(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 115038426 B
(45)授权公告日 2024.04.26

(21)申请号 202180012318.X

(22)申请日 2021.01.27

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 115038426 A

(43)申请公布日 2022.09.09

(30)优先权数据
2001055 2020.02.03 FR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.08.02

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/FR2021/050150 2021.01.27

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/156556 FR 2021.08.12

(73)专利权人 加特弗斯股份公司
地址 法国圣普里埃斯特

(72)发明人 维尔日妮·查顿
尼古拉斯·贝克图勒
弗里德里克·德马尔内

(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司 11332
专利代理师 刘明海 胡彬

(51)Int.Cl.
A61K 8/9789(2006.01)
A61Q 19/08(2006.01)

(56)对比文件
CN 102669195 A,2012.09.19
CN 105616618 A,2016.06.01
KR 20110116364 A,2011.10.26
CN 103446294 A,2013.12.18
CN 104721121 A,2015.06.24
IN 201711004579 A,2018.08.10
US 2009169651 A1,2009.07.02
US 2013287708 A1,2013.10.31
WO 2014157910 A1,2014.10.02
WO 2018172436 A1,2018.09.27
Balakrishnan R等.Medicinal Profile, Phytochemistry, and Pharmacological Activities of Murraya koenigii and its Primary Bioactive Compounds. .Antioxidants.2020,第9卷(第2期),第1-28页.
Chloé Lorion 等.Elastogenic potential and antisagging properties of a novel Murraya koenigii extract.Journal of Cosmetic Dermatology .2023,第1-9页.

审查员 赵黎博

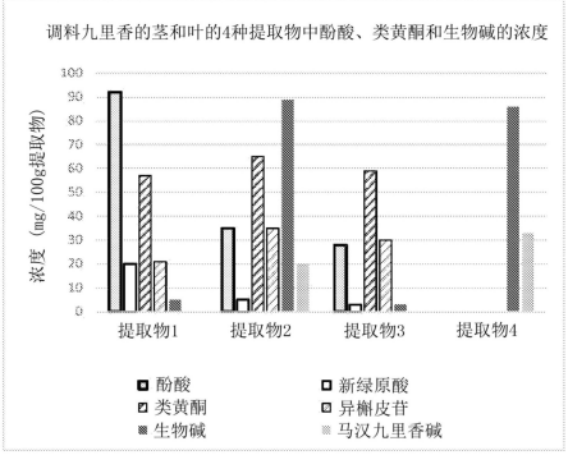
权利要求书1页 说明书14页 附图1页

(54)发明名称

调料九里香提取物及其在化妆品中的应用

(57)摘要

本发明涉及调料九里香提取物用于对抗皮肤老化的用途。



CN 115038426 B

1.调料九里香提取物或包含所述提取物的组合物在制备对抗皮肤老化的化妆品中的用途,所述调料九里香提取物能够通过固/液提取方法,然后通过第二固/液分离步骤,最后通过第三步以回收液相来获得,其特征在于,溶剂由摩尔比为1:1:5的甜菜碱、丙二醇和水的混合物组成。

2.根据权利要求1所述的用途,用于刺激皮肤弹性组织生成过程。

3.根据权利要求1或2所述的用途,用于刺激皮肤弹性纤维的形成。

4.根据权利要求1所述的用途,用于使皮肤细胞外基质致密化。

5.根据权利要求1所述的用途,用于对抗皮肤松弛。

6.一种调料九里香提取物,其能够通过固/液提取方法,然后通过第二固/液分离步骤,最后通过第三步以回收液相来获得,其特征在于,溶剂由摩尔比为1:1:5的甜菜碱、丙二醇和水的混合物组成。

7.根据权利要求6所述的提取物,其特征在于,其为干燥的叶柄和/或叶的提取物。

8.根据权利要求6或7中任一项所述的提取物,其特征在于,其无生物碱。

9.根据权利要求7所述的提取物,其特征在于,其具有在1:99至50:50之间的调料九里香的叶柄和/或叶与溶剂的质量比。

10.包含根据权利要求6至9中任一项所述的提取物的化妆品组合物。

调料九里香提取物及其在化妆品中的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及调料九里香提取物和包含所述提取物的化妆品组合物。本发明还涉及所述提取物或所述化妆品组合物用于皮肤治疗,特别是用于皮肤老化的用途。

背景技术

[0002] 真皮是一种致密的纤维弹性结缔组织,由细胞和细胞外基质(ECM)(尤其含有弹性纤维和胶原纤维)组成。真皮的功能是确保对表皮的营养和支撑以及皮肤的机械性能。成纤维细胞(其是真皮中的主要细胞)合成形成ECM的蛋白质(胶原蛋白、弹性蛋白、蛋白多糖和糖蛋白)而且还合成降解ECM以更新或修复ECM的蛋白酶(胶原酶、弹性蛋白酶)。

[0003] 弹性纤维的形成始于发育的早期阶段,并在出生时达到高峰。这个过程在青春期前后放缓,且在成年期变得几乎不存在。成熟弹性纤维的结构是复杂的且组织依赖性的,反映了所考虑的组织的生物功能。

[0004] 在皮肤中,弹性纤维作为个体化纤维存在,赋予皮肤其弹性(elasticity)和弹性(resilience)。此外,根据这些纤维中存在的弹性蛋白的比例,弹性纤维具有不同的名称。因此可以区分低弹性蛋白含量的纤维和由多于90%弹性蛋白组成的纤维;它们分别被称为oxytalan纤维、elaunin纤维和成熟弹性纤维。在真皮浅层中,oxytalan纤维形成垂直于真皮-表皮交界处的细树枝状,并与乳头真皮中的elaunin纤维混合。在真皮网状层中,弹性纤维较粗,并平行于真皮-表皮交界处定位。

[0005] 弹性纤维在弹性组织生成过程中合成,该弹性组织生成是指导致功能性弹性纤维的超分子组装的一系列细胞内和细胞外过程。弹性纤维的核由弹性蛋白组成,该弹性蛋白与主要由糖蛋白例如原纤维蛋白、纤维蛋白、MAGP(微原纤维相关糖蛋白-1)和LTBP(潜伏TGF-β-结合蛋白)组成的微原纤维外膜结合。正是弹性蛋白赋予了弹性纤维弹性(elasticity)和弹性(resilience),并使皮肤当被挤压或拉伸时恢复其原始状态。

