

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102307623 A

(43) 申请公布日 2012.01.04

(21) 申请号 201080006657.9

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010.01.29

A61Q 17/00 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61Q 19/08 (2006.01)

09001739.3 2009.02.07 EP

A61K 8/97 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011.08.05

(86) PCT申请的申请数据

PCT/EP2010/000531 2010.01.29

(87) PCT申请的公布数据

W02010/089054 EN 2010.08.12

(71) 申请人 考格尼斯知识产权管理有限责任公司

地址 德国杜塞尔多夫

(72) 发明人 P·穆苏 P·莫塞尔 C·让迈尔
L·达努 V·巴尔代

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 林柏楠

权利要求书 1 页 说明书 26 页

(54) 发明名称

用于化妆品皮肤处理的双花扁豆提取物

(57) 摘要

本发明涉及增加胶原产生的双花扁豆提取物以及包含所述提取物的化妆品组合物。此外，本发明涉及所述提取物或组合物用于化妆品目的的用途，特别是它们在增加胶原产生中的用途。最后描述了制备所述提取物及其化妆品用途的方法。双花扁豆提取物优选通过醇或含水醇提取种子而制备。

1. 双花扁豆提取物作为皮肤抗老化剂的化妆品用途。
2. 权利要求 1 的化妆品用途, 其中双花扁豆提取物通过增加皮肤中的胶原产生而发挥作用。
3. 权利要求 2 的化妆品用途, 其中胶原是选自胶原 I、III、IV、V、VI、VII、XII、XIII、XIV、XVI、XVIII、XIX 及其任何组合的胶原。
4. 权利要求 2 或 3 的化妆品用途, 其中胶原是胶原 I 和 / 或 V。
5. 权利要求 1 至 4 中任意一项的化妆品用途, 其中双花扁豆提取物用作 UV- 保护剂、抗氧化剂和 / 或代谢增强剂。
6. 权利要求 1 至 5 中任意一项的化妆品用途, 其中双花扁豆提取物
 - (i) 是种子或包含种子的植物部分的提取物, 和 / 或
 - (ii) 是醇或含水醇的提取物。
7. 双花扁豆提取物, 其
 - (i) 是种子或包含种子的植物部分的提取物, 和 / 或
 - (ii) 是醇或含水醇的提取物, 和 / 或
 - (iii) 如权利要求 1 至 5 中任意一项定义发挥作用。
8. 化妆品组合物, 该化妆品组合物包含权利要求 7 的双花扁豆提取物。
9. 制备权利要求 7 中定义的双花扁豆提取物的方法, 该方法包括其中双花扁豆整个植物或植物部分被提取、优选通过醇或含水醇提取的步骤。

用于化妆品皮肤处理的双花扁豆提取物

技术领域

[0001] 本发明涉及增加胶原产生的双花扁豆 (*Dolichos biflorus*) 提取物以及包含所述提取物的化妆品组合物。此外，其涉及所述的提取物或组合物用于化妆品目的的用途，特别是它们在增加胶原产生中的用途。最后，描述了制备所述的提取物及其化妆品用途的方法。双花扁豆提取物优选通过醇或含水醇 (hydroalcoholic) 提取种子而制备。

现有技术

[0002] 消费者可获得多种化妆品组合物，用于改善皮肤外观。特别是这些化妆品用于防止或抵抗皮肤老化迹象，例如硬度损失、皮肤厚度减少、细线、皱纹、弹性丧失、下陷、更新速率降低以及异常脱屑。这些效应通过多年暴露于 UV 线、刺激物、变应原和多种环境毒素而被加强。此类化妆品组合物通常称为抗老化组合物。

[0003] 皮肤包括三层，表皮、真皮和皮下组织（下皮）。皮肤细胞外基质是复杂的大分子网络，例如胶原或弹性纤维、糖蛋白、糖胺聚糖和蛋白聚糖。其提供了承担机械强度的身体骨架并且参与细胞代谢调节。

[0004] 真皮是由两个不同层组成的，乳头状突起真皮和网状真皮。

[0005] 在真皮中，超过 70% 的蛋白质是胶原。胶原负责皮肤的强度。胶原由称为成纤维细胞的细胞分泌，该细胞分布于整个真皮。

[0006] 人皮肤真皮中一个重要类型的胶原是 I 型胶原，其形成纤维网络。

[0007] 真皮还包括数量上较少的胶原，包括 V 型胶原。该胶原在 I 型胶原纤维引发和大小控制中发挥重要作用。V 型胶原与生长的胶原 I 原纤维相互作用，有利于纤维形成。此外，V 型胶原诱导空间约束，其限制了胶原纤维的生长，从而调节它们的直径。

