



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109431913 B

(45) 授权公告日 2021.05.04

(21) 申请号 201811609390.7

A61K 8/64 (2006.01)

(22) 申请日 2018.12.27

A61K 8/34 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 8/49 (2006.01)

申请公布号 CN 109431913 A

A61Q 5/00 (2006.01)

A61Q 5/02 (2006.01)

(43) 申请公布日 2019.03.08

A61Q 5/12 (2006.01)

(73) 专利权人 湖南御家化妆品制造有限公司

地址 410000 湖南省长沙市高新开发区青
山路668号(72) 发明人 戴跃锋 康文术 何广文 颜少慰
徐筱群(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理
有限公司 44224

代理人 黄晓庆

(51) Int. Cl.

A61K 8/9789 (2017.01)

A61K 8/73 (2006.01)

(56) 对比文件

王英超等. 枣树皮提取物的抑菌作用.《天津
农业科学》.2016,第22卷(第12期),第34-38页.FERNANDA CAROLINA SOUSA FONSECA, et
al..Betulinic Acid from Zizyphus Joazeiro
Bark Using Focused Microwave-Assisted
Extraction and Response Surface
Methodology.《Pharmacognosy Magazine》
.2017,第13卷(第50期),第226-229页.

审查员 邱婷

权利要求书1页 说明书17页 附图6页

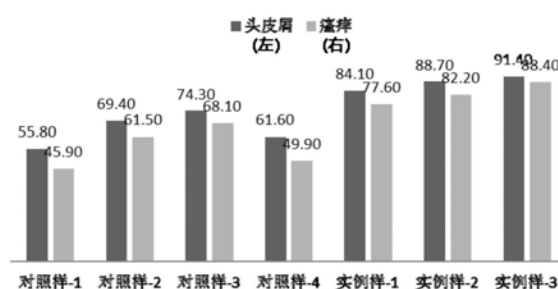
(54) 发明名称

皮肤微生态平衡组合物及其应用

(57) 摘要

本发明涉及一种皮肤微生态平衡组合物及其应用,包括第一平衡组合物、第二平衡组合物和洋枣树皮提取物;所述第一平衡组合物包括菊粉和葡糖寡聚糖,所述第二平衡组合物包括乙酰基七肽-4和辛甘醇。上述皮肤微生态平衡组合物针对头皮存在的马拉色菌、表皮葡萄球菌及丙酸痤疮杆菌,采取抑制并非杀灭的作用机制,采用洋枣树皮提取物、第一平衡组合物(生态营养液)、第二平衡组合物(Fensebiome Peptide),达到微生物菌群平衡,针对头皮瘙痒、脱皮和脂溢性皮炎,从而有效改善头皮问题。

头皮屑及瘙痒自我评估



1. 一种皮肤微生态平衡组合物,其特征在于,包括如下质量份数的组分:第一平衡组合物0.02~1份、第二平衡组合物0.05~1份和洋枣树皮提取物0.02~1份;所述第一平衡组合物包括菊粉和葡糖寡聚糖,所述第二平衡组合物包括乙酰基七肽-4和辛甘醇;所述第一平衡组合物中,所述菊粉与所述葡糖寡聚糖的质量比为 $(0.6\sim 0.74):(0.01\sim 0.15)$;所述第二平衡组合物中,所述乙酰基七肽-4与所述辛甘醇的质量比为 $(0.45\sim 0.55):(4.5\sim 5.5)$ 。

2. 根据权利要求1所述的皮肤微生态平衡组合物,其特征在于,包括如下质量份的组分:第一平衡组合物0.3~0.7份、第二平衡组合物0.4~0.8份和洋枣树皮提取物0.3~0.7份。

3. 根据权利要求1所述的皮肤微生态平衡组合物,其特征在于,包括如下质量份的组分:第一平衡组合物0.5份、第二平衡组合物0.6份和洋枣树皮提取物0.5份。

4. 根据权利要求1~3任一项所述的皮肤微生态平衡组合物,其特征在于,所述第一平衡组合物中,所述菊粉与所述葡糖寡聚糖的质量比为0.6:0.15。

5. 权利要求1~4任一项所述的皮肤微生态平衡组合物在制备洗护品中的应用。

6. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,所述洗护品选自洗发水、护发素、发油或头皮护理精华液。

7. 一种洗护品,其特征在于,包括权利要求1~4任一项所述的皮肤微生态平衡组合物。

8. 根据权利要求7所述的洗护品,其特征在于,还包括以下组分:甘油、丙二醇、丁二醇、寡聚透明质酸和尿囊素。

皮肤微生态平衡组合物及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及洗护品领域,特别是涉及一种皮肤微生态平衡组合物及其应用。

背景技术

[0002] 世界卫生组织颁布的十条健康标准中,第九条就是头发有光泽、无头皮屑。头皮上分布着许多血管、神经、皮脂腺、汗腺和毛囊,头皮健康关系到身体健康,所以头部皮肤与面部皮肤一样需要精心的清洁和呵护。经过30多年积累和发展,中国洗发水市场已经进入了全面竞争和高速发展的新时期,各个厂家都在不断推出新技术、新产品,广大消费者也在不断寻求适合自己的洗发护发头皮养护产品。在某种意义上讲,今后洗发产品将逐渐向洗护化妆品发展,成为人们提升生活品质,完美自我形象,增强个人魅力的有力武器。展望21世纪,中国发用化妆品的消费量将不断增加,市场规模会不断扩大。根据统计,目前中国的香波市场早已超过日本,接近美国,但以人均合算还低于这些发达国家。从护理产品的角度看,美国的护发素市场规模约为香波市场的一半,而日本的护发素市场规模与其香波市场相接近。但反观中国护发产品市场的实际情况,其规模还不到香波的十分之一,这种现象一方面是因为当前经济条件包括购买力还有一定限制,另一方面消费者护发意识还相对不足。但考虑到我国经济今后将会继续稳定地增长,人们对美发护发养护产品的需求将随之不断提高,可以说中国洗护化妆品潜在市场非常巨大,发展前景十分广阔。

[0003] 近年来,随着人们对健康及环保的需求日益增长,含硅油洗发水引起了较大的争议,其原因在于容易残留在头皮上,研究表明虽然使用含硅油洗发水可使头发更加光泽顺滑飘逸,但含硅油洗发水因其不透水,洗发时很难清洗干净,部分残留在头皮、头发上,长期使用会在头皮上造成沉积,带来头痒、头屑、头发油腻、头发脱落和头发刺激等问题,而且硅油在头发上积聚将造成头发变粗,头发洗完干燥后扁平、塌陷、不蓬松。硅油是一种化学惰性物质,自然条件下很难降解,生产和使用过程中,硅油随废水排放进入环境,造成环境污染。市面上虽然存在很多宣称无硅油的洗发水,但仅仅是取消了硅油的添加,没有针对配方其他组分进行调整,这基本是倒退到没有硅油添加的洗发香波时代,并不能真正解决消费者的痛点,无法实现微生物菌群平衡。

发明内容

[0004] 基于此,有必要提供一种可实现微生物菌群平衡的皮肤微生态平衡组合物。

[0005] 一种皮肤微生态平衡组合物,包括第一平衡组合物、第二平衡组合物和洋枣树皮提取物;所述第一平衡组合物包括菊粉和葡糖寡聚糖,所述第二平衡组合物包括乙酰基七肽-4和辛甘醇。

[0006] 在其中一个实施例中,包括如下质量份的组分:第一平衡组合物0.02~1份、第二平衡组合物0.05~1份和洋枣树皮提取物0.02~1份。

[0007] 在其中一个实施例中,包括如下质量份的组分:第一平衡组合物0.3~0.7份、第二平衡组合物0.4~0.8份和洋枣树皮提取物0.3~0.7份。

[0008] 在其中一个实施例中,包括如下质量份的组分:第一平衡组合物0.5份、第二平衡组合物0.6份和洋枣树皮提取物0.5份。

[0009] 在其中一个实施例中,所述第一平衡组合物中,所述菊粉与所述葡糖寡聚糖的质量比为(0.6~0.74):(0.01~0.15)。

[0010] 在其中一个实施例中,所述第二平衡组合物中,所述乙酰基七肽-4与所述辛甘醇的质量比为(0.45~0.55):(4.5~5.5)。

[0011] 本发明还提供了一种上述皮肤微生态平衡组合物在制备洗护品中的应用。

[0012] 在其中一个实施例中,所述洗护品选自洗发水、护发素、发油或头皮护理精华液。

[0013] 本发明还提供了一种洗护品,包括上述皮肤微生态平衡组合物。

[0014] 在其中一个实施例中,还包括以下组分:甘油、丙二醇、丁二醇、寡聚透明质酸和尿囊素。

[0015] 本发明的皮肤微生态平衡组合物具有如下优点:

[0016] 1) 上述皮肤微生态平衡组合物针对头皮存在的马拉色菌、表皮葡萄球菌及丙酸痤疮杆菌,采取抑制并非杀灭的作用机制,采用洋枣树皮提取物、第一平衡组合物(生态营养液)、第二平衡组合物(Fensebiome Peptide),达到微生物菌群平衡,针对头皮瘙痒、脱皮和脂溢性皮炎,有效改善头皮问题。

[0017] 2) 本发明采用菊粉和葡糖寡聚糖来作为头皮生态营养液,通过促进益生菌增殖,竞争性抑制有害菌的增殖。葡糖寡聚糖属于生物选择性多糖,能够被益生菌所利用,而不被有害菌所吸收,从而促进头皮益生菌增长,通过营养以竞争性抑制,从而阻止有害菌的生长,保护和维持头皮微生态系统。