[0006] 弹性蛋白是一种非常耐蛋白水解的蛋白质,且是体内最具抗性的蛋白质之一。在成人的生理条件下,弹性蛋白的更新几乎为零,且其半衰期估计为70年。然而,弹性蛋白的合成偶尔被重新激活,以修复老化过程中受损/降解的弹性纤维。然而,修复弹性纤维的功能不如发育过程中形成的纤维。

[0007] 微原纤维构成糖蛋白基质,在与成熟纤维形成共价键之前,原弹性蛋白单体在该基质上沉积并排列成行。微原纤维主要由原纤维蛋白(例如在真皮中高度表达的原纤维蛋白-1(FBN-1))组成。纤维蛋白(例如纤维蛋白1-5(FBLN-5))与原纤维蛋白结合,并参与弹性组织生成的数个关键步骤,例如与原弹性蛋白结合和超分子组装弹性纤维。

[0008] 真皮受到时间老化(也称为内源性老化)的影响,时间老化是一系列遗传程序改变的结果。成纤维细胞数量较少,且其代谢活性降低,例如胶原蛋白和弹性蛋白合成减少。在临床上,这导致细纹的出现,逐渐丧失弹性并减缓愈合。在时间老化过程中,成纤维细胞也合成更多的金属蛋白酶(MMP),这些金属蛋白酶参与真皮ECM成分的蛋白水解降解。然后这些酶能够降解构成弹性纤维的弹性蛋白和原纤维蛋白。从组织学的角度来看,我们研究了

一种弹性纤维的弹性组织离解现象,该弹性纤维呈现碎片化,其数量密度减少以及这些纤维的直径的减小。

[0009] 外源性老化是许多环境因素(包括污染、生活方式和阳光照射(或光老化))的结果,外源性老化的有害影响被添加到时间老化的影响中。光老化的特征在于真皮的显著变化,这导致深皱纹的形成和皮肤弹性的显著丧失。在光老化过程中观察到的变化主要是基于活性氧(ROS)的产生,这将导致蛋白水解酶的强烈激活,引起过度的组织降解。蛋白酶例如中性粒细胞弹性蛋白酶(来自成纤维细胞和中性粒细胞浸润)和MMP-12(来自巨噬细胞)在UV光的影响下被分泌以降解原弹性蛋白。

[0010] 随着发达国家预期寿命的增加,老化对皮肤外观和功能的影响是重要问题,其已经是许多研究的主题。

[0011] 事实证明,更好地理解皮肤老化生理学中涉及的机制,使开发能够减缓或修复其不良影响的新策略。

[0012] 因此,临床研究表明,通过激活胶原蛋白和弹性纤维的合成,应用基于维生素C的霜改善了皮肤的整体外观并减少了明显的皱纹。

[0013] 来源于维生素A的类视黄醇通过刺激胶原纤维的合成和oxytalan纤维的重组来帮助减少皱纹。此外,它们通过阻断MMP的过度表达来防止ECM蛋白的过度水解。

[0014] 多酚,天然存在于葡萄和葡萄酒、绿茶和红茶、水果和蔬菜中的抗氧化剂,也是良好的候选物,因为它们的抑制MMP过度表达的特性。

[0015] 富含天然和多种分子的植物提取物也是刺激内源性光保护机制的良好候选物,例如细胞抗氧化防御和抑制MMP酶活性。更具体地,文献FR 2855968描述了莳萝、穗醋栗、小豆蔻、黑萝卜、小冬青(little holly)、肉桂、燕麦、马铃薯和蚕丝的提取物来刺激弹性纤维的形成。

[0016] 植物物种调料九里香(Murraya koenigii(L.)Spreng)通常被称为例如咖喱或kaloupile树,属于芸香科。调料九里香(Murraya koenigii)或调料九里香(M.koenigii)是一种落叶芳香灌木,其最大高度可达6米。主要原产于印度和斯里兰卡,也见于南亚和东南亚。其生长在热带或亚热带气候地区是最佳的。

[0017] 现有技术较好地描述了调料九里香不同部分(例如叶状茎(leafy stalk)(或叶状茎(leafy stem))、叶、树皮、果实、种子、根)的植物化学组成,其主要特征是存在咔唑类生物碱、酚类化合物(黄酮醇类类黄酮、衍生自苯甲酸和对羟基肉桂酸的酚酸、单宁)、萜类化合物(皂苷、类胡萝卜素)、精油、矿物质、糖和氨基酸。

[0018] 调料九里香,且尤其其叶状茎和叶,传统上用于食物和药物。叶子经常用于制备咖喱和酸辣酱。

[0019] 文献中还报道了调料九里香的与化妆品应用相关的数种性能,即抗透明质酸酶、抗微生物、保湿、抗氧化、脱色、毛发生长或光保护。

[0020] 例如,我们可以提及由DERMALOGICA公司开发的AgeSmart®夜间精华或由ALDI-SÜD公司销售的晚霜。类似地,可以参考US 2009/169651,其公开了包含植物提取物(包括调料九里香叶的提取物)的组合物,以及参考WO 2014/157910,其描述了包含Thanaka的组合物,所述Thanaka通过酶处理调料九里香、千里香和九里香的地上部分,特别是叶而获得。

[0021] 在传统医药中,据说调料九里香提取物促进消化(抗恶心、抗呕吐、抗腹泻)和抗细

菌(分歧杆菌)、真菌、病毒和寄生虫感染。提取物被描述为具有通过刺激细胞对抗氧化系统来对抗氧化应激的治疗和预防特性。抗炎特性主要归因于调料九里香提取物中含有的生物碱。在喂食调料九里香提取物的动物中也观察到了有益的神经(抗焦虑、抗抑郁和抗应激)和代谢(抗糖尿病和抗肥胖)作用。

[0022] 作为示例,WO 2018/172436公开了用于治疗代谢综合征和认知障碍的包含来自调料九里香干燥的叶粉末的活性成分(包括二甲双胍)的组合物。

[0023] 然而,从现有技术看来,调料九里香提取物的功效和生物特性与所述提取物中生物碱的存在有关。

[0024] 确实,如前所述,调料九里香是生物碱,尤其是咔唑类生物碱的重要来源。例如,从茎皮中分离的咔唑是吉九里香碱、九里香碱或马汉九里香碱;咔唑类马汉九里香碱、异马汉九里香碱、mahanine或koenoline从叶茎和叶中分离。

