

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 3 月 19 日 (19.03.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/052571 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 8/9789 (2017.01) *A61Q 17/04* (2006.01)
A61K 36/185 (2006.01) *A61Q 19/00* (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01) *A61P 17/18* (2006.01)
A61Q 9/02 (2006.01) *A61P 17/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/105221

(22) 国际申请日: 2019 年 9 月 10 日 (10.09.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201811052460.3 2018 年 9 月 10 日 (10.09.2018) CN

(71) 申请人: 爱卡德玛 (亚洲) 有限公司 (ACADERMA ASIA LIMITED) [CN/CN]; 中国香港特别行政区新界沙田香港科学园生物科技大楼 2 座 521 室, Hong Kong (CN)。

(72) 发明人: 胡舒婷 (HU, Shuting); 中国香港特别行政区新界沙田香港科学园生物科技大楼 2 座 521 室,

Hong Kong (CN)。西蒙 J·E·(SIMON, James, E); 中国香港特别行政区新界沙田香港科学园生物科技大楼 2 座 521 室, Hong Kong (CN)。吴忆箴 (WU, Yizhen); 中国香港特别行政区新界沙田香港科学园生物科技大楼 2 座 521 室, Hong Kong (CN)。王明福 (WANG, Mingfu); 中国香港特别行政区新界沙田香港科学园生物科技大楼 2 座 521 室, Hong Kong (CN)。吴庆立 (WU, Qingli); 中国香港特别行政区新界沙田香港科学园生物科技大楼 2 座 521 室, Hong Kong (CN)。

(74) 代理人: 上海一平知识产权代理有限公司 (XU & PARTNERS, LLC.); 中国上海市普陀区真北路 958 号天地科技广场 1 号楼 106 室, Shanghai 200333 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,

(54) Title: USE OF COMBRETUM MICRANTHUM EXTRACT IN COSMETICS

(54) 发明名称: 小花风车子提取物在化妆品中的用途

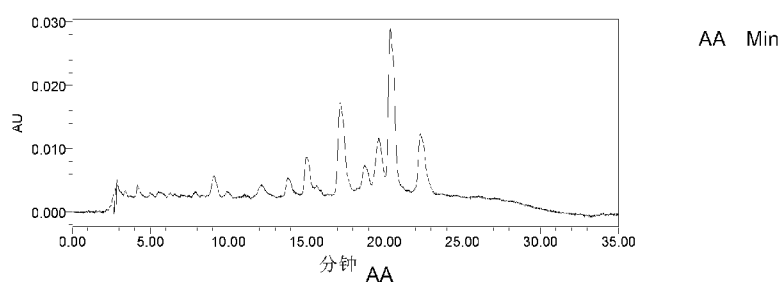


图 1

(57) Abstract: Disclosed is a use of Combretum Micranthum extract in cosmetics. Processes such as a solvent extraction method and a chromatographic method are specifically used, it is found that a Combretum Micranthum plant or its extract has the effects of moisturizing, anti-inflammatory, post-sun repair, repair of skin barrier, repair of UV-induced DNA damage, whitening, fading spots and resisting saccharification and the like. The prepared Combretum Micranthum extract can be added into cosmetics as an active ingredient thereof. The cosmetic or drug containing the Combretum Micranthum extract has the efficacies of moisturizing, anti-inflammatory, post-sun repair, repair of skin barrier, repair of UV-induced DNA damage, whitening, lightening spots and resisting saccharification and the like, thereby achieving the effect of skin care and beauty.

(57) 摘要: 小花风车子提取物在化妆品中的用途。具体地采用溶剂提取法、溶剂萃取法、色谱法等工艺, 发现小花风车子植物或其提取物具有保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等作用。制成的小花风车子提取物可作为化妆品的活性成分添加入化妆品中。所述含有小花风车子提取物的化妆品或药物具有保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等功效, 从而达到护肤美容的效果。

JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

小花风车子提取物在化妆品中的用途

技术领域

5 本发明涉及化妆品和医疗领域，具体涉及小花风车子提取物在化妆品中的用途。

背景技术

10 化妆品是现代人们生活的巨大需求。化妆品是指以涂敷、揉擦、喷洒等不同方式，涂加在人体皮肤、毛发、口唇等处，起清洁、保护、美化、促进身心愉快等作用的日用化学工业产品。随着社会的进步，人们对于化学合成类化妆品的副作用有了更深的认识，于是人们更加倾向于选择安全、天然的动植物源的天然化妆品。

天然化妆品指的是用天然植物萃取物提炼的成分研制而成的化妆品。但目前市场上的含天然植物萃取物的化妆品效果并不明显。

15 因此，本领域亟需开发新的安全、能有效护理皮肤的天然化妆品。

发明内容

本发明的目的是提供一种新的安全、能有效护理皮肤的天然化妆品。

本发明的又一目的是提供一种小花风车子提取物在药物或化妆品中的新用途。

20

本发明第一方面，提供了一种小花风车子植物、或其中药药材、或小花风车子提取物的用途，用于制备药物或化妆品组合物，并且所述药物或化妆品组合物用于：晒后修复、抗炎、保湿、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化、或其组合。