[0018] 3) 本发明采用了洋枣树皮提取物(DANDRILYS),其含有丰富的皂苷,能从抗微生物、免疫调节及调节油脂分泌三个维度改善头皮问题。

[0019] 4) 本发明采用的Fensebiome Peptide,能增加头皮微生物多样,促进头皮微生物群落平衡,调节细菌的代谢通路,降低炎症因子表达,调节免疫反应,增加表皮屏障关键组分长链神经酰胺的合成,促进表皮紧密连接有关的基因,保护皮肤屏障,降低其头皮易感性。

[0020] 5) 本发明采用微生态平衡技术有效抑制NO释放,有效降低NO释放量为13.67%~15.78%,与对对照样相比降低了12.55%~14.66%,能有效避免因微生物菌群失衡导致的炎症因子释放引发头皮瘙痒,降低头皮易感性。

[0021] 6) 本发明经测试头皮屑自我评测分为84.1~91.4,头皮基本没有头屑,瘙痒症状的自我评测达到了77.6~88.4,受试人员有效减少瘙痒症状,测试证明能有效抑制头皮脱屑和减少瘙痒。

附图说明

[0022] 图1为头皮微生态动态平衡与失衡示意图;

[0023] 图2为乙酰基七肽-4的强化细胞粘附试验的荧光显微镜照片;

[0024] 图3为乙酰基七肽-4强化细胞粘附的试验结果图;

[0025] 图4为乙酰基七肽-4的透皮水分散失模型的评测结果图;

[0026] 图5为乙酰基七肽-4的微生物群落粘附的实验结果图;

- [0027] 图6为乙酰基七肽-4的诱导紧密连接组分表达的实验结果图；
[0028] 图7为乙酰基七肽-4的促进长链神经酰胺合成的实验结果图；
[0029] 图8为洋枣树皮提取物的降低组胺释放的实验结果图；
[0030] 图9为洋枣树皮提取物的去屑效果的实验结果图；
[0031] 图10为洋枣树皮提取物的调节皮脂生成的实验结果图；
[0032] 图11为各对照样和实例样的NO抑制作用的实验结果图；
[0033] 图12为各对照样和实例样的头皮体外评测的实验结果图。

具体实施方式

[0034] 为了便于理解本发明，下面将对本发明进行更全面的描述，并给出了本发明的较佳实施例。但是，本发明可以以许多不同的形式来实现，并不限于本文所描述的实施例。相反地，提供这些实施例的目的是使对本发明的公开内容的理解更加透彻全面。

[0035] 除非另有定义，本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的，不是旨在限制本发明。本文所使用的术语“和/或”包括一个或多个相关的所列项目的任意的和所有的组合。

[0036] 本发明一实施例的皮肤微生态平衡组合物，包括第一平衡组合物、第二平衡组合物和洋枣树皮提取物。其中，第一平衡组合物包括菊粉和葡糖寡聚糖，第二平衡组合物包括乙酰基七肽-4和辛甘醇。

[0037] 本发明的皮肤微生态平衡组合物是以温和为理念，以头皮护理为核心，以天然为目标，主要采用洋枣树皮提取物、生态营养液和Fensebiome Peptide达到微生物菌群平衡，针对头皮瘙痒、脱皮和脂溢性皮炎，有效改善头皮问题，并在头皮洗护产品中应用。

[0038] 1、头皮与头发

[0039] 1.1头皮结构与屏障

[0040] 头皮作为头发赖以生存的土壤，其生态环境的平衡是头发健康生长的根本。头皮是人体最薄的皮肤之一，含有丰富的血管，其衰老的速度是脸部肌肤的6倍，是身体肌肤皮的12倍。头皮面积约为650~700cm²，平均毛囊密度为200~250个/cm²，额头上大约52~79个/cm²，脸颊上大约42~78个/cm²。头皮表面分泌的皮脂量在12h可达到288μg/cm²，而额头的皮脂量只有144μg/cm²。

[0041] 头皮的汗腺、皮脂腺分泌旺盛，但由于头发的阻碍难以清洗，容易引起微生物迅速繁殖，皮脂受到紫外线照射以及环境污染等因素影响，容易发生过氧化反应，导致头皮轻微炎症反应，某些美发产品所带来的物理、化学刺激等也容易引起头皮发炎。头皮的自我调节能力也会随着年龄的增大逐渐地衰退。上述这些因素造成头皮保护屏障降低、毛发休止期延长、头皮毛囊变小、毛囊毛细血管减少、黑色素形成降低以及头皮受损变薄，引起头皮油腻、敏感、干燥、瘙痒、脱发、白发和头屑等症状。

[0042] 据调查结果显示，70%以上的健康男女在夏季和冬季都有头皮问题，红斑和炎症占70%，头屑占30%，头皮疙瘩占20%。此外，对20~59岁的101位女性进行头皮健康状态调查显示，有头皮发红、干燥、起疙瘩及头屑问题的占到66%。可见，大多数健康人群头皮并非出于健康状态。

[0043] 1.2头发结构与组分

[0044] 头发的主要成分为角蛋白(约占80%以上),它是由毛干和毛囊二部分组成。毛干可分为毛小皮、皮质、髓质三层,毛小皮为毛干的最外层,由3~7层毛小皮细胞围绕毛干,每个毛小皮细胞的厚度约为 $3\mu\text{m}\sim 5\mu\text{m}$ 。毛小皮细胞的结构又可分为上表皮、外表皮和内表皮,其中上表皮和外表皮内含有丰富的硫蛋白,能抵御外界物理和化学因素的影响。皮质紧密围绕着髓质周围,皮质细胞的直径约为 $2\mu\text{m}\sim 3\mu\text{m}$ 。皮质细胞由许多粗纤维、细纤维和原纤维组成,原纤维的直径仅为 $2\times 10^{-3}\mu\text{m}$,是由2~3股 α -螺旋的角蛋白组成,再由许多原纤维形成直径为 $8\times 10^{-3}\mu\text{m}$ 的细纤维,再由许多细纤维构成粗纤维。上述这些纤维均被包埋在由高硫蛋白组成的细胞基质中并组成非常紧密的纤维束,其中角蛋白组成中,低硫蛋白占60%,高硫蛋白占40%。皮质细胞的基质中含有色素颗粒,色素颗粒的多少决定着头发的颜色。髓质位于毛干的中心,由2~3层多角形角化细胞组成,除髓质细胞的角蛋白结构为 β -折叠外,毛小皮和皮质细胞的角蛋白结构均为 α -螺旋。

[0045] 近年来研究发现,除头发外有一层非极性脂质覆盖外,头发中还含有内部脂质,它主要位于毛小皮细胞之间以及毛小皮与皮质细胞之间的细胞间隙中。该内部脂质称为细胞络合物,简称CMC,CMC的脂质分布占整个毛干纤维的57%,是头发的主要结构脂质,占头发质量的5%~7%,在毛小皮和皮质细胞之间的CMC的厚度约为28nm。CMC脂质与蛋白质结合形成脂蛋白,能围绕头发纤维形成一个连续的网状结构,起到对毛小皮细胞之间,毛小皮与皮质细胞之间的粘合作用。CMC脂质与人表皮角质层脂质类同,其主要组分为神经酰胺、胆固醇硫酸酯、胆固醇、脂肪醇和游离脂肪醇。

[0046] 在生活中,城市环境的污染、紫外线辐射、烫发剂、染发剂、漂白剂以及头发的整理(洗头、吹风和梳理)等都会不同程度地造成头发损伤。头发毛小皮和皮质细胞内的高硫蛋白是抵御外界各种物理和化学因素的重要成分,一旦高硫蛋白被破坏,严重的可导致头发断裂。头发内部的结构脂质(主要指CMC)是毛小皮和皮质细胞的重要粘合剂,头发受到上述各种物理化学因素的影响,也会导致头发中CMC含量减少,结果会使毛小皮脱落,毛鳞片翘起。

[0047] 2头皮问题

[0048] 2.1头皮屑

[0049] 头皮屑是一种慢性、易复发,较常见的头皮问题,相比正常头皮,头皮上或头发里出现薄片状的皮屑即为头皮屑。正常情况下,表皮细胞脱落与细胞再生处于动态平衡,完全角化成熟的角化细胞聚集组成直径小于0.2mm肉眼看不见的团块脱落。肉眼可见的角化细胞团块则视为头皮屑,其病理检查表现为角化细胞不完全、过度生长、排列不齐等,鳞屑在显微镜下观察到残留的细胞核。除了片状脱屑外,头皮屑主要的临床表现为瘙痒、头皮干燥紧绷、刺痛、存在亚临床炎症改变。

[0050] 目前世界上约有50%以上的人群受到头皮屑问题的困扰,青年人为多发人群并且病症较重,通常男性发病率高于女性,而老人和儿童发病率较低。目前针对头皮屑发生机制和防治手段的研究主要集中于马拉色菌方面,而头皮屑影响因素众多,发病机制复杂,涉及头皮的脂质、头皮微生态、头皮生理、免疫抗氧化等多种因素,仅通过马拉色菌说明问题是不够的。

