



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1809337 B

(45) 授权公告日 2010.05.26

(21) 申请号 200480017201.7

(22) 申请日 2004.06.17

(30) 优先权数据

03/07388 2003.06.19 FR

(85) PCT申请进入国家阶段日

2005.12.19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/FR2004/001505 2004.06.17

(87) PCT申请的公布数据

W02004/112742 FR 2004.12.29

(73) 专利权人 科学发展实验室

地址 法国库伯瓦

(72) 发明人 N·皮尔卡迪 A·皮奇里利

P·姆西卡 F·保罗

(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

(51) Int. Cl.

A61K 8/97(2006.01)

A61Q 19/08(2006.01)

(56) 对比文件

FR 2778565 A1, 1999.11.19, 第5页第18行至31行、第7页4-12行、权利要求1-10.

JP 2003-155213 A, 2003.05.27, 说明书[0007]、[0009]、[0012]、[0013]、[0014]、[0016]段.

FR 2802418 A1, 2001.06.22, 第2页15行至3页10行、权利要求1-9.

GB 2011910 A, 1979.07.18, 第1页51行至3页10行、权利要求1-22.

审查员 曲燕

权利要求书 3 页 说明书 10 页 附图 4 页

(54) 发明名称

迈卡提取物和含有该提取物的化妆品组合物

(57) 摘要

本发明涉及一种从迈卡中提取物质的方法、所获得的提取物、含有所述提取物的化妆品和药物组合物,以及所述提取物作为抗老化剂的用途。所述方法的特征在于包括使用酶水解蛋白质的步骤。

1. 一种制备迈卡的含水肽提取物的方法,所述方法的特征在于采用迈卡地下块茎的粉未来进行,并且所述方法的特征还包含至少一个蛋白质的酶水解步骤,而且所述方法的特征还在于随后将含水肽提取物通过超滤来纯化。

2. 根据权利要求1所述的制备迈卡的含水肽提取物的方法,所述方法的特征在于水解是用淀粉酶和蛋白酶的混合物进行的。

3. 根据权利要求2所述的制备迈卡的含水肽提取物的方法,其特征在在于淀粉酶 / 蛋白酶的比率在 50/50 和 90/10 之间变化。

4. 根据权利要求1或2所述的方法,所述方法的特征在于在超滤步骤之前将含水肽提取物浓缩以去除不可溶物。

5. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在在于超滤的断开阈值为 10KD。

6. 根据权利要求1-3任一项所述的方法,特征在在于在超滤步骤之后对所述的含水肽提取物进行浓缩和 / 或灭菌。

7. 采用权利要求1-6任一项所述方法获得的迈卡的含水肽提取物。

8. 根据权利要求7所述的迈卡的含水肽提取物,其特征在在于所述提取物的干物质含量为 1 至 300g/l。

9. 根据权利要求8所述的迈卡的含水肽提取物,其特征在在于所述提取物的干物质含量为 2 至 10g/l。

10. 制备迈卡的固体肽提取物的方法,所述方法的特征在在于在将根据权利要求8-9任一项所述的含水肽提取物进行冷冻干燥。

11. 采用如权利要求10所述的方法获得的迈卡的固体肽提取物。

12. 根据权利要求11所述的迈卡的固体肽提取物,其特征在在于 α 氨基氮的含量在 2 至 70% 之间。

13. 根据权利要求11所述的迈卡的固体肽提取物,其特征在在于所述提取物具有如下氨基酸组成,以氨基酸总重量计的重量百分比:

丙氨酸	5-9%
精氨酸	15-20%
天冬氨酸	8-12%
胱氨酸 - 半胱氨酸	< 2%
谷氨酸	9-15%
甘氨酸	3-7%
组氨酸	1-6%
异亮氨酸	2-7%

丙氨酸	5-9%
亮氨酸	4-9%
赖氨酸	3-7%
甲硫氨酸	1-5%
苯丙氨酸	4.9%
脯氨酸	< 1%
丝氨酸	2-8%
苏氨酸	1-7%
酪氨酸	1-7%
缬氨酸	4-10%
色氨酸	< 0.5%

14. 根据权利要求 7-9 任一项所述的迈卡的含水肽提取物或根据权利要求 11-13 任一项所述的迈卡的固体肽提取物,其中,所述提取物能用于刺激皮肤细胞的增殖和生长。

15. 根据权利要求 14 所述的迈卡的含水或固体肽提取物,其中所述的提取物用于刺激成纤维细胞的增殖和生长。

16. 根据权利要求 7-9 任一项所述的迈卡的含水肽提取物或根据权利要求 11-13 任一项所述的迈卡的固体肽提取物,其中,所述提取物能用于刺激皮肤细胞的线粒体活性。

17. 根据权利要求 16 所述的迈卡的含水或固体肽提取物,其中所述的提取物用于刺激成纤维细胞的线粒体活性。

18. 一种化妆品组合物,所述组合物的特征在于它包含根据权利要求 7-9 任一所述的迈卡的含水肽提取物或根据权利要求 11-13 任一所述的迈卡的固体肽提取物及化妆品上可接受的至少一种赋形剂。