[0008] 数种化妆品成分声称促进胶原 I 合成，但是对 V 型胶原没有任何作用。这可能诱导形成低质量的胶原纤维网络。

[0009] 在真皮中存在其它较少的胶原，例如 III、VI、VII、XII、XIV、XVI、XVIII 和 XIX 型胶原。所有这些胶原参与构建功能的真皮。

[0010] IV 型胶原存在于基膜层。在皮肤中，其特别是表达在真皮 - 表皮连接层。通过化妆品成分增加胶原 IV 可以有效地改善真皮 - 表皮连接的质量。

[0011] 双花扁豆是豇豆科的成员，也称为豇豆 (*Southern pea*) 或意大利豇豆。其植物学名称为 *Vigna unguiculata* subsp. *Unguiculata* cv-gr *Biflora* Westphal。

[0012] 其是草本的、伏地的、攀缘而上的或亚垂直或垂直的一年生植物，生长 0.3 至 4m 长。叶子是交错的三小叶，叶柄 5-25cm 长。侧面小叶是对生的并且是不对称的，而顶端小叶是对称的。豆荚是悬垂的或垂直于伸展方向，线性的。种子的大小和形状不同，正方形至长方形并且是不同的颜色（白色、棕色、栗色、米色和绿色）。双花扁豆生长在印度和斯里兰卡，收集种子和作为蔬菜。嫩绿的豆荚作为绿色蔬菜使用。干的种子整体或劈开使用。其制成很好的饲料。此外，双花扁豆用于印度传统医学，例如作为抗结石剂。

[0013] 豇豆 (*Vigna unguiculata*) 是豇豆属中的一个物种，属于豆科。在文献中，描述了

豇豆物种的某些抗老化用途,但不是双花扁豆。

[0014] WO 2006/053415(Biopharmacopae)公开了具有基质金属蛋白酶(MMP)抑制活性的植物提取物,特别是豇豆提取物,以及它们的皮肤病学用途。WO 2006/053415中所示的MMP抑制可能导致皮肤细胞外基质组分降解的减少。WO 2006/053415中列出的豇豆物种仅显示出较低的降低MMP抑制;因此,豇豆不属于用于WO 2006/053415中皮肤治疗的优选提取物。WO 2006/053415中描述的优选提取物用于治疗或预防多种皮肤病症,例如皮肤皱纹和下陷以及辐射诱导的皮肤损伤,或用于常规皮肤护理。

[0015] WO 2005/058476(GAT Formulation GmbH)描述了用于化妆品成分包囊的微囊化方法。这些成分的一个来源可能是双花扁豆提取物。

[0016] WO 02/055049(Cognis France & YSL Beauté)描述了化妆品和药物制剂,用于防止皮肤脱水。所述的制剂包含胚胎发育后期富集(LEA)蛋白。所提及的豇豆提取物作为LEA蛋白的一个来源。

[0017] 这些WO文献中没有一个提及双花扁豆种子作为适合于皮肤处理的化妆品组合物的提取物的来源,更不必说抗老化皮肤处理。

[0018] 本发明的目的是提供用于化妆品抗老化皮肤处理的安全产品,即对皮肤具有抗老化作用的产品。特别的目的是提供增加胶原产生的产品,优选胶原I、胶原III、胶原IV、胶原V、胶原VI、胶原VII、胶原XII、胶原XIV、胶原XVI、胶原XVIII和/或胶原XIX产生,更优选胶原I和/或V产生,以便获得从头合成皮肤中高质量的胶原网络。特别的是,需要胶原产生增加对老化皮肤的化妆品作用,例如改善皮肤外表和预防或改善皮肤老化迹象,例如皱纹、细线、硬度减弱。