[0051] (1)头皮脂膜与微生态

[0052] 皮脂膜是由皮脂腺分泌的皮脂、汗腺分泌的汗液和角质细胞片状脂质乳化而成的一层非常薄的膜,头皮脂膜是头皮部位的皮脂膜,正常状态下保护人们头皮健康。相对于面部皮肤,头皮环境毛发旺盛,皮脂腺、汗腺数量多分泌量大,因此矿物离子、脂质、水分等为微生物提供了适宜的生长环境及丰富的营养源,微生物源性酯酶活性更高。头皮微生物群定植密度为 $10^3 \sim 10^5/\text{mm}^2$,丙酸杆菌、葡萄球菌和棒状杆菌是健康人群和头皮屑患者中最丰富的3种细菌。头皮上马拉色菌占真菌总数的96%,其中限制性马拉色菌和球形马拉色菌为优势种属,头皮屑人群与健康人群相比,马拉色菌和表皮葡萄球菌数量增加,而痤疮丙酸杆菌数量下降,这可能与其严格厌氧性有关。

[0053] 大多数马拉色菌是脂质依赖性的,其缺少脂肪酸合成酶基因,为了克服这一缺陷,马拉色菌与其他真菌相比具有大量的脂肪酸酶编码基因,使其能够使用宿主源性脂质为自身营养源,马拉色菌源性多种脂肪酶及磷脂酶等的分泌,不仅可补偿其生长繁殖所需的脂肪酸,而且可使其在脂质丰富的环境中生存。

[0054] 马拉色菌通过分泌脂肪酶,能够将皮脂中的甘油三酯和饱和脂肪酸分解为促炎性的不饱和脂肪酸,而这些物质渗透进入角质层不仅引起头皮的瘙痒感,而且能够与N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体结合使钙离子内流,导致角质层细胞增生和角化细胞异常而引起头皮片状鳞屑产生。

[0055] 角鲨烯是皮脂的重要组成部分,对于面部皮肤来说可作为光保护屏障首先被氧化,角鲨烯过氧化物在面部皮肤上被证实具有刺激性并引起角质细胞增殖和炎症反应,同时渗入细胞层影响免疫系统。马拉色菌源性的过氧化物酶通过产生氢过氧化物,并产生羟基自由基而引起角鲨烯过氧化物的产生。此外,马拉色菌源性的脂氧合酶可过氧化游离不饱和脂肪酸、甘油三酯、胆固醇等,其产物具有细胞毒性,在头皮屑的发生机制中发生作用。

[0056] (2) 头皮屏障功能

[0057] 健康人群头皮同样大量定植马拉色菌而并无头皮屑症状,在头皮屑患者和健康人群头皮上应用等量的油酸,头皮屑患者将进一步加重脱屑症状,但健康人群并不产生脱屑。说明除了马拉色菌因素外,头皮渗透性屏障功能也是影响头皮屑的重要因素。

[0058] 头皮屑人群头皮屏障功能的改变,可能是由于头皮受到较长期损伤(过度清洁烫染、用力抓挠等)后,激发皮肤深处炎症反应的信号通路,从而导致头皮炎症,这一系列屏障功能紊乱,会导致表皮细胞异常分化和增生引起脱屑。另外,由于皮脂分泌过于旺盛而不及及时清洁,生活习惯问题(共用梳子、枕巾)等而引起头皮马拉色菌的增殖,具有刺激性的马拉色菌代谢产物会破坏头皮屏障功能。

[0059] 微生态与头皮屏障功能相互影响,当头皮屏障功能受损后,一方面外来刺激物更容易进入角质层中,引起头皮发生炎症反应及不正常的脱屑。另一方面屏障受损导致的头皮pH、抗菌肽分泌量等变化,可能引起头皮微生物组成及微生物活性的改变。在体外测试中证明,当培养基pH=6.2时有利于马拉色菌繁殖生长。

[0060] 此外,头皮屑头皮脂腺分泌的脂质渗透到角质层中明显高于健康头皮,即头皮屑头皮角质层中存在大量皮脂腺脂质,这些物质可能破坏了表层细胞间脂质的组织结构,促使头皮脱屑,并且可能有利于马拉色菌在角质层中的定植。对于脂质含量的改变,可能是由于马拉色菌增殖而使经表皮失水率(TWEL值)升高,pH改变,水合作用减弱,进而影响脂质相关合成酶的活性。

[0061] (3) 表皮结构功能相关蛋白

[0062] a) 丝聚蛋白及天然保湿因子

[0063] 天然保湿因子NMF水平显著降低可能与受损的屏障有关。NMF主要来源位于角质层下层的丝聚合蛋白(FLG)水解,水解后产生的NMF到达角质层上层。而头皮屑的特征是过度增殖和快速脱屑,角质层细胞成熟周期变短,因此,在FLG水解产生NMF之前,角质形成细胞可能已经成熟并达到角质层上层脱落。

[0064] 另外,在FLG生成NMF的最后一步,精氨酸蛋白酶-1和 γ -谷氨酰环化转移酶能够分别将精氨酸和 γ -谷氨酰二肽转化为尿素和吡咯烷酮羧酸,而这两种酶在头皮屑皮中表达量降低,对于FLG前体,相关合成酶及水解酶含量降低,可能是由于屏障功能受损,或是由于角质层中含水量,pH的变化而引起酶的活性发生改变。

[0065] b) 角化桥粒及其水解酶

[0066] 角化桥粒主要起到角化细胞间连接和固定作用,也可将毗邻角质层紧密连在一起,主要是桥粒芯糖蛋白和桥粒芯角蛋白构成。角化桥粒可以通过丝氨酸蛋白酶-激肽释放酶、蛋白裂解酶和半胱氨酸蛋白酶-组织蛋白酶等水解完成脱屑。头皮屑头皮中外周角化桥粒减少可能导致角质细胞粘合力减小,角化细胞更容易分离脱落,但由于皮脂的增多以及结构紊乱的脂质,角化细胞间的无力凝聚力增大,头皮屑呈片状脱落。

[0067] c) 角蛋白及角化包膜

[0068] 角蛋白是角质层主要的结构蛋白,由角质形成细胞表达产生并能够在细胞间形成中间丝网状结构,维持细胞结构的稳定性及弹性。在皮肤屏障受损时,表皮角蛋白的表达是紊乱的,角蛋白K1及K10作为表皮分化的经典标记物,在头皮屑表皮中的表达量显著降低,当头皮屑治疗后水平有所回升。对于头皮屑头皮来说,角蛋白异常表达的原因除屏障因素外,也可能与马拉色菌有一定的关系。

[0069] 角化包膜是角质细胞分化末期及其成熟的重要结构,受谷氨酰胺转氨酶的调控。在头皮屑头皮中,参与角化膜生成并成熟的关键酶谷氨酰胺转移酶-3和2种谷氨酰胺转氨酶-1加工酶和组织蛋白酶D表达量均显著降低。导致这一现象可能与角质层含水量等变化有关,也可能与马拉色菌代谢物有关。

[0070] 屏障完整性以及头皮角质层组织中起关键作用的蛋白质含量变化,表明头皮屏障受损,并且提示不正确的分化与增殖。

[0071] d) 皮肤抗菌及抗氧化变化

[0072] 核糖核酸酶是由角化细胞产生的,具有显著对抗致病微生物的活性蛋白质。此外,角质层内的抗菌蛋白还有皮离蛋白、泌乳素诱导蛋白及半胱氨酸蛋白酶抑制剂A,内源性的抗菌蛋白对皮肤感染和入侵的微生物展现较高的抵抗性。

[0073] 在头皮屑头皮中,上述几种蛋白的表达量均降低,其他一些防御蛋白如载脂蛋白A-1和组蛋白H4有较高表达量,说明存在微生物入侵,这种功效性蛋白表达紊乱的状态,可能是由于头皮屑头皮环境中微生物群的改变所致。

[0074] 头皮屑头皮抗氧化能力下降,包括超氧化物歧化酶和过氧化氢酶水平降低,在头皮屑皮脂中,超氧化物歧化酶,过氧化氢酶和PARK7(DJ-1)减少,表明不止内在免疫防御系统受到影响,抗氧化防御机制也受到影响。丙二醛及维生素E水平的升高提示头皮屑头皮氧化应激反应程度升高,可能导致皮肤对外来侵染如污染及UV照射的敏感性增强。以上物质

的变化可能与微生物改变及代谢产物入侵有关。

[0075] e) 炎性反应

[0076] 炎性反应是头皮皮肤损伤的特征之一,对头皮组织进行病理评估,当血管周围有白细胞存在时,表面头皮存在轻微的炎症反应。1L-1 α 的值在头皮屑头皮角质层中增高,当屏障受损或表皮持续发生炎症级联反应时,在角质层中预先存在的1L-1 α 快速释放,其在免疫应答上游环节,可诱导多种趋化因子的合成,加强T细胞增殖和B细胞分化,具有免疫调节作用。1L-8有趋化和激活中性粒细胞的作用,也是一个炎症级联反应时的生物标记物,在头皮屑头皮中其水平也同样上升,当头皮屑减少,活组织中炎症减少,其水平下降。

[0077] 球形、秕糠马拉色菌均被发现具有磷脂酶活性,马拉色菌源性的磷脂酶能催化花生四烯酸和前列腺素等炎症因子的合成,并通过此路径引发炎症。

[0078] 3、技术核心

[0079] 从国内洗发水发展历程来看,无硅油洗发水的流行是必然性的。20世纪七八十年代洗发水功能单一,注重洗净功能。从1985年开始洗发水注重洗护合一和柔顺功效,之后洗发水产品功能细分更加明显,纯天然、植物型产品初见端倪,人们的观念上升到对头发进行全面护理的阶段。从2000年至今,产品开始追求深层清洁和深层修复,人们不再满足简单的洗净,而是要求由内而外的健康清洁。