19. 根据权利要求 18 所述的化妆品组合物在制备防止和 / 或对抗皮肤老化的化妆品中的用途。

20. 一种对抗外界损害阳光、烟草、污染和压力的化妆处理方法,所述方法的特征在于它包括在皮肤上使用如权利要求 18 所述的组合物。

21. 根据权利要求 7-9 任一项所述的迈卡的含水肽提取物或根据权利要求 11-13 任一项所述的迈卡的固体肽提取物在制备抗皮肤老化的化妆品中的用途。

22. 根据权利要求 7-9 任一项所述的迈卡的含水肽提取物或根据权利要求 11-13 任一项所述的迈卡的固体肽提取物在制备治疗性抗皮肤老化活性剂中的用途。

23. 根据权利要求 21 或 22 所述的用途,其中用提取物去刺激细胞代谢。
24. 根据权利要求 23 所述的用途,其中用提取物去刺激皮肤成纤维细胞的代谢。
25. 根据权利要求 23 或 24 所述的用途,其中用提取物去刺激细胞能量。
26. 根据权利要求 7-9 任一项所述的含水肽提取物或根据权利要求 11-13 任一项所述的固体肽提取物在制备对抗皮肤张力或弹性的缺失和 / 或对抗衰老色斑开始形成的化妆品中的用途。
27. 根据权利要求 7-9 任一项所述的含水肽提取物或根据权利要求 11-13 任一项所述的固体肽提取物在制备对抗皮肤张力或弹性的缺失和 / 或对抗衰老色斑开始形成的治疗性活性剂中的用途。

迈卡提取物和含有该提取物的化妆品组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及提取迈卡 (maca) 的方法、所获得的提取物及含有所述提取物的化妆品和药物组合物, 以及其作为抗老化化妆剂的用途。

背景技术

[0002] 迈卡的植物学名称为 *Lepidium meyenli walp.* (独行菜属)。在其俗名之中, 英文名称也称为: 迈卡 (maca), 秘鲁人参 (Peruvian ginseng), quechua; 在西班牙语中, 被称为: maca、maka、maca-maca, 而在盖楚瓦语中被称为: ayak chichica, ayak willku, maka。它属于十字花科家族中的独行菜属。

[0003] 迈卡是一种小型草本植物, 高度为 12 至 20cm。其地下部份为 2 至 5cm。它包括一个由宽阔的、肥厚的胚轴的较低部分所覆盖着的直根。在干燥状态下, 整个直根保持成萝卜的形状。简而言之, 将该植物形成的可被使用的地下部分称为“块茎”。

[0004] 叶子成玫瑰花型, 且从中心分生。小花是自花授粉的。果实为小长角果 (4 至 5mm), 并带有两片各包含一粒种子的荚片。

[0005] 目前, 迈卡和其他植物学上相近的野生独行菜一直分布在安第斯山脉的几个山区中 (秘鲁、玻利维亚、厄瓜多尔)。这些植物甚至在其生长期也能耐受霜冻。由于其产地的原因, 长期以来一直认为该植物是“短日照”植物, 然而对其光周期的研究则显示其在长或短日照条件下的生长情况是相似的。

[0006] 在气候条件有利的条件 (充分潮湿的土壤和温和的温度) 下, 该植物为一年生。它的植物生长周期为 11 个月。在高山气候下, 它变成两年生, 在干燥季节里其地下部分休眠。

[0007] 在 1300 至 2000 年以前, 迈卡在秘鲁的 San Blas 可能是“家庭养殖”的。从那时起, 其栽培一直限定在秘鲁的中心山区, 即位于 Junin 和 Pasco 地区海拔 3500 至 4000 处。最大的栽培面积集中在 Junin 湖附近。由于以前对它们的约束较少, 所以其延伸远至 Cusco 和 Titicaca 湖。这些地区的低温和强风极大限制了除马铃薯之外的其他庄稼的生长。

[0008] 通常在 500sq. m. 的小块土地上, 采用非常传统的方式栽培迈卡。在 9 月到 10 月雨季的早期播种种子。通常在播种之后的 8 到 10 个月后采收块茎。采收开始于五至六月。采收后将块茎放置在阳光下干燥 6 至 15 天。然后避开阳光和湿气保存直至使用。块茎一直保持完好。

[0009] 迈卡化学组成的主要分析结果在由 Dini 等在 1994 年出版 (Dini A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O, Chemical Composition of *Lepidium meyenii*. Food chemistry, 1994, 49, 4, pp. 347-349 (英文)), 以及随后的 Comas 等在 1997 年发表的 (Comas M., Miquel X., Arias G., de la Torre M.C. Bromatological Studies on *lepidium meyenii*. Alimentaria (Madrid), 1997, 286, pp. 85-90 (西班牙语)) 中都有描述:

[0010] - 湿度: 10 至 20%

[0011] - 重要矿物质 (mg/100g);

