



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109414466 B

(45) 授权公告日 2021.08.31

(21) 申请号 201780039477.2

A61P 17/10 (2006.01)

(22) 申请日 2017.06.30

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 102256930 A, 2011.11.23

申请公布号 CN 109414466 A

CN 104673486 A, 2015.06.03

(43) 申请公布日 2019.03.01

GB 2084569 A, 1982.04.15

(30) 优先权数据

John Wynne Parry Jr.等.VALUE-ADDING FACTORS IN COLD-PRESSED EDIBLE SEED OILS AND FLOURS.《http://www.hayriver.net/wp-content/uploads/2014/01/umi-umd-3974.pdf》.2006,

1656328 2016.07.01 FR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2017/066349 2017.06.30

(87) PCT国际申请的公布数据

W02018/002338 EN 2018.01.04

(73) 专利权人 皮埃尔·法布尔皮肤化妆品公司

地址 法国布洛涅-比扬古

Anna Prescha等.The Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils.《Journal of The American Oil Chemists Society》.2014,第91卷

J.F. Alvarez Barreto等.Extraction of Silymarin Compounds from Milk Thistle (Silybum Marianum) Seed Using Hot,Liquid Water as the Solvent.《http://scholarworks.uark.edu/inquiry/vol3/iss1/14》.2002,第3卷(第1期),

(72) 发明人 J-H·索拉 O·佐尔格 M·莱蒂

B·法布雷

J. Andrzejewska等.Silybum marianum: non-medical exploitation of the species.《Annals of Applied Biology》.2015,第167卷

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司

公司 11314

代理人 程伟 刘彬娜

审查员 张慧艳

(51) Int.Cl.

A61K 36/28 (2006.01)

A61P 17/08 (2006.01)

权利要求书3页 说明书16页 附图9页

(54) 发明名称

新的水飞蓟瘦果提取物及其在皮肤病学和皮肤化妆品中的用途

(57) 摘要

本发明涉及水飞蓟提取物,其包含相对于干提取物重量小于0.2重量%的水飞蓟素,并涉及含有水飞蓟提取物的药物和化妆品组合物,其制备方法及其作为药物产品的用途,特别是用于治疗痤疮、皮脂溢、皮脂溢性皮炎和/或酒渣鼻的用途。

1. 水飞蓟 *Silybum marianum* (L.) Gaertn. 瘦果提取物在制备用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎的药物中的用途, 所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.2重量%的水飞蓟素; 所述提取物通过包括用提取溶剂来提取从水飞蓟瘦果获得的油的步骤的方法获得, 所述提取溶剂选自亚临界水和任选地与水混合的C₁至C₃醇。

2. 根据权利要求1所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.1重量%的水飞蓟素。

3. 根据权利要求1所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量0.5重量%至2.5重量%的β-谷甾醇。

4. 根据权利要求3所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量1.0重量%至2.0重量%的β-谷甾醇。

5. 根据权利要求4所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量1.5重量%的β-谷甾醇。

6. 根据权利要求3所述的用途, 其特征在于所述提取物中水飞蓟素/β-谷甾醇的质量比小于0.4。

7. 根据权利要求6所述的用途, 其特征在于所述提取物中水飞蓟素/β-谷甾醇的质量比小于0.07。

8. 根据权利要求3所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量2重量%至7重量%的甾醇。

9. 根据权利要求8所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量3重量%至6重量%的甾醇。

10. 根据权利要求9所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量3重量%至5重量%的甾醇。

11. 根据权利要求1所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量3重量%至15重量%的游离亚油酸。

12. 根据权利要求11所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量4重量%至10重量%的游离亚油酸。

13. 根据权利要求12所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量4重量%至6重量%的游离亚油酸。

14. 根据权利要求13所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量5重量%的游离亚油酸。

15. 根据权利要求11所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量10重量%至50重量%的游离脂肪酸。

16. 根据权利要求15所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量10重量%至30重量%的游离脂肪酸。

17. 根据权利要求16所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量15重量%至25重量%的游离脂肪酸。

18. 根据权利要求1所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量0.01重量%至0.5重量%的生育酚。

19. 根据权利要求18所述的用途, 其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量

0.05重量%至0.2重量%的生育酚。

20. 根据权利要求19所述的用途,其特征在于所述提取物包含相对于干提取物重量0.1重量%的生育酚。

21. 根据权利要求18所述的用途,其特征在于所述提取物中水飞蓟素/生育酚的质量比小于1。

22. 根据权利要求21所述的用途,其特征在于所述提取物中水飞蓟素/生育酚的质量比小于0.1。

23. 根据权利要求1所述的用途,其特征在于所述提取物是干提取物。

24. 根据权利要求1所述的用途,其特征在于所述方法包括以下连续步骤:

(i) 任选地从水飞蓟瘦果提取油,

(ii) 用提取溶剂提取从水飞蓟瘦果获得的油,

(iii) 回收步骤(ii)中获得的提取相,和

(iv) 部分或完全干燥提取相,以产生浓缩提取物或干提取物。

25. 根据权利要求24所述的用途,其特征在于,步骤(i)通过压制水飞蓟瘦果进行。

26. 根据权利要求24所述的用途,其特征在于,步骤(i)通过冷压水飞蓟瘦果进行。

27. 根据权利要求1所述的用途,其特征在于,所述C₁至C₃醇选自甲醇、乙醇、异丙醇及其混合物。

28. 根据权利要求1所述的用途,其特征在于,所述C₁至C₃醇是异丙醇。

29. 根据权利要求1所述的用途,其特征在于,所述提取溶剂是体积比90/10的异丙醇/水混合物。

30. 一种组合物在制备用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎的药物或化妆品中的用途,所述组合物包含与至少一种药学上或化妆品学上可接受的赋形剂混合的如权利要求1至29中任一项所定义的提取物。

31. 根据权利要求30所述的用途,其特征在于,所述组合物用于局部应用。

32. 根据权利要求30所述的用途,其特征在于,所述组合物用于局部应用于皮肤上。

33. 根据权利要求30所述的用途,其特征在于,所述组合物包含如权利要求1至29中任一项所定义的提取物、异丙醇和聚乙二醇(PEG)。

34. 根据权利要求33所述的用途,其特征在于,所述聚乙二醇的平均分子量是200至600g/mol。

35. 根据权利要求34所述的用途,其特征在于,所述聚乙二醇的平均分子量是200至500g/mol。

36. 根据权利要求35所述的用途,其特征在于,所述聚乙二醇的平均分子量是200至400g/mol。

37. 根据权利要求36所述的用途,其特征在于,所述聚乙二醇的平均分子量是250至350g/mol。

38. 根据权利要求37所述的用途,其特征在于,所述聚乙二醇的平均分子量是300g/mol。

39. 根据权利要求30所述的用途,其特征在于,所述组合物由如权利要求1至29中任一项所定义的提取物、异丙醇和聚乙二醇(PEG)组成。

40. 根据权利要求39所述的用途,其特征在於,所述聚乙二醇的平均分子量是200至600g/mol。

41. 根据权利要求40所述的用途,其特征在於,所述聚乙二醇的平均分子量是200至500g/mol。

42. 根据权利要求41所述的用途,其特征在於,所述聚乙二醇的平均分子量是200至400g/mol。

43. 根据权利要求42所述的用途,其特征在於,所述聚乙二醇的平均分子量是250至350g/mol。

44. 根据权利要求43所述的用途,其特征在於,所述聚乙二醇的平均分子量是300g/mol。

45. 根据权利要求30所述的用途,其特征在於,所述组合物包含相对于组合物的总体积0.001重量%至15重量%的如权利要求1至29中任一项所定义的提取物。

46. 根据权利要求45所述的用途,其特征在於,所述组合物包含相对于组合物的总体积0.01重量%至15重量%的如权利要求1至29中任一项所定义的提取物。

47. 根据权利要求46所述的用途,其特征在於,所述组合物包含相对于组合物的总体积0.1重量%至10重量%的如权利要求1至29中任一项所定义的提取物。

新的水飞蓟瘦果提取物及其在皮肤病学和皮肤化妆品中的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及更特别地用于局部应用的新的水飞蓟瘦果提取物,以及包含其的药物或化妆品组合物,其制备方法和其在皮肤病学或化妆品学中的用途,特别是用于治疗痤疮、皮脂溢、皮脂溢性皮炎和/或酒渣鼻的用途。

背景技术

[0002] 学名水飞蓟 (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) 表示属于菊科的植物,是一年生或二年生植物,具有强壮的茎,可达到一米高。它的大而有光泽的交替叶片没有托叶,带有白色斑点,周围是坚硬的尖刺。花簇生在花头中,通常是单生的。它们周围环绕着带有非常尖锐末端的大的多刺苞片。带有小管和五个裂片的花呈紫罗兰的紫色。果实是有光泽的、黑色或黄色斑点的瘦果 (achene), 顶部是在其基部处以环形排列的带有齿状刚毛的冠毛。这种植物的俗名是奶蓟草 (milk thistle)。

[0003] 水飞蓟的瘦果 (通常在文献中被错误地称为种子) 和其制剂通常口服应用,用于归因于肝脏源的消化功能障碍的对症治疗。

[0004] 水飞蓟瘦果的主要活性成分是水飞蓟素,多种黄酮木脂素 (基本上是水飞蓟宾、异水飞蓟宾、水飞蓟亭和水飞蓟宁) 的混合物。瘦果含有高达3重量%的水飞蓟素。它们还包括油 (20-30重量%)、粘液和蛋白质。

[0005] 水飞蓟素已成为众多研究 (体外、体内和临床) 的主题,已证明其具有抗氧化、保肝、助消化或抗炎特性。

[0006] 目前,富含水飞蓟素的水飞蓟瘦果提取物存在于多种用于治疗各种肝脏和胆汁疾病的药物制剂中,例如 **Legalon®**。

[0007] 此外,水飞蓟素已经成为痤疮治疗 (Sahib等人,2012),以及与甲基磺酰甲烷 (MSM) 相关的红斑血管扩张性酒渣鼻 (erythematoteleangiectatic rosacea) 的治疗 (Berardesca等人,2008) 的研究主题。

[0008] 水飞蓟油富含 $\Omega 6$ 和维生素E,主要用于烹饪。它通常通过冷压从瘦果中获得。

[0009] 然而,对口服施用的这种奶蓟草油的抗氧化和保肝性质的研究已经在大鼠或小鼠体内进行 (Hermenean等人2015; Zhu等人2014)。

发明内容

[0010] 发明简述

[0011] 申请人令人惊讶地证明了低水飞蓟素的水飞蓟瘦果提取物展现出用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻或皮脂溢性皮炎的非常有趣的性质。