25 在另一优选例中，所述的晒后修复包括修复紫外诱导的细胞损伤、修复紫外线诱导的急性红斑，或其组合。

在另一优选例中，所述抗炎包括抑制 IL-6 和/或 IL-8 的生成。

在另一优选例中，所述紫外线选自下组：UVA、UVB，或其组合。

在另一优选例中，所述细胞为表皮细胞。

30 在另一优选例中，所述表皮细胞包括：角质层形成细胞、树枝状细胞，或其组合。

在另一优选例中，所述药物或化妆品组合物用于抗衰老和/或抗氧化。

在另一优选例中，所述的小花风车子提取物包括小花风车子植物或其同属植物的枝、叶、根、花、果和/或茎的水溶性的和/或脂溶性的提取物。

在另一优选例中，所述的小花风车子提取物包括水提取物、水性溶剂提取物、
5 醇提取物、或其组合。

在另一优选例中，所述的小花风车子提取物为叶的提取物。

在另一优选例中，所述的小花风车子提取物为小花风车子植物或其同属植物的叶的水溶性提取物。

在另一优选例中，所述的提取物含有一种或多种选自下组的组分：多糖(如水
10 溶性多糖)、植物多酚、多酚糖苷类、或其组合。

在另一优选例中，所述的提取物是通过溶剂提取法、萃取法、和/或色谱法而获得的。

在另一优选例中，所述提取物的提取剂选自下组：水、醇类(优选 C1-C4 醇，如甲醇、乙醇、丙醇)、水性溶剂、或其混合物。

15 在另一优选例中，所述提取物是通过本发明提取方法提取得到的。

在另一优选例中，所述药物或化妆品组合物还包括选自下组的额外组分：美白或祛斑成分、抗炎成分、抗氧化成分、抗紫外线成分、或其组合。

在另一优选例中，所述药物组合物包括：粉剂、颗粒剂、胶囊剂、注射剂、酊剂、口服液、片剂或含片。

20 在另一优选例中，所述化妆品组合物的剂型为固体剂型、半固体剂型、或液体剂型，如溶液、凝胶、膏霜、乳液、膏剂、霜剂、糊剂、饼、粉剂、贴剂等。

本发明第二方面，提供了一种可用于制备药物或化妆品组合物的有效部位，所述的有效部位具有以下特征：

25 (a) 该有效部位是提取自小花风车子的枝、叶、根、花、果和/或茎的水溶性、脂溶性、和/或醇提取物；

(b) 该有效部位具有选自下组的功能：保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化、或其组合。

在另一优选例中，所述有效部位用于抗衰老和/或抗氧化。

30 在另一优选例中，所述有效部位含有一种或多种选自下组的组分：多糖(如水溶性多糖)、植物多酚、多酚糖苷类、或其组合。

在另一优选例中，所述有效部位是通过溶剂提取法、萃取法、和/或色谱法而获得的。

在另一优选例中，所述有效部位的提取剂选自下组：水、醇类(优选 C1-C4 醇，如甲醇、乙醇、丙醇)、水性溶剂、或其混合物。

5 在另一优选例中，所述有效部位是通过本发明提取方法提取得到的。

本发明第三方面，提供了一种药物或化妆品组合物，含有(a)本发明第二方面所述的有效部位；和(b)药学上或化妆品学上可接受的载体或赋形剂。

10 在另一优选例中，所述药物或化妆品组合物用于：保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化、或其组合。

在另一优选例中，所述药物或化妆品组合物用于抗衰老和/或抗氧化。

在另一优选例中，在所述化妆品组合物中，(干燥)有效部位的质量百分比为 0.0001-15wt%，较佳 0.0001-10wt%，较佳地 0.001-5wt%，以化妆品组合物的总重量计。

15 在另一优选例中，在所述药物组合物中，(干燥)有效部位的质量百分比为 0.001-50wt%，较佳地 0.01-20wt%，以药物组合物的总重量计。

在另一优选例中，所述药物或化妆品组合物还包括选自下组的额外组分：美白或祛斑成分、抗炎成分、抗氧化成分、抗紫外线成分、或其组合。

20 在另一优选例中，所述化妆品学上可接受的载体或赋形剂选自下组：保湿剂、抗氧化剂、抗紫外线剂、防腐剂、成膜剂、油溶性凝胶化剂、有机改性粘土矿物、树脂、抗菌剂、香精、盐类、pH 调节剂、螯合剂、清凉剂、抗炎剂、皮肤美化用成分、维生素、氨基酸、核酸、激素、包合化合物或其组合。

在另一优选例中，所述药物组合物包括：粉剂、颗粒剂、胶囊剂、注射剂、酏剂、口服液、片剂或含片。

25 在另一优选例中，所述化妆品组合物的剂型为固体剂型、半固体剂型、或液体剂型，如溶液、凝胶、膏霜、乳液、膏剂、霜剂、糊剂、饼、粉剂、贴剂等。

在另一优选例中，所述化妆品组合物用于护肤美容、防晒、或晒后修复。

在另一优选例中，所述化妆品组合物含有本发明第二方面所述的有效部位(小花风车子提取物)作为有效成分。

30

本发明第四方面，提供了一种制备药物或化妆品组合物的方法，包括步骤：

将本发明第二方面所述的有效部位与药学上或化妆品学上可接受的载体混合,从而形成药物或化妆品组合物。

应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

附图说明

图 1 显示了实施例 1 中 1.7 方法制备的提取物的 HPLC 图谱。

图 2 显示了小花风车子提取物 1 能显著提高细胞存活率。

图 3 显示了小花风车子提取物 2 能显著提高细胞存活率。

图 4 显示了小花风车子水提取物减少了 UVA 诱导的活性氧(ROS)的生成。

图 5 显示了小花风车子水提取物可以抵抗 UVA 诱导的硝基酪氨酸的增加。

图 6 显示了小花风车子水提取物降低了紫外条件下 IL-6 和 IL-8 的生成。

具体实施方式

本发明人经过广泛而深入的研究,首次意外发现小花风车子植物、或其中药材、或小花风车子提取物在药物或化妆品(如护肤品)中的用途。具体地,本发明采用溶剂提取法、溶剂萃取法、色谱法等工艺,发现小花风车子植物或其提取物具有保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等作用。本发明制成的小花风车子提取物可作为化妆品的活性成分添加入化妆品中。所述含有小花风车子提取物的化妆品或药物具有保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等功效,从而达到护肤美容的效果。在此基础上完成了本发明。

小花风车子

小花风车子, *Combretum micranthum*(又称 kinkeliba), 是一种在西非丛林地区发现的无驯化的灌木物种。它是一种浓密的灌木或藤蔓, 常见于耕地和休耕地, 主要位于撒哈拉以南非洲, 塞内加尔、马里和布基纳法索的产量较高。在几个热带西非大草原国家中, 人们会从野生种群的小花风车子获取它的叶子用作流行的传统草本茶。小花风车子作为灌木茶, 具有令人愉快的味道, 茶水浅至深绿褐色。该茶

也被当地用作一种传统的万能药具有利尿和帮助消化问题的功能，如肠胃问题，绞痛和呕吐。

以前的植物化学研究中发现小花风车子的提取物中富含黄酮类化合物包括牡荆素，异牡荆素，荭草素(orientin)，异荭草素(homoorientin)，杨梅素-3-O-葡萄糖苷和杨梅素-3-O-芸香糖苷；生物碱包括水苏碱，羟基水苏碱和胆碱；和糖醇，包括间肌醇和山梨糖醇；和黄烷类生物碱，包括 kinkeloids A, B, C 和 D。有报道显示小花风车子的乙酸乙酯提取物中所富含的黄酮类化合物具有降血糖活性。

本发明首次发现小花风车子植物或其提取物具有保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等作用。本发明制成的小花风车子提取物可作为化妆品有效成分添加入化妆品中。

有效部位

如本文所用，术语“本发明的提取物”和“本发明的有效部位”可互换使用，均指提取自小花风车子植物的，具有保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等作用的提取物。

在本发明中，本发明有效部位可用小花风车子植物为原料进行提取。

此外，虽然本发明有效部位可来自于小花风车子植物的全株，优选从小花风车子植物的地上部分如叶等部位提取。

如本文所用，术语“提取物”或“有效部位”包括水溶性的和/或脂溶性的提取物。该术语还包括醇提取物、或水提取物、或水性溶剂提取物。此外，还包括有效部位群，即含有脂溶性有效部位和水溶性有效部位的提取物或其混合物。

如本文所用，“水溶性提取物”指的是可溶于极性溶剂(优选地，水)的提取物。

在另一优选例中，本发明提取物是通过本发明提取方法提取得到的。

经分析，本发明有效部位所含的化学成分至少包括一种或多种选自下组的物质：多糖(如水溶性多糖)、植物多酚、多酚糖苷类、或其组合。本发明有效部位具有保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等作用。

经分析，本发明有效部位所含的总多酚含量 $\geq 1\text{wt}\%$ ，较佳地 $\geq 5\text{wt}\%$ ，更佳地， $5-80\text{wt}\%$ ，更佳地， $10-75\text{wt}\%$ ，最佳地， $15-70\text{wt}\%$ ，以所述有效部位干重计。