[0025] 生物碱代表一组天然来源的分子,含有碳、氢和尤其是氮。大多数生物碱具有生物学作用,最通常对神经系统有作用(精神药物、精神活性物质、兴奋剂、麻醉、补剂、催吐、镇静、安眠和止痛)。在纯化形式中,这些分子非常经常表现出急性毒性,以及在较低剂量下的舒缓药理活性,并非没有习惯化效应或长期慢性毒性。因此,在化妆品组合物中,有时需要降低包含生物碱的活性成分的浓度,以降低与这些分子相关的毒性风险。然而,这种活性成分剂量的减少可能以损害组合物的有效性为代价。

[0026] 通过以上,看起来有必要限制甚至消除化妆品产品中生物碱的存在。

[0027] 叶柄(或叶状茎)和叶也含有来源于苯甲酸(没食子酸、原儿茶酸、丁香酸...)和对香豆酸(对香豆酸(p-coumaric)、阿魏酸...)的酚酸和黄酮醇类类黄酮。这些分子具有可用于化妆品领域的生物学特性,特别是抗微生物、抗氧化或甚至愈合特性。

[0028] 另一方面,在能够获得的溶剂中进行选择以获得提取物造成了一定数量的困难。

[0029] 水性溶剂需要添加微生物防腐剂以确保其稳定性。然而,防腐剂的使用领域越来越受到限制,特别是因为需要毒理学数据。丙二醇已被证明具有潜在毒性,且目前制造商正在避免。农基丁二醇相对昂贵,这限制了其工业用途。尽管乙醇单独或与水混合时具有良好的提取能力,但它特别易挥发且易燃,这导致运输和储存问题。另一方面,由于其干燥特性,这种溶剂会破坏皮肤的水脂膜,并对敏感皮肤产生刺激。

[0030] 此外,由于植物提取物通常注定被用于配制化妆品组合物,因此避免含有盐或酸的提取溶剂是重要的,至少微量的盐或酸必然存在于提取物中。事实上,已知,剂量超过0.1%的盐基成分的凝胶或乳液制剂特别复杂。此外,因为酸降低了所得提取物的pH,所以它们具有使凝胶或乳液制剂变得困难的效果。特别地,旨在用于皮肤应用的化妆品产品必须具有合适的pH,优选接近皮肤的pH(约pH 5.5),或者中性pH。在这些条件下,含酸溶剂的使用因此需要添加赋形剂,尤其是pH调节剂。

[0031] 本发明要解决的问题是找到一种特别是通过保持或改善皮肤的弹性来有效地对抗皮肤老化的现有植物提取物的替代物,并且该替代物没有上述缺点,特别是与提取物中生物碱的存在有关的缺点。

发明内容

[0032] 申请人非常令人惊奇地发现,调料九里香提取物能够满足上述需求。

[0033] 因此,本发明涉及根据本发明的调料九里香提取物或包含其的组合物的用途,优选非治疗性用途,用于皮肤和/或粘膜的美容治疗,特别是用于改善皮肤和/或粘膜的外观,用于改善皮肤的强度和/或弹性,用于治疗或预防皮肤老化、皱纹或皮肤松弛。

[0034] 根据第一方面,本发明涉及用于对抗皮肤老化的调料九里香提取物或包含所述提取物的化妆品组合物。

[0035] 根据一个具体实施方案,根据本发明的提取物或包含所述提取物的化妆品组合物用于刺激皮肤的弹性组织生成过程。

[0036] 根据另一个具体实施方案,根据本发明的提取物或包含所述提取物的化妆品组合物用于刺激皮肤弹性纤维的生成。

[0037] 有利地,皮肤弹性纤维是oxytalan纤维、elaunin纤维和/或成熟弹性纤维。

[0038] 根据另一个具体实施方案,根据本发明的提取物或包含所述提取物的化妆品组合物用于使皮肤细胞外基质(ECM)致密。

[0039] 在本发明的意义上,“使ECM致密化”是指增加形成ECM的蛋白质(胶原蛋白、弹性蛋白、蛋白多糖或糖蛋白)的量。

[0040] 根据另一个具体实施方案,根据本发明的提取物或包含所述提取物的化妆品组合物用于对抗下垂的皮肤。

[0041] 根据另一个具体实施方案,根据本发明的提取物或包含所述提取物的化妆品组合物用于愈合皮肤。

[0042] 根据一个具体实施方案,在前述用途中实施的根据本发明的调料九里香提取物可以通过固/液提取方法,然后通过第二固/液分离步骤,最后通过液相中的第三回收步骤获得,其特征在于,溶剂由甜菜碱和1,3-丙二醇或丙二醇的混合物组成,有利地是甜菜碱、丙二醇和水的混合物。

[0043] 该溶剂可以含有或可以不含有水。然而,溶剂中水的存在具有稀释溶剂的优点,因此有利于提取。

[0044] 根据一个具体实施方案,用于获得根据本发明提取物的提取溶剂由摩尔比为1:严格小于1.5;有利地摩尔比为1:1的甜菜碱和丙二醇的混合物组成。

[0045] 根据另一个具体实施方案,用于获得本发明提取物的萃取溶剂由摩尔比为1:严格小于1.5,且水占溶剂的15%-35重量%的甜菜碱、丙烷和水的混合物组成。

[0046] 根据另一个具体实施方案,用于获得根据本发明提取物的提取溶剂由摩尔比为1:1且水有利地占溶剂的15-35重量%的甜菜碱、丙二醇和水的混合物组成。

[0047] 有利地,用于获得根据本发明提取物的提取溶剂由摩尔比为1:1:5的甜菜碱、丙二醇和水的混合物组成。

[0048] 根据一个具体实施方案,调料九里香植物的全部或部分可以用作对抗皮肤老化的提取物。实际上,用作提取物的植物部分选自果实、花、种子、根、叶、茎、叶状柄(或叶状茎)和幼枝。