[0012] 因此,本发明的一个主题涉及一种水飞蓟瘦果提取物,其包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素,其用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎。

[0013] 本发明另一主题涉及水飞蓟瘦果提取物在制备用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎的药物产品中的用途,所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素。

[0014] 本发明另一主题涉及水飞蓟用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎的用途,所述水飞蓟包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素。

[0015] 本发明的另一主题涉及一种治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎的方法,其包括向需要其的受试者施用有效量的水飞蓟瘦果提取物,所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素。

[0016] 本发明的另一主题涉及一种水飞蓟瘦果提取物,其包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素。

[0017] 本发明的另一主题涉及一种水飞蓟瘦果提取物,其包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素,其用作药物产品。

[0018] 本发明的另一主题涉及一种药物(特别是皮肤病学)或化妆品(特别是皮肤化妆品)组合物,其包含与至少一种药学上或化妆品学上可接受的赋形剂混合的水飞蓟瘦果提取物,所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素。

[0019] 本发明的另一主题涉及一种药物(特别是皮肤病学)或化妆品(特别是皮肤化妆品)组合物,其包含与至少一种药学上或化妆品学上可接受的赋形剂混合的水飞蓟瘦果提取物,所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素,其用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎。

[0020] 本发明的另一主题涉及药物(特别是皮肤病学)或化妆品(特别是皮肤化妆品)组合物用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎的用途,所述组合物包含与至少一种药学上或化妆品学上可接受的赋形剂混合的水飞蓟瘦果提取物,所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素。

[0021] 本发明的另一主题涉及一种用于治疗痤疮、皮脂溢、酒渣鼻和/或皮脂溢性皮炎的方法,其包括向需要其的受试者施用,优选通过局部途径施用有效量的药物(特别是皮肤病学)或化妆品(特别是皮肤化妆品)组合物,所述组合物包含与至少一种药学上或化妆品学上可接受的赋形剂混合的水飞蓟瘦果提取物,所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素。

[0022] 本发明的另一主题涉及一种制备水飞蓟瘦果提取物的方法,其包括用提取溶剂提取从水飞蓟瘦果获得的油的步骤,所述提取物包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素,所述提取溶剂包含,特别是由亲水性水溶液、亚临界水或不与从水飞蓟获得的油混溶的有机溶剂组成,所述有机溶剂任选地与水混合。

[0023] 发明详述

[0024] 在本说明书中,水飞蓟(*Silybum marianum*(L.) Gaertn.)植物可以使用缩写词水飞蓟(*Silybum marianum*)来提及。

[0025] 根据本发明,术语“水飞蓟素(silymarin)”表示纯化的水飞蓟瘦果提取物,其主要包含(至少95重量%)以下四种黄酮木脂素的混合物:水飞蓟宾(silybin)、异水飞蓟宾

(isosilybin)、水飞蓟亭(silychristin)和水飞蓟宁(silydianin) (Kuki等人,2012)。水飞蓟素含量小于其0.2重量%意味着水飞蓟素的组分总量小于0.2重量%。这样的含量可以通过HPLC(高效液相色谱法)或UPLC(超高效液相色谱法)通过计算对应于水飞蓟素的所有组分的峰的总面积来确定,特别是使用参比水飞蓟素样品(例如,可以从Sigma Aldrich获得),以确定这些峰的位置。

[0026] 根据本发明,术语“水飞蓟宾(silybin)” ,在本领域中也称为水飞蓟宾(silibinin),表示四种非对映异构体水飞蓟宾A、水飞蓟宾B、2,3-顺式-水飞蓟宾A和2,3-顺式-水飞蓟宾B。

[0027] 根据本发明,术语“异水飞蓟宾”表示两种非对映异构体异水飞蓟宾A和异水飞蓟宾B。

[0028] 根据本发明,术语“水飞蓟亭”表示两种非对映异构体水飞蓟亭A和水飞蓟亭B。

[0029] 在本说明书中,术语“约”表示所考虑的值可以比所示的值小或大10%,特别是5%,特别是1%。

[0030] 根据本发明,术语“干提取物”表示不含提取溶剂或仅含有非显著痕量水平的提取溶剂的提取物。因此,这种干提取物仅含有从水飞蓟获得的物质。它还可能含有非显著痕量的提取溶剂。

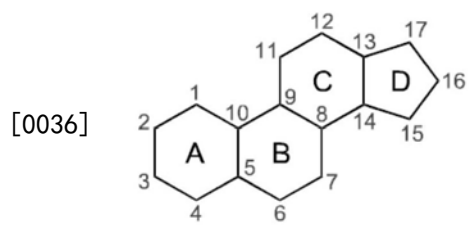
[0031] 根据本发明,术语“不与从水飞蓟瘦果获得的油混溶的有机溶剂”表示不能与从水飞蓟瘦果获得的油混合或仅部分混合的有机溶剂烯烃,使得有机溶剂和从水飞蓟瘦果获得的油的混合物产生非均相混合物,其中可以观察到至少两个分开的相。

[0032] 根据本发明的提取

[0033] 根据本发明的提取物是水飞蓟瘦果提取物,其包含相对于干提取物重量小于0.2重量%,优选小于0.1重量%的水飞蓟素。

[0034] 根据一个特定的实施方案,根据本发明的提取物包含相对于干提取物重量至少0.5重量%,优选至少1.0重量%的 β -谷甾醇。特别地,根据本发明的提取物包含相对于干提取物重量0.5重量%至2.5重量%,特别是1.0重量%至2.0重量%,例如约1.5重量%的 β -谷甾醇。特别地,根据本发明的提取物的水飞蓟素/ β -谷甾醇的质量比小于0.4,特别是小于0.07。根据本发明的提取物可以进一步包含相对于干提取物重量2至7重量%,特别是3至6重量%,例如3至5重量%的甾醇。

[0035] 根据本发明,术语“甾醇”表示具有甾烷母核的分子,其中碳3带有羟基OH,该甾烷具有以下结构:



[0037] 根据一个特定的实施方案,根据本发明的提取物包含相对于干提取物重量至少3重量%,优选至少4重量%的游离亚油酸。特别地,根据本发明的提取物包含相对于干提取物重量3重量%至15重量%,特别是4重量%至10重量%,尤其是4重量%至6重量%,例如约5重量%的游离亚油酸。根据本发明的提取物可以进一步包含10重量%至70重量%,特别是

10重量%至30重量%，特别是15重量%至25重量%的游离脂肪酸。

[0038] 根据本发明，术语“脂肪酸”表示羧酸 R_1CO_2H ，其中链 R_1 是直链或支链烃链，饱和的或包含双 $C=C$ 键，所述羧酸包含16至22个碳原子（包括羧酸官能团的碳原子）。

[0039] 根据本发明，术语“游离的”脂肪酸（包括亚油酸）表示不与其它分子（例如甘油或其衍生物以产生甘油酯或醇以产生脂肪酯）结合的脂肪酸。

[0040] 根据进一步特定的实施方案，根据本发明的提取物包含相对于干提取物重量0.5重量%至2.5重量%，特别是1.0重量%至2.0重量%，例如约1.5重量%的 β -谷甾醇，和相对于干提取物重量3重量%至15重量%，特别是4重量%至10重量%，特别是4重量%至6重量%，例如约5重量%的游离亚油酸。特别地，根据本发明的提取物的水飞蓟素/ β -谷甾醇的质量比可以小于0.4，特别是小于0.07。根据本发明的提取物可以进一步包含相对于干提取物重量2至7重量%，特别是3至6重量%，例如3至5重量%的甾醇，和相对于干提取物重量10重量%至50重量%，特别是10重量%至30重量%，特别是15重量%至25重量%的游离脂肪酸。

[0041] 根据一个特定的实施方案，根据本发明的提取物包含相对于干提取物重量至少0.01重量%，特别是至少0.05重量%的生育酚。特别地，根据本发明的提取物包含相对于干提取物重量0.01重量%至0.5重量%，特别是0.05重量%至0.2重量%，例如约0.1重量%的生育酚。特别地，根据本发明的提取物的水飞蓟素/生育酚的质量比可以小于1，特别是小于0.1。

[0042] 根据本发明，术语“生育酚”表示 α -生育酚、 β -生育酚、 γ -生育酚和 δ -生育酚。

[0043] 根据进一步特定的实施方案，根据本发明的提取物包含相对于干提取物重量0.5重量%至2.5重量%，特别是1.0重量%至2.0重量%，例如约1.5重量%的 β -谷甾醇；相对于干提取物3重量%至15重量%，特别是4重量%至10重量%，特别是4重量%至6重量%，例如约5重量%的游离亚油酸；和相对于干提取物重量0.01重量%至0.5重量%，特别是0.05重量%至0.2重量%，例如约0.1重量%的生育酚。根据本发明的提取物可以进一步包含相对于干提取物重量2至7重量%，特别是3至6重量%，例如3至5重量%的甾醇，和相对于干提取物重量10重量%至50重量%，尤其是10重量%至30重量%，特别是15重量%至25重量%的游离脂肪酸。特别地，根据本发明的提取物的水飞蓟素/ β -谷甾醇的质量比可以小于0.4，特别是小于0.07。尤其地，根据本发明的提取物的水飞蓟素/生育酚的质量比可以小于1，特别是小于0.1。

[0044] 优选地，根据本发明的提取物是干提取物。

[0045] 根据优选的实施方案，根据本发明的提取物适合于通过下文描述的根据本发明的方法获得。

[0046] 制备根据本发明的提取物的方法

[0047] 一种制备根据本发明的提取物的方法，其包括用提取溶剂提取从水飞蓟瘦果获得的油的步骤，所述提取溶剂包含，特别是由亲水性水溶液、亚临界水或不与从水飞蓟瘦果获得的油混溶的有机溶剂组成，所述有机溶剂任选地与水混合。

[0048] 根据一个特定的实施方案，所述有机溶剂包含，特别是由不与从水飞蓟瘦果获得的油混溶的有机溶剂组成，所述有机溶剂任选地与水混合。

[0049] 不与从水飞蓟瘦果获得的油混溶的有机溶剂可以特别是 C_1 至 C_3 醇。

[0050] 提取溶剂可以特别是任选地与水混合的C₁至C₃醇。

[0051] 根据本发明,术语“C₁至C₃醇”表示醇R₂OH,其中链R₂是饱和的、直链或支链的烃链,其包含1至3个碳原子。其可以由甲醇、乙醇、正丙醇或异丙醇组成,尤其是甲醇、乙醇或异丙醇。优选地,其是异丙醇。

