泌蛋白质组的总重量0.1% (w/w)的浓度添加至该相同的培养基中。

[0192] 将不含该菌株但存在0.002% (w/w) 噜忻喏(rucinol)的相同培养基用作阳性对照。

[0193] 将培养物在37°C下在5%CO₂下并且在95%相对湿度下继续72h,然后更新培养基。再培养48h之后,除去培养基,用PBS(磷酸盐缓冲液)冲洗细胞。然后将含有10%二甲亚砜(DMSO)的1N氢氧化钠溶液添加至板的每个杯中。将每个杯中的200μl转移到透明板中。在475nm处读取反映黑色素量的光密度。

[0194] 结果是相对于归一化为100%的未处理对照的所进行测定的平均值±标准偏差,以百分比表示。使用单因素ANOVA测试相对于未处理对照进行结果的统计分析。

[0195] 结果

	未处理对照	噜忻喏 0.002% (w/w) (阳性对照)	本发明的产品卷曲乳杆菌, 0.1% (w/w) (实例1.e)
[0196] 黑色素的平均量 (%)	100	72	68
标准偏差	10	3	7
%抑制	不适用	28	32
统计学/对照	不适用	P < 0.01	P < 0.01

[0197] 根据本发明的实例1.e的卷曲乳杆菌菌株示出,与人皮肤角质形成细胞在体外共培养的黑色素细胞的黑色素合成显著降低32%。因此,卷曲乳杆菌菌株,并且特别是其分泌蛋白质组,因此可用于减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加。

[0198] 实例5:在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下氧化应激的减少

[0199] 实例5.a:在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下管中DPPH°自由基形成的减少。

[0200] 卷曲乳杆菌菌株的自由基清除活性的测定通过使用DPPH° (2,2-二苯基-1-苦基胍

基)的测试来评估。

[0201] 将根据实例1.a的卷曲乳杆菌菌株以0.05% (w/w) 的浓度混合在PBS (磷酸盐缓冲盐水) 中,并将根据实例1.e的卷曲乳杆菌菌株以0.7% (w/w) 的浓度混合在PBS (磷酸盐缓冲盐水) 中。

[0202] 使用用于溶解菌株的溶剂PBS进行阴性对照,并用1mM的维生素C进行阳性对照。

[0203] 在96孔板的孔中,将含有本发明、阴性对照或阳性对照的溶液中的每一种以50%/50% (v/v) 混合于DPPH° 溶液中。

[0204] 还将含有本发明、阴性对照或阳性对照的溶液中的每一种以50%/50% (v/v) 混合于作为DPPH° 溶剂的乙醇溶液中,以便在该相同的板中产生空白。

[0205] 将整体在搅拌下孵育30分钟。在孵育结束时,在530nm波长下测量光密度(OD),以估计在每种测试条件下形成的自由基的量。

[0206] 获得本发明的自由基清除活性的DPPH° 自由基的测量结果是6次测试(n=6)的平均值,并表示为平均百分比+/-一个标准偏差。将本发明的产品与其阴性对照(在不存在卷曲乳杆菌菌株的情况下单独的PBS) 进行比较。将维生素C阳性对照与其阴性对照水进行比较。针对本发明通过单因素ANOVA方差分析进行统计学分析,针对维生素C通过学生检验进行统计学分析。

	阴性对照 (PBS)	维生素 C 1 mM	本发明的产品 (实例 1e, 0.7% (w/w))	本发明的产品 卷曲乳杆菌 (实例 1a, 0.05% (w/w))
[0207] 平均自由基 (%)	100	0	68.81	66.19
标准偏差	4.33	0	3.44	2.21
统计学/对照	不适用	P < 0.001 (学生 t 检 验)	未测试	P < 0.001 (单 因素 ANOVA)

[0208] 根据本发明的实例1.a的卷曲乳杆菌菌株在管中示出34%的显著的自由基清除活性。根据本发明的实例1.e的卷曲乳杆菌菌株在管中示出31%的自由基清除活性。通过这种减少自由基产生的作用,卷曲乳杆菌菌株因此可以用于使皮肤和/或粘膜解毒,减少皮肤和/或粘膜的色素沉着和/或预防其增加。

[0209] 实例5.b: 在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下在成纤维细胞中由UV诱导的细胞自由基释放的减少。

[0210] 将来源于健康供体的“正常”人成纤维细胞,即不表现出任何病理状况的成纤维细胞,以30000个细胞/cm²的比例接种在24孔板中,然后在37°C下、在5% CO₂和95%相对湿度下在补充有10% FCS和0.5% 抗生素的DMEM (杜尔贝科改良最低必需伊格尔培养基) /Ham's F-12培养基中培养96h。