[0049] 有利地,所用的植物部分是叶状柄(或叶状茎)和/或叶。

[0050] 根据一个具体实施方案,所用的植物部分是新鲜的、冷冻的、干燥的、完整的、切割的和/或磨碎的。

[0051] 有利地,它是干燥的叶柄和/或叶,优选干燥且磨碎的叶柄和/或叶。

[0052] 优选地,它是干燥的叶柄,优选干燥且磨碎的叶柄。

[0053] 根据另一个方面,本发明涉及调料九里香提取物,其能够通过固/液提取过程,然后通过第二固/液分离步骤,最后通过第三液相回收步骤获得,其特征在于溶剂由甜菜碱和丙二醇,有利地是甜菜碱、丙二醇和水的混合物组成。

[0054] 根据一个具体实施方案,用于获得根据本发明的提取物的提取溶剂由摩尔比为1:1:5的甜菜碱、丙二醇和水的混合物组成。

[0055] 根据本发明,调料九里香植物的全部或部分可用于本发明。实际上,用于提取过程的植物部分选自由柄、叶、果实、花、种子、根、叶柄(或叶状茎)和幼枝组成的组。

[0056] 在特别优选方式中,所用的植物部分是叶状柄和/或叶。它可以是新鲜的、冷冻的、干燥的、完整的、切割的或压碎的叶茎和/或叶。

[0057] 有利地,它是干燥的叶柄和/或叶,优选干燥且磨碎的叶柄和/或叶。

[0058] 优选地,它是干燥的叶柄,优选干燥且磨碎的叶柄。

[0059] 根据一个具体实施方案,根据本发明的调料九里香提取物无生物碱,有利地为咔唑类,优选马汉九里香碱、九里香碱、吉九里香碱、异马汉九里香碱、mahanine和/或koenoline。

[0060] 出于本发明的目的,“无生物碱”是指提取物中不含生物碱或存在浓度低于5mg/100g提取物的微量生物碱。

[0061] 根据一个具体的实施方案,根据本发明的调料九里香提取物富含酚酸,优选对羟基肉桂酸衍生物,和/或富含类黄酮,优选黄酮醇类。

[0062] 在本发明的意义上,“富含”是指:

[0063] -酚酸浓度高于100mg/kg提取物,有利地高于250mg/kg提取物;和

[0064] -类黄酮浓度高于50mg/kg提取物,有利地高于100mg/kg提取物。

[0065] 根据本发明的溶剂在室温下明显是液体,这有利于实施产生本发明提取物的方法。

[0066] 实际上,所用的溶剂可以通过在搅拌反应器中混合甜菜碱和丙二醇或甜菜碱、丙二醇和水直到获得透明、无色的混合物来生产。该混合可以在2℃至100℃的温度下进行30分钟至6小时,优选在40℃至70℃下进行1小时至2小时。

[0067] 根据本发明的提取物能够通过实施固/液提取步骤的方法获得。

[0068] 固/液提取可以通过本领域技术人员已知的不同技术进行,例如浸渍、再浸渍、煮解、动态浸渍、煎煮、流化床提取、微波辅助提取、超声波辅助提取、逆流提取、渗漉、再渗漉、浸出、减压提取、渗滤。

[0069] 实际上,用于提取步骤的植物/溶剂质量比在1:99至50:50之间,有利地在3:97至10:90之间。优选地,压碎的干燥的调料九里香叶柄(或叶状茎)和/或叶与溶剂的质量比为1:99至50:50,优选3:97至10:90。提取步骤优选在2至100℃的温度下进行,更优选在20至80℃的温度下进行。提取步骤可以持续几分钟至数天。

[0070] 为了优化活性化合物的提取,同时保护这些化合物不被大气中的氧氧化,固/液提取步骤有利地在搅拌和/或氮气气氛中进行。

[0071] 根据本发明,固/液提取步骤之后是固/液分离步骤,目的是回收含有活性物质的液相,也称为固/液分离滤液。这种分离可以通过本领域技术人员已知的任何技术(特别是

排水(draining)、压榨、脱水、离心或过滤)进行。

[0072] 任选地,液/固分离步骤之后可以接着是浓缩步骤,这允许根据浓缩系数获得液体或半固体形式的浓缩物。实际上,浓缩步骤可以通过减压蒸发或反渗透进行。

[0073] 优选地,固/液分离滤液或浓缩物另外地进行一个或多个澄清步骤。为了进行该澄清步骤,技术人员可以使用本领域已知的任何类型的正向和/或切向过滤。

[0074] 根据本发明,液体/固体分离或浓缩或澄清步骤之后可以任选地接着是分馏步骤,该步骤允许获得根据浓缩系数的液体或半固体形式的植物化学族的部分。实际上,分馏步骤可以通过本领域技术人员已知的任何技术进行,特别是通过减压色谱、超滤或纳米过滤。

[0075] 最后,考虑到包装,用于获得根据本发明液体提取物的方法可以包括灭菌过滤。传统上,灭菌过滤是通过包含直径为0.22μm的孔的过滤器过滤产品来实现的。优选地,灭菌过滤步骤是该方法的最后一步。

[0076] 申请人还发现,根据本发明的调料九里香提取物具有特别令人感兴趣的生物学特性,尤其是在刺激皮肤蛋白质合成方面。

[0077] 根据本发明的调料九里香提取物能够调节与皮肤弹性相关的蛋白质的表达。

[0078] 确实,如实验部分所详述的,根据本发明的调料九里香提取物具有刺激属于弹性纤维的蛋白质,特别是弹性蛋白、原纤维蛋白-1、原纤维蛋白-2或纤维蛋白-5表达的特性。因此,根据本发明的提取物对于化妆品用途,特别是用于改善皮肤的外观,或者用于保持和/或改善皮肤的弹性特别令人感兴趣。因此,根据本发明的提取物使得可以对抗皮肤老化,优选内源性老化和/或外源性老化,特别是光老化的影响。

[0079] 根据本发明的提取物的优点是:

[0080] -它在不含生物碱或低生物碱含量的情况下具有生物学(促弹性蛋白生成)特性;

[0081] -完全天然,即所有成分都是天然的;和

[0082] -在所有化妆品护理产品中相容并完美配制。

[0083] 根据另一个方面,本发明涉及包含本发明提取物的组合物,优选化妆品组合物,即适用于外用应用于皮肤和/或粘膜和/或附属物。

[0084] 根据一个具体实施方案,根据本发明的提取物占组合物的0.1重量%至10重量%,有利地为0.5%至5%。

[0085] 根据一个具体实施方案,根据本发明的组合物是皮肤护理组合物、抗老化皮肤护理组合物或防晒组合物。

[0086] 根据本发明的组合物可以是通常用于外用应用到皮肤和/或粘膜和/或附属物的所有盖仑形式,例如无水形式,水包油乳液、油包水乳液、多重乳液、硅氧烷乳液、微乳液、纳米乳液、凝胶、水溶液或水醇溶液的形式。