在本发明的一个实施方式中，所述的提取物具有图 1 所示的 HPLC 图谱。

可用于制备本发明的小花风车子提取物的方法没有特别限制。可以用常规方

法，以小花风车子植物为原料，获得水溶性的和/或脂溶性的提取物。

在本发明的一个优选例中，有效部位的制备通过溶剂提取法、萃取法、超临界萃取法和/或色谱法进行。

在本发明中，提取次数可以是一次或多次(如 2 次、3 次、4 次、5 次)。当多次
5 提取时，可将多次的提取物合并后进行后续处理。

在本发明中，对于溶剂提取法，其所用的溶剂没有特别限制，代表性的例子包括(但并不限于)：水、乙醇、甲醇、水性溶剂中的一种或几种溶剂的混合溶剂。

在本发明中，水性溶剂指水与其他溶剂如醇(尤其是 C1-C4 醇，如乙醇、丙醇)所形成的混合溶剂。通常，在水性溶剂中，醇溶剂的含量为 0.01-80wt%，较佳地
10 5-60wt%，更佳地为 10-30wt%，按水性溶剂的总重量计。

在本发明中，对于溶剂萃取法，其所用的溶剂没有特别限制，代表性的例子包括(但并不限于)：正丁醇、二氯甲烷、氯仿、C5-C7 烷烃、环己烷、石油醚中的一种或几种溶剂的混合溶剂。萃取次数可以是一次或多次。

在本发明中，对于超临界萃取，其所用溶剂没有特别限制，代表性的例子包括
15 (但并不限于)：二氧化碳或丙烷。

在本发明中，对于柱色谱法，其柱色谱没有特别限制，代表性的例子包括(但并不限于)：活性碳、硅胶、反相硅胶、大孔树脂、葡聚糖凝胶中的一种或几种的组合。

在本发明的一个优选例中，以小花风车子植物叶(干燥或新鲜的叶)为原料，以
20 足量的水(如 5-200 倍重量的水)或水性溶剂提取 1-5 次，从而获得水性提取物。此外，本发明中，还可进一步地从水性提取物中分离(或去除)脂溶性成分，从而获得水溶性成分含量(或相对含量)更高的小花风车子提取物，或主要含水溶性成分的小花风车子提取物。

在本发明中，一种去除脂溶性成分的优选方法包括：用脂溶性溶剂(如乙酸乙
25 酯、己烷等)对提取物进行萃取处理，经脂溶性溶剂萃取后剩余的水溶液为优选的有效部位。经测试，该有效部位具有显著更低或没有细胞毒性。

在本发明的一个实施方式中，所述提取方法包括以下步骤：

- a. 提供小花风车子，优选地小花风车子叶；
- b. 用提取剂提取所述小花风车子；
- 30 c. 任选至少部分地除去提取剂以获取浓提取物；
- d. 任选去除提取物中脂溶性成分；

e. 任选至少部分地除去提取剂以获取浓提取物;

f. 任选干燥以获得提取物。

在另一优选例中, 所述提取剂为水、乙醇、甲醇、水性溶剂、或其混合物。

在另一优选例中, 步骤 b 中所述提取是 1 次或多次提取。

5 在另一优选例中, 所述提取在 5-100℃(优选 20-95℃)下进行。

在另一优选例中, 所述干燥为喷雾干燥或真空干燥(如真空冷冻干燥)。

应用

如本文所用, 术语“药物或化妆品组合物”包括(a)本发明所述的有效部位; 和(b)
10 药学上或化妆品学上可接受的载体或赋形剂。此外, 所述药物组合物还包括保健品组合物, 所述化妆品组合物包括护肤品。

有可能将本发明的小花风车子提取物制备成药物组合物, 诸如片剂、胶囊、粉
剂、微粒剂、溶液剂、锭剂、胶冻、乳膏制剂、酊剂、悬液、酏、泥敷剂、搽剂、
洗剂、和喷雾剂之类的剂型。药物能够由通常已知的制备技术来制备, 并且合适的
15 药物添加剂能够被添加到该药物中。

药物添加剂的例子包括赋形剂、粘结剂、分解剂、润滑剂、流动助剂、悬浮剂、
乳化剂、稳定剂、保温(润湿)剂、防腐剂、溶剂、增溶剂、防腐剂、调味剂、增甜
剂、染料、香料、推进剂等, 这些药物添加剂可以进行选择并以在不影响本发明的
效果的范围内的合适量添加。

20 有可能将本发明的小花风车子提取物制备成化妆品组合物, 如乳剂、液体、膏剂、霜剂、糊剂、饼、粉剂之类的剂型。

在不妨碍本发明的效果的范围内, 本发明的化妆品中可以添加通常的化妆品中
使用的其它成分, 例如成膜剂、油溶性凝胶化剂、有机改性粘土矿物、树脂、保湿
剂、防腐剂、抗菌剂、香精、盐类、抗氧化剂、pH调节剂、螯合剂、清凉剂、抗
25 炎剂、皮肤美化用成分(美白剂、细胞活性剂、皮肤粗糙改善剂、血液循环促进剂、
皮肤收敛剂、抗脂漏剂等)、维生素类、氨基酸类、核酸、激素、包合化合物等。

油溶性凝胶化剂是选自硬脂酸铝、硬脂酸镁、肉豆蔻酸锌等金属皂; N-月桂
酰基-L-谷氨酸、 α , γ -二-正丁基胺等氨基酸衍生物; 环糊精棕榈酸酯、环糊精硬脂
酸酯、环糊精2-乙基己酸棕榈酸酯等环糊精脂肪酸酯; 蔗糖棕榈酸酯、蔗糖硬脂酸
30 酯等蔗糖脂肪酸酯; 一亚苄基山梨醇、二亚苄基山梨醇等山梨醇的亚苄基衍生物;
二甲基苄基十二烷基铵蒙脱石粘土、二甲基二十八烷基铵蒙脱石粘土等有机改性粘

土矿物等的凝胶化剂，可以根据需要使用一种，或者使用二种或以上。

保湿剂有：甘油、山梨醇、丙二醇、双丙甘醇、1, 3-丁二醇、葡萄糖、木糖醇、麦芽糖醇、聚乙二醇、透明质酸、硫酸软骨素、吡咯烷酮羧酸盐、聚氧乙烯甲基葡糖苷、聚氧丙烯甲基葡糖苷等。

- 5 抗菌防腐剂有：对羟基苯甲酸烷基酯、苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、苯氧基乙醇等，抗菌剂有：苯甲酸、水杨酸、石炭酸、山梨酸、对羟基苯甲酸烷基酯、对氯间甲酚、六氯酚、苯扎氯铵、氯化洗必泰、三氯-N-碳酰苯胺、三氯生、感光素、苯氧基乙醇等。

- 10 抗氧化剂有：生育酚、丁基羟基茴香醚、二丁基羟基甲苯、植酸等，pH调节剂有：乳酸、柠檬酸、乙醇酸、琥珀酸、酒石酸、dl-苹果酸、碳酸钾、碳酸氢钠、碳酸氢铵等，螯合剂有丙氨酸、乙二胺四乙酸钠盐、多磷酸钠、偏磷酸钠、磷酸等，清凉剂有：L-薄荷醇、樟脑等，抗炎剂有：尿囊素、甘草亭酸、甘草酸、凝血酸、甘葡环烯(Azulene)等。

