



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102215854 B

(45) 授权公告日 2014. 09. 10

-
- (21) 申请号 200980144929. 9 *A61Q 19/08* (2006. 01)
(22) 申请日 2009. 09. 15 *A61P 17/06* (2006. 01)
(30) 优先权数据 *A61P 17/10* (2006. 01)
0857757 2008. 11. 14 FR 审查员 程诚
- (85) PCT国际申请进入国家阶段日
2011. 05. 12
- (86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2009/061972 2009. 09. 15
- (87) PCT国际申请的公布数据
W02010/054879 EN 2010. 05. 20
- (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
- (72) 发明人 A·芒多 B·法布雷 M-F·阿里斯
- (74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
代理人 程伟
- (51) Int. Cl.
A61K 36/899 (2006. 01)
A61K 8/97 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书9页

-
- (54) 发明名称
抽穗期之前收获的燕麦的地上部分的提取物
- (57) 摘要
本发明涉及燕麦的不包括谷粒的地上 (aerial) 部分的提取物, 以及该提取物的制备方法和用途。

1. 一种在抽穗期之前收获的燕麦地上部分的提取物,其特征在于该提取物包括 2% 至 15% 的黄酮类化合物和 0.2% 至 2% 的燕麦皂苷 A 和 B 并包括 1ppm 以下的蛋白质。

2. 根据权利要求 1 所述的提取物,其特征在于异牡荆苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷和异红草苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷的黄酮类化合物水平为 5% 至 10%。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的提取物,其特征在于该提取物是从有机溶剂中获得的提取物。

4. 根据权利要求 3 所述的提取物,其特征在于该提取物是从丙酮中获得的提取物。

5. 一种制备根据权利要求 1 所述的在抽穗期之前收获的燕麦地上部分的提取物的方法,其特征在于以下步骤:

- 在丙酮中的提取,和

- 离心或过滤。

6. 一种能通过如权利要求 5 所述的方法获得的燕麦地上部分的提取物。

7. 一种皮肤病学的组合物,其包含作为活性成分的包括 2% 至 15% 的黄酮类化合物, 0.2% 至 2% 的燕麦皂苷 A 和 B 和 1ppm 以下的蛋白质的在抽穗期之前收获的燕麦地上部分的提取物和一种或多种皮肤病学可接受的赋形剂。

8. 根据权利要求 7 所述的皮肤病学组合物,其包含以组合物总重量计 0.1 重量% 至 5 重量% 的所述的提取物。

9. 根据权利要求 7 或 8 所述的皮肤病学组合物,其特征在于所述提取物是从有机溶剂中获得的提取物。

10. 根据权利要求 9 所述的皮肤病学组合物,其特征在于所述提取物是从丙酮中获得的提取物。

11. 一种化妆品组合物,其包含包括 2% 至 15% 的黄酮类化合物,0.2% 至 2% 的燕麦皂苷 A 和 B 和 1ppm 以下的蛋白质的在抽穗期之前收获的燕麦地上部分的提取物和一种或多种化妆品可接收的赋形剂。