[0087] 该组合物可以是或多或少的流体,并且可以是例如霜、软膏、乳、洗剂、精华或凝胶的形式。

[0088] 化妆品组合物可以含有通常用于化妆品领域的赋形剂,例如脂肪、洗涤剂和/或调理表面活性剂、乳化剂和助乳化剂、亲水性或亲脂性胶凝剂、防腐剂、抗氧化剂、溶剂、剥离剂、香料、填充剂、亲水性和亲脂性过滤器、着色剂、中和剂、促渗透剂和聚合物。这些类型的赋形剂都是本领域技术人员熟知的。

[0089] 实际上,这些不同赋形剂的量是所考虑领域中常规使用的量,且赋形剂的总量优

选占组合物总重量的0.01％至30％。

[0090] 合适的脂肪包括矿物油、动物油(例如羊毛脂)、植物油、合成油(例如肉豆蔻酸异丙酯、辛基十二烷基酯、异硬脂酸异硬脂酸酯、油酸癸酯、棕榈酸异丙酯)、硅油(环甲基硅油、二甲基硅油)和氟化油。脂肪醇、脂肪酸、蜡和树胶,尤其是硅酮弹性体,可以用作脂肪。

[0091] 合适的洗涤剂和/或调理表面活性剂包括非离子、阴离子、阳离子或两性表面活性剂及其混合物,例如烷基硫酸盐、烷基醚硫酸盐如月桂基聚氧乙烯醚硫酸钠、烷基甜菜碱如椰油酰胺丙基甜菜碱或季铵盐。

[0092] 合适的乳化剂和助乳化剂包括,例如聚甘油脂肪酸酯、蔗糖脂肪酸酯、脱水山梨糖醇脂肪酸酯、氧乙烯化山梨坦脂肪酸酯、PEG脂肪醇醚、甘油脂肪酸酯、烷基硫酸盐、烷基醚硫酸盐、烷基磷酸盐、烷基聚葡萄糖苷、聚二甲基硅氧烷共聚醇。

[0093] 合适的亲水性胶凝剂包括例如羧基乙烯基聚合物(卡波姆)、丙烯酸共聚物例如丙烯酸酯/丙烯酸烷基酯共聚物、聚丙烯酰胺、多糖例如黄原胶、瓜尔胶、天然胶例如纤维素胶及其衍生物、淀粉及其衍生物、粘土和2-丙烯酰胺基-2-甲基丙烷酸共聚物。

[0094] 合适的亲脂性胶凝剂的示例是改性粘土,例如膨润土、脂肪酸的金属盐、疏水性二氧化硅和乙基纤维素。

[0095] 合适的防腐剂包括苯甲酸、山梨酸、丙酸、水杨酸、脱氢乙酸及其盐、苯甲醇、乙基己基甘油、尼泊金甲酯、其盐和酯、三氯生、咪唑烷基脲、5-苯氧乙醇、DMDM乙内酰脲、双咪唑烷基脲、氯苯甘醚。

[0096] 合适的抗氧化剂的示例是螯合剂,例如EDTA及其盐、焦亚硫酸钠、水杨酸、抗坏血酸和柠檬酸及其盐、酒石酸钠、葡萄糖酸钠、类胡萝卜素和生育酚。

[0097] 可用于化妆品组合物的溶剂(不同于提取溶剂)包括水、甘油、丙二醇或山梨醇。

[0098] 合适的剥离剂的示例包括化学剥离剂例如AHA,和物理剥离剂例如天然或合成粉末。

[0099] 合适的填料包括滑石、高岭土、云母、绢云母、碳酸镁、硅酸铝、硅酸镁、有机粉末例如尼龙。

[0100] 合适的染料包括常用于化妆品组合物的亲脂性染料、亲水性染料、颜料和珠光材料及其混合物。

[0101] 合适的中和剂包括苏打灰、三乙醇胺、氨甲基丙醇或氢氧化钾。

[0102] 合适的促渗透剂是,例如,醇和二醇(乙醇、丙二醇)、乙氧基二甘醇、醇和脂肪酸(油酸)、脂肪酸酯或二甲基异山梨醇。

[0103] 本发明的组合物还可以含有本发明提取物以外的活性成分。作为合适的活性成分,我们可以提及例如抗自由基剂或更一般的抗氧化剂、增白剂、着色剂、润肤剂、保湿剂、抗脂溢剂、抗炎剂、抗痤疮剂、角质溶解剂和/或脱屑剂、抗皱剂和拉伸剂、引流剂、抗刺激剂、抚慰剂、维生素及其混合物、消光剂、抗老化剂例如视黄醇、愈合剂、防腐剂和精油。

[0104] 本发明及其优点将从以下实施方案中变得明显。

附图说明

[0105] 本发明可以实施的方式及其优点将从结合附图示出的以下说明性和非限制性实施例中变得更加清楚。

[0106] [图1]展示了调料九里香的4种提取物的酚酸、类黄酮和生物碱的含量。

具体实施方式

[0107] 1/制备调料九里香提取物

[0108] 提取物1:调料九里香提取物由干燥且磨碎的叶茎和叶通过在连续搅拌下,在植物和溶剂的质量比为8:92的70℃下,用根据本发明的由摩尔比为1:1:5(BPE115)的甜菜碱、丙二醇和水的混合物组成的溶剂提取3小时获得。提取后,通过机械方法(例如,旋转)除去植物残渣,并将粗提取物过滤至0.22μm。

[0109] 提取物1a:在除了植物/溶剂质量比为5:95之外,其余与以上提取物1所述的相同的操作条件下获得的提取物。

[0110] 提取物2:调料九里香提取物由干燥且磨碎的叶柄和叶通过在连续搅拌下,在植物和溶剂的质量比为8:92的70℃下,用质量比为70:30的乙醇/水的溶剂提取3小时获得。提取后,通过机械方法(例如,旋转)除去植物残渣。将粗提取物在0.08%的活性炭CPW CECA上脱色,然后减压蒸发乙醇,并将获得的含水浓缩提取物溶解在丙二醇中,使得最终的干提取物等于水-乙醇提取物的干提取物。