- 15 皮肤美化用成分有：胎盘提取液、熊果苷、谷胱甘肽、虎耳草提取物等美白剂；蜂王浆、感光素、胆甾醇衍生物、小牛血液提取液等细胞活性剂；皮肤粗糙改善剂；壬酸缬草酰胺、烟酸苄酯、烟酸 β -丁氧基乙酯、辣椒素、姜油酮、斑蝥酐、鱼石脂、咖啡因、鞣酸、 α -冰片、烟酸生育酚、六烟酸肌醇脂、环扁桃酯、桂利嗪、妥拉唑啉、乙酰胆碱、维拉帕米、千金藤素、 γ -谷维醇等血液循环促进剂；氧化锌、鞣酸等皮肤收敛剂；硫、等抗脂漏剂等，维生素类有：维生素A油、松香油、乙酸松香油、棕榈酸松香油等维生素A类；核黄素、丁酸核黄素、黄素腺嘌呤核苷酸等维生素B2类；吡多辛盐酸盐、吡多辛二辛酸酯、吡多辛三棕榈酸酯等维生素B6类，维生素B12及其衍生物，维生素B15及其衍生物等维生素B类；L-抗坏血酸、L-抗坏血酸二棕榈酸酯、L-抗坏血酸-2-硫酸钠、L-抗坏血酸磷酸二酯二钾等维生素C类；麦角钙化醇、胆钙化醇等维生素D类； α -生育酚、 β -生育酚、 γ -生育酚、乙酸dl- α -生育酚、烟酸dl- α -生育酚、琥珀酸dl- α -生育酚等维生素E类；维生素H；维生素P；烟酸、烟酸苄酯、烟酰胺等烟酸类；泛酸钙、D-泛醇、泛酰基乙基醚、乙酰基泛酰基乙基醚等泛酸类；生物素等。
- 20
- 25

- 30 氨基酸类有：甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、胱氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、色氨酸等，核酸有脱氧核糖核酸等，激素有雌二醇、乙烯基雌二醇等。

本发明的化妆品的优选例子包括：皮肤护理化妆品、彩妆化妆品、防紫外线化

妆品。例如有乳液、霜、露、防晒剂、面膜材料、洗面奶、精华液等基础化妆品；粉底、白粉、腮红等彩妆化妆品等。

对于产品的形态没有特别限定，可以是液状、乳液状、霜状、固体状、糊状、凝胶状、粉末状、多层状、摩丝状(mousse)、喷雾状等。

- 5 本发明还提供了一种皮肤护理方法，所述方法包括步骤：对需要的个体施用本发明的所述的小花风车子提取物或本发明所述的组合物。

在另一优选例中，所述小花风车子提取物的有效浓度范围为 100 $\mu\text{g/ml}$ –500 mg/ml 。

- 10 在另一优选例中，所述方法为保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等方法。

在本发明中，所述的晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤等应用，既包括预防性的应用，也包括事后改善性的应用。例如，对于晒后修复，包括在晒之前、之中、和/或之后施用本发明的小花风车子提取物或组合物，以进行晒后修复。

15

本发明的主要优点包括：

(a) 首次发现了小花风车子对人体(如表皮)能明显保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化，该发现对于新化妆品或药物的开发具有重要意义。

- 20 (b) 小花风车子植物早已长期广泛使用，为药食两用植物，是一种安全的低毒副作用的常用药材。

(c) 制备有效部位的工艺简单实用，获得有效部位在低浓度时即能明显保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化。

- 25 下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数是重量百分比和重量份数。

30 实施例 1 小花风车子提取物的制备方法

1.1 取 500g(干重)的小花风车子叶，加入足量水后保持 85-100℃浸泡 30-60

min。若需要，可重复加水浸泡 1-4 次并合并提取液。将提取液浓缩至原体积的 1/3-1/4。加入乙酸乙酯，萃取后去除乙酸乙酯相，收集水相。减压浓缩后冻干成粉，待用。

1.2 95%乙醇(1:5-1:20)回流提取三次，1h/次。合并三次提取液，减压浓缩至无乙醇，得小花风车子粗提物浸膏。小花风车子粗提物浸膏中加入纯化水(1: 1)，超声混悬，转移至合适的分液漏斗中，然后依次用石油醚，乙酸乙酯，正丁醇分别萃取 3 次，分别合并石油醚层溶液，乙酸乙酯层溶液，正丁醇层溶液以及水溶液减压浓缩，得四组粗提物浸膏。

1.3 95%乙醇(1:5-1:20)室温浸泡三次，24h/次。合并三次提取液，减压浓缩至无乙醇，得小花风车子粗提物浸膏。小花风车子粗提物浸膏中加入纯化水(1: 1)，超声混悬，转移至合适的分液漏斗中，然后依次用石油醚，乙酸乙酯，正丁醇分别萃取 3 次，分别合并石油醚层溶液，乙酸乙酯层溶液，正丁醇层溶液以及水溶液减压浓缩，得四组粗提物浸膏。

1.4 水回流提取(1:5-1:20)三次，1h/次。合并三次提取液，减压浓缩至原体积的 1/4，得小花风车子粗提浓缩液，转移至合适的分液漏斗中，然后依次用石油醚，乙酸乙酯，正丁醇分别萃取 3 次，分别合并石油醚层溶液，乙酸乙酯层溶液，正丁醇层溶液以及水溶液减压浓缩，得四组粗提物浸膏。

1.5 水室温浸泡(1:5-1:20)三次，24h/次。合并三次提取液，减压浓缩至原体积的 1/4，得小花风车子粗提浓缩液，转移至合适的分液漏斗中，然后依次用石油醚，乙酸乙酯，正丁醇分别萃取 3 次，分别合并石油醚层溶液，乙酸乙酯层溶液，正丁醇层溶液以及水溶液减压浓缩，得四组粗提物浸膏。

1.6 沸水浸三次(1:50-1:100)，10-60min/次。合并三次提取液，减压浓缩至原体积的 1/4，得小花风车子粗提浓缩液，转移至合适的分液漏斗中，然后依次用石油醚，乙酸乙酯，正丁醇分别萃取 3 次，分别合并石油醚层溶液，乙酸乙酯层溶液，正丁醇层溶液以及水溶液减压浓缩，得四组粗提物浸膏。

1.7 将干燥的小花风车子叶用沸水(1:50-1:100)浸泡 10-60 分钟，此过程重复 1-3 次，合并水溶液冷却至室温。通过旋转蒸发浓缩水溶液。然后依次用乙酸乙酯和正己烷萃取，收集水层并真空蒸发至所需量，冷冻干燥，并在无水的条件下保持在室温下待分析。

1.8 将干燥的小花风车子叶(20g) 用沸水(1:10-1:50)浸泡 5-60 分钟，待水溶液冷却至室温，过滤后的提取液上大孔树脂，用同体积的纯水再上大孔树脂，用同体