- [0012] • 钾 1150 至 2050
- [0013] • 钙 150 至 260
- [0014] • 铁 3 至 16
- [0015] • 铜 0.2 至 6
- [0016] • 锌 1.5 至 6
- [0017] • 铝 3 至 7
- [0018] - 碳水化合物 :60 至 65%
- [0019] • 淀粉 30 至 35%
- [0020] • 蔗糖 3 至 20%
- [0021] • 果糖 8 至 10%
- [0022] - 葡萄糖 :3 至 7%
- [0023] - 纤维 : 4 至 8%
- [0024] - 蛋白质 :10 至 14%
- [0025] - 脂质 : 0.5 至 2%
- [0026] 迈卡传统上用作食物,但也可使用其治疗特性。
- [0027] 迈卡的营养价值与传统食用的谷类相似,实际上是生活在高原秘鲁人主要感兴趣和选择的食物。
- [0028] 为提高男性和动物的生育能力的药物目的而使用迈卡的块茎已有数百年的历史 (Leon J., 迈卡 (*Lepidium meyenii*), a little-known foodplant of Peru. *Economic botany*, 1964, 18, 2pp. 122-127 (英文))。
- [0029] 在安第斯山脉的行走医生, Kallawaya, 描述过将新鲜块茎切成薄片, 熬制, 给月经周期三或四天后希望怀孕的不孕妇女服用 (Girault L. Kallawaya. *Guérisseurs Itinérants des Andes*. ORSTOM éd., Paris, 1984, pp. 218-219 (法文))。
- [0030] 现在, 由于推测其具有刺激和引发性欲的特性, 所以迈卡越来越受到关注。已经将迈卡块茎与人参联系在一起 (在有潜力的市场方面可能超过人参), 因此它的名字也称为秘鲁人参。
- [0031] 块茎的其他用途包括其有利于呼吸疾病 (肺结核)、慢性疲劳、记忆疾病、绝经综合征, 以及治疗风湿损伤等。
- [0032] 本发明的目的是提供一种迈卡提取物, 其能刺激成纤维细胞的代谢和增殖以防止和 / 或抵抗来自时间的、外来因素 (阳光、烟草、污染、压力) 和绝经引起的皮肤老化。
- [0033] 皮肤老化的特征特别在于成纤维细胞数量的减少和活性的降低。
- [0034] 粗制的迈卡 (一般以干燥粉末形式存在) 几乎不溶于水。出于这种原因, 其很难用于化妆护理产品中。而且, 该植物的组成分子 (矿物盐、碳水化合物、蛋白质和维生素) 通过皮肤路线的生物利用度几乎不存在。

发明内容

[0035] 因此, 本发明涉及一种完全水溶的迈卡的肽提取物, 其制备方法, 包含该物质的化妆品组合物以及它们用作抗老化活性剂的用途。

[0036] 肽提取物可以是液体也可以是固体, 这取决于提取物在其制备的第二步骤中是否

进行了冷冻干燥。

[0037] 皮肤老化可以自己显示出来,特别是通过组织的萎缩,尤其当转变为皮肤失去张力和紧绷感,皮肤厚度和弹性减少,开始出现色斑,失去皮肤光泽和均匀度以及开始出现皱纹和细线时。

[0038] 更具体地,本发明的目的是一种制备迈卡的含水肽提取物的方法,其特征在于采用迈卡地下块茎的粉末,所述方法还包含至少一个蛋白质的酶水解步骤。

[0039] 水解优选为酶水解。酶水解可以专门采用淀粉酶和蛋白酶的混合物来进行。优选地,淀粉酶/蛋白酶比例范围从 50/50 至 90/10,优选从 75/25 至 85/15 以使植物的蛋白质片段变成水溶性肽。

[0040] 然后将这样获得的含水提取物浓缩以除去不可溶物例如纤维。

[0041] 根据对本发明方法的改进,含水提取物可以随后通过超滤来纯化以提取残留的痕量蛋白质。在这种情况下,有利地选择 10KD 的断开阈值 (cut-off threshold) 以保留分子量小于 10KD 的那些肽。

[0042] 而且,根据对本发明方法的优选改进,该方法包括以下步骤:

[0043] - 清洗,然后在热空气中干燥迈卡(例如在 60°C),

[0044] - 将迈卡块茎研磨成细粉末,

[0045] - 使粉末悬浮在水中,有利地在 1 至 25 重量%之间,

[0046] - 在蛋白酶和淀粉酶存在的情况下(例如比例为 80/20)水解蛋白质,

[0047] - 离心以除去不可溶物(纤维),

[0048] - 对溶液进行超滤(有利地,断开阈值为 10KD),

[0049] - 然后任选采用渗滤(有利地为 100Da)和/或采用受控蒸发步骤来经过浓缩步骤使其成为干物质,

[0050] 最后,任选地进行无菌过滤步骤(优选在 0.2 μm 过滤器上)。

[0051] 本发明的另一目的是一种迈卡的含水肽提取物,其能通过上面描述的方法及其各种改进方法获得。

[0052] 有利地,所述迈卡的含水肽提取物中干物质的含量是在 1 至 300g/1 之间,优选在 2 至 10g/1 之间。

[0053] 至于干物质,还原糖的含量可以在 2 至 70%之间,优选在 35 至 45%之间。还原糖即反应糖:它们能够向分子提供电子。葡萄糖、果糖和麦芽糖都包括在内。历史上,该术语源自 XIX 世纪 Fehling 的发现,Fehling 证明一些糖与二价铜离子反应可使后者变成一价铜离子。视觉可见地,这种被称为“还原”的作用可通过 Fehling's 溶液中颜色的变化来观察:开始为蓝色,在还原糖存在下变成砖红色。