12. 根据权利要求 11 所述的化妆品组合物,其包含以组合物总重量计 0.1 重量% 至 5 重量% 的所述的提取物。

13. 根据权利要求 11 或 12 所述的化妆品组合物,其特征在于所述提取物是从有机溶剂中获得的提取物。

14. 根据权利要求 13 所述的化妆品组合物,其特征在于所述提取物是从丙酮中获得的提取物。

15. 根据权利要求 1 所述的提取物在制备药物中的用途。

16. 根据权利要求 15 所述的用途,其特征在于所述药物用于治疗炎性皮肤病。

17. 根据权利要求 16 所述的用途,其特征在于所述炎性皮肤病是特应性皮肤病、牛皮癣或湿疹。

18. 根据权利要求 15 所述的用途,其特征在于所述药物用于治疗痤疮。

19. 根据权利要求 15 所述的用途,其特征在于所述药物用于治疗皮肤老化。

20. 根据权利要求 15 所述的用途,其特征在于所述药物用于治疗红斑痤疮。

21. 根据权利要求 15 所述的用途,其特征在于所述药物用于治疗反应性皮肤。

抽穗期之前收获的燕麦的地上部分的提取物

[0001] 本发明涉及燕麦地上 (aerial) 部分的提取物, 优选抽穗期之前收获的燕麦地上部分的提取物, 和该提取物治疗炎性皮肤病的用途。

[0002] 燕麦或燕麦 L. (*Avena sativa* L.) 是年生植物, 可长成 1.5m 高。萌芽时, 幼株像草坪一样生长并且随后长出几个有特别生长习惯的茎。茎或残株为直径几毫米的空心管, 通过全部隔膜, 在称为生叶处的插入叶子的位置分节。先在茎基部很短的各节间隙逐渐变长。

[0003] 叶子是暗蓝绿色的双列互生叶; 在生叶处, 通过几乎覆盖整个上部节间空间的向前开裂的长叶鞘 (sheath) 将它们插入茎。从该处主枝以直角分离。宽且呈带状, 由很多平行的叶脉 (直脉) 覆盖; 通常带有软毛。在叶鞘分离的主枝上, 在茎和主枝之间, 观察到称为叶舌的短并截顶的叶鞘细膜的扩张。

[0004] 茎由沿各方向延伸的大花散花序结尾, 该散花序呈松散金字塔状, 茎的所有分支由称为小穗的基本花序结尾, 该基本花序呈整个禾本科家系的常态结构。小穗是悬挂着的, 相对较大且仅包含两朵花。小穗不长在母苞片的腋, 而长自距其插入位不远处, 它具有两个特别的对生苞片, 称为颖片。

[0005] 燕麦的颖片尺寸较大; 它们达 2cm 的长度并完全包裹小穗; 它们是具有 7-9 个叶脉和短绒毛的矛尖状片。颖片层 (glumellae) 很小; 超过小穗 1cm 以上的外颖片层具有螺旋状边缘, 不在顶点而在背面将其插入。

[0006] 紧挨颖片上部, 花轴具有两个小的几乎不可见的部分, 颖片内稃 (glumellulae) 以及分为三个雄蕊和三个心皮的细小实体花。雄蕊最早实质上无柄, 之后在开花时见其网忽然伸长, 以至花药变得突出且挂在了小穗外部。花药仅通过中间区域插入网, 按其着生位置命名为中部着生花药和丁字着生花药。三种心皮形成单室子房, 带有分成非常伸展状和如羽毛的柱状叶的花柱。所有这些特征对应风力传送花粉。仅存在一个倒生的并在子房腔底部直立的胚珠。

[0007] 果实是特别种类的瘦果, 其中外基部 (foundation) 将直接应用于果皮。此果实称为颖果, 具有大量淀粉状白蛋白的伸长的锥状有短绒毛的谷物。胚具有几乎完全包围胚茎的发育良好的子叶, 并将其从白蛋白分离。整个胚在边侧被排斥。

[0008] 燕麦果实被认为是通过口服途径的药物的原材料, 因其下坠作用 (ballast effect) 而作为轻泻药, 还因其 β -葡聚糖含量而用于胆固醇血症 (cholesterolemia) 或 2 型糖尿病的病症。通过局部途径, 燕麦果实主要用于膳食, 在美国药典 (United States of Pharmacopoeia) USP 22, 1990 中著有一种被称为燕麦胶状提取物 (colloid extract) 的燕麦果实。此种胶状提取物具有润滑性和软化性且将其定义为通过对整个谷粒碾磨并进行其他处理而产生的粉末, 因而这种提取物对应燕麦膳食。药典的专著确定了粘度、微生物限度、干燥损失、粒度的标准和灰分、脂质和氮的含量。

[0009] 从燕麦的这同一部分也可提取出化妆品和蛋白质用油。不溶性的后者仅在酶水解或化学水解后直接使用。可以制得或多或少复杂性的水解产物, 随之取决于水解程度可能获得各种分子量的燕麦肽或氨基酸。检测水解的燕麦蛋白质在化妆品领域和皮肤病学领域