[0019] 本发明的进一步的特别目的是提供抗老化产品,其(i)具有皮肤保护性质,例如给皮肤提供UV保护,和/或(ii)改善皮肤细胞的代谢,包括能量代谢。

[0020] 这些和其它目的在本发明描述后将变得显而易见,它们如独立权利要求中所描述的那样被解决。从属权利要求涉及优选的实施方案。

[0021] 发明概述

[0022] 本发明涉及双花扁豆提取物及其用途,特别是在化妆品皮肤处理中的用途。

[0023] 在所述的化妆品处理中,双花扁豆提取物特别用于皮肤护理、皮肤保护和/或皮肤再生,典型地用于预防和/或减少皮肤老化迹象,例如改善皮肤外表和/或色泽、皮肤硬度、和/或皮肤光滑度,和/或改善或预防皮肤老化迹象,例如细线或皱纹。

[0024] 令人惊讶地发现双花扁豆提取物能提高皮肤和皮肤细胞中的胶原水平,特别是人真皮成纤维细胞产生的胶原水平,特别是胶原I和/或V的水平。通过减少皮肤皱纹和皮肤细线,这对皮肤胶原基质网络和皮肤性质(例如皮肤外表、皮肤色泽、皮肤硬度、皮肤平滑度)具有有益作用。

[0025] 因此,一方面本发明是基于双花扁豆提取物的能力,用于改善胶原产生,优选胶原I、III、IV、V、VI、V、VII、XII、XIV、XVI、XVIII和/或XIX的产生,更优选胶原I和/或V的产生,并且甚至更优选胶原I和V的产生,从而获得良好的有组织的皮肤胶原基质网络。在化妆品用途中,该能力可以用于皮肤护理、皮肤保护和/或皮肤再生,例如改善皮肤外表,改善皮肤色泽,改善皮肤硬度,以及抵抗、减少或预防皮肤老化迹象。

[0026] 还发现双花扁豆提取物能改善皮肤细胞(特别是成纤维细胞)的细胞代谢,特别

是它的积极代谢（特别是通过增加其 ATP 合成速率）。该能力还能用于化妆品皮肤再生，特别是皮肤恢复。

[0027] 最后发现双花扁豆提取物能防止皮肤免受 UV 辐射的损伤。该能力可用于化妆品 UV 保护和预防或减少光老化迹象。

[0028] 特别的是，本发明提供以下实施方案：

[0029] (1) 双花扁豆提取物作为皮肤抗老化剂的化妆品用途；

[0030] (2) 根据 (1) 的化妆品用途，其中双花扁豆提取物通过增加皮肤中胶原产生、特别是胶原 I 和 / 或 V 的产生来发挥作用；

[0031] (3) 双花扁豆提取物，其

[0032] (i) 是种子或含种子的植物部分的提取物，和 / 或

[0033] (ii) 是醇或含水醇的提取物，和 / 或

[0034] (iii) 如以上 (1) 或 (2) 定义的发挥作用；

[0035] (4) 包含以上 (3) 的双花扁豆提取物的化妆品组合物；

[0036] (5) 制备以上 (3) 中定义的双花扁豆提取物的方法，该方法包括以下步骤，其中提取双花扁豆整个植物或植物部分（提取步骤），优选醇或含水醇提取步骤；和

[0037] (6) 改善皮肤老化迹象的方法，包括给皮肤应用以上 (3) 的提取物或以上 (4) 的化妆品组合物的步骤。

[0038] 发明详述

[0039] 本发明涉及双花扁豆提取物，其具有抗老化特性，特别是具有增加胶原产生、提供 UV 保护、作为抗氧化剂和 / 或增强皮肤或皮肤细胞中细胞代谢的能力。本发明进一步涉及包含所述提取物的化妆品组合物。所述的提取物优选由原始双花扁豆植物材料，特别是包含双花扁豆种子的植物材料制备。此外，本发明涉及所述的双花扁豆提取物或组合物用于化妆品目的的用途，特别是它们在增加皮肤和 / 或皮肤细胞中胶原产生中的用途。

[0040] 双花扁豆提取物是通过包括至少一个提取步骤的方法制备的。优选的是，双花扁豆原始植物材料是通过水、醇或含水醇提取来提取的，获得提取物，其能增加胶原产生和 / 或具有其它抗老化性质，例如用作 UV- 保护剂、抗氧化剂和 / 或代谢增强剂。

[0041] 术语和定义

[0042] 本发明上下文所用的单数形式的“一个（种）”还包括各自的复数，除非上下文另外明确说明。因此，术语“一个（种）”旨在表示“一个（种）或多个（种）”或“至少一个（种）”，除非另外明确说明。