[0054] 具有 20g/1 干物质的溶液的 pH 值可以在 5 至 8 之间,优选 6 至 7 之间。

[0055] 本发明的另一目的是用于制备迈卡的固体肽提取物的方法,所述方法的特征在于将可任选地进行通过浓缩和/或灭菌的含水肽提取物冷冻干燥。换句话说,所得的固体粉末(干燥提取物)具有特别的水溶性特点,这不同于原始迈卡块茎粉末。

[0056] 本发明的另一目的是一种能够采用上述方法获得的迈卡的固体肽提取物。

[0057] 这种迈卡的固体肽提取物的特征还在于它的 α 氨基氮的含量。这个含量可以在 2 至 70 之间。

[0058] 优选地,本发明迈卡的固体肽提取物具有如下氨基酸组成(以氨基酸总重量计的重量百分比):

[0059]

丙氨酸	5-9%
精氨酸	15-20%
天冬氨酸	8-12%
胱氨酸 - 半胱氨酸	< 2%
谷氨酸	9-15%
甘氨酸	3-7%
组氨酸	1-6%
异亮氨酸	2-7%
亮氨酸	4-9%
赖氨酸	3-7%
甲硫氨酸	1-5%
苯丙氨酸	4.9%
脯氨酸	< 1%
丝氨酸	2-8%
苏氨酸	1-7%
酪氨酸	1-7%
缬氨酸	4-10%
色氨酸	< 0.5%

[0060] 本发明的另一目的是一种化妆品组合物,其特征在于它包含前述迈卡的含水的或固体肽提取物以及化妆品可接受的至少一种赋形剂。

[0061] 所述化妆品组合物尤其可以用于抗皮肤老化。

[0062] 本发明的另一目的是一种化妆处理方法,所述方法包括将所述组合物应用在个体的皮肤上。

[0063] 最后,本发明的目的是使用本发明的含水或固体肽提取物作为抗老化活性剂。更具体地,所述的含水或固体提取物用于刺激细胞代谢,即线粒体的活性,特别是在皮肤的成纤维细胞中。这种含水或固体提取物也可以用于刺激细胞能量。“细胞能量”是指细胞进行所有生命活动(特别是有丝分裂、生长、大分子的合成和 DNA 修复)所需的能量库。最后,所述的含水或固体提取物还可以用于对抗外界损害如阳光、污染或压力。

[0064] 下面,通过对实施方案的实施例的描述来说明本发明。

实施例

[0065] 实施例 1:提取物的制备

[0066] 将 10kg 迈卡粉末在 0.25kg 淀粉酶存在的情况下分散在 80 升去矿物质水中。混合物在 50°C 中维持 5 小时, pH 保持 5。

[0067] 在第二步骤中,加入 0.25kg Novo Nordisk 公司的 Alcalase® 蛋白酶。然后将混合物在 60°C 下放置 1 小时, pH 保持 8。

[0068] 然后,将水解酶通过加热至 90°C 并持续 20 分钟而使之变性。

[0069] 在过滤粘土辅剂存在的情况下在 5550rpm 下离心混合物并且通过 1μm 布料过滤使其澄清。

[0070] 将收集的溶液超滤(断开阈值为 10KD),通过渗滤(10Da)将滤液浓缩至干物质含量为 10%,然后进行无菌过滤(0.2 μm)。

[0071] 所得提取物具有以下特性:

[0072]

外观 / 颜色	黄色清澈溶液
气味	特有的
干物质 (w/w)	10.4%
在 20g/l 溶液中的 pH	6.8
吸收值	在 420nm 处为 0.530 在 550nm 处为 0.093
涉及干物质的组合物 (w/w)	
α 氨基氮	4%
总氮量	1.7%
还原糖	42%

[0073] 迈卡粉末水解物的 HPLC 图谱——分子量分布:

[0074]

HPLC 峰	平均分子量 (g/mol)	相关度%
1	1170	38.9
2	360	29.3
3	180	16.2
4	41	15.6

[0075] 实施例 2 :生物活性

[0076] 2-1 对正常人成纤维细胞的影响

[0077] 材料和方法

[0078] 细胞 :正常人成纤维细胞模型,单层培养。[0079] 处理 :将细胞在缺少 (对照) 或含有从实施例 1 中获得的 0.1% 肽提取物中培养。[0080] 细胞代谢的评价 :通过在一个星期中每天检测线粒体的活性 (MTT 检测,即 3-(4,5- 二甲基噻唑 -2- 基)-2,5- 二苯基四唑溴化物) 来评价该提取物产生的影响。[0081] 结果 :平均来说,相对于未处理的对照细胞,剂量为 0.1% 的迈卡肽提取物刺激皮肤成纤维细胞的代谢率增加 20%。图 1 示例了细胞培养在缺少 (对照) 或存在迈卡肽提取物时的活力。

[0082] 结论

[0083] 迈卡的肽提取物能够刺激皮肤成纤维细胞的代谢。

[0084] 2-2 在体外对人成纤维细胞人工老化的影响

[0085] 研究模型

[0086] 对于本研究我们采用了体外人工老化的皮肤成纤维细胞模型,所述模型的特征在于采用来自整容手术者 (女性,26 岁) 的成纤维细胞并且培养至高传代数量 > p15。在每次传代或数量加倍后,成纤维细胞具有 :