的性质。因此,该水解的燕麦蛋白质的性质表现在毛发上,如这些肽具有的形成发干膜的能力,穿入表皮的能力和因此通过所得的包鞘作用提供护发作用的能力。

[0010] 通过在体外细胞培养液的培养,能够评估燕麦胶状提取物的抗炎活性。因此,此提取物显示了对花生四烯酸皮肤代谢和类花生酸物质 (eicosanoids) 皮肤代谢的抑制活性,对人类角质形成细胞线上的细胞液磷脂酶 A2 和环氧酶的表达的抑制活性,以及对抗炎性细胞因子 TGF β 1 的诱导活性。也可通过同样的胶状提取物控制如 IL₂、IL₄、IL₅、IL₁₃ 的免疫细胞的 Th1 细胞因子和 Th2 细胞因子。最终,在皮肤刺激模型、双盲皮肤刺激模型和 12 位健康志愿者的临床研究表明燕麦胶状提取物的优势。

[0011] 在谷物外部提供用于燕麦纤维营养方面的葡聚糖,以降低胆固醇水平和心血管危险。

[0012] 还调查了燕麦葡聚糖作为食品补充物的粘性和凝胶性。

[0013] 从燕麦提取出的葡聚糖也具有免疫刺激活性。该葡聚糖显示了在化妆品领域提供价值的其他活性:防止 UV 有害作用,刺激细胞代谢,刺激胶原合成和改善毛发抗拉力。

[0014] 除了谷物以外,用燕麦作为饲料植物。燕麦在幼时切割,提供了很多预期的绿色饲料。燕麦草可作为给马、奶牛和绵羊的饲料,但不用于人类食物。在传统药物中,燕麦草用于制备缓解风湿病痛、坐骨神经痛和肝病的药浴。

[0015] 在印度,用普通燕麦煎剂戒掉鸦片瘾。据统计,用从新鲜植物制备出的酒精提取物戒掉烟草效果显著。

[0016] 基于燕麦草或商用提取物的药浴可作用于:风湿病、神经痛、慢性湿疹、神经性皮炎、外周血管疾病.....

[0017] “草药”燕麦是 EMEA 专著 (Ref. EMEA/HMPC/202966/2007) 的主题,其中涉及开花前收获的干燥地上部分的用途,或开花期间收获的植物的新鲜地上部分制备的液体提取物 (1 : 5、45% v/v 乙醇)。

[0018] 这些地上部分传统用于减缓轻微精神压力和促进入睡。

[0019] 从文献可知,燕麦的地上部分由以下部分组成:

[0020] - 黄酮类化合物:

[0021] => 芹黄素类的 C-糖基-黄酮 (牡荆砵、异牡荆苷.....) 或木樨草素 (荭草苷、异红草苷、异金雀花素),

[0022] => 苜蓿素类的 O-糖基化黄酮,

[0023] => 黄酮木脂素 (黄酮木脂体 A 和 B)

[0024] - 双糖链甾体皂苷:燕麦皂苷 (Avenacosides) A 和 B (糖苷配基:纽阿替皂苷配基)

[0025] - 蛋白质

[0026] - 其他:酚类化合物 (燕麦生物碱、羟基肉桂酸.....)、甾醇、脑苷脂...

[0027] 特应性皮炎 (或特应性湿疹) 是常见皮肤病学疾病,在法国感染 10-15% 的新生儿,该疾病的感染率在上个十年有所增加。

[0028] 特应性皮炎是特应性皮肤症状,这是慢性炎性皮肤病或湿疹,由遗传导致,影响 15% -30% 的儿童和 2% -10% 的成年人;其普遍性在工业化国家稳定增长,它的发病率在上三十年翻了两倍甚至三倍,且现在被认为是公共健康的一个主要问题。特应性皮炎经常与其他如过敏性鼻炎和哮喘的特应性疾病相关。这种病最常出现在婴儿期且特征在于几年

内反复发作。继而发展为通过自发缓解而好转的出疹。

[0029] 感染特应性皮炎病人的生活质量深受影响。适用疗法包括皮质甾和局部免疫调制剂、全身剂（其常见副作用限制了长期使用）、润肤剂。本疗法是反应性的——病发疗法——但是目前看出专注于出疹和皮肤炎症的控制的早期干预可有益于控制疾病和哮喘和 / 或鼻炎的可能现象 (BIEBER, T. 2008, Atopic dermatitis, The New England Journal of Medicine, Vol 358(14) 1483-1494), 特应性皮炎被认为是所谓特应性发展的初期阶段。在多数病例中, 相关的局部护理提供所用疗法的补充疗法, 并减轻病人的病痛。仍存在对通过皮质类固醇疗法的另一种疗法的明显需求。