[0111] 提取物3:提取物2所述的富含多酚且仅含微量生物碱(<10mg/100g部分)的脱色含水乙醇提取物的部分。该部分通过在Amberlite FPX 68树脂上对活性炭上的70:30脱色乙醇/水提取物(如提取物2所述)进行柱过滤来获得,未吸附的滤液构成提取物3。

[0112] 提取物4:提取物2所述的富含生物碱且无多酚的脱色含水乙醇提取物的部分。该级分通过在柱中的Amberlite FPX 68树脂上过滤/吸附70:30乙醇/水提取物,并在活性炭上脱色(如提取物2所述),然后用乙醇解吸吸附在树脂上的分子获得。

[0113] 2/不同摩尔比的甜菜碱/丙二醇/水的溶剂对调料九里香提取能力的表征

[0114] 研究了6种甜菜碱/丙二醇/水混合物(以不同摩尔比)的组合物对调料九里香的叶柄(或叶茎)和叶中多酚和生物碱的提取能力,如表1所示。

[0115] [表1]

[0116]

GHP摩尔比	1:1:4	1:1:5	1:1.5:3	1:1.5:5	1:2:3	1:2:6

[0117]

甜菜碱(g)	44.16	41.35	41.06	36.45	36.23	31.04
丙二醇(g)	28.68	26.86	40.00	35.52	47.06	40.32
水(g)	27.16	31.79	18.94	28.03	16.71	28.64

[0118] 通过在机械搅拌下在70℃下混合甜菜碱、丙二醇和水约1小时来制备每种溶剂。通过在70℃下提取5%的压碎的调料九里香叶柄和干叶以及95%的溶剂4小时来获得每种提取物。提取后,通过机械方法除去植物残渣,并将粗提取物过滤至除菌过滤极限(0.22μm)。

[0119] 通过RP-UHPLC-UV对类黄酮和酚酸(属于多酚类)进行分析,酚酸根据在287nm处的绿原酸校准线进行点样和定量,类黄酮根据在355nm处的异槲皮苷校准线进行鉴定和定量。在水中稀释至1/2m/v后,用Lico100比色计测量每种提取物的Gardner指数。

[0120] 在3种不同温度(4、25和40℃)下储存7天后,观察包装在玻璃瓶中的6种提取物的物理稳定性(视觉外观)。

[0121] 每种提取物的类黄酮和酚酸浓度如表2所示。

[0122] [表2]

[0123]

	浓度(mg/100g提取物)		Gardener指数
溶剂	类黄酮	酚酸	
GHP1:1:4	11	24	10
GHP1:1:5	12	27	9
GHP1:1.5:3	10	21	8
GHP1:1.5:5	11	24	10
GHP1:2:3	11	20	7

[0124]

GHP1:2:6	12	25	11

[0125] 6种溶剂显示出相似的类黄酮提取性能,其特征在于浓度在10至12mg/100g提取物之间。至于它们对酚酸的提取性能,在20至27mg/100g提取物之间。

[0126] 在该实施例中测试的所有溶剂都有效地获得了用于化妆品的调料九里香提取物,该提取物包含有效数量的类黄酮和酚酸。提取类黄酮和酚酸的最有效溶剂是由甜菜碱、丙二醇和水以1:1:5的摩尔比组成的溶剂。

[0127] 3/根据本发明的调料九里香提取物与其他提取物的酚酸、类黄酮和生物碱含量的比较

[0128] 实施例1中所述的4种调料九里香提取物的生物碱、酚酸和类黄酮含量通过RP-HPLC-UV进行评估。酚酸根据287nm处的新绿原酸校准线进行鉴定和定量,类黄酮根据355nm处的异槲皮苷校准线进行点样和定量,生物碱根据287nm处的马汉九里香碱校准线进行鉴定和定量。

[0129] 获得的结果如图1所示。

[0130] 从定性和定量的角度来看,4种提取物的组成明显不同于所研究的3个次生代谢产物族。因此:

[0131] -提取物1(根据本发明的GHP115)的特征在于最高浓度的酚酸、浓度相当于提取物2和3的浓度的类黄酮,以及微量生物碱的存在;

[0132] -提取物2的特征在于3个化合物族(酚酸、类黄酮和生物碱)中的每一个都具有显著的浓度;

[0133] -提取物3的特征在于多酚的浓度与提取物2相似,但仅含有微量的生物碱;

[0134] 和

[0135] -提取物4的特征在于生物碱的浓度与提取物2相似,但不含有多酚。

[0136] 根据前述,很明显只有根据本发明的由摩尔比为1:1:5的甜菜碱、丙二醇和水的混合物组成的溶剂才获得富含类黄酮和酚酸并且具有痕量非常低含量的生物碱(处于微量状态)的调料九里香提取物。

[0137] 4/具有不同植物/溶剂比的根据本发明的调料九里香提取物中的酚酸、类黄酮和生物碱含量的比较

[0138] 通过RP-HPLC-UV在实施例3中所述的条件下对实施例1中所述的调料九里香提取物1和1a的生物碱、酚酸和类黄酮含量进行评估。

[0139] 结果如下表3所示。

[0140] [表3]

[0141]

		浓度(mg/100g提取物)		
提取物	**植物/溶剂比**	**酚酸**	**类黄酮**	**生物碱**
提取物1a	5:95	45	26	微量
提取物1	8:92	92	57	5

[0142] 从以上看出,与8:92的比率(提取物1)相比,植物/溶剂比率降低到5:95(提取物1a),使得可以获得仅含有不可定量的微量生物碱的提取物,同时呈现出令人感兴趣的酚酸和类黄酮浓度。

[0143] 5/根据本发明的调料九里香提取物(提取物1)对与弹性纤维形成相关的蛋白质表达的影响的研究

[0144] 5.1/方法

[0145] 通过纳米液相色谱-串联质谱(纳米LC-MS/MS)方法鉴定了用或不用实施例1中所述的调料九里香的4种提取物(提取物1、2、3和4)处理的正常人真皮成纤维细胞中的蛋白质含量(蛋白质组)及其表达变化。这种分析方法是定量的、灵敏的和可重复的,并且允许通过生物信息学分析(CORAVALID)鉴定细胞中表达的蛋白质。