[0211] 然后在补充有1%FCS和0.5%抗生素的EMEM培养基(伊格尔最低必需培养基)中,在存在0.0125%(w/w)浓度的根据实例1.a的卷曲乳杆菌菌株或抗氧化剂对照(0.0003%(v/v)的维生素E)的情况下,将0.5ml细胞悬浮液孵育72h。

[0212] 将没有添加根据本发明的菌株的该培养基用作未处理对照(单独的UVA对照-氧化应激对照)。

[0213] 将在PBS(磷酸盐缓冲液)中溶解的10 μ M DCFH-DA(2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯)探针与细胞一起孵育。在37 $^{\circ}$ C下在5%CO₂和95%相对湿度下孵育第一小时之后,用PBS冲洗细胞,并用UVA以20J/cm²辐照3小时。还进行了非辐照对照。在辐照之后,除去辐照的培养基,并用PBS冲洗细胞。

[0214] 在485nm激发和538nm发射下读取与使用探针(DCFH-DA)形成DCF(2',7-二氯荧光素)相关的细胞层上的荧光读数。

[0215] 结果为12次重复(n=12)的平均值,并表示为+/-一个标准偏差。将结果与归一化为100%的单独UVA对照进行比较,并使用方差检验的单因素ANOVA分析进行统计比较。

	仅 UVA 对照 (氧化应激对照)	维生素 E 0.0003% (v/v)	本发明的产品卷曲乳杆菌 (实例 1a, 0.0125% (w/w))
[0216] 通过 DCF 荧光探针测量的平均自由基 (%)	100	71	44
标准偏差	8	25	21
统计学/对照	不适用	P < 0.05 (学生 t 检验)	P < 0.05 (学生 t 检验)

[0217] 根据本发明实例1.a的卷曲乳杆菌菌株在细胞水平上示出由UVA氧化应激诱导的细胞内自由基释放的56%的显著降低。因此,由于这种减少由UVA诱导的细胞内自由基释放的作用,卷曲乳杆菌菌株可以用于使皮肤和/或粘膜解毒和/或保持和/或改善皮肤和/或粘膜的光泽度和/或亮度和/或均匀性,优选地减少皮肤和/或粘膜上色素斑的存在和/或预防皮肤和/或粘膜上色素斑的出现,特别是当后者经受氧化应激(优选由UVA引起)时。

[0218] 实例5.c:在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下在成纤维细胞中由UV诱导的膜脂过氧化的减少。

[0219] 将来源于健康供体的“正常”人成纤维细胞,即不表现出任何病理状况的成纤维细胞,以30000个细胞/cm²的比例接种在24孔板中,然后在37 $^{\circ}$ C下、在5%CO₂和95%相对湿度下在补充有10%FCS和0.5%抗生素的DMEM/Ham's F-12培养基中培养96h。

[0220] 然后在补充有1%FCS和0.5%抗生素的EMEM培养基中,在存在0.00625%(w/w)浓度的根据实例1.a的卷曲乳杆菌菌株或抗氧化剂对照(0.0003%(v/v)的维生素E)的情况下,将0.5ml细胞悬浮液孵育72h。

[0221] 将没有添加根据本发明的菌株的该培养基用作未处理对照(在辐照之后,构成单

独的UVA对照-氧化应激对照)。

[0222] 在37°C下在5%CO₂和95%相对湿度下孵育第一小时之后,用PBS冲洗细胞,并用UVA以20J/cm²辐照3小时。还进行了非辐照对照。在辐照之后,回收上清液,并用PBS冲洗细胞。

[0223] 将0.5ml的量的上清液转移到派热克斯(Pyrex)玻璃管中,向其中添加40%三氯乙酸和2%硫代巴比妥酸的溶液。将获得的混合物在100°C下加热30分钟。然后通过532nm激发和560nm发射下的荧光测量MDA(丙二醛)的形成,其是UVA诱导的脂质过氧化后释放的氧化产物。

[0224] 结果为所进行测定的平均值,并表示为平均值+/-一个标准偏差。将结果与归一化为100%的单独UVA对照进行比较,并使用方差检验的单因素ANOVA分析进行统计比较。

	仅 UVA 对照 (氧化应激对照)	维生素 E 0.0003% (v/v)	本发明的产品卷曲乳杆菌 (实例 1a, 0.00625% w/w)
[0225] 释放的平均 MDA (%)	100	48	68
标准偏差	11	10	12
统计学/对照	不适用	P < 0.001 (学生 t 检验)	P < 0.001 (学生 t 检验)