[0052] 不与从水飞蓟瘦果获得的油混溶的有机溶剂特别是C₁至C₃醇如甲醇、乙醇或异丙醇,可以与水混合使用,特别是有机溶剂/水的体积比为80/20至100/0,特别是在85/15至95/5,特别是约90/10。

[0053] 提取溶剂可特别选自甲醇、甲醇/水混合物、乙醇、乙醇/水混合物、异丙醇和异丙醇/水混合物。

[0054] 根据一个优选的实施方案,所述提取溶剂是甲醇、体积比约为90/10的乙醇/水混合物或体积比约为90/10的异丙醇/水混合物,优选体积比约为90/10异丙醇/水混合物。

[0055] 特别地,特别是在15至25℃,特别是约20℃的温度,通过将水飞蓟瘦果获得的油与提取溶剂混合1至12小时进行提取从水飞蓟瘦果获得的油的步骤。用于进行该提取的提取溶剂的量对于1g从水飞蓟瘦果获得的油特别为0.5至3g,特别是1至3g。

[0056] 然后在提取结束时获得提取相和脂质相。提取相将有利地与脂质相分离并回收,然后特别是在真空中部分或全部干燥,以除去或多或少的提取溶剂,并且获得干提取物(如果溶剂被完全除去)或在残留溶剂中稀释的浓缩提取物。

[0057] 可以有利地通过从水飞蓟瘦果(瘦果可以是整个的或碎片的)中提取,特别是通过压制,有利地通过冷压(即,在环境温度下不加热),获得从水飞蓟瘦果获得的油。

[0058] 根据本发明的一个实施方案,根据本发明的方法将包括以下两个连续步骤:

[0059] (i) 从水飞蓟瘦果提取油,和

[0060] (ii) 用提取溶剂提取从水飞蓟瘦果获得的油,所述提取溶剂包含,特别是由亲水性水溶液、亚临界水或不与从水飞蓟瘦果提取物获得的油混溶的有机溶剂组成,所述有机溶剂任选地与水混合。

[0061] 根据本发明的一个优选的实施方案,根据本发明的方法将包括以下连续步骤:

[0062] (i) 任选地从水飞蓟瘦果提取油,和

[0063] (ii) 用提取溶剂提取从水飞蓟瘦果获得的油,所述提取溶剂包含,特别是由亲水性水溶液、亚临界水或不与从水飞蓟瘦果提取物获得的油混溶的有机溶剂组成,所述有机溶剂任选地与水混合。

[0064] (iii) 回收步骤(ii)中获得的提取相,和

[0065] (iv) 部分或完全干燥提取相,以产生根据本发明的浓缩提取物或干提取物。

[0066] 步骤(i)将有利地通过冷压水飞蓟瘦果(整个或碎片)进行。

[0067] 步骤(ii)将有利地用如上所定义的提取溶剂进行,所述提取溶剂特别地选自甲醇、甲醇/水混合物、乙醇、乙醇/水混合物、异丙醇和异丙醇/水混合物。

[0068] 不与从水飞蓟瘦果获得的油混溶的有机溶剂特别是C₁至C₃醇如甲醇、乙醇或异丙醇,可以与水混合使用,特别是以有机溶剂/水的体积比为80/20至100/0,特别是在85/15至95/5,特别是约90/10。有利的提取溶剂是体积比约为90/10的异丙醇/水混合物。

[0069] 可以特别是在15至25℃,特别是约20℃的温度,通过将水飞蓟瘦果获得的油与提取溶剂混合1至12小时,进行提取步骤(ii)。用于进行该提取的提取溶剂的量对于1g从水

飞蓟瘦果获得的油有利地为0.5至3g,特别是1至3g。该提取步骤(ii)使得最终可以获得目标提取相和脂质相。

[0070] 通过将提取相与脂质相分离,有利地进行步骤(iii)。

[0071] 步骤(iv)将有利地在真空中进行。

[0072] 根据本发明的药物或化妆品组合物

[0073] 根据本发明的药物或化妆品组合物包含与至少一种药学上或化妆品学上可接受的赋形剂混合的如上定义的本发明的提取物。其优选为局部组合物。

[0074] 在本发明中,术语“药学上或化妆品学上可接受的”表示其可用于制备药物或化妆品组合物,其通常是安全的、无毒的,既不是生物学上也不是其它方面不合需要的,并且其对于药物或化妆品使用,特别是皮肤病学或皮肤化妆品,特别是通过局部应用是可接受的。

[0075] 根据本发明的组合物有利地用于局部应用,特别是用于皮肤上。

[0076] 因此,根据本发明的组合物可以以通常已知用于局部施用的形式存在,即特别是洗剂、泡沫、凝胶、分散体、乳液、喷雾剂、精华(serums)、面膜或霜,其中赋形剂特别适合于皮肤渗透,从而增强活性成分的性质和可及性。有利地,其是霜。

[0077] 除了根据本发明的提取物之外,这些组合物通常还包含生理学上可接受的介质,通常基于水或溶剂,例如醇、醚或二醇。其还可包含表面活性剂、络合剂、防腐剂、稳定剂、乳化剂、增稠剂、胶凝剂、湿润剂、润肤剂、微量元素、精油、香料、着色剂、控油剂(mattifying agent)、化学或矿物质过滤剂、保湿剂、矿泉水等。

[0078] 根据一个特定的实施方案,根据本发明的组合物包含至少一种药学上或化妆品学上可接受的赋形剂,其选自控油剂、保湿剂及其混合物。根据另一个实施方案,根据本发明的组合物包含至少一种控油剂和/或至少一种保湿剂,和任选的至少一种化学或矿物过滤剂(UV过滤剂)。

[0079] 保湿剂增加皮肤的水分含量,使皮肤保持柔软和光滑。其可以是例如尿素、氨基酸、丙三醇(也称为甘油)、丙二醇、丁二醇、山梨糖醇、木糖醇、麦芽糖醇、甘露醇、聚葡萄糖、胶原蛋白、弹性蛋白、透明质酸及其盐(例如钠盐或钾盐)、果胶、明胶、壳聚糖、芦荟汁、蜂蜜或其混合物。

[0080] 控油剂是一种使皮肤无油光(matt)的成分,其可防止皮肤油光。其可以是例如滑石、二氧化硅、米粉或其混合物,尤其是微粉化形式。

[0081] UV过滤剂是阻挡或吸收紫外(UV)光的化合物,以尤其是保护皮肤免受太阳UV。其可以是例如UVA过滤剂、UVB过滤剂、广谱过滤剂或其混合物。

[0082] 根据另一个特定实施方案,根据本发明的组合物包含作为药学上或化妆品学上可接受的赋形剂的异丙醇、聚乙二醇(PEG)或其混合物。因此,有利地,根据本发明的组合物将包含,特别是由根据本发明的提取物、异丙醇和聚乙二醇(PEG)组成。所述组合物还可包含根据本发明的提取物、异丙醇、聚乙二醇(PEG)和至少一种选自控油剂、保湿剂、UV过滤剂及其混合物的成分。所述组合物还可以包含根据本发明提取物、异丙醇、聚乙二醇(PEG)、至少一种控油剂和/或至少另一种保湿剂,和任选的至少一种化学或矿物质过滤剂(UV过滤剂)。控油剂、保湿剂和UV过滤剂如上所定义。

[0083] 异丙醇/PEG的质量比有利地为1/2至2/1,特别是1/1.5至1.5/1,特别是为约1/1。

[0084] 聚乙二醇的平均分子量特别是200至600g/mol,特别是200至500g/mol,特别是200

至400g/mol,例如250至350g/mol,特别是约300g/mol。因此,其可以特别是PEG 300。

[0085] 这些组合物可以进一步含有其他活性成分,其产生互补作用或任选的协同作用。

[0086] 有利地,根据本发明的组合物将包含相对于组合物的总体积,至少0.001重量%,尤其是0.001至15重量%,0.001至10重量%或0.001至5重量%,特别是0.01至15重量%,0.01至10重量%或0.01至5重量%,优选0.1至10重量%,尤其是0.1至5重量%的根据本发明的提取物。

[0087] 优选地,如上所定义的根据本发明的组合物不含任何植物油,尤其是任何油。

[0088] 治疗应用

[0089] 根据本发明的提取物和包含其的药物组合物适合用于治疗痤疮(例如青少年痤疮(juvenile acne),也称为青少年痤疮(teenage acne),或成人痤疮,其可以是囊肿性的)、皮脂溢、皮脂溢性皮炎和/或酒渣鼻,优选局部应用,特别是用于皮肤上。

附图说明

[0090] 图1A、1B和1C分别表示根据方案1获得的水飞蓟素(Sigma Aldrich)、根据本发明的水飞蓟瘦果提取物I和根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物A的UPLC色谱图。

[0091] 图2A、2B和2C分别表示根据方案2获得的根据本发明的甲醇提取物M、根据本发明的乙醇90提取物E和根据本发明的异丙醇90提取物I的UPLC色谱图。

[0092] 图3A、3B和3C分别表示根据方案2获得的亚油酸、根据本发明的水飞蓟瘦果提取物I和根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物A的UPLC色谱图。

[0093] 图4A、4B和4C分别表示根据方案3获得的根据本发明的乙醇90提取物E、根据本发明的甲醇提取物M、根据本发明的异丙醇90提取物I的GC-MS色谱图的10-28分钟区域(对应于脂肪酸和甾醇区域)。

[0094] 图5A、5B和5C分别表示图4A、4B和4C中色谱图的22-28分钟区域(对应于甾醇区域)。

[0095] 图6A、6B和6C分别表示图4A、4B和4C中色谱图的10-22分钟区域(对应于脂肪酸区域)。

[0096] 图7显示在用低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物(提取物I,M和E)和富含水飞蓟素的根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物(提取物A)相继治疗后,通过IGA方法测定的7名患有痤疮的患者的平均治疗效果。

[0097] 图8显示在用根据本发明的水飞蓟瘦果提取物治疗后,通过IGA方法测定的11名患有成人痤疮的患者的治疗效果。

[0098] 图9显示在用根据本发明的水飞蓟瘦果提取物治疗后,通过IGA方法测定的10名患有青少年痤疮的患者的治疗效果。

[0099] 图10显示在用根据本发明的水飞蓟瘦果提取物治疗后,通过IGA方法测定的9名患有酒渣鼻伴有皮脂溢的患者的治疗效果。

[0100] 图11表示根据本发明的水飞蓟瘦果提取物和根据现有技术的水飞蓟提取物对两种产酯酶基因FADS2和SCD1的平均抑制(倍数)。

具体实施方式

[0101] 实施例

[0102] 1. 提取方法

[0103] 方法A: 根据现有技术的方法, 其产生包含高水飞蓟素含量的提取物A:

[0104] ●以每克瘦果10ml乙醇, 用96%乙醇在回流下提取水飞蓟瘦果1小时,

[0105] ●过滤混合物,

[0106] ●回收乙醇相, 和

[0107] ●蒸发溶剂。

[0108] 方法B: 根据本发明的方法, 其产生包含低水飞蓟素含量的异丙醇90提取物(提取物I):

[0109] ●冷压水飞蓟瘦果以获得来自水飞蓟瘦果的油,

[0110] ●于20°C, 以每克油1克异丙醇/水混合物, 用异丙醇/水混合物(90/10v/v)提取从水飞蓟瘦果获得的油2小时,

[0111] ●回收异丙醇相, 和

[0112] ●蒸发溶剂。

[0113] 通过用甲醇和乙醇/水混合物(90/10v/v)分别替换异丙醇/水混合物(90/10v/v), 以类似方式获得甲醇(提取物M)和乙醇90(提取物E)提取物。于20°C, 分别用3体积甲醇和3体积乙醇/水混合物(90/10v/v)对1体积油, 进行从水飞蓟瘦果获得的油的提取2小时。

[0114] 根据下文详述的方案, 通过UPLC(超高效液相色谱)或通过GC-MS(气相色谱-质谱)表征这些不同的提取物。

[0115] 获得的提取物的评估方案:

[0116] 方案1: 通过UPLC评估水飞蓟素含量

[0117] ○样品和标准品制备:

[0118] -水飞蓟素标准品: 在10ml甲醇/水混合物(60:40)(v/v)中制备含有5mg水飞蓟素的溶液。

[0119] -样品:

[0120] ●提取物A: 制备在10ml甲醇/二氯甲烷混合物(70:30)(v/v)中含有待分析的100mg提取物的溶液

[0121] ●提取物M、E、I: 在搅拌下将待分析的干燥提取物加热至35°C, 直至获得澄清、均匀的溶液。准确称取200mg(pe)提取物, 将其溶解在10ml甲醇/二氯甲烷混合物中, 使提取物完全溶解并使溶液均匀。该混合物从甲醇/二氯甲烷(1:1)(v/v)的比例至纯甲醇变化。

[0122] ○分析条件:

[0123] -柱: Acquity BEH Shield C18 150mm x 2.1mm-1.7µm(Waters)

[0124] -流动相:

[0125] ○A: 水+0.1%甲酸

[0126] ○B: 乙腈+0.1%甲酸

[0127] -梯度:

[0128]

T (min)	A (%)	B (%)
0	90	10

15	60	40
20	0	100
39.5	0	100
40	90	10
45	90	10

[0129] -柱温:40℃

[0130] -流速:0.4ml/min

[0131] -检测:287nm

[0132] -注射体积:1μl

[0133] 方案2:通过UPLC评估亚油酸含量

[0134] ○样品和标准品制备:

[0135] -亚油酸标准品:制备在10ml甲醇/二氯甲烷混合物(1:1)(v/v)中含有10mg亚油酸的溶液。

[0136] -样品:

[0137] ●提取物M、E、I:在搅拌下将待分析的干提取物加热至35℃,直至获得澄清、均匀的溶液。准确称取50mg(pe)提取物,将其溶解在1ml甲醇/二氯甲烷混合物中,使提取物完全溶解并使溶液均匀。该混合物从甲醇/二氯甲烷(1:1)(v/v)的比例至纯甲醇变化。

[0138] ○分析条件:

[0139] -柱:Acquity BEH Shield C18 150mm x 2.1mm-1.7μm(Waters)

[0140] -流动相:

[0141] ○A:水+0.1%甲酸

[0142] ○B:乙腈+0.1%甲酸

[0143] -梯度:

[0144]

T(min)	A(%)	B(%)
0	50	50
1	50	50
10	0	100
15	0	100
15.5	50	50
20	50	50

[0145] -柱温:40℃

[0146] -流速:0.4ml/min

[0147] -检测:215nm

[0148] -注射体积:1μl

[0149] 方案3:通过GC-MS评估脂肪酸和甾醇含量

[0150] ○样品制备:

[0151] -在搅拌下将待分析的干提取物加热至35℃,直至获得澄清、均匀的液体。

[0152] -将20mg提取物溶解在800μL甲醇/二氯甲烷混合物(1:1)(v/v)中。

[0153] -加入200μL衍生剂N,O-双(三甲基甲硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)+三甲基氯硅烷

(TMCS) (99:1) (Supelco-Sigma Aldrich)

[0154] -用涡旋搅拌1分钟

[0155] ○气相色谱 (GC) 条件

[0156] -柱:DB-5ms (Agilent technologies); 30m x 0.25mm; 0.25 μ m

[0157] -注射:T=300 $^{\circ}$ C; 模式=分流 (Split); 分流比 (Split ratio) = 100:1

[0158] -炉:温度梯度 ($^{\circ}$ C):

[0159] ○初始温度=150 $^{\circ}$ C

[0160] ○梯度=7 $^{\circ}$ C/min直至最终温度=340 $^{\circ}$ C

[0161] ○于340 $^{\circ}$ C维持10分钟

[0162] -载气流速:1ml/min

[0163] -检测:MS-EI; T=300 $^{\circ}$ C; 扫描时间=0.2sec.; 全扫描开始质量=40; 全扫描结束质量=600

[0164] -注射体积:1 μ l

[0165] 结果:

[0166] 富含水飞蓟素的根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物A基本上含有水飞蓟素的成分,其通过UPLC具有6至14分钟的保留时间(参见图1C和1A)。

[0167] 低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物I主要含有通过UPLC具有13至30分钟的保留时间的物质(参见图1B)。

[0168] 因此,方法A有利于极性化合物,特别是水飞蓟素黄酮木脂素的提取,而方法B有利于亲脂性化合物,例如游离脂肪酸、甾醇、生育酚和其他非极性化合物的提取。

[0169] 在用标准商业水飞蓟素溶液 (Sigma Aldrich) 校准后,通过UPLC确定提取物A和I的水飞蓟素含量(参见图1)。

[0170] 提取物A含有28质量%的水飞蓟素。

[0171] 提取物I含有0.06质量%的水飞蓟素。

[0172] 通过UPLC(参见图3B)和GC(参见图4C、5C和6C)确定提取物I中的游离脂肪酸(更特别是亚油酸)和甾醇(更特别是 β -谷甾醇)的含量:

化合物	重量%
游离脂肪酸(基本上是棕榈酸、油酸和亚油酸)	24.6
其中亚油酸	5.1
甾醇	3.6
其中 β -谷甾醇	1.5

[0174] 我们能够确定通过甲醇提取(提取物M)、乙醇90提取(提取物E)和异丙醇90提取(提取物I)获得的根据本发明的3种瘦果提取物的UPLC(参见图2)和GC(参见图4、5和6)是类似的。

[0175] 结论:

[0176] 通过UPLC和GC-MS进行的各种分析使得可以证明以下特征。

[0177] ●“水飞蓟素色谱图”(参见图1):这些色谱图的比较表明:

[0178] →根据本发明的异丙醇90瘦果提取物(提取物I)实际上不含水飞蓟素,特别是极

性黄酮木脂素；

[0179] →根据现有技术的乙醇提取物(提取物A)本身富含水飞蓟素。滴定为28质量%的水飞蓟素。

[0180] ●“亚油酸色谱图”(参见图3):亚油酸是7.742min的峰。应注意,与根据本发明的异丙醇90提取物(提取物I)不同,根据现有技术的乙醇瘦果提取物(提取物A)实际上不含亚油酸。

[0181] ●此外,我们还能够确定通过甲醇、乙醇90和异丙醇90提取(提取物M、E和I)获得的根据本发明的3种瘦果提取物的UPLC(参见图2)和GC(参见图4、5和6)是类似的。

[0182] 2. 根据本发明的组合物

[0183] 将实施例1中制备的提取物以7% (w/v) 配制在异丙醇/PEG 300混合物(1:1) (w/w) 中。通过在皮肤上局部应用,将所得组合物用于各种临床研究(参见下文的实施例3至6)。

[0184] 根据本发明的提取物还可以例如以根据以下配方的精华形式配制:

成分	量 (% w/w)
水飞蓟瘦果提取物	0.01-5%
聚丙烯酸酯-13	0.3-2%
[0185] 甘油(保湿剂)	1-15%
二氧化硅(控油剂)	0.1-1%
载体: 异丙醇/PEG 300 混合物(1:1) 和舒活水 (Thermal water)	Qsp

[0186] 3. 治疗痤疮的对比临床研究

[0187] 根据以下时间表,用来自实施例2的包含低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物(提取物I、M或E)的组合物或富含水飞蓟素的根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物(提取物A)的组合物,依次治疗7名患有痤疮的患者:

[0188] -阶段1:用包含低水飞蓟素($5.64 \pm 0.01 \mu\text{g/g}$)的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物M的组合物进行18周治疗,然后

[0189] -阶段2:用包含富含水飞蓟素($23.21 \pm 2.03 \text{mg/g}$)的根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物A的组合物进行12周治疗,然后

[0190] -阶段3:用包含低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物E的组合物进行18周治疗,然后

[0191] -阶段4:用包含富含水飞蓟素的根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物A的组合物进行6周治疗,然后

[0192] -阶段5:用包含低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物I的组合物进行6周治疗。

[0193] 所获得的治疗效果的分析是根据FDA(食品和药物管理局)接受的全球临床状态分析方法IGA(调查员全球评估(Investigator Global Assessment))进行的,并且由临床皮肤病学专家实施(行业寻常痤疮指南:开发用于治疗的药物(Guidance for Industry Acne Vulgaris:Developing Drugs for Treatment))。

[0194] 使用这种方法,根据观察到的痤疮的严重程度指定以下IGA等级:

IGA 等级	患者状态
0	皮肤干净，无炎症性或非炎症性病变
1	几乎干净；稀有的非炎症性病变，不超过一个小的炎症性病变
2	轻度严重度；大于 1 级；一些非炎症性病变，仅有少数炎症性病变（仅丘疹/脓疱，无结节性病变）
3	中等严重度；大于 2 级；可达多个非炎症性病变并可能有一些炎症性病变，但不超过一个小的结节性病变
4	严重；大于 3 级；可达多个非炎症和炎症性病变，但仅少数结节性病变