[0080] 长期使用含硅油洗发水,硅油会在头发上层层积聚,导致头发不自然,油腻、厚重、坍塌、干枯毛躁,因此无硅油洗发水作为一种健康时尚的生活方式应运而生。无硅油市场火热,那什么是真正的无硅油洗护产品呢,一般的无硅油产品只是单纯地在配方中去掉硅油,这不过是20世纪70年代未添加硅油洗发水的翻版,带来的调理性能下降,是技术的倒退,因此并非真正的无硅洗护产品。

[0081] 真正的无硅油产品是在温和表面活性剂、特殊油脂、天然活性物等技术发展下,通过无硅油技术来实现,以温和为理念,头皮护理为核心,天然为目标,主要是以温和表面活性剂、替代硅油的调理剂和有效护理头皮的成分组成,其核心是头皮养护。也就是说,无硅油洗护产品应该性能温和,使用后容易清洗,使头发顺滑的效果等同于含有硅油产品,最重要的还是具有护理头皮的功能。头皮护理是无硅油洗护产品的核心功效,而要达到护理头皮的功效,头皮护理组分必不可少,针对不同的头皮问题,采用专门有效的护理组分,通过多功能组方来解决头皮护理存在的问题及痛点。

[0082] 健康的头皮生态环境依靠三种平衡来实现:油脂平衡、菌群平衡和屏障健全。头油、头痒、头屑多、头发干、脱发等都是头皮生态环境失衡导致的头皮问题。头皮微生态失衡时,头皮菌群环境失衡,有害菌大量滋生,就会出现头痒的现象,且有害菌的代谢产物,刺激肥大细胞释放组胺引起瘙痒,马拉色菌代谢产生磷脂酶引起花生四烯酸和前列腺素,加剧炎症产生,破坏皮肤屏障,增加易感性。

[0083] 头皮是一个独特的环境,它有浓密的终毛,大量汗腺和皮脂腺,以及较高的相对湿度,这些均为微生物的定植创造了有利条件,角质层细胞的分化过程为微生物的定植提供了一定的氨基酸,同时汗腺分泌矿物质,还有皮脂腺提供了脂质,他们相互协同提供了丰富的环境。

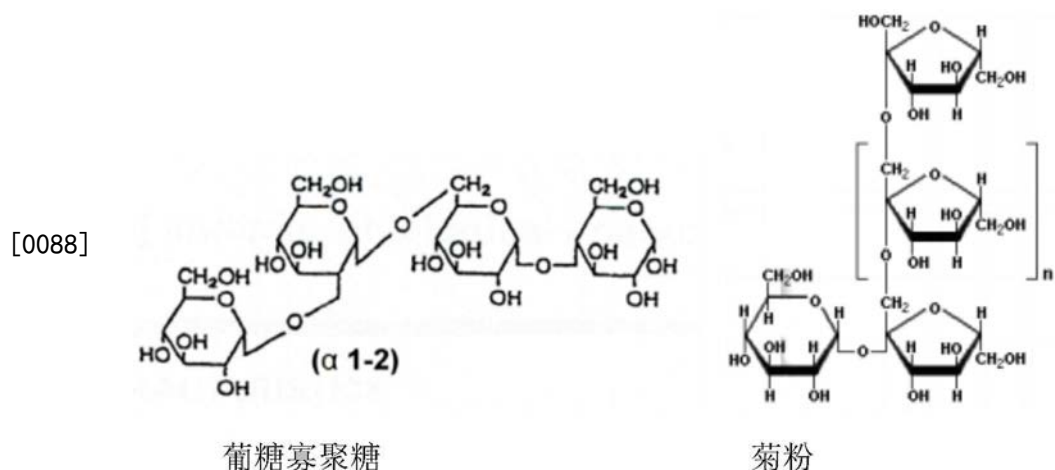
[0084] 头皮屑在医学上称为头皮糠疹,它是一种由马拉色菌引起的皮肤病,也是一种头皮不健康的表现。其产生机理是,马拉色菌在头皮上大量繁殖,引起皮肤角质层的过度增

生,从而促使角质层细胞以白色或灰色鳞屑的形成异常脱落,这种脱落的鳞屑即为头皮屑。

[0085] 马拉色菌寄生在头皮上,能使皮脂腺中的甘油三酸酯分解,释放出游离脂肪酸。释放出来的游离脂肪酸渗透至角质层,进而损伤皮肤的屏障功能,屏障损伤导致表皮过度增生和皮脂分泌增多。而后者又为马拉色菌增殖提供了适宜的微环境。个体易感性是指球形马拉色菌和限制性马拉色菌均可在头皮屑和正常头皮中发现。所以宿主的免疫系统功能正常与否可能在头皮屑形成中发挥一定的作用。

[0086] 3.1 第一平衡组合物 (生态营养液)

[0087] 微生物群是保护头皮的重要防线和第一道屏障。健康的头皮需要维持微生物菌群中有益菌和有害菌的动态平衡,头皮中的微生物菌群有头状葡萄球菌、干燥棒状杆菌、克氏库微球菌和戊糖乳杆菌等有益菌,以及白色念珠球菌、金黄色葡萄球菌、痤疮丙酸杆菌和秕糠麻辣杆菌等有害菌。益生菌不能杀死病原菌,但是可以通过夺取全部食物,达到竞争性抑制有害菌的生长,头皮动态平衡与失衡如图1所示。本发明采用菊粉和葡糖寡聚糖来作为头皮生态营养液,通过促进益生菌增殖,竞争性抑制有害菌的增殖,结构式分别如下所示。葡糖寡聚糖属于生物选择性多糖,能够被益生菌所利用,而不被有害菌所吸收,从而促进头皮益生菌增长,通过营养以竞争性抑制,从而阻止有害菌的生长,保护和维护头皮微生态系统。



[0089] 3.2第二平衡组合物(Fensebiome peptide)

[0090] 从农村经济转变为城市工业经济,城市化迅速增长,很快人们不再像祖先那样经常与大自然互动,导致与自然接触减少,导致头皮生物多样性减少,从而使得头皮敏感性增加,导致头皮干燥、脱屑、紧绷、不适,甚至引发脂溢性皮炎。

[0091] 头皮具有双重皮肤屏障功能,即是表皮和微生物群落。头皮微生物群落通过不同的作用机制来发挥防护型屏障的作用,微生物群落与头皮之间的交流能够调节防御反应,主要有以下三方面:a)竞争性抑制,将有害性菌排除在外;b)免疫反应;c)头皮屏障的完整性,通过活化TLRS信号通路来强化细胞间的连接。

[0092] 本发明采用乙酰基七肽-4,通过改善调节头皮微生物群落平衡和多样性,增加有益菌,帮助强化头皮屏障,防止干燥。乙酰基七肽-4促进有益菌的生长,从而使头皮达到最佳的健康状态,能够系统性的抗氧化、抗炎症,阻止头皮水分流失,加强病原体防御,微生物群落平衡,改善屏障功能,自身免疫稳定。辛甘醇则作为助溶试剂及抗菌抑制剂与乙酰基七肽-4协同配合。

[0093] 3.2.1改变微生物组、强化头皮屏障功能

[0094] (1) 有益微生物组

[0095] 微生物多样性,一般通过香浓指数来表征,香浓指数数值较低表明微生物多样性较低,这常常与皮肤不健康有关。可通过特殊的生物信息学软件分析16rRNA基因V3区域的DNA测序结构。本发明采用乙酰基七肽-4有效提升香农多样性指数,有助于增加头皮细菌的多样性,让头皮重新回归自然,变得更加健康,帮助改善微生物群落平衡,强化皮肤的微生物防护屏障。有益头皮的微生物组,能强化细菌代谢通路,从而增加头皮的外部营养供给。

[0096] (2) 强化细胞粘附

[0097] 本发明采用乙酰基七肽-4能有效强化细胞间的细胞粘附,可以通过角化细胞脱落情况进行表征,有效抑制头皮屑脱落。通过胶带剥离技术评估分别使用安慰剂(Placebo)和含1%Fensebiome peptide溶液的头皮角化细胞脱落情况,并用荧光显微镜进行观察,如图2和图3所示。通过实验表明通过乙酰基七肽-4处理的头皮,脱落的角化细胞减少了18.6%,可以有效抑制头皮屑,改善脂溢性皮炎,减少皮肤的易感性。

[0098] (3) 保护头皮屏障

[0099] 评估是否对头皮屏障有保护作用,可通过透皮水分散失模型进行评测,用表活诱导损伤48h后使用皮肤水分散失测定仪来测定透皮水分流失(TEWL),经过评测证明乙酰基七肽-4能更好地保护头皮的物理屏障,防止干燥,如图4所示。

[0100] 3.2.2改善头皮微生物群落、免疫力和屏障完整性

[0101] (1) 提高有益微生物群落的粘附

[0102] 用Fensebiome Peptide处理人角质形成细胞24h,然后将人角质形成细胞暴露在荧光标记的表皮葡萄球菌和失活金黄色葡萄球菌中30min,用显微镜观察人角质形成细胞上的细菌粘附情况,结果如图5所示。实验表明本发明采用的乙酰基七肽-4,能有效促使头皮微生物群落发生改变,帮助有益菌存活,表皮葡萄球菌增加19%,而金黄色葡萄球菌降低9%。