[0146] 5.2/方案

[0147] 蛋白质组学研究包括,与用实施例1中所述的4种调料九里香叶提取物处理的细胞相比,对未处理(UT)细胞中表达的蛋白质进行定性和定量分析。在其最大非细胞毒性浓度下测试4种提取物,即提取物1(本发明)在0.2%下;提取物2(丙二醇/水)在0.04%下;提取物3(乙醇/水)在1%下和提取物4(乙醇)在0.1%下,并在细胞培养基中孵育24小时。

[0148] 然后用冷的磷酸盐-盐水缓冲液洗涤成纤维细胞,回收并在-80℃下冷冻。根据Wisniewski JR等人,Nat Methods.2009;6(5):359-62描述的方法获得蛋白质裂解物和相应的肽提取物。

[0149] 将250ng的肽注入C18预柱(300μm×5mm;颗粒直径5μm;Thermo Scientific),然后洗脱到C18柱(75米×500毫米;颗粒直径2m;赛默飞世尔科技公司)中。使用Ultimate 3000

设备(Dionex)通过以300nl/min的流速施加60-35％乙腈梯度60分钟来进行液相纳米色谱。数据由Q-exact质谱仪(赛默飞世尔科技公司)生成。

[0150] 在UNIPROT数据库上使用SEQUEST-HT算法分析细胞的蛋白质组。通过Minora算法进行蛋白质定量,并使用基于成对比率的方法计算用调料九里香提取物处理的细胞/未处理的细胞的比率,然后表示为所有生成的数据的几何中位数。

[0151] 该研究基于3个独立的实验(n＝3)。进行的假设检验是方差分析(ANOVA),以比较未处理的成纤维细胞与用实施例1中所述的4种调料九里香提取物处理的成纤维细胞的蛋白质组。

[0152] 5.3/结果

[0153] 该研究鉴定了4种与弹性纤维相关的蛋白质,且这些蛋白质的表达在用调料九里香的甜菜碱/丙二醇/水提取物(摩尔比1:1:5)处理的真皮成纤维细胞中显著增加。

[0154] 结果如表4所示,并表示为用调料九里香提取物处理的细胞表达率/未处理的细胞表达率,并对3次实验取平均值。

[0155] [表4]

[0156]

蛋白质	提取物1/未处理的比率	p值
弹性蛋白	2.18	6.6E-14
原纤维蛋白-1	2.18	1.0E-17
原纤维蛋白-2	2.07	2.8E-12

[0157]

纤维蛋白-5	1.69	9.4E-11

[0158] 令人惊奇地,只有根据本发明的调料九里香提取物(提取物1:BPE115)显著增加了正常人类真皮成纤维细胞中弹性蛋白及其3个伴侣,原纤维蛋白-1、原纤维蛋白-2和纤维蛋白-5的蛋白表达。其他3种提取物(提取物2:丙二醇/水;提取物3:乙醇/水和提取物4:乙醇)对弹性纤维蛋白没有影响(数据未显示)。

[0159] 5.4/结论

[0160] 根据本发明的调料九里香提取物,即通过由甜菜碱/丙二醇/水混合物(摩尔比1:1:5;提取物1)组成的溶剂增加属于弹性纤维的蛋白质的表达。因此,用根据本发明的调料九里香甜菜碱/丙二醇/水提取物处理的正常人真皮成纤维细胞表现出有利于皮肤弹性纤维再生和更新的表型。

[0161] 6/研究调料九里香提取物(提取物1和1a)对正常人成纤维细胞2D培养物中弹性蛋白、原纤维蛋白-1和纤维蛋白-5合成的影响。

[0162] 6.1/方法

[0163] 本研究使用原位荧光免疫染色结合图像分析来测量沉积在用本发明的调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比为1:1:5)处理或未处理的真皮成纤维细胞单层培养物中的弹性蛋白、原纤维蛋白-1和纤维蛋白-5的合成。

[0164] 6.2/方案

[0165] 将正常人真皮成纤维细胞用最终浓度为0.2％的实施例1中获得的根据本发明的调料九里香提取物(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比为1:1:5)(提取物1和1a)处理48小时。未处理的(UT)细胞用作对照。然后用磷酸盐缓冲液清洗细胞,然后用1％BSA(牛血清白蛋白)固定并饱和30分钟。细胞与初级抗体(抗弹性蛋白;抗原纤维蛋白-1或抗纤维蛋白-5)孵育1小时,然后在PBS缓冲液中洗涤,然后与Alexa 594荧光染料结合的次级抗体孵育1小时。用合适的滤光片在Cytation 5成像分光光度计(Biotek)上读取荧光。通过图像分析对一般采集参数进行荧光测量。

[0166] 该研究基于3次独立实验(n＝3)。统计测试是2-Way-ANOVA,接着是Bonferroni多重比较,以比较沉积在未处理的真皮成纤维细胞培养物中的感兴趣的蛋白质的合成与用根据本发明的调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比1:1:5)处理的成纤维细胞的合成。

[0167] 6.3/结果

[0168] 6.3.1/弹性蛋白合成

[0169] 我们对沉积在用或不用调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比为1:1:5)处理的真皮成纤维细胞中的弹性蛋白的合成进行了定量。结果如表5所示,并表示为未处理细胞(UT)的％。数值表示为所有3次实验(n＝3)的平均标准偏差。

[0170] [表5]

[0171]

	未处理的	提取物1	提取物1a
实验1	100±34	158±38	150±22
实验2	100±21	151±26	168±27
实验3	100±23	178±21	172±20
n=3		**62%±14**	**63%±12**
统计数字： ****: p<0.0001		****	****

[0172] 以等效的方式,根据本发明获得的调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比为1:1:5)诱导真皮成纤维细胞内沉积的弹性蛋白的蛋白质合成显著增加(分别为+62％和+63％)。

[0173] 单独的提取溶剂(甜菜碱/丙二醇/水1:1:5摩尔比,没有调料九里香)不诱导沉积的弹性蛋白合成增加(数据未示出)。

[0174] 6.3.2/合成原纤维蛋白-1

[0175] 我们对沉积在用或不用调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比为1:1:5)处理的真皮成纤维细胞中的原纤维蛋白-1的合成进行了定量。结果如表6所示,并表示为未处理细胞(UT)的％。数值表示为所有3次实验(n＝3)的平均标准偏差。