[0030] 特应性皮炎是在遗传因素、如过敏原和微生物的环境因素、皮肤机能屏障、免疫系统异常之间复杂相互作用的结果 (SPERGEL, JM. 2008, Immunology and treatment of atopic dermatitis, Am J Clin Dermatol, Vol 9(4) 233-244)。

[0031] 牛皮癣也是慢性发展的皮肤炎性疾病, 它影响了 2% 人口。特应性皮炎是最常见的慢性皮肤炎性疾病。它的特征在于与炎症反应相关的表皮细胞的异常生长。此炎症症状的中心机理与免疫系统的 T 细胞, 主要是 Th1 型细胞的作用相关 (WILSMANN-THEIS, D. ; HAGEMANN, T ; JORDAN, J ; BIEBER, T ; NOVAK, N. 2008, Facing psoriasis and atopic dermatitis : are there more similarities or more differences ? , Eur J Dermatol, Vol 18(2) 172-180) Th1 型细胞诱导并保持炎症过程且刺激角质形成细胞的过度增殖, 之后进行该增殖加速并不完全的分化阶段。角质形成细胞表达使它们对炎症信号敏感的受体并释放出促炎性介质。因此, 通过 T 细胞和角质形成细胞的相互刺激而持续牛皮癣炎症。

[0032] 因此, 疾病必须长期治疗。

[0033] 因此, 仍存在对这些炎性皮肤病的其他疗法的需要和强烈需求。

[0034] 出人意料且惊喜地, 本发明的发明人显示在治疗剂和化妆品 / 皮肤病学方面提供燕麦地上部分提取物价值的新方法。有利地, 所述提取物具有在治疗特应性皮肤病上有用的免疫调节性和抗炎性。本发明的提取物还显示了良好的治疗痤疮和皮肤老化的能力。

[0035] 因此, 本发明的目的是燕麦地上部分的提取物, 不包括谷物, 特征在于含 2% -15% 的黄酮类化合物和 0.2% -2% 的燕麦皂苷 A 和 B。

[0036] 地上部分, 从本发明的意义上说, 表示本发明位于地上的, 不包括谷粒的燕麦植物的任意部分。

[0037] 优选, 燕麦地上部分包括叶和 / 或茎和 / 或小穗和 / 或花。

[0038] 所获得的燕麦提取物的相关特征是其黄酮类化合物的含量和皂苷的含量。后者, 通过高效液相色谱法, 用适合每种化合物的两种不同的方法分析。

[0039] 这些不同分子的含量依据提取条件变化。主要的黄酮类化合物是异母荆苷 -2'' -O- 阿拉伯吡喃糖苷和异红草苷 -2'' -O- 阿拉伯吡喃糖苷。燕麦皂苷 A 和 B 是主要的皂苷。这些是双糖链甾体皂苷。

[0040] 有利地, 本发明的提取物包含 5% -10% 的主要黄酮类化合物: 异母荆苷 -2'' -O- 阿拉伯吡喃糖苷和异红草苷 -2'' -O- 阿拉伯吡喃糖苷。