[0103] (2) 改变头皮屏障中的关键组分

[0104] 用50μg/ml Fensebiome Peptide处理人头皮角质形成细胞24h,然后利用逆转录PCR(RT-PCR)实验检测与紧密连接TJ有关基因(OCLN、CLDN1、JAM3、TJP1、TJP2、TJP3、ACTA1)的表达,结果如图6所示。实验证明本发明采用乙酰基七肽-4,可诱导紧密连接组分的表达,增加头表皮屏障的完整性。

[0105] (3) 改善头皮屏障功能

[0106] 用50μg/ml Fensebiome peptide处理人头皮角质形成细胞24h,利用超高效液相色谱-串联质谱法测定神经酰胺的含量,结果如图7所示。实验证明,本发明采用Fensebiome peptide能强化表皮屏障的关键组分,可促进长链神经酰胺的合成,对屏障功能结构和不渗透性至关重要,保护和强化避免水分流失的渗透性屏障,避免微生物代谢组分化学侵袭物带来的改变,强化皮肤屏障功能,改善角质层完整性。

[0107] 3.3 洋枣树皮提取物(DANDRILYS)

[0108] 吡硫翁锌(ZPT,Pyrrithione Zinc)自从六十年代以来,一直被用于抗头皮屑洗去型洗发露中,最近ZPT抗头屑机理已被阐明,即ZPT可以抑制真菌的生长,然而,长期使用这一药剂的副作用也已见报道,其中包括过敏、皮肤刺激和皮肤干燥。此外,体外实验已经证

明,ZPT会破坏表皮内平衡,并诱发成纤维细胞凋亡和早衰,这些实验表明,ZPT是具有一定的毒性的。

[0109] 本发明采用了洋枣树皮提取物(DANDRILYS),是从南美植物中获取的一种新型活性物,洋枣是鼠李科植物,也是南美最受重视的树木之一,其含有丰富的皂苷,因为相似的结构,这些分子被归类于一个大家族,这个家族成员具有广泛的药理功效,包括抗炎、抗微生物、免疫调节及多种功能,具有清洁、舒缓、镇静活性,可抑制头屑出现。洋枣树皮提取物主要围绕三方面降低头皮屑问题。

[0110] 3.3.1抗瘙痒特性

[0111] 组胺可以扰乱皮肤屏障,进一步导致抓伤,机械创伤会加剧皮肤屏障缺损。为了研究DANDRILYS对瘙痒进程的作用,研究人员对瘙痒机制涉及的主要细胞即肥大细胞进行了测试。更精确地说,是测试了肥大细胞释放的组胺,其结果如图8所示。结果显示,2%浓度的DANDRILYS显著减少肥大细胞释放组胺(27%),因此,DANDRILYS具有舒缓和抗组胺特性,可以减少抓挠以及相关的机械创伤。正因如此,洋枣提取物可以修复和保护头部皮肤屏障,并中止头屑产生的恶性循环。

[0112] 3.3.2去屑效果

[0113] 对34位患有头屑的志愿者(年龄在19~56岁之间)进行了体内试验,以评价DANDRILYS的去屑效果。患有头屑的健康志愿者要先经历为期一周的实验前预平衡期,期间志愿者们使用中性(无效对照)洗发水洗头。这一周过去之后仍产生头屑的志愿者会继续进行实验。仅有患有中度至重度头屑的志愿者可以参与临床实验。事实上,头屑问题已经按照专业皮肤学家制定的严重性等级进行分类:从0分至10分,0分是健康头皮,10分为伴有大片粘附性鳞屑的严重头屑,或者是脂溢性皮炎,如下表所示。志愿者被分为两组:第一组,23位志愿者使用两种洗发水,含有或不含活性物1%DANDRILYS的洗发水(无效对照);第二组,11位志愿者使用两种洗发水,含有活性物1%DANDRILYS或1%吡硫鎓锌(ZPT)的洗发水。志愿者每周使用两种洗发水三次,随机使用某种洗发水清洗一半头部,结果如图9所示。结果显示,DANDRILYS具有高效抗头屑活性,较之ZPT起效更快,功效更强。

分数	头屑	
0	没有散落头屑	没有头皮鳞屑
2	略见零散头屑	略见零散头皮鳞屑
4	少量散落头屑	少量头皮鳞屑
6	中量散落头屑	中量头皮鳞屑
8	大量散落头屑	大量头皮鳞屑
10	极大量散落头屑	整片头皮分布极大量头皮鳞屑

[0115] 3.3.3调节皮脂生成

[0116] 头皮皮脂分泌是头屑现象中的重要组成机制。另外,ZPT的副作用之一就是诱使皮脂过度分泌,导致头发油腻,洋枣树皮提取物在皮脂生成方面长效抑制调节机制。因此,我们使用COURAGE&KHAZAKA SM 810 PC皮脂仪进一步分析了皮脂生成率。首先检测初始的皮脂生成率,然后每3天测量一次皮脂。前述头屑测试中的志愿者中,每组有一部分志愿者参加了这一附加实验(第一组10位志愿者,第二组4位志愿者),结果如图10所示。结果显示,从第一次使用洗发水起,相比无效对照和ZPT,含有1%DANDRILYS的洗发水可以显著减少头皮皮脂量。另外,停止处理后,经过1%ZPT洗发水处理的一半头皮皮脂率大幅增加。这一高皮

脂量也许可以解释停止使用ZPT后所产生的“回旋镖效应”，即因获得了重要营养来源，马拉色菌再次迅速繁殖。与此相反，DANDRILYS可以温和调节皮脂，并净化头皮，补充水合皮脂膜，重建头皮完整性。所以，在处理期间和处理后，DANDRILYS都可以调节皮脂分泌，相反ZPT会强烈增加皮脂分泌。

[0117] 综上所述，本发明的皮肤微生态平衡组合物具有如下优点：

[0118] 1) 上述皮肤微生态平衡组合物针对头皮存在的马拉色菌、表皮葡萄球菌及丙酸痤疮杆菌，采取抑制并非杀灭的作用机制，采用洋枣树皮提取物、第一平衡组合物(生态营养液)、第二平衡组合物(Fensebiome Peptide)，达到微生物菌群平衡，针对头皮瘙痒、脱皮和脂溢性皮炎，有效改善头皮问题。

[0119] 2) 本发明采用菊粉和葡糖寡聚糖来作为头皮生态营养液，通过促进益生菌增殖，竞争性抑制有害菌的增殖。葡糖寡聚糖属于生物选择性多糖，能够被益生菌所利用，而不被有害菌所吸收，从而促进头皮益生菌增长，通过营养以竞争性抑制，从而阻止有害菌的生长，保护和维持头皮微生态系统。

[0120] 3) 本发明采用了洋枣树皮提取物(DANDRILYS)，其含有丰富的皂苷，能从抗微生物、免疫调节及调节油脂分泌三个维度改善头皮问题。

[0121] 4) 本发明采用的Fensebiome Peptide，能增加头皮微生物多样，促进头皮微生物群落平衡，调节细菌的代谢通路，降低炎症因子表达，调节免疫反应，增加表皮屏障关键组分长链神经酰胺的合成，促进表皮紧密连接有关的基因，保护皮肤屏障，降低其头皮易感性。

[0122] 5) 本发明采用微生态平衡技术有效抑制NO释放，有效降低NO释放量为13.67%~15.78%，与对照样相比降低了12.55%~14.66%，能有效避免因微生物菌群失衡导致的炎症因子释放引发头皮瘙痒，降低头皮易感性。

[0123] 6) 本发明经评测头皮屑自我评测分为84.1~91.4，头皮基本没有头屑，瘙痒症状的自我评测达到了77.6~88.4，受试人员有效减少瘙痒症状，测试证明能有效抑制头皮脱屑和减少瘙痒。

[0124] 其核心技术布局如下表所示。

[0125]

功能模块	组分	靶点	备注
菌群平衡	第一平衡组合物（生态营养液）	促进益生菌增殖，抑制有害菌增生	菊粉&葡萄寡聚糖
	第二平衡组合物(Fensebiome Peptide)	维持头皮微生物菌群多样性和平衡，免疫调节，促进表皮屏障关键组分长链神经酰胺合成，保护头皮屏障	乙酰基七肽-4、辛甘醇
	洋枣树皮提取物(DANDRILYS)	抑制马拉色菌，舒缓炎症，止痒	洋枣树皮提取物

[0126] 在一个具体示例中，皮肤微生态平衡组合物包括如下质量份的组分：第一平衡组

合物0.02~1份、第二平衡组合物0.05~1份和洋枣树皮提取物0.02~1份。

[0127] 在一个具体示例中,皮肤微生态平衡组合物包括如下质量份的组分:第一平衡组合物0.3~0.7份、第二平衡组合物0.4~0.8份和洋枣树皮提取物0.3~0.7份。

[0128] 在一个具体示例中,皮肤微生态平衡组合物包括如下质量份的组分:第一平衡组合物0.5份、第二平衡组合物0.6份和洋枣树皮提取物0.5份。

[0129] 在一个具体示例中,第一平衡组合物中,菊粉与葡糖寡聚糖的质量比为(0.6~0.74):(0.01~0.15)。例如,第一平衡组合物的组成如下表所示,但不限于此,可根据需要增减辅料。