[0087] a) 外观变化并且变得更加伸展

[0088] b) 与 < p5 传代并认为是“年轻”的相同成纤维细胞相比,倍增更加缓慢 (图 2 说明了“年轻”成纤维细胞 (< p5) 复制能力 (分裂) 与老化的成纤维细胞 (> p15) 的对比)。

[0089] 体外人工老化或复制衰老现象已经由 Leonard Hayflick 在 1961 年证实了 (Hayflick L 和 Moorhead PS. The serial cultivation of humandiploid cell strains. Exp Cell Res, 25 :585-621 1961)。最初的 Hayflick 曲线显示细胞在培养的情况下仅能分裂有限的次数,然后描述了复制衰老和细胞老化之间可能的联系 (Hayflick L. The limited lifetime of human diploid cell strains. Exp Cell Res., 37)。细胞似乎具有一个内在的时钟效应或可直接限制它们的分裂能力。这种程序化的细胞分裂终止可能与端粒 (染色体末端) 的缺失相关。一种可接受的体内 (缺失大约 50 碱基对 / 细胞倍增) 和体外 (缺失大约 70 碱基对 / 细胞倍增) 之间的对应性倾向于说明体外细胞分裂的模式预示了体内发生的情况。

[0090] 结果

[0091] 细胞在存在或缺少剂量为 0.01% 的迈卡的肽提取物的情况下培养 7 天。细胞活力采用 MTT 试验检测。结果表示为生长率% / 培养的第一天 (d1), 并根据公式:

[0092] $[OD_{dX} - OD_{d1} / OD_{D1}] \times 100$, 其中 $OD =$ 在 570nm 检测的光密度; $d =$ 培养天数。

[0093] 在这些实验条件下, 迈卡的水解产物 (剂量为 0.01%) 在 d4 和 d7 时能够提高“年轻”成纤维细胞的分裂能力 (传代 < 5) 分别至 +35% 和 40% (图 3A) 以及在 d4 和 d7 时能提高“年老”的成纤维细胞 (> p15) 的分裂能力分别至 +26% 和 29% (图 3B)。图 3A 和 3B 在这作为附图。

[0094] 结论:

[0095] 迈卡的水解产物通过刺激“年老”成纤维细胞的增殖能力从而弥补与年龄相关的皮肤数量的降低, 从而对抗内在的皮肤老化。

[0096] 2-3 对人体细胞内脂质过氧化物产生的影响

[0097] 本研究的目的是评价迈卡肽提取物对暴露或不受 UVA+UVB 辐射的人细胞 (Jurkat) 中脂质过氧化率 (LP) 的影响。采用流式细胞计通过特异的荧光探针来进行 LP 检测。该方法的优点在于从大量的细胞中 (每样本分析 10,000 细胞) 检测个体细胞荧光时具有高灵敏性。

[0098] 材料 & 方法

[0099] 所用的细胞是 Jurkat 人淋巴细胞, 以 8×10^5 细胞 / 孔分布于 24 孔板中。

[0100] 培养基为 RPMI1640 (Invitrogen 31870-025), 在 37.5°C 下, 并在 5% CO_2 存在的情况下。

[0101] 检测缓冲液为不带有酚红和小牛血清 (Polylabo 5503401) 的 MEM。

[0102] 对实施例 1 中获得的肽提取物进行检测, 二倍稀释, 即以含有 5% 干物质的提取物的形式。在检测缓冲液中制备包含 2% 该提取物的溶液 S_1 。

[0103] 所用对照为 50 μm 丁基羟基苯甲醚 (BHA Sigma ref. B 1253) 的纯乙醇溶液。检测是用在检测缓冲液中制备的含有 100 μm BHA 的溶液 S_2 进行的。

[0104] 荧光探针为 5 μm 5-N- 十二酰 - 氨基 - 荧光素 (Free. Rad. Biol. Med., 1997, 22 13-100) 的纯乙醇溶液。检测是用在检测缓冲液中制备的 1 μm 探针溶液 S_3 进行的。

[0105] 将人细胞在培养基中预孵育, 然后用检测缓冲液清洗。随后将其在肽提取物的 S_1 溶液或 S_2 对照溶液存在下孵育。将探针溶液 S_3 加入到每批中进行 LP 检测。

[0106] 在孵育 45 分钟后, 通过在检测缓冲液清洗去除荧光探针。

[0107] 每一批中的一部分进行 UVB 照射, 而另一部分不进行照射以作为对照。

[0108] 在 20 分钟孵育后, 采用流式细胞计进行荧光参数检测。

[0109] 脂质过氧化物相对数量的确定是基于整合在细胞膜上的探针的荧光减少。荧光信号的增加反映了膜脂质过氧化物基础率的减少。

[0110] 研究分三组进行。

[0111] 结果

[0112] 结果以荧光强度值来表示, 关于对照的百分率采用荧光强度值计算。

[0113] 所得结果汇集在下表中:

[0114] 脂质过氧化物的相对细胞内数量 (LP)