积的 70%乙醇上大孔树脂，收集该部分体积溶液，旋干收集的提取液得浓缩液。将浓缩液放至喷粉干燥机内。干燥后，得干粉，并在无水的条件下保持在室温下待分析。

1.9 将干燥的叶子(1.0kg)研磨成细粉末用乙醇提取两次，第三次用 80%乙醇(v/v)溶液在室温下浸渍 24 小时。合并滤液并减压浓缩。粗提物溶于水/乙醇(95:5, v/v)，然后依次用正己烷，氯仿，乙酸乙酯和正丁醇分别萃取 3 次，分别合并正己烷层溶液，氯仿层溶液，乙酸乙酯层溶液，正丁醇层溶液和水溶液。减压浓缩，得五组粗提物浸膏。

在具有 DAD 检测器的 Waters 2695 HPLC 系统上进行 HPLC 分析。用 C18 柱色谱分离待分析样品，流动相由水(A)和乙腈(B)组成。代表性地，上述 1.7 方法制备的提取物具有图 1 所示的 HPLC 图谱

实施例 2 小花风车子水提取物的效果

1.细胞培养，小花风车子水提取物处理和 UVA 照射

人原代表皮角质形成细胞购自美国模式培养物保藏所(ATCC)(Rockville, MD, USA)。第 1-5 代的角质形成细胞在真皮细胞基础培养基中于 37℃, 5%CO₂ 中培养。培养基补充角质形成细胞生长试剂盒，其中含有 0.4%牛垂体提取物(BPE), 0.5 ng / mL rh TGF- α , 6 mM L-谷氨酰胺, 100 ng / mL 氢化可的松, 5 μ g / mL 胰岛素, 1.0 μ M 肾上腺素和 5 μ g / mL 载脂蛋白 - 转铁蛋白。将小花风车子水提取物稀释至不同浓度，并根据不同的实验装置在 UV 照射之前或之后加入细胞培养基中。使用 UVP CL-1000L 荧光灯(Fisher Scientific, USA)照射细胞，总共 4.5 J / cm² UVA。在整个过程中对所有细胞进行相同的处理。在照射前，用 PBS 洗涤细胞，用薄的 PBS 层覆盖，并在没有塑料盖的情况下用 UVA 照射。使用 UVA-365 辐射计(Lutron Co, Taiwan)测量 UVA 照射的强度。

2.细胞存活率测量

根据制造商的说明，通过 CCK-8 测定法测量细胞存活率。在通过 UVA 照射或小花风车子水提取物的处理后，用 PBS 洗涤细胞三次。随后，向每个孔中加入含有 10% 的 CCK-8 溶液的培养基。温育 2 小时后，使用 Victor X4 Multilabel Plate Reader(PerkinElmer, MA, USA)在 450nm 处测量吸光度。实验结果如图 2-3 所示，其中提取物 1 为实施例 1 中 1.8 所得提取物，提取物 2 为实施例 1 中 1.1 所得提取物，由图可知，小花风车子提取物能够显著提高细胞存活率，降低紫外线对细胞的

伤害。

3.细胞氧化应激(ROS)测量

通过用 CCK-8 测定法校正的 DCFA 评估细胞中 ROS 的形成,以解释 UVA 辐射后的细胞损失,测试前 24 小时,以每孔 15,000 个角质形成细胞的密度接种 96 孔板。用不同浓度的小花风车子水提取物预处理 HEK 细胞 24 小时,然后在 UVA 照射之前用 PBS 洗涤三次。在用 4.5 J/cm^2 UVA 照射后,100 μL 含有 DCFA(25 μM)的 PBS 加入细胞在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培育 30 分钟后进行细胞内 ROS 的荧光测定。将平板置于 Victor X4 Multilabel Plate Reader(PerkinElmer, MA, USA)中。使用 485nm 的激发波长和 535nm 的发射波长监测荧光。在汇集之前用 CCK-8 测定法所测定的细胞存活率校正个体吸光度值。

紫外线辐射是对皮肤的主要环境威胁。它通过产生活性氧导致光氧化损伤的增加。结果如图 4 所示,与对照组相比,UVA 组显著增加细胞活性氧的产生。同时,用小花风车子水提取物预处理减少了 UVA 诱导所增加的活性氧。结果表明,小花风车子具有修复紫外线所引起的氧化损伤作用,可延缓皮肤衰老。

4.硝基酪氨酸的测量

使用竞争性 ELISA 试剂盒 ab113848(Abcam, Cambridge, MA, USA)中提供的试剂进行硝基酪氨酸的检测。3NT BSA 用作标准阳性对照以验证测定。简言之,在测试前 24 小时将 2×10^5 /孔角质形成细胞接种在 24 孔板中。在 UVA 照射后,随后用小花风车子水提取物处理 16 小时后,通过刮擦收集贴壁细胞。在冰上,将细胞沉淀溶解于提取缓冲液中 20 分钟。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下离心 20 分钟后,收集上清液。将每个样品稀释并通过蛋白质浓度测定将其调节至大致相同的蛋白质浓度(Bio-Rad, Hercules, CA)。将 50 微升每种稀释的标准品或样品与 50 μL 的 2 $\times$ HRP 检测抗体一起加入到经硝酸酪氨酸包被的 96 孔微孔板的每个孔中,并在室温下温育 2 小时。洗涤四次后,向每个孔中加入 100 μL HRP 开发溶液。根据制造商的说明测量 OD 值。硝基酪氨酸的浓度通过 3NT BSA 产生的标准曲线计算。

结果如图 5 所示,在 UVA 诱导过后,与对照细胞相比,UV 组的硝基酪氨酸含量显著增加。与 UV 组相比,用小花风车子水提取物处理的角质形成细胞中的硝基酪氨酸水平显著降低,说明小花风车子具有抗炎作用。

5.8-OHdG 的测量

作为氧化性 DNA 损害副产品之一,8-OHdG 是一种普遍存在的氧化应激因子。使用 OxiSelect Oxidative DNA Damage ELISA Kit (8-OHdG Quantitation) (Cell

Biolabs, San Diego, USA), 实现了 DNA 样品中 8-OHdG 的测量。接种角质形成细胞在 6 孔板中, 密度为 8×10^5 /孔。24 小时孵育后, 将细胞暴露于 $4.5 \text{ J} / \text{cm}^2$ UVA。照射后, 细胞在有或没有用小花风车子水提取物处理的情况下在 37°C 下孵育 60 分钟。随后, 使用 0.05%胰蛋白酶-EDTA 溶液收获细胞。使用 DNeasy 血液和组织试剂盒(Qiagen, CA, USA)提取 DNA 样品。将每种 DNA 样品在冷 PBS 中稀释至 $40 \mu\text{g} / \text{mL}$ 。然后通过将 DNA 样品在 95°C 下孵育 10 分钟, 在冰上快速冷却 10 分钟, 把 DNA 样品转化为单链 DNA。与 10 单位核酸酶 P1 在 37°C , 20mM 乙酸钠(pH 5.2)中孵育 2 小时后, 变性的 DNA 样品将被消化成核苷, 然后用 5 单位碱性磷酸酶在 37°C , 100 mM 的 Tris(pH7.5)下处理 1 小时。然后将反应混合物在 6000g 下离心 5 分钟, 并将上清液用于 8-OHdG ELISA 测定。每个样品中 8-OHdG 的量将通过将其吸光度与已知标准曲线的吸光度进行比较来确定。