[0043] 上下文关于数值或参数范围的术语“约”表示精确度的区间，本领域技术人员将理解仍然确保所述特征的技术效果。该术语典型地表示 +/-10%、优选 +/-5% 的所示数值的偏差。

[0044] 本发明上下文中的“包括（包含）”表示单词“包括（包含）”后所列的组分是形成组合物（即由所述组分组成的组合物）的唯一组分，或除所述组分之外还存在至少一种进一步的组分。在优选的含义中，其表示“基本上由……组成”，在其最狭窄的含义中，其同义于“由……组成”。

[0045] 术语“抗老化”广泛用于化妆品工业，并且典型地表示延缓或减少皮肤的老化效应（例如随年龄的老化、光老化或由于除 UV 辐射之外的其它不利环境因素引起的老化）。随

着年龄和暴露于不利的环境因素,皮肤的可视外表、物理性质和生理功能以被认为是化妆品不希望的方式变化。最值得注意和明显的变化包括细线和皱纹的出现、弹性丧失、下陷增加、硬度减弱、颜色均匀度(色泽)丧失、粗糙的表面纹理和斑块色素沉着。不太明显但可测量的变化(其是因皮肤老化或持续慢性环境损伤而出现)包括细胞和组织活力的一般性减退、细胞复制速率的降低和皮肤重塑和自我修复能力的减弱。抗老化化合物和组合物用于防止、延缓、恢复(至少部分)、减弱或降低这些变化。化合物和组合物的抗老化作用可以通过常规组(panel)试验来评估,所述的组试验是化妆品工业中的标准实践。

[0046] 术语“提取物”旨在涉及从本发明提取步骤中产生的液体和制备本发明双花扁豆提取物的方法的中间体和终产物(其典型的是干燥产物)。适合的含义在上下文中通常是清楚的。在本发明的上下文中、例如在本发明的组合物或用途中可以使用每种液体提取物、中间体和终产物。但是优选终产物、特别是干燥的终产物或包含所述终产物的组合物。

[0047] 术语“植物部分”表示单独或组中获取的植物的任何一个或多个部分。实例包括植物的叶、花、根、种子、豆荚、茎、果实、种皮、芽和其它部分。在本发明的上下文中,优选种子和包含种子的植物部分。

[0048] 术语“皮肤”表示动物或人的皮肤,优选哺乳动物皮肤,或者甚至更优选人皮肤。“皮肤”包括表皮、真皮和皮下组织。术语“皮肤细胞”涉及典型地存在于皮肤中的任何细胞,例如角质形成细胞、成纤维细胞、内皮细胞、基底细胞、颗粒细胞、梅克尔细胞、黑色素细胞、朗格汉斯细胞、白细胞、肥大细胞、神经细胞、脂肪细胞和巨噬细胞。在本发明的上下文中,优选成纤维细胞和/或角质形成细胞,并且特别优选成纤维细胞。而且,优选人皮肤细胞,特别是人成纤维细胞和/或角质形成细胞。

[0049] 术语“改善”包括阻止、预防、降低或改善所示病症的一种或多种体征、特征或症状,无论它是暂时的还是长期的。

[0050] 本发明的上下文中“增加胶原产生”或“胶原产生增加”涉及通过给生物样品或人或动物个体应用或施用双花扁豆提取物,与未处理的对照相比,胶原产生的任何增加,特别是增加胶原的合成速率或者细胞或组织、特别是皮肤细胞或皮肤中胶原的量或浓度。当与未处理的对照相比时,处理的组织或细胞中胶原产生的量典型地大于未处理的对照中胶原产生的100%并且优选至少110%、至少130%、至少150%或至少170%。在优选的方面,“增加胶原产生”包括或更优选表示“增加胶原合成”。胶原产生的增加可以通过增加细胞中胶原的量或浓度、通过增加胶原释放和/或细胞产生速率、通过增加单位时间合成的胶原量(胶原合成速率)、通过增加胶原合成酶的浓度和/或通过增加编码胶原合成酶的基因的翻译和/或转录产物来实现。胶原产生增加可以发生在任何组织或细胞类型中,但优选皮肤和皮肤细胞。在特别的实施方案中,胶原产生在成纤维细胞或角质形成细胞、优选在皮肤成纤维细胞或表皮角质形成细胞中增加。胶原产生、特别是胶原合成的增加是通过胶原定量或胶原合成酶定量的任何方法、特别是通过实施例中描述的方法之一来证实的。