[0197] 7名患者获得的平均结果如图7所示。

[0198] 该图显示，在用低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物的第一治疗阶段期间，观察到痤疮临床状态的显著改善，对应于根据FDA标准的“成功”，鉴于治疗的特殊持续时间（18周），该作用具有显著的稳定性。

[0199] 在用富含水飞蓟素的根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物转变到第二治疗阶段时，观察到病变返回的功效丧失，对应于根据FDA标准的“失败”。

[0200] 在随后的阶段3、4和5中进行了相同的观察。

[0201] 这些临床观察清楚地表明，观察到的临床治疗效果与水飞蓟素无关，因为含有无限小水飞蓟素浓度的组合物发挥显著的临床治疗效果，而含有高水飞蓟素浓度的组合物倾向于恶化临床状态，导致复发。

[0202] 因此，用富含水飞蓟素的根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物的治疗导致临床状态的退化，而用低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物的治疗提供了显著的改善。

[0203] 因此，观察到的临床结果证明，与富含水飞蓟素的现有技术的提取物（其导致痤疮的恢复）相比，含有可忽略量的水飞蓟素的根据本发明的提取物的功效更好。

[0204] 4. 治疗成人痤疮的临床研究

[0205] 用来自实施例2的组合物治疗11名患有成人痤疮的患者18周，所述组合物包含低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物。

[0206] 所获得的治疗效果的分析如实施例3中所述，是根据FDA（食品和药物管理局）接受的全球临床状态分析方法IGA（调查员全球评估）进行的，并且由临床皮肤病学专家实施（行业寻常痤疮指南：开发用于治疗的药物）。

[0207] 获得的结果显示在图8和下表中：

患者	状态严重性	IGA 等级	
		治疗前	治疗后
[0208] 患有成人痤疮的男性（后发生痤疮（post-Curacne））	严重	4	3
患有囊肿性成人痤疮的男性	严重	3	2
患有成人痤疮的女性	严重	4	2
患有成人痤疮的女性	严重	4	1
患有成人痤疮的女性	严重	3	1
患有成人痤疮的女性	中等	3	1
患有成人痤疮的女性	中等	3	1
[0209] 患有成人痤疮和多囊卵巢综合征（PCOS）的女性	中等	3	2
患有成人痤疮的女性	中等	3	0
患有成人痤疮的女性	中等	3	2
患有成人痤疮的女性	中等	3	1
合计		36	16
平均值		3.27	1.45

[0210] 这些结果表明成人痤疮的临床状态有显著改善,11个案例中有7个降低两个等级,对应于根据FDA标准的“成功”,以及鉴于治疗的特殊持续时间(18周),该作用具有显著的稳定性。

[0211] 这些临床观察证明了根据本发明的提取物对成人痤疮的无可争辩的临床治疗效果。

[0212] 5. 治疗青少年痤疮的临床研究

[0213] 用来自实施例2的组合物治疗10名患有青少年痤疮的青少年患者(15-18岁)18周,所述组合物包含低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物。

[0214] 所获得的治疗效果的分析如实施例3中所述,是根据FDA(食品和药物管理局)接受的全球临床状态分析方法IGA(调查员全球评估)进行的,并且由临床皮肤病学专家实施(行业寻常痤疮指南:开发用于治疗的药物)。

[0215] 获得的结果显示在图9和下表中:

患者	状态严重性	IGA 等级	
		治疗前	治疗后
患青少年痤疮的男性	中等	3	1
患青少年痤疮的男性	中等	3	0
患青少年痤疮的女性	中等	3	0
患青少年痤疮的女性	中等	3	0
患青少年痤疮的女性	中等	3	0
[0216] 患有痤疮痣 (acne naevus) 的男性	中等	2	2
患青少年痤疮的男性	严重	4	2
患青少年痤疮的女性	严重	4	3
患青少年痤疮的女性	严重	4	1
患青少年痤疮的女性	严重	4	1
合计		33	10
平均值		3.30	1.00

[0217] 这些结果证明青少年痤疮的临床状态有显著改善,10个案例中有8个降低两个等级,对应于根据FDA标准的“成功”,鉴于治疗的特殊持续时间(18周),该作用具有显著的稳定性。

[0218] 这些临床观察证明根据本发明的提取物对青少年痤疮的无可争辩的临床治疗效果。

[0219] 6. 治疗酒渣鼻(任选伴有皮脂溢)的临床研究

[0220] 用来自实施例2的组合物治疗9名患有酒渣鼻(任选伴有皮脂溢)的患者18周,所述组合物包含低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物。

[0221] 所获得的治疗效果的分析如实施例3中所述,是根据针对痤疮的FDA(食品和药物管理局)接受的全球临床状态分析方法IGA(调查员全球评估)进行的,并且由临床皮肤病学专家应用到酒渣鼻(行业寻常痤疮指南:开发用于治疗的药物)。

[0222] 获得的结果显示在图10和下表:

患者	严重性状态	IGA 等级	
		治疗前	治疗后
患有酒渣鼻和皮脂溢性皮炎的男性 (后发生痤疮)	严重	4	1
患有酒渣鼻和皮脂溢性皮炎的女性 (后发生痤疮)	严重	4	1
患有爆发性酒渣鼻 (rosacea fulminans) 的女性 (后发生痤疮)	严重	3	1
[0223] 患有酒渣鼻的女性	严重	4	2
患有酒渣鼻的女性	中等	3	0
患有酒渣鼻的口服避孕药的女性	中等	2	1
患有酒渣鼻和皮脂溢性皮炎的男性	中等	2	0
患有酒渣鼻和皮脂溢性皮炎的男性	中等	3	1
患有酒渣鼻和皮脂溢性皮炎的女性	中等	3	1
合计		28	8
平均值		3.11	0.89

[0224] 这些结果证明所有患者的酒渣鼻的临床状态显著改善,并且鉴于治疗的特殊持续时间(18周),该作用具有显著的稳定性。这种全面改善对应于对这种病症的各种临床参数的显著影响(Wilkin等人,2004):血管、炎症、丘疹脓疱组分,以及皮脂溢性组分,在这些病例中体现了皮脂溢性皮炎(SD)的“混合性面部皮炎”类型。这种皮脂溢性皮炎与这种病症的典型区域中的酒渣鼻病变,即面部的凸起,以及折叠区域中的皮脂溢性皮炎病变相关,如B.Cribier在Traité Francophone de Dermatologie第5版所描述(Cribier B. Dermatoses faciales page 86 in Dermatologie et IST,第5版 Elsevier Masson 2009)。

[0225] 这些临床观察证明了根据本发明的提取物对酒渣鼻(任选伴有皮脂溢)的无可争辩的临床治疗效果。

[0226] 7. 体外对比研究

[0227] 在该研究中,在原代人皮脂腺细胞培养物(Zenbio, Inc. Research Triangle Park, NC)上体外测试培养基中浓度为0.03% (w/v)的异丙醇水飞蓟瘦果提取物连续3天(每天更换培养基),即根据本发明的水飞蓟瘦果提取物和根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物A。收获细胞并在最终治疗后24小时提取RNA。

[0228] PCR(聚合酶链式反应)分析使得可以测量两种产酯酶基因(sebogenic enzyme gene) FADS2和SCD1的表达水平。这两种酶参与皮脂特异性脂质的合成,并且已知这两种酶的抑制诱导皮脂腺活性降低。由至少5次实验获得的这两种基因相对于溶剂(异丙醇,其中培养基中的浓度为1%)的平均抑制结果(倍数变化)显示在图11中,2倍抑制被认为是显著的。

[0229] 因此,这些结果表明,与富含水飞蓟素的根据现有技术的水飞蓟瘦果提取物不同,低水飞蓟素的根据本发明的水飞蓟瘦果提取物显著抑制这两种基因的表达。

[0230] 参考书目

- [0231] Berardesca 等人 “Combined effects of silymarin and methylsulfonylmethane in the management of rosacea:clinical and instrumental evaluation” *Journal of Cosmetic Dermatology* 2008,7,8-14
- Cribier B. *Dermatoses faciales* page 86 *in Dermatologie et IST*, 5th edition Elsevier Masson 2009.
- [0232] “Guidance for Industry Acne Vulgaris:Developing Drugs for Treatment” Draft guidance, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), September 2005.
- [0233] Hermenean 等人 “Antioxidant and hepatoprotective activity of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) seed oil” *Open Life Sci.* 2015, 10 (1), 225-236.
- [0234] Kuki 等人 “Identification of Silymarin Constituents: An Improved HPLC-MS Method” *Chromatographia* 2012, 75:175-180.
- [0235] Sahib 等人 “Effects of Oral Antioxidants on Lesion Counts Associated with Oxidative Stress and Inflammation in Patients with Papulopustular Acne” *J. Clin. Exp. Dermatol. Res.* 2012, 3:5.
- [0236] Wilkin 等人 “Standard grading system for rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea” *J. Am. Acad. Dermatol.* 2004, 50:907-12.
- [0237] Zheng 等人 “Application of response surface methodology to optimize microwave-assisted extraction of silymarin from milk thistle seeds” *Sep. Purif. Technol.* 2009, 70:34-40.
- [0238] Zhu 等人 “*Silybum marianum* oil attenuates oxidative stress and ameliorates mitochondrial dysfunction in mice treated with D-galactose” *Pharmacogn Mag.* 2014, 10 (Suppl.1), S92-S99.