[0115]

处理	荧光强度	平均值	Sd	1/ 荧光强度	%对照 +UV
对照 C11/ 荧光	1.16 1019 1019	1.18	0.02	—	—
对照 -UV	530.21 463.66 525.39	506.42	37.11	0.00197	37
检测 +UV	198.83 172.38 186.04	186.42	13.30	0.00536	100
BHA 100 μ m	362.40 368.20 393.42	374.67	16.49	0.00267	50
实施例 1 中的提取 物的 2% 溶液	254.23 252.27 239.47	248.66	8.02	0.00402	75

[0116] $P < 0.01$

[0117] 没有经过 UV 的脂质过氧化物 (LP) 的相对细胞内数量

[0118]

处理	荧光强度 n = 10000 细胞)	平均值	Sd	1/ 荧光强 度	%对照 + UV
对照 C11/ 荧光	1.50 1.24 1.26	1.33	0.14	-	-
对照 -UV	530.21 463.66 525.39	506	37.11	0.00197	100
BHA 100 μ m	741.05 745.64 770.93	753	16.09	0.00133	67
2% MC101	716.73 682.84 716.34	705	19.45	0.00142	72

[0119] $P < 0.01$

[0120] 明显减少照射。探针的荧光强度反映为细胞膜自由基反应的出现,并由此导致的LP数量的增加。

[0121] 在 100 μ m 下检测的参考 BHA 明显抑制了荧光的丧失,相对于 UV 存在下的对照,显示了 50% 的辐射。

[0122] 本发明的肽提取物在 UV 不存在(与对照相比减少 72%)和 UV 存在(与对照相比减少 75%)的情况下都明显减少了脂质过氧化物的数量。

[0123] 结论

[0124] 迈卡的肽提取物通过防止自由基的形成而使其能抵抗由反应性氧化的物质组成的皮肤老化的一个主要因素。

[0125] 实施例 3:用于抗老化霜的化妆品配方的实施例

[0126] 抗老化霜

[0127] 水

QSP100

[0128] 异壬酸异壬酯

7.00

[0129]	Di-C12-13 烷基苹果酸	7.00
[0130]	异十六烷硬脂酸酯	5.00
[0131]	丁烯乙二醇	3.00
[0132]	实施例 1 中制备的迈卡含水肽提取物	2.00
[0133]	己二酸基醚	2.00
[0134]	硅烷二醇水杨酸酯	2.00
[0135]	二十醇	1.65
[0136]	氨丁三醇	1.18
[0137]	十六烷基乙醇	1.00
[0138]	甘氨酸	1.00
[0139]	维生素 E 醋酸酯	1.00
[0140]	二十二醇	0.90
[0141]	角鲨烷	0.79
[0142]	柠檬酸钠	0.66
[0143]	PPG-12/SMDI 异量分子聚合物	0.50
[0144]	二十烷葡萄糖苷	0.45
[0145]	芳香剂	0.40
[0146]	菌核树胶	0.16
[0147]	鲸蜡硬脂醇 (Cetearyl Alcohol)	0.13
[0148]	柠檬酸	0.11
[0149]	Sepigel 305*	0.10
[0150]	保鲜剂	QS
[0151]	* 为 Seppic 商标	