[0041] 有利地, 本发明的提取物是从有机溶剂中获得的提取物。

[0042] 有利地, 本发明的提取物包括 1ppm 以下, 优选 0.5ppm 以下且还更优选 0.3ppm 以下的蛋白质。

- [0043] 有利地,本发明的提取物是抽穗期之前收获的燕麦地上部分的提取物。
- [0044] 从本发明的意义上说,“抽穗期之前收获的燕麦地上部分”指在发芽后(约发芽后2周至2月)在茎伸长期至但不包括出穗的过程中收获的燕麦的地上部分。
- [0045] 从本发明的意义上说,“茎伸长”指相应于茎伸长和成穗形成的生长期,开花前。
- [0046] 本发明的另一个目的是制备燕麦地上部分提取物的方法,所述地上部分不包括任何谷物,包括以下步骤:
- [0047] - 干燥和碾磨燕麦地上部分,
- [0048] - 在选自酮、酯、 C_1-C_4 醇的有机溶剂和这些溶剂以任意比例的可混溶混合物中的提取,和
- [0049] - 离心或过滤。
- [0050] 有利地,本发明方法的有机溶剂选自丙酮、甲乙酮、甲基异丁基 酮、乙酸乙酯、 C_1-C_4 醇和这些溶剂以任意可混溶比例的混合物。
- [0051] 有利地,地上部分在2个月后的伸长末期但抽穗期之前收获,并之后干燥并碾磨。
- [0052] 在搅拌或静态法下进行提取。
- [0053] 在室温下进行回流提取。
- [0054] 有利地,1/7至1/20,优选1/8至1/12的植物/溶剂比例下进行提取。
- [0055] 优选,提取进行30分钟至48小时,更优选60至120分钟。
- [0056] 可重复提取2或3次。
- [0057] 随后从提取步中得到的渣通过离心或过滤从提取物中分离,且或多或少浓缩所得溶液直至获得干提取物。
- [0058] 褪色处理可与去脂作用通过浓缩、沉淀或过滤进行,或通过向浓缩的或未浓缩的提取的溶液加入如活性炭或吸附树脂的吸收载体进行。
- [0059] 可在干燥步骤中,以相对经提取的干燥材料1%至75%的重量比例加入载体。载体可以是如麦芽糖糊精、乳糖的糖,二氧化硅或任意其它化妆品学可接受的载体。
- [0060] 本发明的另一个目的是能从本方面的方法获得的燕麦的不包括谷粒的地上部分的提取物。
- [0061] 有利地,此提取物通过丙酮提取或通过水高至20%的丙酮/水的溶液提取获得。
- [0062] 丙酮或具有20%水的丙酮/水类的提取物包含所需的分子、黄酮类化合物和皂苷,且在蛋白质中高度贫乏。实际上,在欧洲药典(European Pharmacopoeia)中描述的蛋白质给药方法没有任何结论,且从丙酮沉淀出后,在SDS-Page凝胶上通过电泳的迁移和无考马斯蓝(Coomassie blue)或硝酸盐银的事实显示了标志蛋白质存在的任意谱带的缺失。通过对同样电泳进行比对,可能将量化蛋白质检测限精确至1ng,此提取物因此具有1ppm以下的蛋白质含量(基于置于凝胶上的提取物量)。优选,所述蛋白质含量为0.5ppm以下,甚至更优选0.3ppm以下。
- [0063] 本发明的另一个目的涉及皮肤病学或化妆品组合物,包括本发明提取物和一种或多种各自在皮肤病学或化妆品可接受的赋形剂。
- [0064] 本发明的组合物可特别包含添加剂和配方助剂,如乳化剂、增稠剂、胶凝剂、水的固定剂、分散剂、稳定剂、着色剂、香料和防腐剂。
- [0065] 本发明的化妆品或皮肤病学组合物还包括常见皮肤病学适用的赋形剂。

[0066] 优选,本发明的组合物包括作为活性成分的燕麦地上部分的提取物,含量为以组合物总重量计的 0.1 重量%至 5 重量%。

[0067] 有利地,所述提取物的含量为以组合物总重量计 0.1 重量%至 0.5 重量%。

[0068] 本发明皮肤病学或化妆品的组合物可以油包水 (W/O) 乳剂或水包油 (O/W),以例如水包油包水 (W/O/W) 或油包水包油 (O/W/O) 乳剂的多重乳剂、微型乳剂或甚至以水分散体或油分散体、凝胶或气雾剂进行制备。

[0069] 适用于皮肤病学或化妆品的赋形剂可以是任意本领域技术人员已知的赋形剂,以获得作为乳膏、霜剂、香膏、油、洗剂、凝胶、泡沫啫喱、软膏、喷雾等适合局部应用的组合物。