[0226] 根据本发明实例1.a的卷曲乳杆菌菌株在细胞水平上示出由UVA诱导的MDA形成的32%的显著降低。因此,由于这种在存在UV诱导的应激的情况下减少脂质过氧化的作用,卷曲乳杆菌菌株可用于使皮肤和/或粘膜解毒,特别是当它们经受氧化应激,特别是UVA诱导的应激时。

[0227] 实例6:在存在本发明卷曲乳杆菌菌株的情况下在成纤维细胞中在UV辐照之后细胞抗氧化防御的刺激。

[0228] 将来源于健康供体的“正常”人成纤维细胞,即不表现出任何病理状况的成纤维细胞,以30000个细胞/cm²的比例接种在24孔板中,然后在37°C下、在5%CO₂和95%相对湿度下在补充有10%FCS和0.5%抗生素的DMEM/Ham's F-12培养基中培养96h。

[0229] 将没有添加根据本发明的菌株的该培养基用作未处理对照(在辐照之后,构成单独的UVA对照-氧化应激对照)。

[0230] 然后在补充有1%FCS和0.5%抗生素的EMEM培养基中,在存在0.0125% (w/w)浓度的根据实例1.a的卷曲乳杆菌菌株或抗氧化剂对照(0.0003% (v/v)的维生素E)的情况下,将0.5ml细胞悬液孵育72h。

[0231] 在37°C下在5%CO₂和95%相对湿度下孵育第一小时之后,用PBS冲洗细胞,并用UVA以20J/cm²辐照3小时。还进行了非辐照对照。在辐照之后,除去辐照的培养基,并用PBS冲洗细胞。

[0232] 向每个杯中添加1N氢氧化钠(NaOH),随后添加在GSH缓冲液(还原型L-谷胱甘肽)中稀释至1/15th的邻苯二甲醛(OPT)的溶液。将整体在环境温度下孵育15分钟。然后通过

355nm激发和430nm发射下的荧光测量谷胱甘肽的量。

[0233] 结果为所进行测定的平均值,并表示为平均值 \pm 一个标准偏差。将结果与归一化为100%的单独UVA对照进行比较,并使用方差检验的单因素ANOVA分析进行统计比较。

	仅 UVA 对照 (氧化应激对照)	维生素 E 0.0003% (v/v)	本发明的产品卷曲乳 杆菌(实例 1a, 0.0125% (w/w))
[0234] 平均谷胱甘肽 (%)	100	100	154
标准偏差	11	13	41
统计学/对照	不适用	不显著	P < 0.05 (学生 t 检验)

[0235] 根据本发明的实例1.a的卷曲乳杆菌菌株通过在用UVA辐照之后谷胱甘肽增加54%而示出细胞抗氧化防御的显著增加。

[0236] 因此,由于这种在存在UV诱导的氧化应激的情况下增加细胞抗氧化防御的作用,卷曲乳杆菌菌株可用于使皮肤和/或粘膜解毒,特别是当它们经受氧化应激,特别是UVA诱导的应激时。

[0237] 实例7:在存在根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的情况下皮肤中黑色素的量的减少的体内测量。

[0238] 对30名光型II至IV的中国女性群体(其年龄为40至50岁且面部上有色素斑),向她们的一半面部应用乳液形式的霜剂,该霜剂包含以下最终浓度的根据实例1.e的卷曲乳杆菌菌株:相对于霜剂(实例8.b配制品)总重量,按重量计1% (w/w),或不包含所述提取物,所述提取物已用水(安慰剂)替换,所述乳液以每天2次应用的速率应用2个月。

[0239] 皮肤黑色素含量的评估是使用称为皮肤色素测量仪(mexameter)的装置进行的,该装置使用吸收/反射原理。从皮肤色素测量仪测量推导出黑色素指数。该指数的减小对应于黑色素的减少。

[0240] 将含有根据实例1.e的卷曲乳杆菌菌株的组合物的功效与“安慰剂”乳液的功效进行比较。

[0241] 在研究开始时(D0)、应用一个月之后(D28)以及最后,在应用2个月之后(D56)测量黑色素指数。

[0242] 将含有根据实例1.e的卷曲乳杆菌菌株的配制品的功效和安慰剂配方的功效表示为平均值,并与研究开始时(D0)的值进行比较,并使用学生检验或威尔科克森(Wilcoxon)检验在含有卷曲乳杆菌菌株的配制品与含有安慰剂的配制品之间进行比较。