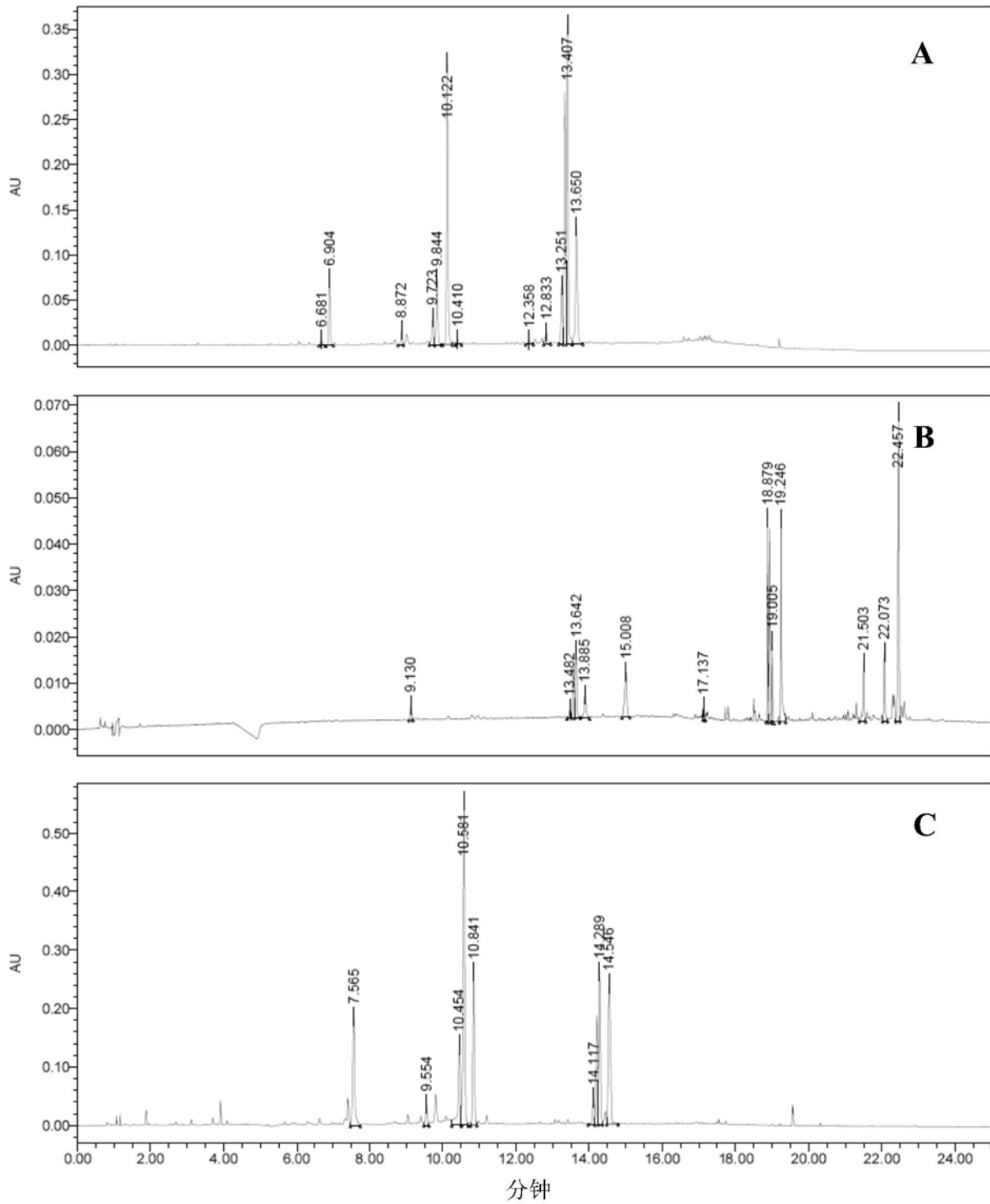


图1

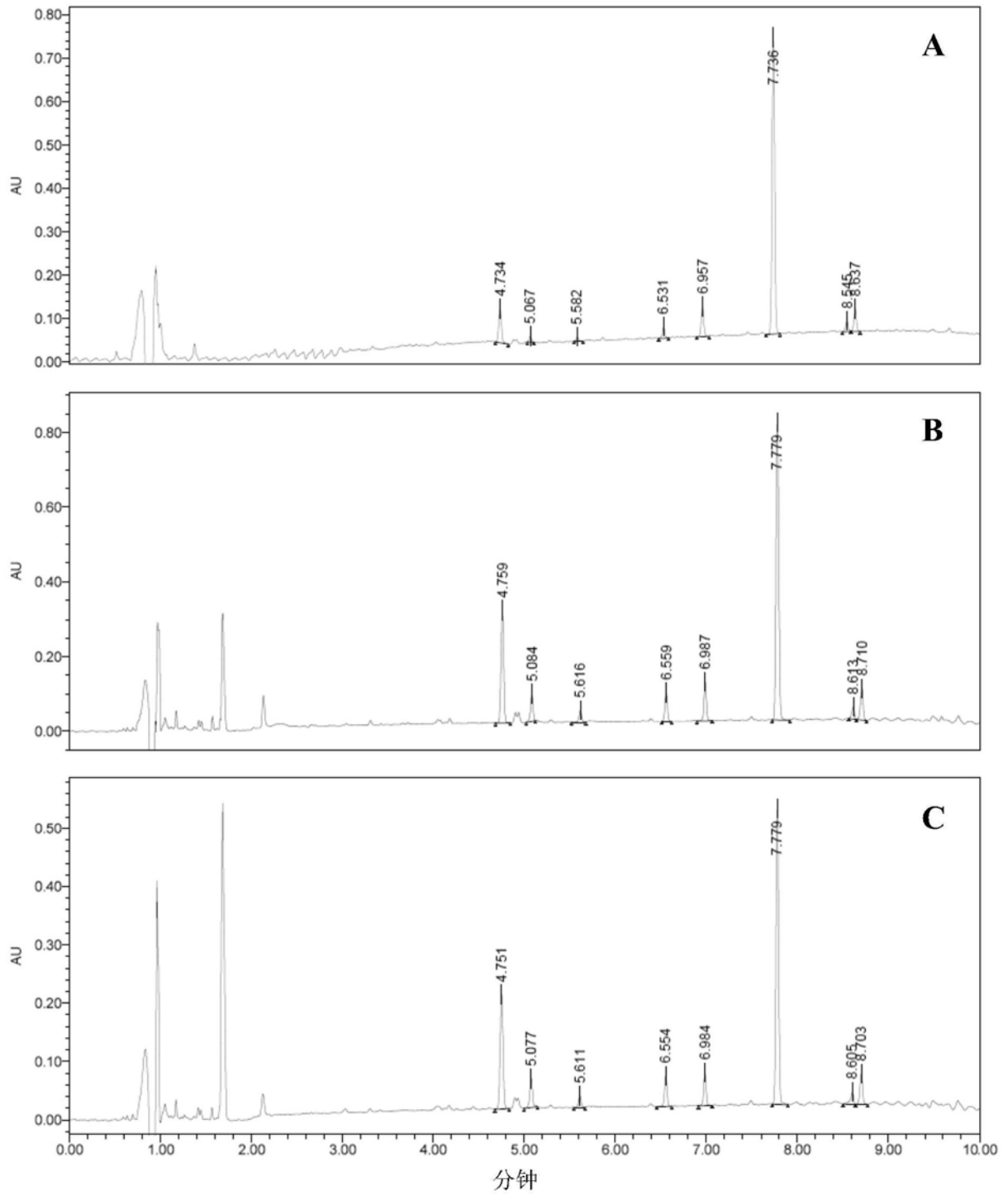


图2

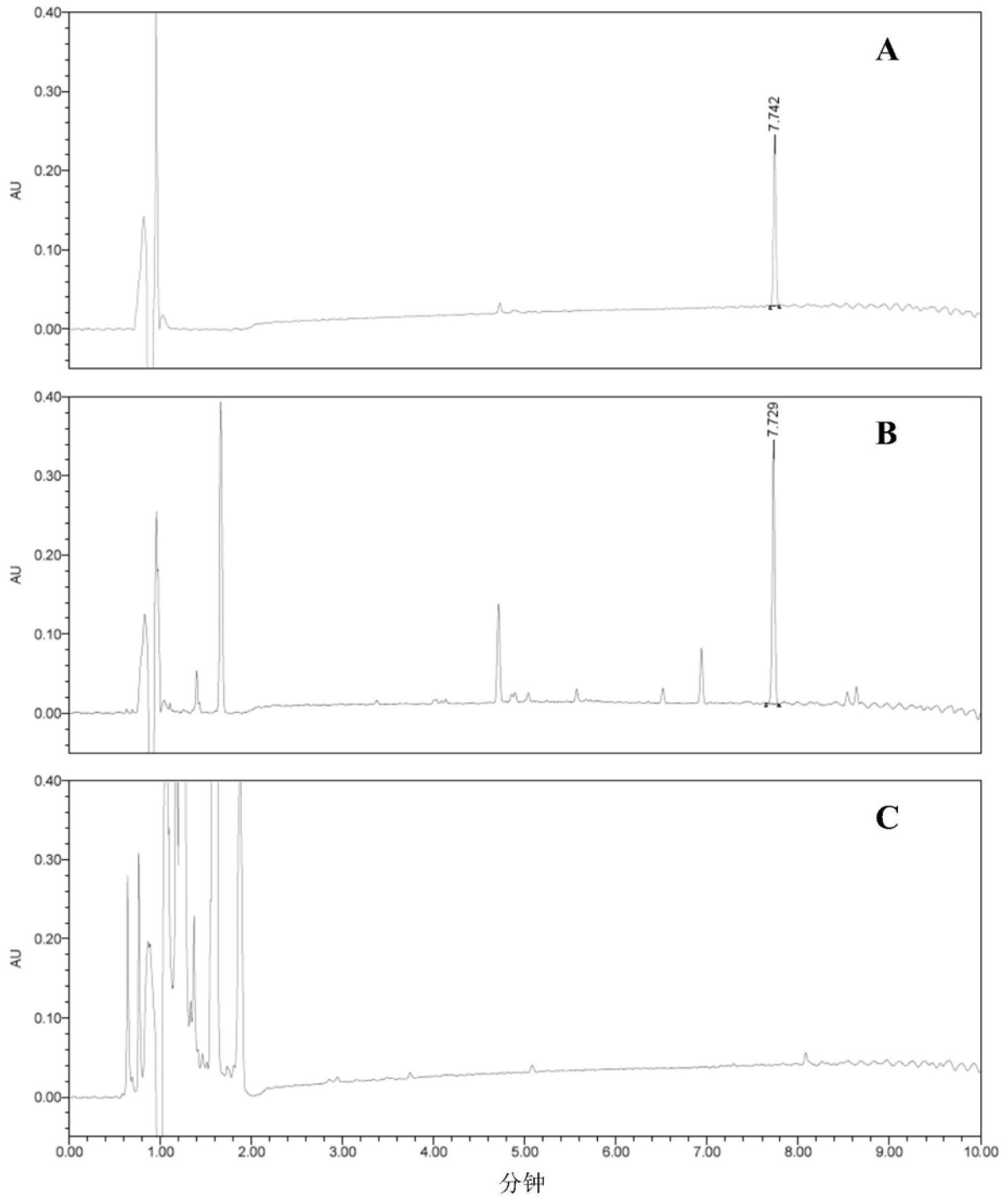


图3

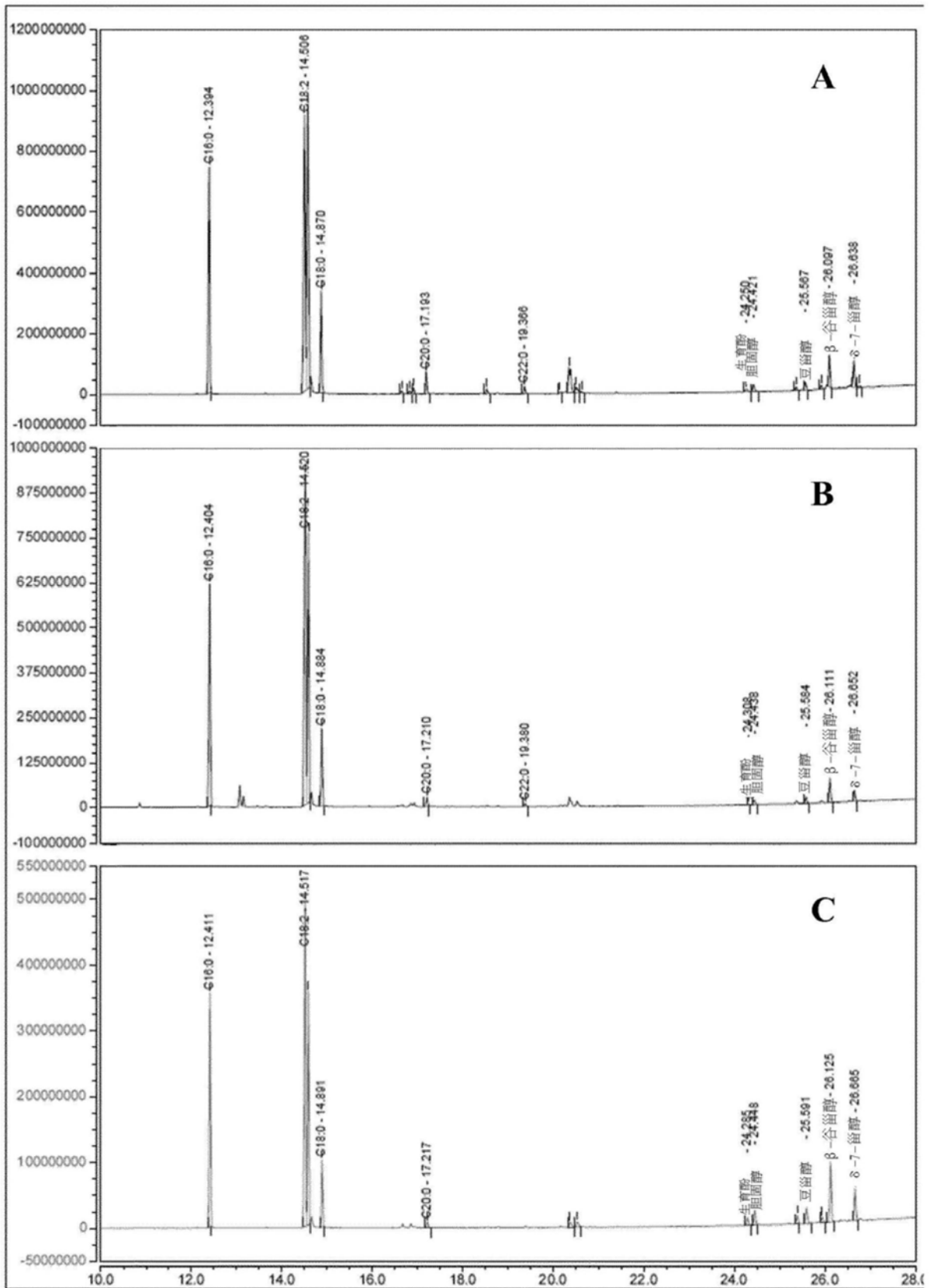