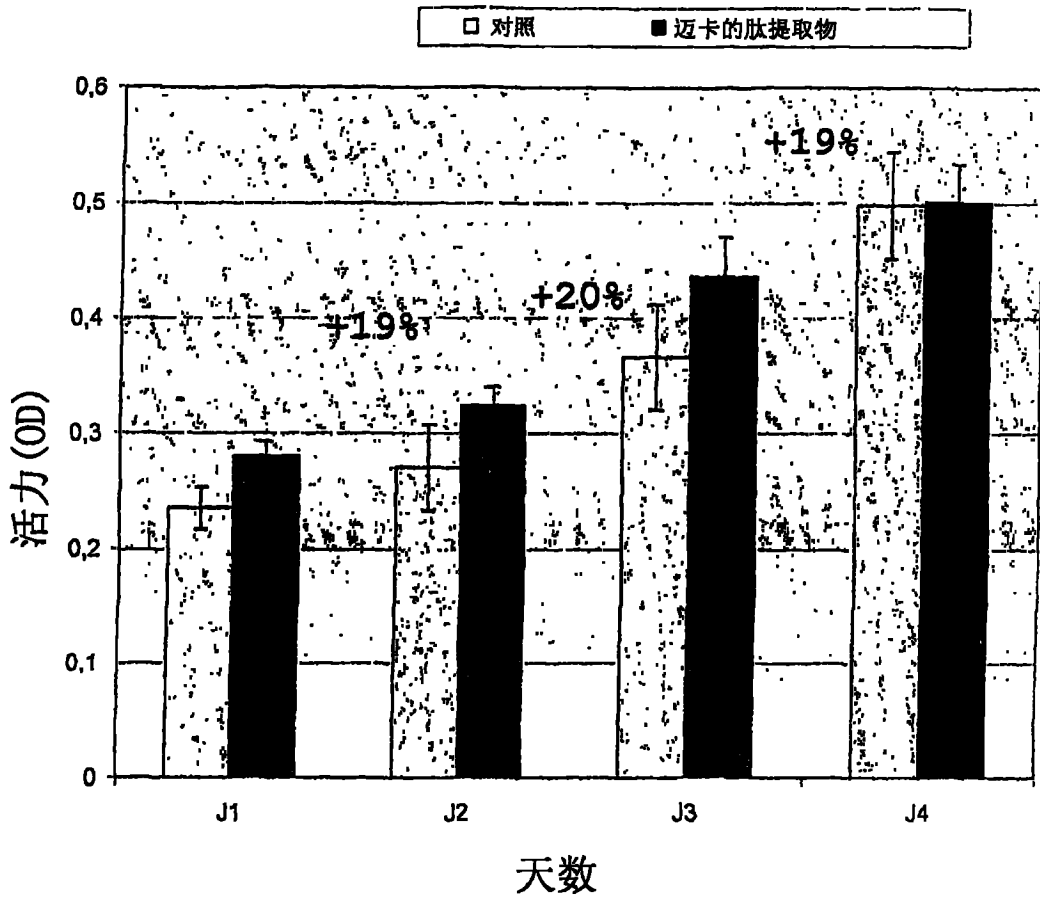


图 1

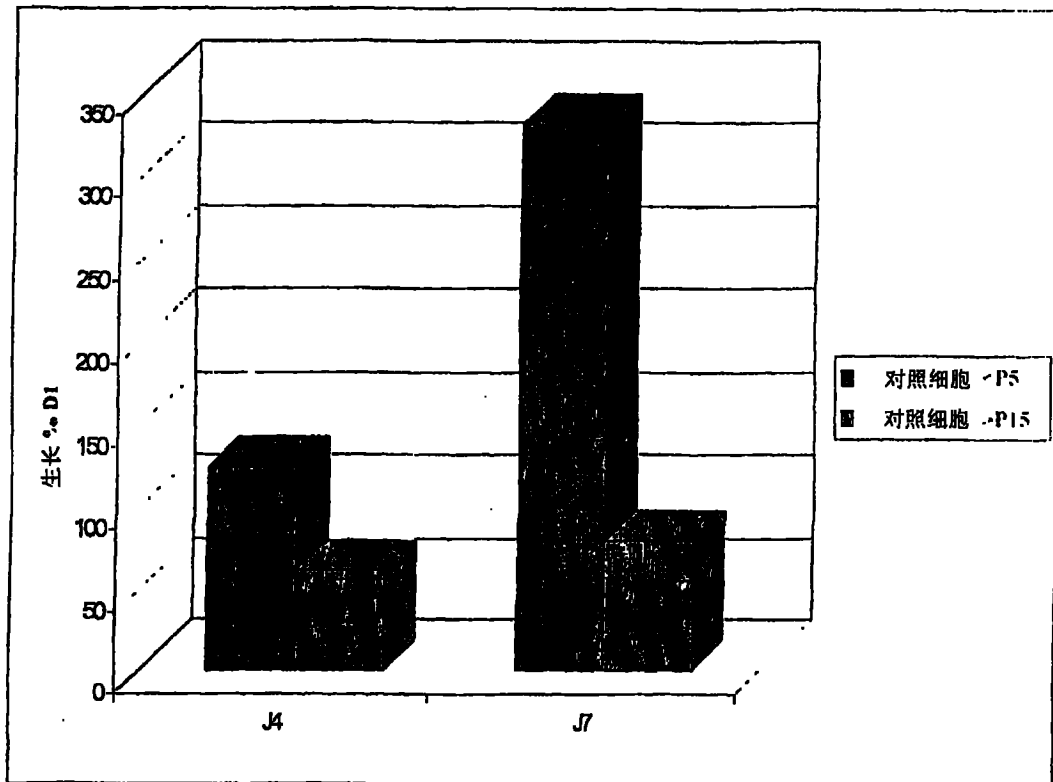
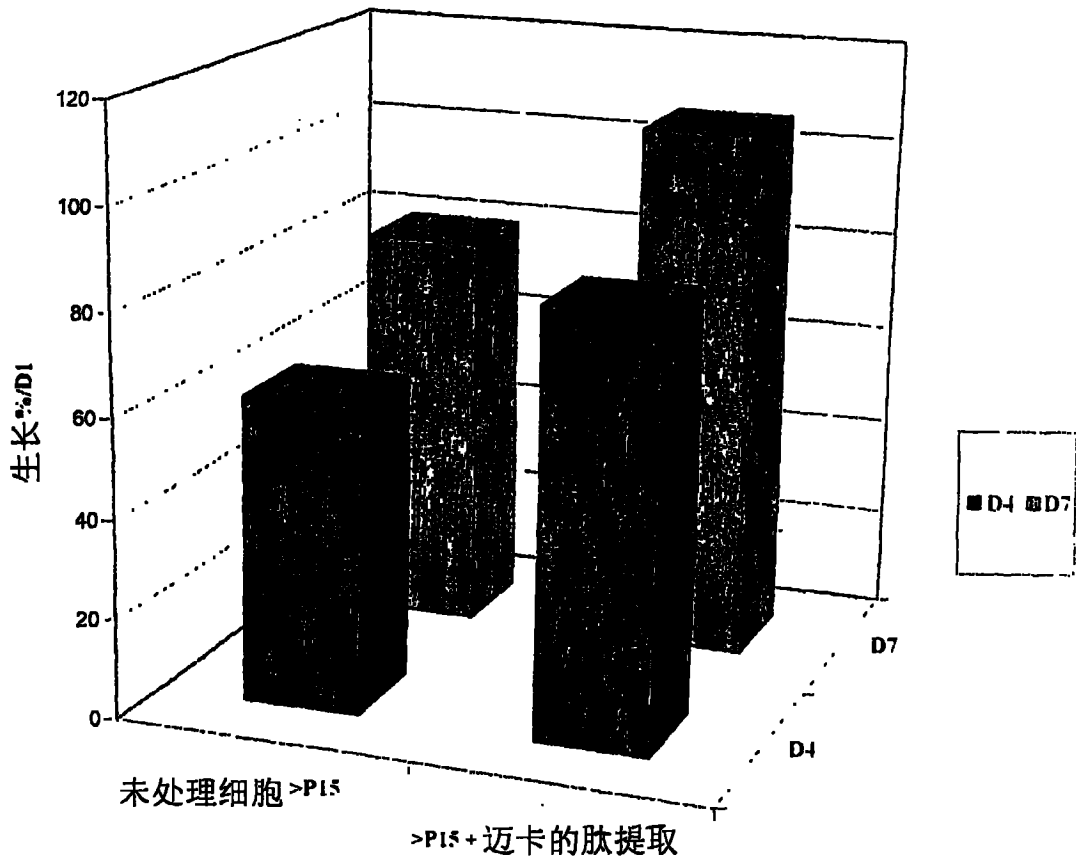