[0070] 本发明的另一目的涉及本发明的提取物用作药物。

[0071] 本发明的另一目的涉及本发明的提取物用于治疗炎性皮肤病。

[0072] 本发明的另一目的涉及本发明的提取物用于治疗特应性皮肤病、牛皮癣或湿疹的炎性皮肤病。

[0073] 本发明的另一个目的涉及本发明的提取物用于制备用以治疗炎性皮肤病的药品。

[0074] 本发明的另一个目的涉及本发明的提取物用于制备用以治疗特应性皮肤病、牛皮癣或湿疹的炎性皮肤病的药品。

[0075] 本发明的另一目的涉及本发明的提取物用于治疗痤疮或皮肤老化。

[0076] 本发明的另一目的涉及本发明的提取物在用以治疗痤疮或皮肤老化的化妆品和 / 或皮肤病学的组合物中的用途。

[0077] 本发明的另一目的涉及本发明的提取物用于治疗红斑痤疮。

[0078] 本发明的另一目的涉及本发明的提取物在用以治疗红斑痤疮的化妆品和 / 或皮肤病学的组合物中的用途。

[0079] 红斑痤疮是面部皮肤的炎性和慢性疾病。这是大多情况下不能治愈的良性皮肤疾病,表现在鼻子、面颊,有时也在下巴和前额的慢性红斑。

[0080] 本发明的另一目的涉及本发明的提取物用于治疗敏感性皮肤。

[0081] 本发明的另一目的涉及本发明提取物在用以治疗敏感性皮肤的化妆品和 / 或皮肤病学组合物中的用途。

[0082] 所谓敏感性皮肤,从本发明的意义上说指具有增强敏感性的皮肤。敏感性皮肤或反应性皮肤是有如炎症、痒、刺痛的神经过敏性症状特征的综合症状。来自皮肤科医生临床诊断 (evaluation) 的临床症状有:红疹、水肿、干燥 / 脱皮、丘疹 / 水疱、痤疮损伤 (L. Misery 等人, JEADV2009, 23, 376)。敏感性皮肤是过度 - 反应性皮肤,需使用耐受力良好的卫生和护理产品。敏感性个体是特别对侵害 (aggressions) 比其他大多数人皮肤反应更快的人。

[0083] 以下实施例举例说明本发明,而非限制本发明的范围。

[0084] 实施例 1:本发明抽穗期之前收获的燕麦地上部分的提取物的制备

[0085] a. 通过丙酮提取

[0086] 碾磨 400kg 干燥的抽穗期之前收获的燕麦地上部分,之后将其置于含 10 体积的酮 / 水混合物的反应器中,在室温下搅拌 1 个小时。

[0087] 通过固 / 液分离获得第一提取液。用 10 体积的酮 / 水混合物在室温,搅拌下第二次提取该渣 1 个小时。通过固 / 液分离获得第二提取液,汇至第一提取液。所获得的溶液

浓缩于水至 1.33 体积 /kg, 然后过滤。由此所获得的提取物在加入麦芽糖糊精载体 (qsp 25% / 天然提取物) 后通过微波干燥。

[0088] 由此得到 36 千克包含 6% 滴定量黄酮类化合物 (异母荆苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷和异红草苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷) 和 0.6% 滴定量燕麦皂苷 B 的浅棕色粉末, 并且由此获得的提取物的蛋白质含量在 0.3ppm 以下。

[0089] b. 通过乙醇提取

[0090] 用醇 / 水 50 : 50 的混合物, 回流提取 100g 干燥并碾磨的植物 1 小时, 在 50°C 下固 / 液分离并真空蒸发。由此得到 26g 包含 1.5% 至 3% 滴定量黄酮类化合物 (异母荆苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷和异红草苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷) 作为棕色粉末的提取物。