图4

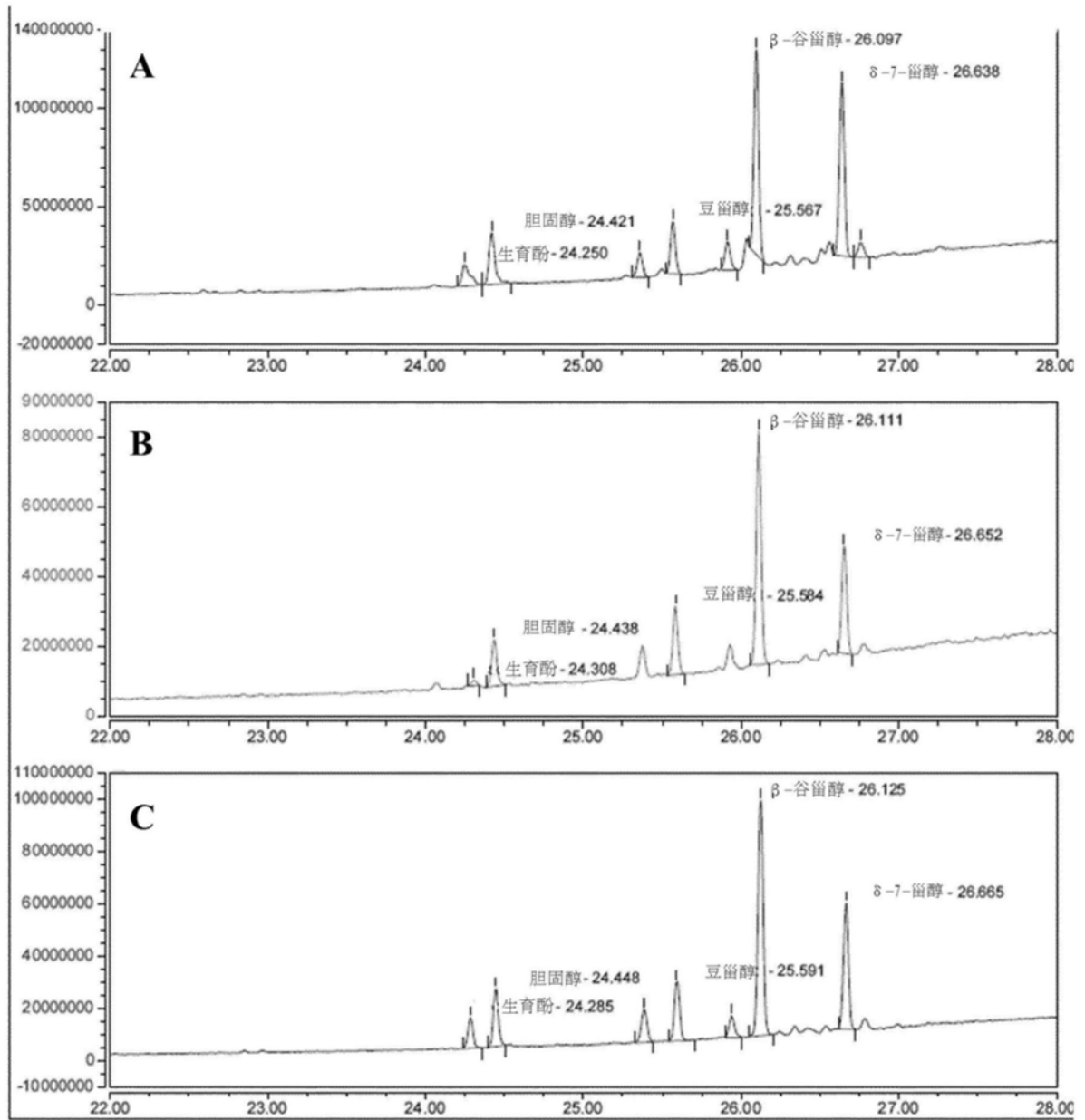


图5

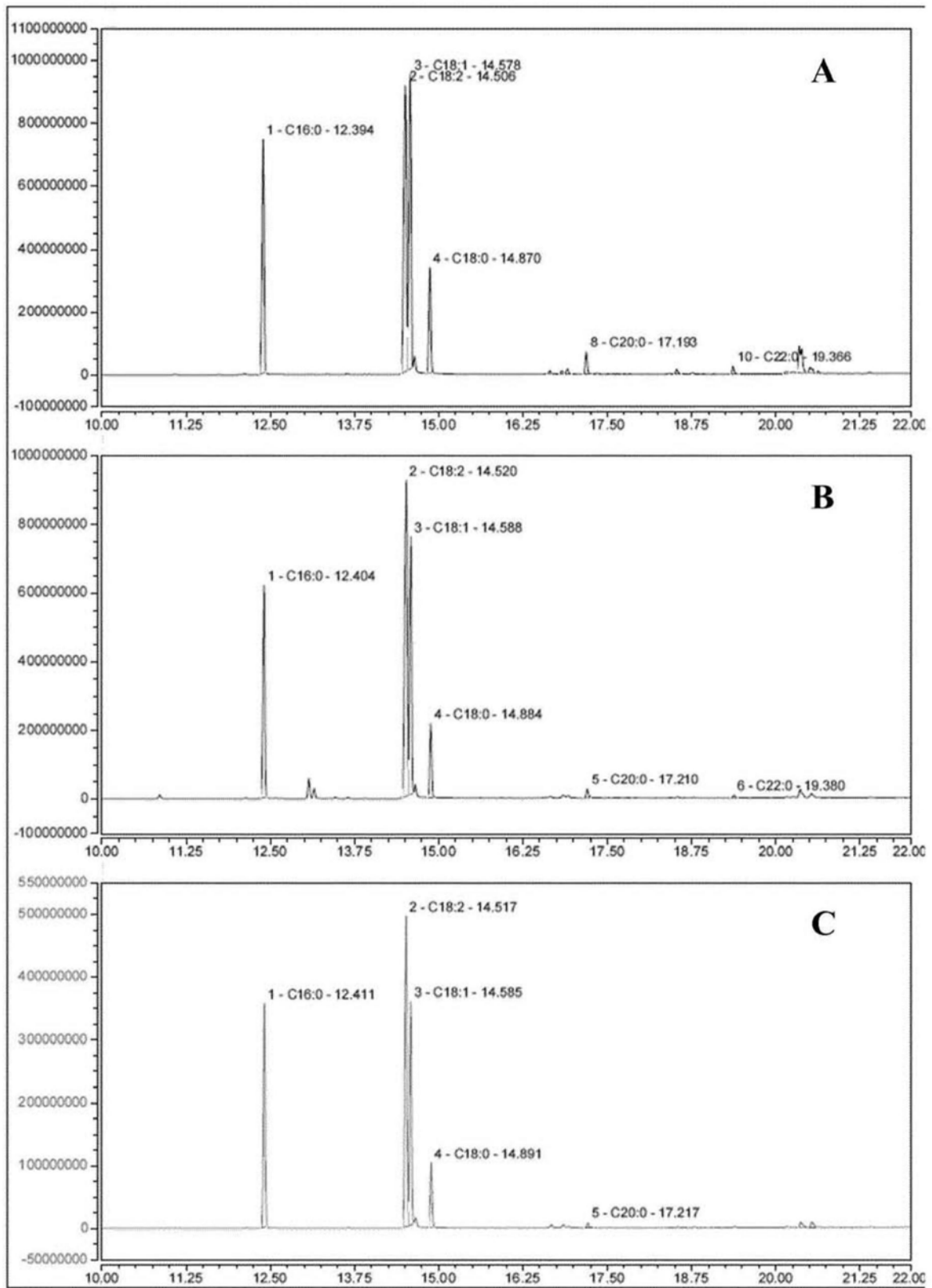


图6

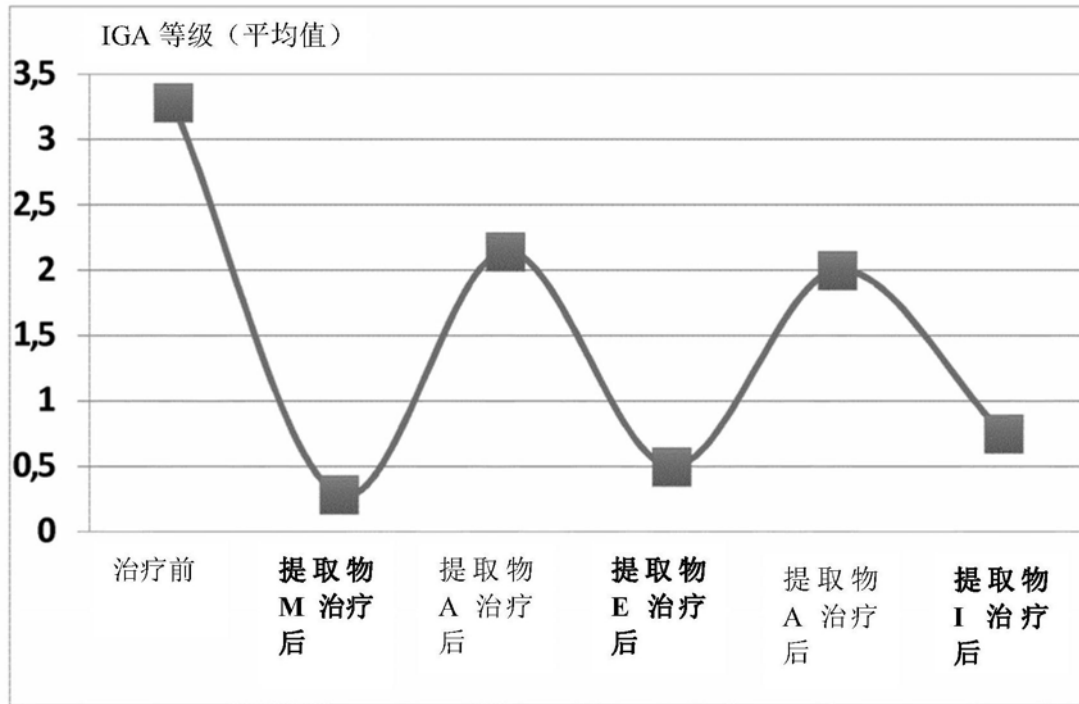


图7