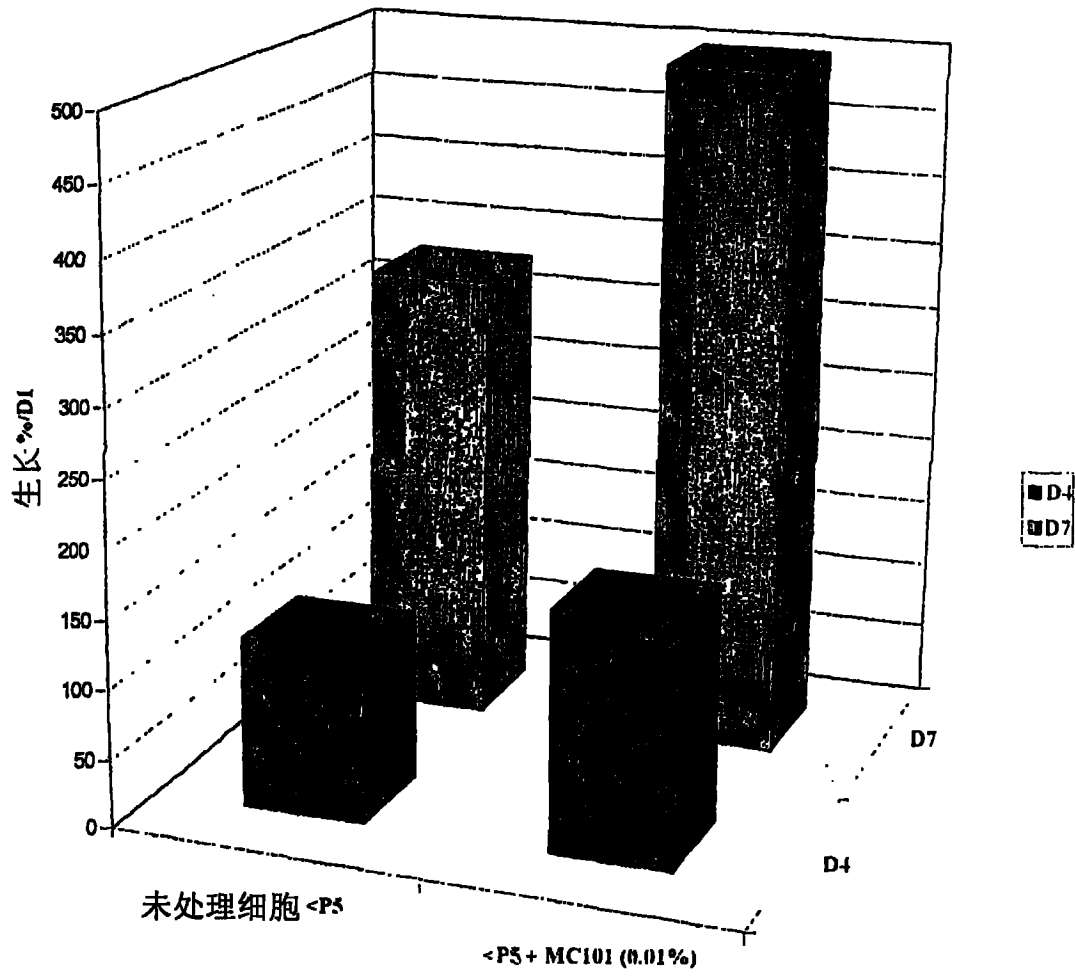


图 2



A) "年青"成纤维细胞

图 3A



B) "年老"成纤维细胞

图 3B