[0091] 实施例 2: 实施例 1. a 的抽穗期之前收获的燕麦地上部分的提取物的生物研究

[0092] 燕麦地上部分提取物的药理学研究涉及特应性皮炎的免疫炎症成分。表皮屏障的变化 (尤其丝聚合蛋白的基因突变) 有助于高分子量过敏原的渗透 (从螨类、花粉.....), 其通过树状细胞的捕获和它们对 T 细胞的呈现; 此相互作用导致了 T 细胞在皮肤的反应——首先具有一组促炎性细胞因子和能保持炎症的趋化因子的产生的 Th2: 与特应性皮炎相关的 IL-4、IL-5、IL-13, 附带明显出现的 IL-17 和 IL-31——但是 Th1 反应更延迟 (INCORVAIA, C; FRATI, F.; VERNA N; D'ALO, S.; MOTOLESE, A.; PUCCI, S. 2008, Allergy and the skin, Clin Exp Immunol, Vol 153(I) 27-29); (BIEBER, T 2008, Atopic dermatitis, The New England Journal of Medicine, Vol 358(14) 1483-1494)。激活 T 淋巴细胞后, 激活其他类细胞, 主要是角质形成细胞和内皮细胞, 这导致了炎性介质 (细胞因子、前列腺素) 的产生和趋化因子的产生, 促使炎症细胞的聚拢 (recruitment)。

[0093] a. 级分的制备

[0094] 可将燕麦地上部分提取物分级以确定导致活性的分子种类或分子。

[0095] 为此, 提取物可以放置在中度压力的二氧化硅柱并用极性增加的溶剂, 例如增加甲醇在水中的浓度连续洗脱。实际上, 在将实施例 1. a 制得的提取物后放置在二氧化硅柱且首先用 25 : 75 至 50 : 50 的甲醇 / 水的混合物将其洗脱并之后用 100% 的甲醇洗脱而获得的分级法分离出富集黄酮类化合物的级分 (50 : 50 的甲醇 / 水级分, 表达为牡荆砵-2-阿拉伯糖的 19% 的黄酮类化合物, 异母荆苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷和异红草苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷) 和富集皂苷级分 (具有 100% 甲醇、15% 燕麦皂苷 B 的级分)。包含通过质谱和核磁共振确定的结构的黄酮类化合物 (异母荆苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷和异红草苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷) 的第一级分通过半-制备型 HPLC 用 C-18 反向二氧化硅柱分离。

[0096] 包含通过质谱和核磁共振鉴定的结构的燕麦皂苷 A 和燕麦皂苷 B 通过半-制备型 HPLC 从富集皂苷的级分分离。

[0097] b. 免疫调节活性

[0098] 通过寄生或浸润皮肤细胞在炎性或免疫过程中产生代表大量免疫系统的调节蛋白质的细胞因子。

[0099] 包含 IL₂、IL₄、IL₅ 和 IL₁₃ 且通过淋巴细胞产生的白介素分成两组: 包含 IL₂ 的 Th1 型细胞因子, 和包含 IL₄、IL₅ 和 IL₁₃ 的 Th2 型细胞因子。在如特异性 \ 接触湿疹或牛皮癣

的炎症病理中,过度产生了所有这些白介素。

[0100] 在它们中,源于 T 细胞的人白介素 2(IL-2) 能保持激活的 T 淋巴细胞的增殖并诱导 B 细胞和 NK(天然杀手)细胞的变异和激活过程。

[0101] 在体外,可刺激人单核细胞并产生细胞因子。本试验的原理是研究提取物对由豆蔻酸-佛波醇-乙酸乙酯/伊屋诺霉素(Phorbol Myristate Acetate/Ionomycin)双重刺激诱导的 IL₂、IL₄、IL₅、IL₁₃ 的产生的影响。

[0102] 结论:实施例 1. a 的抽穗期之前收获的燕麦地上部分的丙酮提取物在 30 μg/ml 浓度下抑制了 52%数量的表达白介素 2 的 CD4 淋巴细胞和 21%的细胞内 IL₂ 水平。此同样的提取物在 30 μg/ml 浓度下抑制了 51%的产生白介素 4 的淋巴细胞和 31%的白介素 5 和 78%的白介素 13。

[0103] 通过包含燕麦皂苷 A 和 B 的提取物的皂苷提供治疗特应性皮肤病的活性。

[0104] c. 抗炎活性

[0105] 原理:在表皮最具代表性的细胞的角质形成细胞具有诱导和调节皮肤炎症反应的显著作用。用模型可以决定体外各种分子调节源自花生四烯酸代谢的介质的产生的能力。前列腺素 PG6KFl α 是环前列腺素 PGI₂ 的稳定代谢物,通过刺激的人角质形成细胞产生的主要代谢物。在通过钙离子载体 A23187 在角质形成细胞上诱导的此前列腺素的产生方面(刺激一系列花生四烯酸的级联反应)评估抽穗期之前收获的燕麦地上部分的丙酮提取物和其级分。