[0130]	组分	质量百分比%
	菊粉	60
	葡糖寡聚糖	15
	水	25

[0131] 在一个具体示例中,第二平衡组合物中,乙酰基七肽-4与辛甘醇的质量比为(0.45~0.55):(4.5~5.5)。例如,第二平衡组合物的组成如下表所示,但不限于此,可根据需要增减辅料。

[0132]	组分	质量百分比%
	水	99.395~99.505

[0133]	乙酰基七肽-4	0.045~0.055
	辛甘醇	0.45~0.55

[0134] 本发明还提供了一种上述皮肤微生态平衡组合物在洗护品中的应用。

[0135] 在一个具体示例中,洗护品选自洗发水、护发素、发油或头皮护理精华液。

[0136] 本发明还提供了一种洗护品,包括上述皮肤微生态平衡组合物。

[0137] 在一个具体示例中,洗护品中还包括以下质量份的组分:甘油2~4份、丙二醇1~3份、丁二醇4~6份、寡聚透明质酸0.005~0.015份和尿囊素0.1~0.2份。可以理解,这些组分为辅料,不属于活性成分,可以根据需要选择是否添加。

[0138] 以下为具体实施例。

[0139] 一、制备头皮养护精华液

[0140] 根据下表的配方组方(余量为去离子水)分别制备成头皮养护精华液,以实例样2为例的配置工艺如下:

[0141] 按照配方称取甘油、丁二醇、丙二醇、寡聚透明质酸、尿囊素与黄原胶(质量百分比0.15%),加热至75~80℃,以500~600r/min,搅拌30min,直至全部溶解。然后依次加入生态营养液、Fensebiome Peptide和洋枣树皮提取物,以200~300r/min搅拌15min,直至中和完成,全部溶解。将温度降低至38~45℃,加入防腐剂PHL(质量百分比1%),以150~200r/min,搅拌10min,冷却到室温即可。可以理解,制备方式不限于此,可根据产品类型及使用方式进行选择,防腐剂及其他非活性成分可根据需要选择是否添加。第一平衡组合物中,菊粉与葡糖寡聚糖的质量比为0.6:0.15。第二平衡组合物中,乙酰基七肽-4与辛甘醇的质量比

为0.5:5。

[0142]

项目	组分	配比%	备注
对照样 1	甘油	3	/
	丙二醇	2	
	丁二醇	5	
	寡聚透明质酸	0.01	
	尿囊素	0.15	
对照样 2	甘油	3	/
	丙二醇	2	
	丁二醇	5	
	寡聚透明质酸	0.01	
	尿囊素	0.15	

[0143]

	第一平衡组合物 (生态营养液)	0.5	
对照样 3	甘油	3	/
	丙二醇	2	
	丁二醇	5	
	寡聚透明质酸	0.01	
	尿囊素	0.15	
	第一平衡组合物 (生态营养液)	0.5	
	第二平衡组合物 (Fensebiome Peptide)	0.6	
对照样 4	甘油	3	
	丙二醇	2	
	丁二醇	5	
	寡聚透明质酸	0.01	
	尿囊素	0.15	
	第一平衡组合物 (生态营养液)	0.01	
	第二平衡组合物 (Fensebiome Peptide)	1.1	
	大枣树皮提取物	0.01	
实例样 1	甘油	3	
	丙二醇	2	
	丁二醇	5	
	寡聚透明质酸	0.01	
	尿囊素	0.15	
	第一平衡组合物 (生态营养液)	0.02	
	第二平衡组合物 (Fensebiome Peptide)	0.05	

[0144]

	洋枣树皮提取物	0.02	
实例样 2	甘油	3	
	丙二醇	2	
	丁二醇	5	
	寡聚透明质酸	0.01	
	尿囊素	0.15	
	第一平衡组合物 (生态营养液)	1	
	第二平衡组合物 (Fensebiome Peptide)	1	
	洋枣树皮提取物	1	
实例样 3	甘油	3	
	丙二醇	2	
	丁二醇	5	
	寡聚透明质酸	0.01	
	尿囊素	0.15	
	第一平衡组合物 (生态营养液)	0.5	
	第二平衡组合物 (Fensebiome Peptide)	0.6	
	洋枣树皮提取物	0.5	

[0145] 二、功效评测

[0146] 1、LPS诱导RAW264.7细胞释放NO抑制作用

[0147] 测试原理

[0148] LPS(脂多糖):位于革兰氏阴性细菌细胞壁最外层的一层较厚(8~10nm)的类脂多糖类物质,由类脂A、核心多糖和O-特异侧链3部分组成。脂多糖是内毒素和重要群特异性抗原(O抗原)。脂多糖由三部分组成。脂质A(Lipid A)为构成内毒素活性的糖脂,以共价键联结到杂多糖链,有两部分:一是核心多糖,在有关的株内是恒定的;另一O特异性链(O-specific chain)是高度可变的。大肠杆菌的脂多糖在实验室免疫学中是常用的B细胞促分裂因子即多克隆活化因子(polyclonal activator)。本实验利用LPS诱导RAW264.7细胞产生过敏反应,释放NO(一氧化氮)。

[0149] Griess assay-NO含量测试方法

[0150] NO在体内或水溶液中极易氧化成NO₂,在酸性条件下,NO与重氮盐磺胺发生重氮反应,并生成重氮化合物,后者进一步与萘基乙烯基二胺发生耦合反应,该反应生成的产物浓度与NO浓度具有线性关系,在540nm处有最大吸收峰。

[0151] 将RAW264.7细胞用移液枪吸取DMEM培养基吹散分散细胞,利用Hemacytometer来计数细胞,然后利用DMEM来稀释细胞,稀释到浓度为 5×10^4 cells/ml。稀释后的细胞溶液分别接种到96well中,每一孔为100 μ l,即 5×10^3 cells/well。在37℃,5%CO₂的培养箱中培养24小时。待测样品用DMEM培养基稀释,稀释后的浓度为1% (该浓度通过MTT测试,结果为无毒)。细胞培养24小时后,观察细胞是否完全贴壁生长,如果细胞完全贴壁生长的话,将原培养基移除,用DPBS洗涤。将DPBS移除之后,分别加入前面准备好的样品。样品的溶度根据毒性测试的结果选择安全浓度1% (20 μ l/well)。样品加入之后,放入37℃,5%CO₂的培养箱中培养20小时。20小时后,移取50 μ l的培养基到新的96Well上,加入相同体积的1%Griess reagent,充分混合后,于暗处反应10分钟。利用ELISA reader在540nm处测试样品的吸光光度值。计算NO抑制作用 (NO Inhibition%) = (([OD]_{Control} - [OD]_{Sample}) / [OD]_{Control}) * 100%, 其中:[OD]_{Control}为空白样的吸光光度值,[OD]_{Sample}为待测样品的吸光光度值。

[0152] 测试结果

[0153] 各对照样和实例样的检测结果如下表和图11所示。

[0154]

项目	NO释放量减少 (%)	标准偏差
对照样1	1.12	0.77
对照样2	4.38	3.57
对照样3	5.47	2.80
对照样4	7.03	5.42
实例样1	13.67	5.11
实例样2	15.24	5.51
实例样3	15.78	3.57

[0155] 结论:本发明实例样的组合物采用微生态平衡技术有效抑制NO释放,有效降低NO释放量为13.67%~15.78%,与对照样相比抑制率提升了12.55%~14.66%,能有效避免因微生物菌群失衡导致的炎症因子释放引发头皮瘙痒,降低头皮易感性。

[0156] 2、头皮体外评测

[0157] 评测对象

[0158] 头屑、瘙痒组纳入标准:共纳入21名受试者,年龄20~50岁,其中男14名,女7名,均由不同程度的头屑、瘙痒现状,愿意参加实验并签署知情同意书,在入选实验和以后随访测试当天,避免剧烈运动。将测试人员以2男和1女为一组,随机分成1~7组。

[0159] 测试试剂

[0160] 将受试者分成7组,分别对各对照样和实例样进行评测。受试者用指定的同一款洗发水洗发之后,采用相对应的测试样涂抹头皮,每两天使用一次。使用方法如下:首先用洗发水洗发一次,冲洗干净后用头皮精华液按摩头皮3min,最后再冲洗干净。

[0161] 评介方法

[0162] 7组受试者针对头屑和瘙痒,使用14天进行评估打分,每组最终打分取3人平均分。按照0、1、2、3四级进行评价,受试者自我评估标准如下表所示:

[0163]

级别	描述	评价分范围
0	没有头屑和瘙痒感	75-100

1	轻微头屑和瘙痒感	50-75
2	中等程度头屑和瘙痒感	25-50
3	严重头皮屑和瘙痒感	0-25

[0164] 测试结果

[0165] 各对照样和实例样的评测结果如下表和图12所示。

[0166]

项目	头皮屑	瘙痒
对照样1	55.80	45.90
对照样2	69.40	61.50
对照样3	74.30	68.10
对照样4	61.60	49.90
实例样1	84.10	77.60
实例样2	88.70	82.20
实例样3	91.40	88.40

[0167] 结论：本发明实例样的组合物应用了微生态平衡技术，经评测头皮屑自我评测分为84.1~91.4，头皮基本没有头屑，瘙痒症状的自我评测达到了77.6~88.4，受试人员有效减少瘙痒症状，证明能有效抑制头皮脱屑和减少瘙痒。

[0168] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合，为使描述简洁，未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述，然而，只要这些技术特征的组合不存在矛盾，都应当认为是本说明书记载的范围。