6.CPD 的测量

使用 OxiSelect™ Oxidative UV-induced DNA Damage ELISA 试剂盒(Cell Biolabs, San Diego, USA)实现 DNA 样品中 CPD 的检测和定量。将角质形成细胞以 4×10^5 /孔的密度接种在 12 孔板中。在用或不用小花风车子水提取物处理孵育 24 小时后, 将细胞暴露于 $4.5 \text{ J} / \text{cm}^2$ UVA。照射后, 在 37°C 下温育, 细胞进行或不进行处理 60 分钟, 90 分钟和 120 分钟。随后, 使用 0.05%胰蛋白酶-EDTA 溶液收获细胞。DNA 样本使用 DNeasy 血液和组织试剂盒(Qiagen, CA, USA)提取。将每种 DNA 样品在冷 PBS 中稀释至 $2 \mu\text{g} / \text{mL}$ 。然后通过将 DNA 样品在 95°C 温育 10 分钟并在冰上快速冷却 10 分钟, 将 DNA 样品和 CPD-DNA 标准品转化为单链 DNA。将 $100 \mu\text{L}$ 稀释在冷 PBS 中的变性 DNA 样品或 CPD-DNA 标准品添加到 DNA 高结合板的孔中用于进一步的 ELISA 测定。每个样品中的 CPD 数量将通过比较其吸光度与已知 CPD-DNA 标准曲线的吸光度来确定。

7. IL-6 和 IL-8 表达的测量

使用 Human IL-6 ELISA Kit (ab178013), Human IL-8 ELISA Kit (ab214030) 试剂盒进行。在使用前 24 小时, 在有或没有小花风车子水提取物处理的情况下将密度为 2×10^5 /孔角质形成细胞接种在 24 孔板中。随后的测量将根据制造商的说明进行。结果如图 6 所示, 结果表明, 小花风车子能够显著抑制紫外线诱导生成的 IL-6 和 IL-8, 表明小花风车子有着显著的抗炎功效, 能够舒缓皮肤。

8.临床测试

皮肤科医生选择了 30 名受试者, 18 名受试者最终完成了测试, 12 名受试者因

个人原因退出。提前一日在受试者的大腿前侧的皮肤上选择约 5cm×6cm 的均匀皮肤区域，并且设定六个照射孔，其中每个照射孔的辐射剂量增加 25%。24 小时后，观察结果表明，最早出现完整和轻微红斑所需的紫外线照射剂量为 MED。测试日，在受试者的大腿另一侧选择具有约 5cm×6cm 的均匀肤色的区域作为 UV 诱发的红斑区域，6 个照射孔的照射剂量均设为 1.5MED。然后获得均匀颜色的 6 个红斑作为实验目标部位。根据随机表，一个照射孔作为空白对照，没有任何应用。

肤色通过分光光度计测量 L^* 、 a^* 和 b^* 的值。 a^* 值用于评估皮肤的红色程度，它是反映产品抗炎和舒缓能力的重要指标。 a^* 值越低，皮肤修复的越好。 a^* 值的减少代表修复程度。在 D1(第 1 天)和 D3(第 3 天)测量 a^* 值，在阳性对照组(舒缓凝胶，样品 1)、小花风车子提取物(稀释后施用，施用量为每照射孔约 20 μ g 提取物，(样品 2))，以及空白组中减少。

首先，假设两组的修复程度没有差异，即阳性对照组以及小花风车子提取物的减少值没有显著大于空白组。使用“D3-D1”来表示 a^* 值在这三天内的减少量；“ $\Delta a(1-blk)$ ”表示阳性对照组与空白组之间的修复程度差异的程度。类似地，“ $\Delta a(2-blk)$ ”表示小花风车子提取物组与空白组之间的修复程度差异的程度。差异如下表 1 所示。

表 1. 组间 a^* 值减少的比较

受试者	样品 1		样品 2		空白对照组
	D3-D1	$\Delta a(1-blk)$	D3-D1	$\Delta a(2-blk)$	D3-D1
1	-0.98	-0.70	-1.27	-1.00	-0.27
5	0.02	0.37	-0.62	-0.27	-0.35
7	-0.32	0.01	-0.29	0.04	-0.33
9	-1.65	-0.73	-1.72	-0.79	-0.92
10	-0.45	0.06	-0.24	0.27	-0.51
12	-0.99	-1.06	-0.12	-0.19	0.07
13	-0.03	-0.02	-0.90	-0.89	-0.01
14	-1.23	-0.65	-0.90	-0.32	-0.58
17	-0.56	-0.48	-0.13	-0.04	-0.09
19	-1.68	-0.32	-2.06	-0.69	-1.36
21	-1.20	-1.13	0.52	0.60	-0.07
22	-2.38	-0.80	-2.08	-0.50	-1.58
23	0.76	0.59	0.43	0.26	0.17
24	-1.09	-0.36	-1.11	-0.37	-0.74
25	-2.33	-1.42	-1.71	-0.79	-0.92
26	-0.30	-0.99	-0.26	-0.96	0.70
27	-1.33	-0.99	-0.58	-0.24	-0.34
29	-2.19	-0.63	-2.06	-0.50	-1.56

计算 $\Delta a(1-blk)$ 和 $\Delta a(2-blk)$ 的 95% 置信区间，如表 2 所示。根据假设，0 应该是在 95% 的置信区间内，但事实并非如此。该假设失败，这意味着与空白组相

比,样品的减少值存在显著差异。考虑到平均值(均小于 0),阳性对照(样品 1)和小花风车子提取物(样品 2)的下降值显著大于空白组下降值。

表 2. a*值减少的差异分析

样品	受试者人数	$\bar{x}$ *	95% 置信区间
1	18	-0.51	$-0.79 < \mu < -0.24$
2	18	-0.36	$-0.58 < \mu < -0.13$

5 * μ 表示平均值

将试验样品(阳性对照(样品 1)和小花风车子提取物(样品 2))施用于 18 名受试者的测试区域共 2 天。根据测试统计可以看出,与空白组相比,小花风车子提取物显著提高了紫外线诱导的红斑(1.5 MED)的修复程度,说明小花风车子具有明显的晒后修复、修复皮肤屏障、美白和淡斑的作用。

10

综上所述,小花风车子植物具有保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化等作用。因此可作为一种新的活性成分添加于护肤品以及药品中。

15

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权 利 要 求

1. 一种小花风车子植物、或其中药药材、或小花风车子提取物的用途，其特征在于，用于制备药物或化妆品组合物，并且所述药物或化妆品组合物用于：晒后
5 修复、抗炎、保湿、修复皮肤屏障、修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化、或其组合。

2. 如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述的晒后修复包括修复紫外线诱导的急性红斑、修复紫外诱导的细胞损伤，或其组合。

3. 如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述抗炎包括抑制 IL-6 和/或 IL-8
10 的产生。

4. 如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述的小花风车子提取物包括小花风车子植物或其同属植物的枝、叶、根、花、果和/或茎的水溶性的和/或脂溶性的提取物。