[0106] 结论:实施例 1. a 的丙酮提取物具有显著活性(在 0.1 μg/ml 下 40%的抑制量),和富集黄酮类化合物的级分具有显著活性,在 10 μg/ml 下 49%的最大抑制值。

[0107] 通过在提取物中存在的黄酮类化合物,特别是通过异红草苷-2''-O-阿拉伯吡喃糖苷提供此抗炎活性(在 10 μg/ml 下 55%的抑制量)。

[0108] 一定程度上阐明了此环前列腺素释放的抑制的作用机理:观察到在体外通过丙酮提取物对环氧酶 2 的直接抑制(在 100 μg/ml 下 68%的抑制量),且对磷脂酶 A2 无抑制。

[0109] d. 抗氧化活性

[0110] 用 DPPH[·](2,2'-二苯基-1-苦基肼基)试验评估实施例 1. a 制得的燕麦地上部分的提取物。此易应用的快速试验基于对稳定的游离基 DPPH[·]俘获能力的测量。在 517nm 吸附的游离基 DPPH[·],当它与质子给体反应时还原为对应的肼:

[0111] $R-OH + DPPH^{\cdot} \rightarrow R-O^{\cdot} + DPPH_2$

[0112] IC₅₀ 对应于在甲醇溶液吸附 DPPH[·](C = 25 μg/ml) 中造成 50%还原的提取物的浓度。

[0113] 在这些情况下,维生素 E 具有 6 μg/ml-10 μg/ml 的 IC₅₀ 而出穗前的燕麦地上部分的丙酮提取物具有 70 μg/ml 的 IC₅₀。

[0114] 此提取物因此具有抗氧化剂活性,且由此作为抗老化剂用在化妆品配方中。

[0115] e. 抗微生物活性

[0116] 根据实施例 1. a 制得的丙酮提取物对隐藏在痤疮内的细菌,痤疮丙酸杆菌(*Propionibacterium acnes*)(见表 1)具有选择性作用。

[0117]

细菌	MIC
金黄色酿脓葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	≥3.07%
表皮葡萄球菌 (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)	≥3.07%
痤疮丙酸杆菌 (<i>P.acnes</i>)	0.096%
绿脓杆菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	≥3.07%
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	≥3.07%
白色念珠菌 (<i>Candida albicans</i>)	≥3.07%
黑曲霉 (<i>Aspergillus niger</i>)	≥3.07%
糠秕马拉色菌 (<i>M.furfur</i>)	≥3.07%

[0118] 表 1: 实施例 1. a 的燕麦地上部分的丙酮提取物对不同细菌, 革兰氏 + 细菌、革兰氏 - 细菌、酵母和真菌, 的最小抑制浓度, 以百分数 (w/w) 表示。

[0119] 实施例 3: 本发明的组合物

[0120] 特应性皮肤的润肤霜

[0121]

燕麦的地上部分的提取物 (实施例 1.a)	0.1-0.5%
矿物油	10-20%
月见草油	2.5%
环甲基硅酮	5-8%
甘油硬脂酸/聚乙二醇-100 硬脂酸	5%
甘油	5%
聚丙烯酰胺&C13-14 异链烷烃&聚乙二醇单十二醚-7	3%
聚乙二醇-12	4%
乙二胺四乙酸	0.2%
三乙醇胺	0.1%
防腐剂	qs
水	qsp 100%

[0122] 特应性皮肤的保湿乳

[0123]

燕麦的地上部分的提取物（实施例 1.a）	0.1-0.5%
矿物油	3%
凡士林	6-12%
二甲聚硅氧烷	2%
月见草油	2.5%
山梨醇硬脂酸/椰子油脂酸蔗糖酯	5%
黄原胶	0.4%
卡波姆	0.2%
三乙醇胺	0.1%
甘油	3%
乙二胺四乙酸	0.2%
山萘酒精	1%
防腐剂	qs
水	qsp 100%