[0169] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

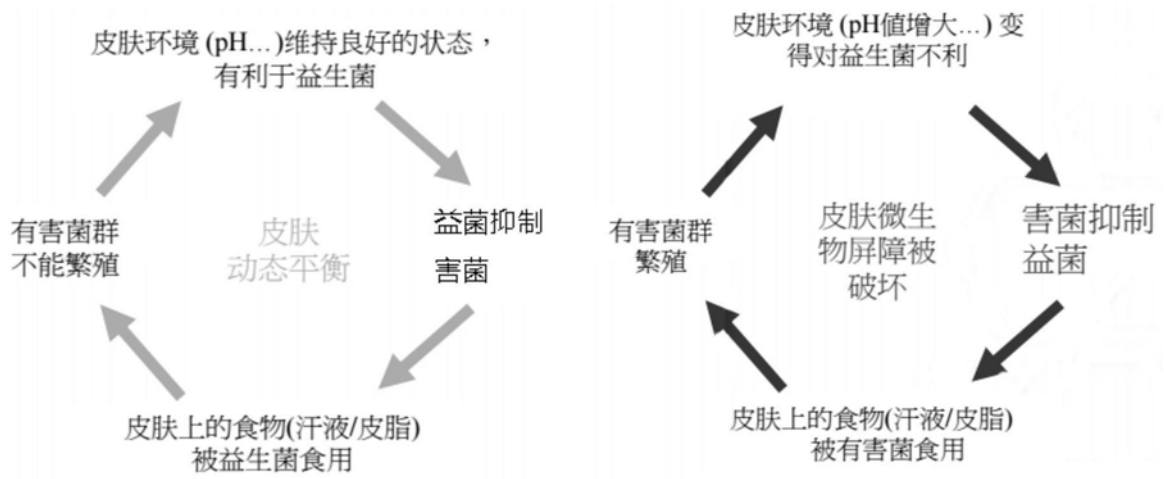


图1

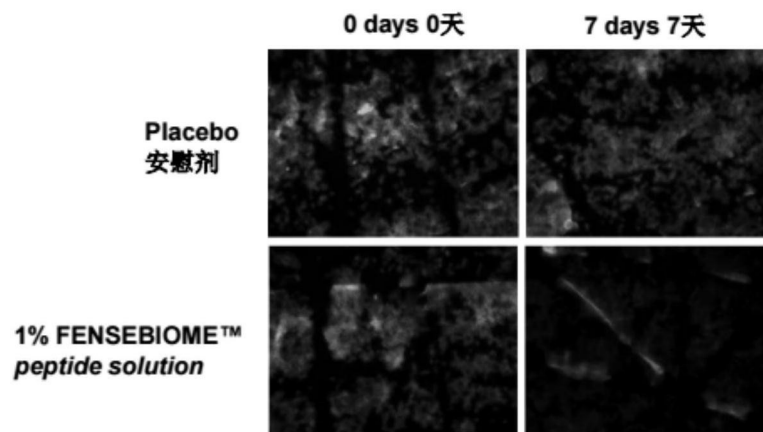


图2

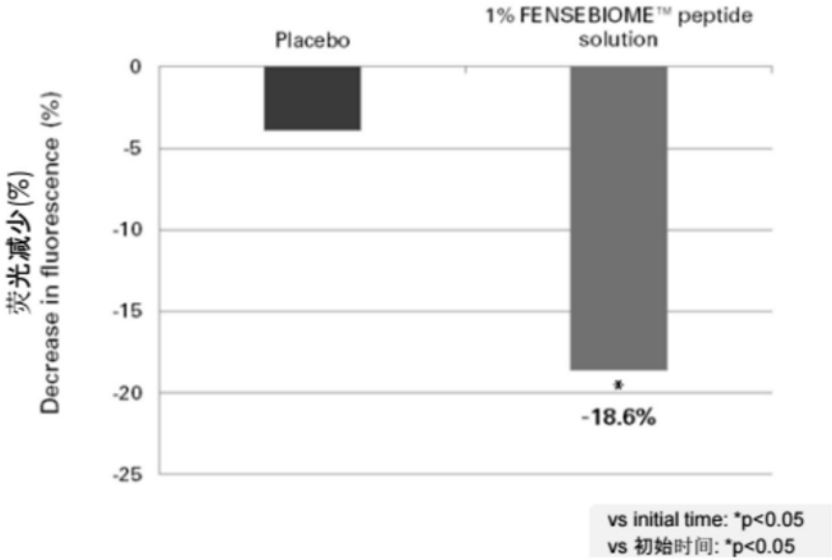


图3

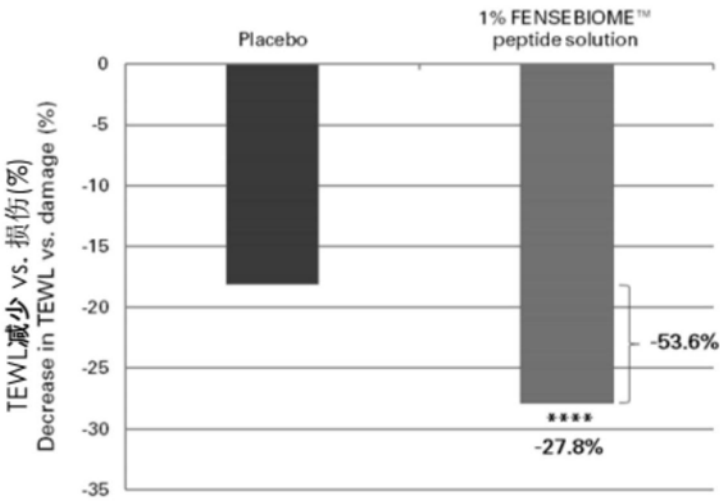


图4

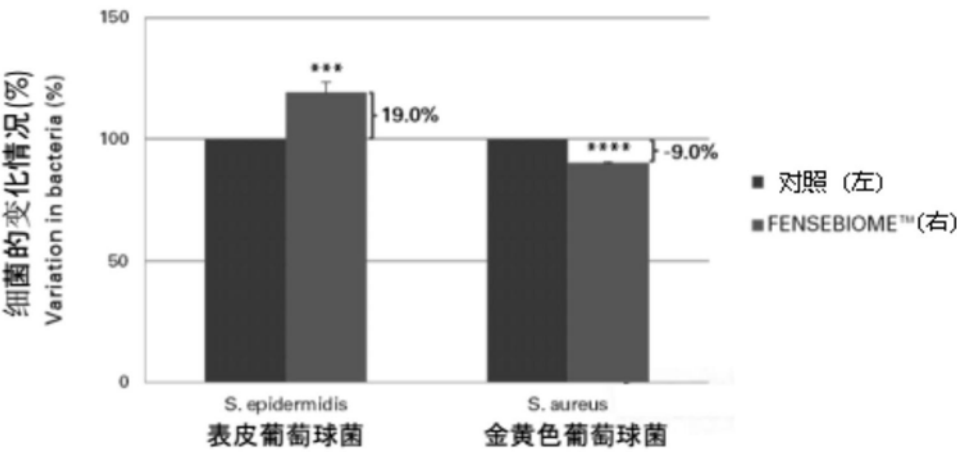


图5

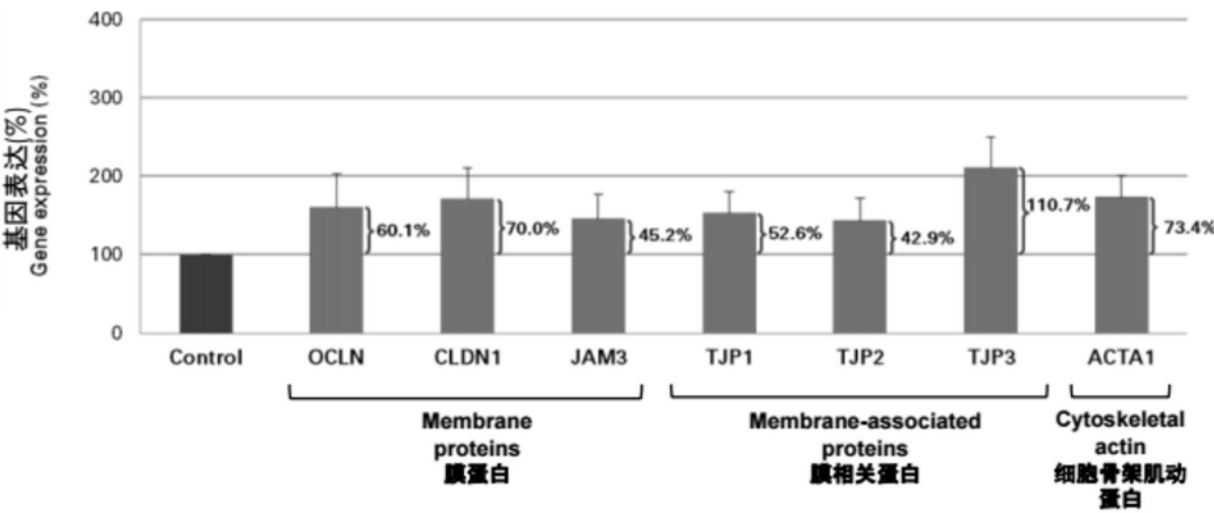