5. 如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述的小花风车子提取物为叶的
15 提取物。

6. 如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述的提取物是通过溶剂提取法、萃取法、超临界萃取法和/或色谱法而获得的。

7. 如权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述提取物的提取剂选自下组：水、醇类(优选 C1-C4 醇，如甲醇、乙醇、丙醇)、水性溶剂、或其混合物。

20 8. 一种可用于制备药物或化妆品组合物的有效部位，其特征在于，所述的有效部位具有以下特征：

(a) 该有效部位是提取自小花风车子的枝、叶、根、花、果和/或茎的水溶性、脂溶性、和/或醇提取物；

(b) 该有效部位具有选自下组的功能：保湿、抗炎、晒后修复、修复皮肤屏障、
25 修复紫外诱导 DNA 损伤、美白、淡斑、抗糖化、或其组合。

9. 如权利要求 8 所述的有效部位，其特征在于，所述有效部位含有一种或多种选自下组的组分：多糖、植物多酚、多酚糖苷类、或其组合。

10. 一种药物或化妆品组合物，其特征在于，含有(a)权利要求 8 所述的有效部位；和(b)药学上或化妆品学上可接受的载体或赋形剂。

30 11. 如权利要求 10 所述的药物或化妆品组合物，其特征在于，在所述化妆品组合物中，干燥有效部位的质量百分比为 0.0001-15wt%，较佳地 0.0001-10wt%，