[0176] [表6]

[0177]

	未处理的	提取物1	提取物1a
实验1	100±11	189±16	152±30
实验2	100±32	129±44	137±26
实验3	100±43	140±38	128±33
n=3		**53%±32**	**39%±12**
统计数字：****: p<0.0001		****	**

[0178] 根据本发明获得的调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比1:1:5)诱导沉积在真皮成纤维细胞中的原纤维蛋白-1的蛋白质合成显著增加。即使提取物1比提取物1a(+39%)更强地增加了真皮成纤维细胞中的原纤维蛋白-1的蛋白质合成(+53%),提取物1和1a在统计学上彼此没有差异。

[0179] 单独的提取溶剂(甜菜碱/丙二醇/水1:1:5摩尔比,没有调料九里香)不诱导沉积的原纤维蛋白-1合成增加(数据未示出)。

[0180] 6.3.3/合成原纤维蛋白-5

[0181] 我们对沉积在用或不用调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比为1:1:5)处理的真皮成纤维细胞中的原纤维蛋白-5的合成进行了定量。结果如表7所示,并表示为未处理细胞(UT)的%。数值表示为所有3次实验(n=3)的平均标准偏差。

[0182] [表7]

[0183]

	未处理的	提取物1	提取物1a
实验1	100±53	260±121	162±56
实验2	100±56	222±133	196±74
实验3	100±36	/	221±131

[0184]

n=3		141%±27	93%±30
统计数字：****: p<0.0001		****	****

[0185] 根据本发明获得的调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比为1:1:5)诱导沉积在真皮成纤维细胞中的原纤维蛋白-5的蛋白质合成显著增加。提取物1比提取物1a(+93%)更强地增加(+141%)真皮成纤维细胞中纤维蛋白-5的蛋白质合成。

[0186] 单独的提取溶剂(甜菜碱/丙二醇/水1:1:5摩尔比,没有调料九里香)不诱导纤维蛋白-5合成的增加(数据未示出)。

[0187] 6.4/结论

[0188] 根据本发明的调料九里香提取物1和1a(甜菜碱/丙二醇/水,摩尔比为1:1:5)诱导真皮中弹性网络的蛋白质合成的改善。

[0189] 7/组合物的实例-天然保湿霜凝胶

[0190] [表8]

[0191]

成分名称	组成(质量%)
Emulium® Mellifera	2.5
天然角鲨烷	2.0
碳酸二辛酯	15.0
脱矿质水	QS100
甘油	20.0
木薯淀粉	5.0
根据本发明的调料九里香提取物	2.0
乙基己基甘油	0.1
苯氧乙醇	0.9

[0192]

香水	0.2
总计	100

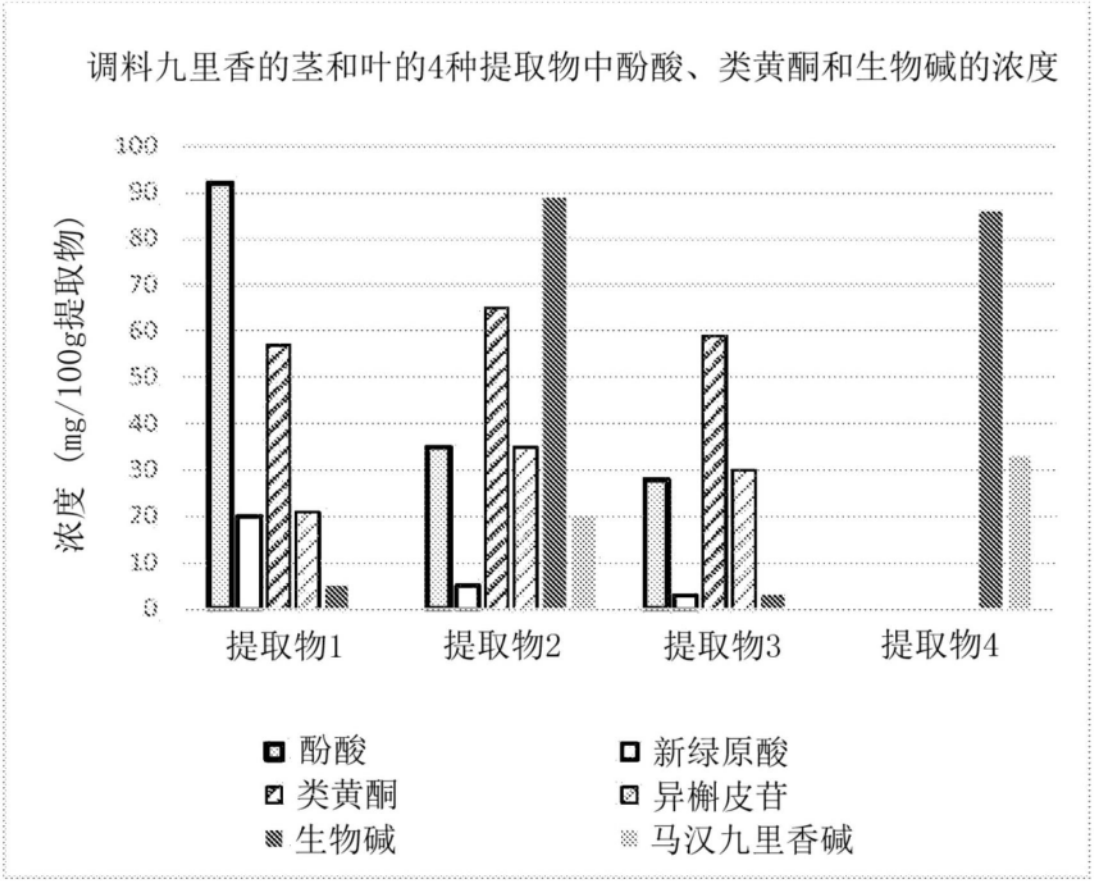

调料九里香的茎和叶的4种提取物中酚酸、类黄酮和生物碱的浓度
浓度（mg/100g提取物）
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
提取物1
提取物2
提取物3
提取物4
酚酸
新绿原酸
类黄酮
异槲皮苷
生物碱
马汉九里香碱

图1