图6

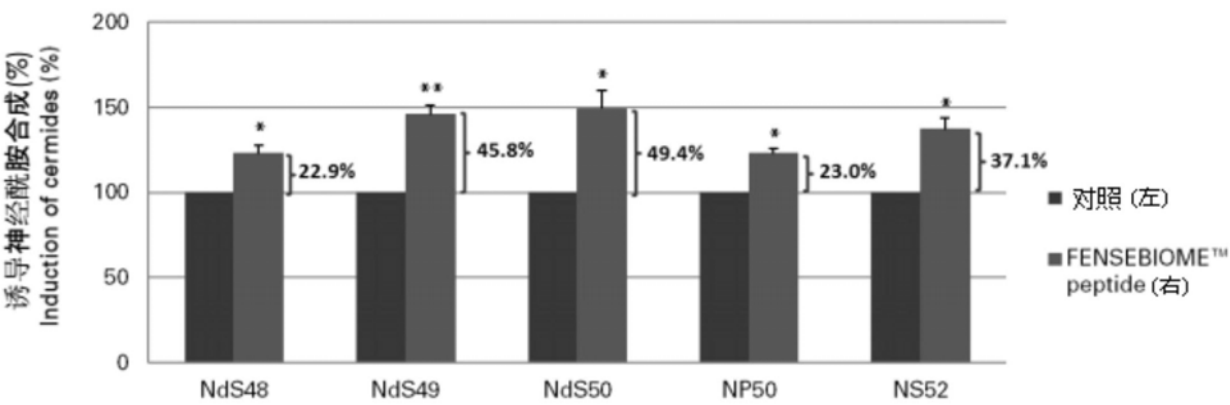


图7

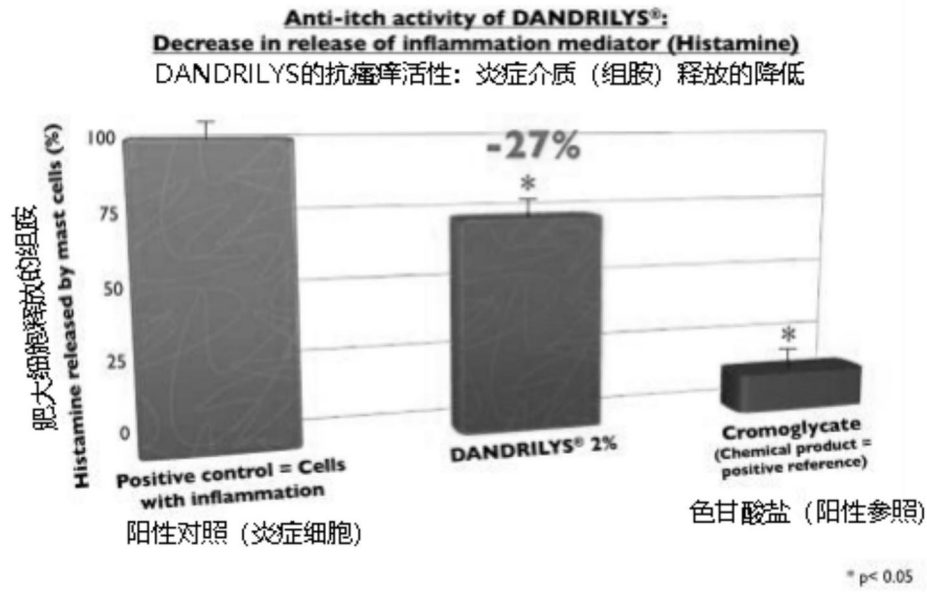


图8

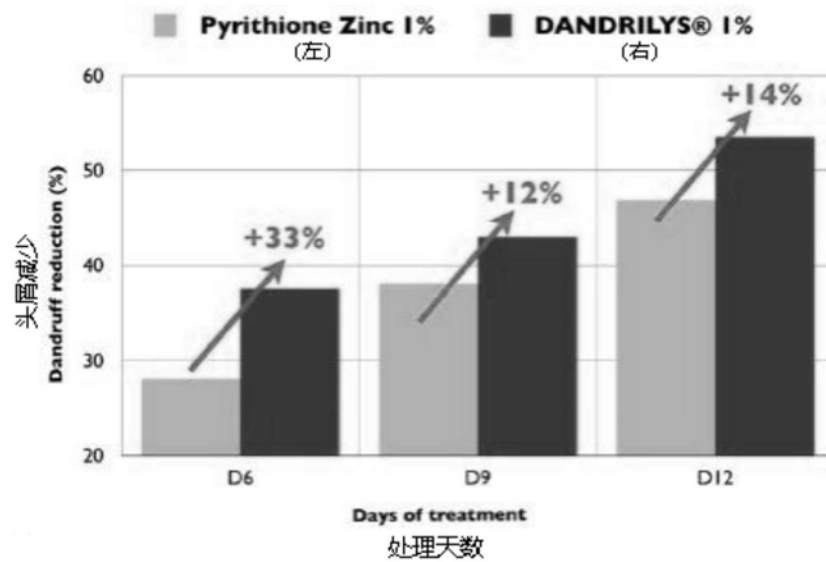


图9

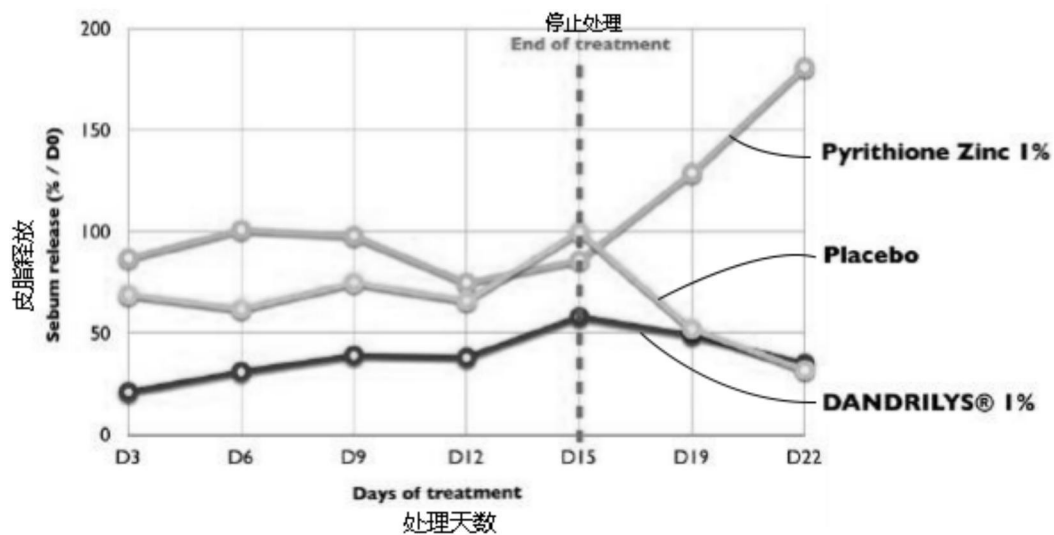


图10

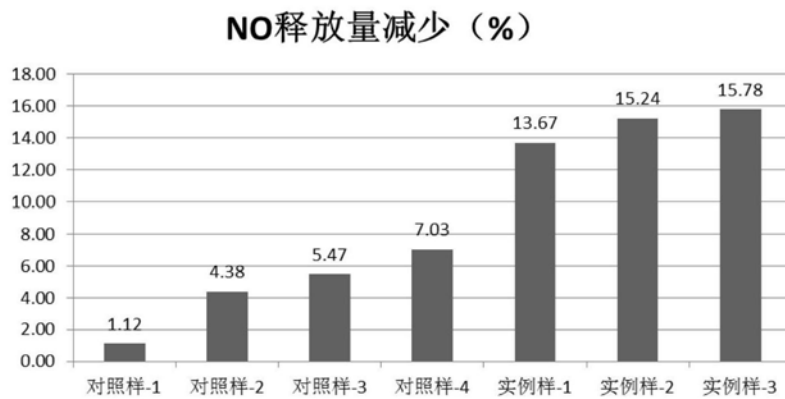


图11

头皮屑及瘙痒自我评估

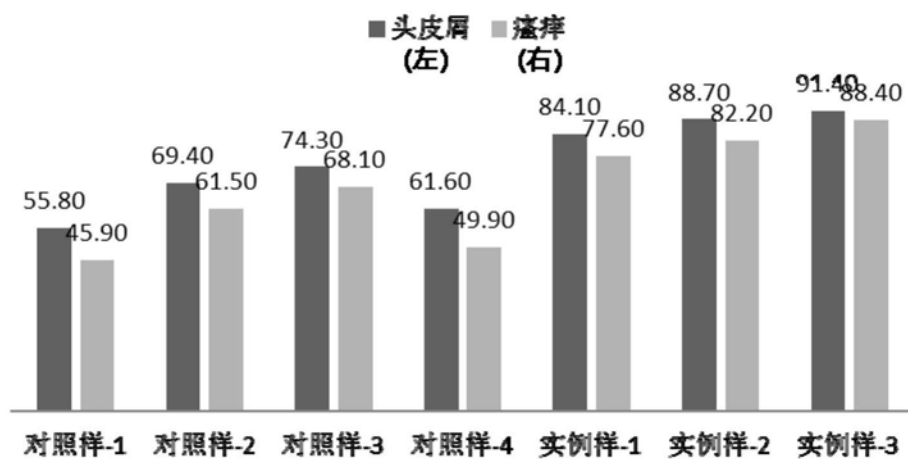


图12