	本发明的产品卷曲乳杆菌 (实例 1e, 1% (w/w))	安慰剂
[0243]	D28 时的黑色素指数 (vs D0, 以%计)	-3.1% (p<0.001 vs D0; p<0.001 vs 安慰剂)
	D56 时的黑色素指数 (vs D0, 以%计)	-5.5% (p<0.01 vs D0; p<0.01 vs 安慰剂)
		-0.1%
		+1%

[0244] 根据实例1.e的卷曲乳杆菌菌株的配制品显著降低了使用皮肤色素测量仪通过黑色素指数测量的皮肤黑色素的量。

[0245] 这些结果示出了配制用于保持和/或改善健康皮肤和/或健康粘膜的光泽和/或亮度和/或均匀性的卷曲乳杆菌菌株的有益效果。

[0246] 实例8:包含根据本发明的卷曲乳杆菌菌株的美容组合物的实例

[0247] 实例8.a:包含根据实例1.a的卷曲乳杆菌菌株的美容组合物的实例

[0248] 在即将应用至皮肤前,将根据实例1.a获得的卷曲乳杆菌菌株添加至如下根据表8定义的配制品中,最终浓度为相对于配制品总重量的0.05% (w/w)。

名称	量 (按总重量计%)
A 相	
鲸蜡硬脂醇、卵磷脂、鲸蜡硬脂硫酸钠、 奥卢斯油	3.00
氢化植物甘油酯	2.50

[0250]	辛基辛酸酯/癸酸酯	6.50
	碳酸二辛酯	4.00
	B 相	
	水	66.35
	丁二醇	10.00
	苯甲酸钠	0.25
	C 相	
	甘油	5.00
	黄原胶	1.00
	D 相	
	甘油、水、乙酰丙酸钠、茴香酸钠	1.00
	柠檬酸	0.40

[0251] 实例8.b:包含根据实例1.e的卷曲乳杆菌菌株的美容组合物的实例比例表示为百分比,并且大写字母的名称对应于成分的INCI名称。

[0252]	A 相	
	甘油	5.00
	丁二醇	10.00
	黄原胶	2.00
	B 相	
	水	58.95
	苯甲酸钠	0.25
	甘油、水、乙酰丙酸钠、茴香酸钠	1.00
	C 相	
	聚甘油基-2 二聚羟基硬脂酸酯	1.00
	碳酸二丙基庚酯	3.00
	碳酸二辛酯	3.00
	辛基辛酸酯/癸酸酯	10.00
	月桂醇聚醚-7 柠檬酸酯	0.50

[0253]	D 相	
	柠檬酸	0.30
	E 相	
	根据实例 1e 获得的卷曲乳杆菌的提取物	1.00
	水	4.00

[0254] 使用本领域技术人员已知的方法,通过在搅拌下将B添加至A中,然后将C添加至AB中,在环境温度下将A、B和C各相混合在一起。将pH用D调节至4.9。然后添加E相。最后,用Ultra-Turrax搅拌器进行均质化以制备根据本发明的组合物。

PCT

原件（用于提交）

（本表不属于国际申请表的一部分，也不算作国际申请表）

0-1	表格 - PCT/RO/I34 关于保藏微生物和/或其他生物材料的说明（PCT实施细则13之二）	
0-1-1	准备方式	ePCT-存档-嵌入 版本4.11.005 MT/FOP 20230327/1.1
0-2	国际申请号	PCT/EP2023/058067
0-3	申请人或代理人的文件参考号	B3702PC00

[0255]

1	以下所作说明涉及在说明书以下段落提及的微生物和/或其他生物材料：	
1-1	页	2
1-2	行	19
1-3	保藏的说明	
1-3-1	保藏机构名称	CNCM法国国家微生物培养物保藏中心
1-3-2	保藏机构地址	法国国家微生物培养物保藏中心（CNCM） 巴斯德研究所, 25-28 鲁克斯医生街, 75724巴黎邮政专用区15 法国
1-3-3	保藏日期	2020年9月9日 (09.09.2020)
1-3-4	保藏号	CNCM I-5579
1-4	另外的说明	Lc 4c
1-5	作出说明的指定国	所有指定国
1-6	单独提供的说明 这些说明稍后将提交至国际局	

仅供受理局使用

0-4	本表格与国际申请一起收到： (是或否)	是
0-4-1	授权人员	GALVEZ, Joëlle

仅供国际局使用

0-5	本表格由国际局在以下日期收到：	
0-5-1	授权人员	