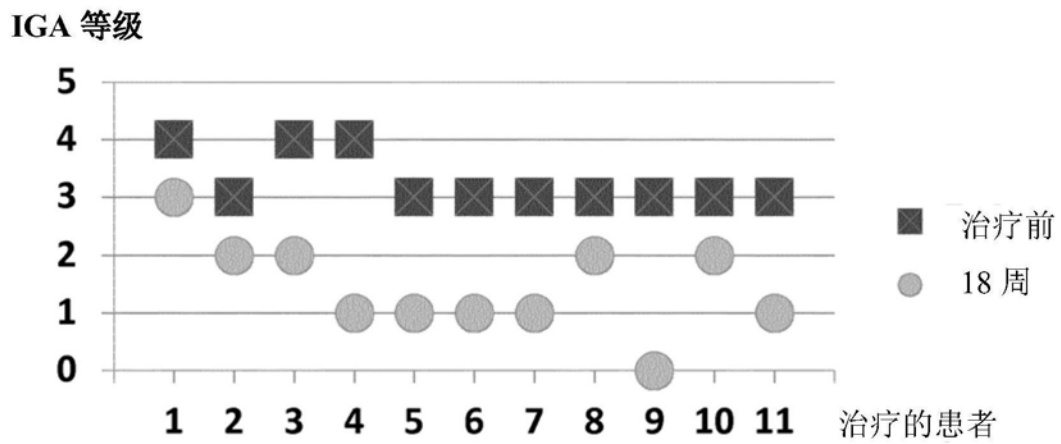


图8

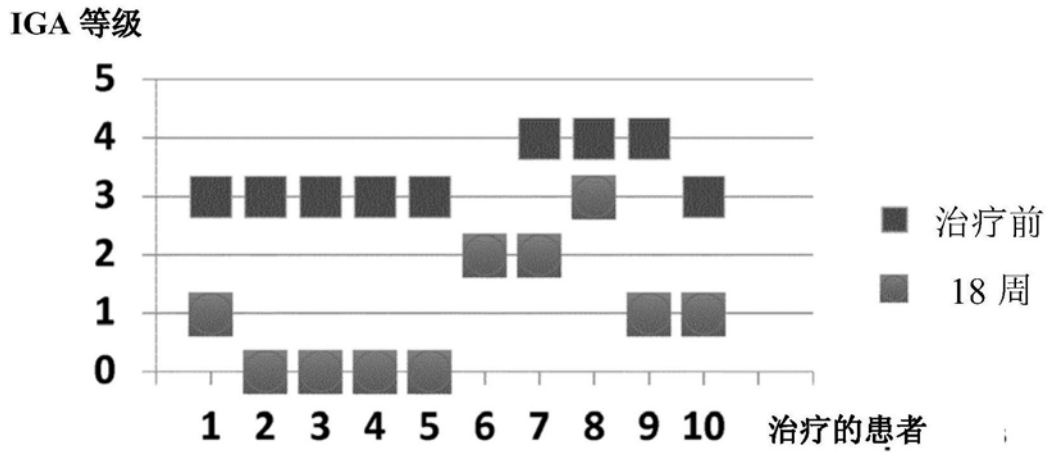


图9

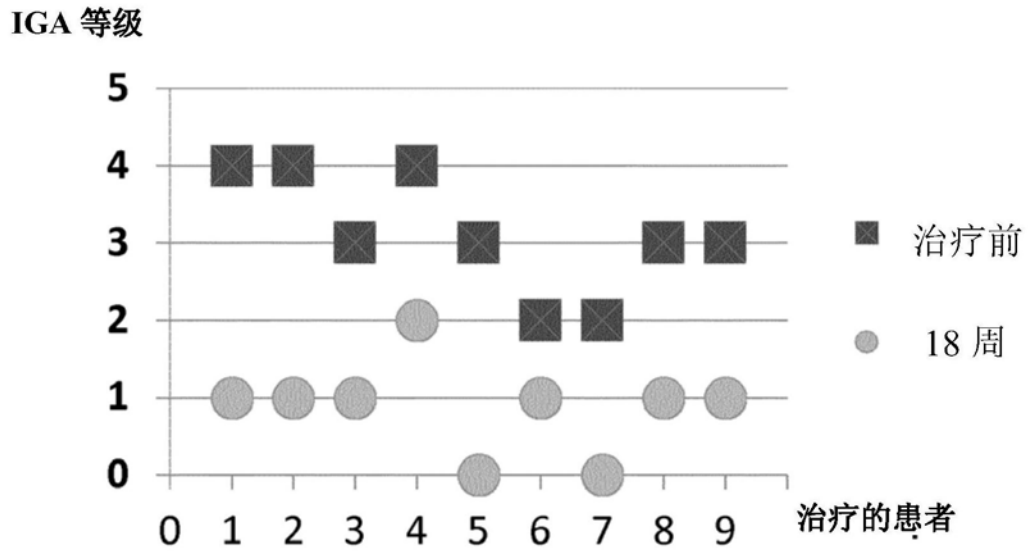


图10

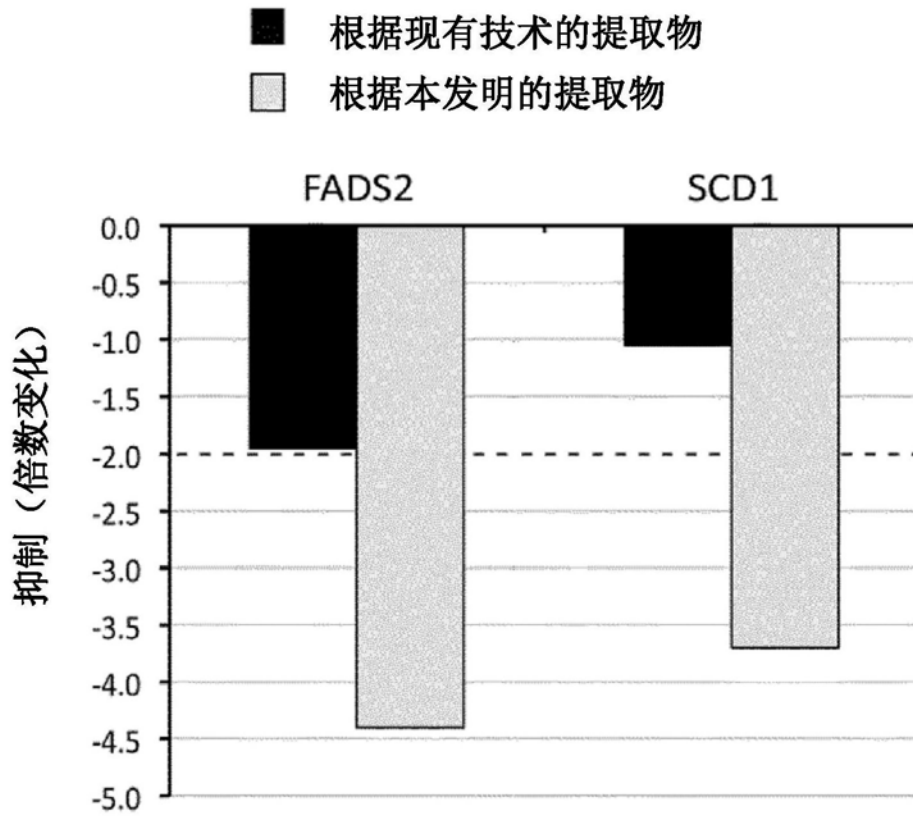


图11