较佳地 0.001-5wt%，以化妆品组合物的总重量计。

12. 一种制备药物或化妆品组合物的方法，其特征在于，包括步骤：将权利要求 8 所述的有效部位与药学上或化妆品学上可接受的载体混合，从而形成药物或化妆品组合物。

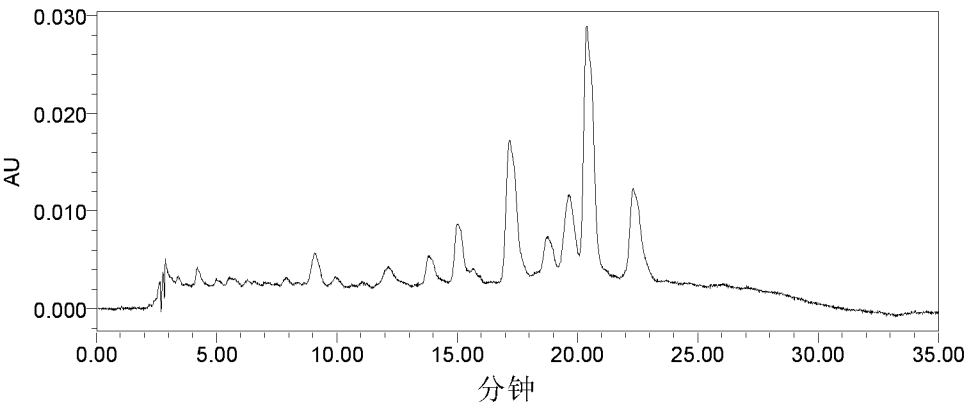


图 1

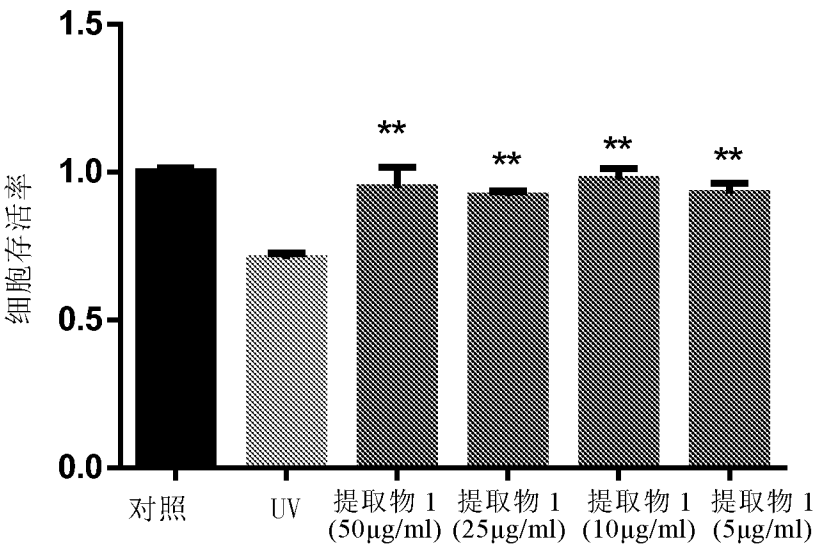


图 2

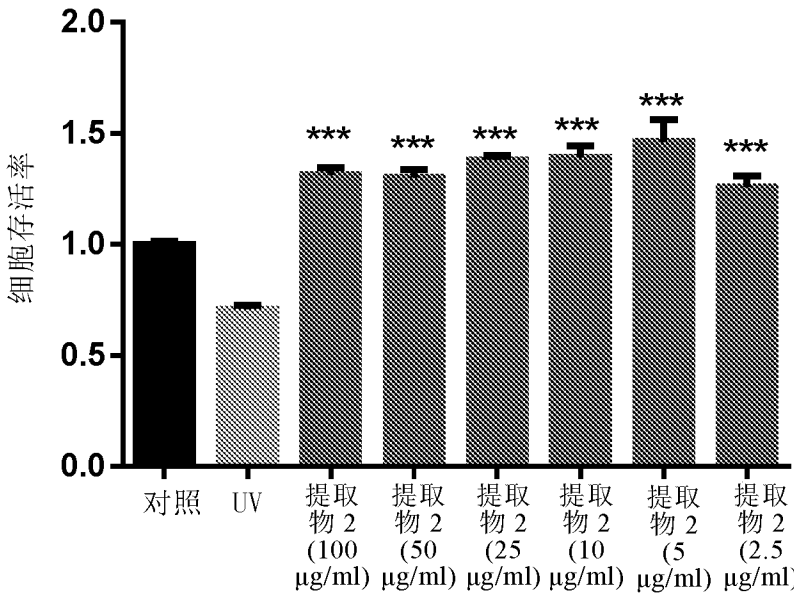


图 3

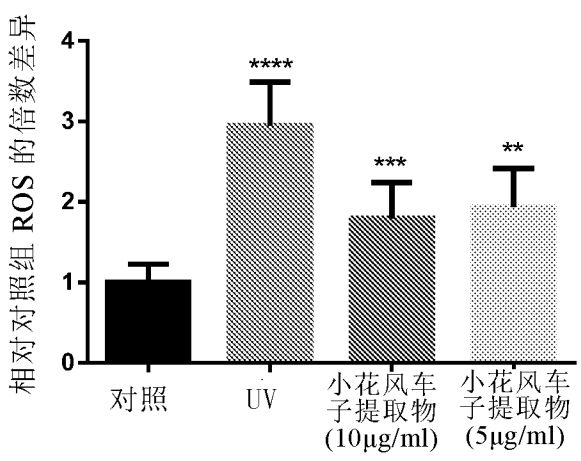


图 4

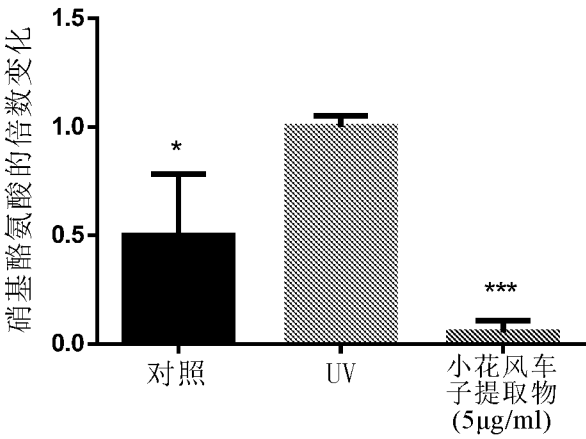


图 5

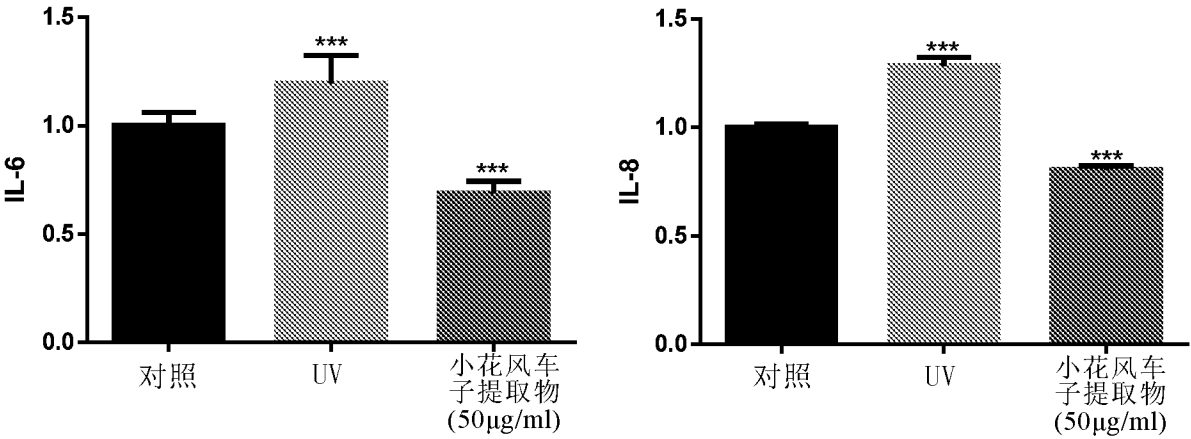


图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/105221

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 8/9789(2017.01)i; A61K 36/185(2006.01)i; A61Q 19/08(2006.01)i; A61Q 9/02(2006.01)i; A61Q 17/04(2006.01)i; A61Q 19/00(2006.01)i; A61P 17/18(2006.01)i; A61P 17/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K;A61Q;A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DWPI; USTXT; SIPOABS; CNABS; WOTXT; 小花风车子, kinkeliba, combretum, micranthum, 肌译生物, 胡舒婷

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CARA RENAE WELCH. "Chemistry and Pharmacology of Kinkéliba (Combretum Micranthum), a West African Medicinal Plant" <i>Rutgers the State University of New Jersey-New Brunswick</i> , 30 January 2010 (2010-01-30), pp. 14-19 and 80-91	1-12
X	缪剑华 (MIAO, Jianhua). "小花风车子 (Non-official translation: Combretum Micranthum)" <i>南药与大南药 (Southern and Pan-southern Medicine)</i> , 30 August 2014 (2014-08-30), p. 294	1-12
A	US 2016177234 A1 (MBENGUE OMAR) 23 June 2016 (2016-06-23) entire document	1-12
A	WO 2011140066 A1 (RUTGERS, THE STATE UNIVERSITY OF NEW JERSEY et al.) 10 November 2011 (2011-11-10) entire document	1-12
A	US 2013302279 A1 (SIMON E. J. et al.) 14 November 2013 (2013-11-14) entire document	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 November 2019

Date of mailing of the international search report

13 December 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

**China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China**

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/105221

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	吴晓鹏 (WU, Xiaopeng). "风车子属植物的化学成分及药理作用研究进展 (Research Advances in the Chemical Constituents and Pharmacological Functions of Combretum)" 海南师范大学学报(自然科学版) (<i>Journal of Hainan Normal University (Natural Science)</i>), 30 March 2007 (2007-03-30), pp. 63-67	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/105221

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
US	2016177234	A1	23 June 2016	US	9567553 B2	14 February 2017
WO	2011140066	A1	10 November 2011	EP	2566326 A4	16 July 2014
				CA	2798509 A1	10 November 2011
				US	2013143921 A1	06 June 2013
				US	8642769 B2	04 February 2014
				EP	2566326 A1	13 March 2013
US	2013302279	A1	14 November 2013	US	2016213730 A1	28 July 2016
				None		

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/105221

A. 主题的分类 A61K 8/9789(2017.01)i; A61K 36/185(2006.01)i; A61Q 19/08(2006.01)i; A61Q 9/02(2006.01)i; A61Q 17/04(2006.01)i; A61Q 19/00(2006.01)i; A61P 17/18(2006.01)i; A61P 17/00(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) A61K;A61Q;A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称,和使用的检索词(如使用)) DWPI;USTXT;SIPOABS;CNABS;WOTXT;小花风车子, kinkeliba, combretum, micranthum, 肌译生物, 胡舒婷		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CARA RENAE WELCH. "CHEMISTRY AND PHARMACOLOGY OF KINKÉLIBA (COMBRETUM MICRANTHUM), A WEST AFRICAN MEDICINAL PLANT" Rutgers the state university of New Jersey-New Brunswick, 2010年 1月 30日 (2010 - 01 - 30), 第14-19页, 第80-91页	1-12
X	缪剑华. "小花风车子" 南药与大南药, 2014年 8月 30日 (2014 - 08 - 30), 第294页	1-12
A	US 2016177234 A1 (MBENGUE OMAR) 2016年 6月 23日 (2016 - 06 - 23) 全文	1-12
A	WO 2011140066 A1 (UNIV. RUTGERS STATE NEW JERSEY等) 2011年 11月 10日 (2011 - 11 - 10) 全文	1-12
A	US 2013302279 A1 (SIMON E. J. 等) 2013年 11月 14日 (2013 - 11 - 14) 全文	1-12
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "D" 申请人在国际申请中引证的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2019年 11月 29日		国际检索报告邮寄日期 2019年 12月 13日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 刘瑞华 电话号码 53961861

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	吴晓鹏. “风车子属植物的化学成分及药理作用研究进展” 海南师范大学学报(自然科学版), 2007年 3月 30日 (2007 - 03 - 30), 第63-67页	1-12

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/105221

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
US	2016177234	A1	2016年 6月 23日	US	9567553	B2	2017年 2月 14日
WO	2011140066	A1	2011年 11月 10日	EP	2566326	A4	2014年 7月 16日
				CA	2798509	A1	2011年 11月 10日
				US	2013143921	A1	2013年 6月 6日
				US	8642769	B2	2014年 2月 4日
				EP	2566326	A1	2013年 3月 13日
US	2013302279	A1	2013年 11月 14日	US	2016213730	A1	2016年 7月 28日
				无			