[0051] 术语“含水醇”同义于“水-醇”。

[0052] “低分子量醇”是含有1至5个碳原子的醇,并且可以是伯、仲或叔醇。其可以是一元醇或多元醇,优选是一元醇、二元醇和三元醇,特别优选一元醇、二元醇和甘油。因此,低分子量醇可以优选选自甲醇、乙醇、1-丙醇、1-丁醇、2-丙醇、2-丁醇、2-甲基-1-丙醇、2-甲基-2-丙醇、戊醇、甘油、乙二醇、二乙二醇、二丙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇、戊二醇及

其混合物。在本发明的上下文中，特别优选甲醇、乙醇、丙二醇、丁二醇和戊二醇。

[0053] **双花扁豆提取物**

[0054] 本发明涉及双花扁豆提取物及其用途。

[0055] 通常，双花扁豆植物任何和所有部分可用作原始材料以制备本发明的提取物。整个植物或植物部分（例如种子）是新鲜的或干燥的，可用作原料，其在提取前机械降低大小。在优选的方面，种子或包含种子的植物部分、更优选种子用作原料。特别优选干燥的种子。在一个优选的方面，将种子在提取前例如通过分裂、磨碎或研磨机械降低大小。该大小降低的产物也是制备本发明双花扁豆提取物的优选的原料。

[0056] 双花扁豆植物或植物部分在提取前可以是新鲜的或预处理的。预处理方法优选选自干燥、冷冻干燥、冷冻、机械降低大小及其组合。用作提取的原始材料的植物材料可以是新鲜的、干燥的或冷冻的。除了机械降低大小之外，干燥和冷冻干燥是最优选的预处理方法。

[0057] 植物材料可以在采集后立即使用或其可以贮存一段时间，然后进行提取处理，采集后贮存优选于立即使用。新鲜的植物或植物部分可以用作原料，尽管通常使用干燥的植物和 / 或植物部分，其可以在提取前机械降低大小。

[0058] 因此，双花扁豆提取物优选由干燥的植物部分制备，最优选由干燥的种子或包含种子的干燥植物部分制备。甚至更优选使用磨碎的干燥种子。

[0059] 双花扁豆提取物优选具有减少的 LEA 含量（例如与原始材料中总 LEA 含量比较已经减少），或其不含 LEA。提取物的 LEA 含量可以如 WO2/055049 中描述的那样测量。

[0060] 双花扁豆提取物典型地是水、醇或含水醇的提取物，优选是醇或含水醇的提取物。

[0061] 双花扁豆提取物是在本发明上下文中特别优选的提取物，其 (i) 是种子或包含种子的植物部分的提取物，和 / 或 (ii) 醇或含水醇的提取物，特别优选双花扁豆提取物，其 (i) 是种子或包含种子的植物部分的提取物，和 (ii) 醇或含水醇的提取物。在特别的实施方案中，本发明上下文中的双花扁豆提取物是含水醇的（例如水 / 乙醇）种子提取物。

[0062] 在一个实施方案中，本发明的双花扁豆提取物是增加胶原产生的提取物，即其用作胶原产生增强剂。优选的是，其增加以下一种或多种胶原的产生，所述的胶原选自胶原 I、III、IV、V、VI、VII、XII、XIV、XVI、XVIII 和 XIX，更优选增加胶原 I 和 / 或 V 的产生，并且特别是增加胶原 I 和 V 的产生。

[0063] 在进一步的实施方案中，本发明的双花扁豆提取物是 UV- 保护剂，即其用作 UV- 保护剂。其能够提供对皮肤和皮肤细胞、特别是对角质形成细胞和成纤维细胞的 UV 保护（比较实施例）。

[0064] 在甚至更进一步的实施方案中，本发明的双花扁豆提取物是抗氧化剂，即其用作抗氧化剂。其能够提供对皮肤和皮肤细胞、特别是对角质形成细胞和成纤维细胞的氧化性应激保护（比较实施例）。

[0065] 在甚至更进一步的实施方案中，本发明的双花扁豆提取物是代谢增强剂，即其用作代谢增强剂。其能够增加皮肤细胞、特别是成纤维细胞中 ATP 合成速率（比较实施例）。

[0066] 在甚至更进一步的实施方案中，本发明的双花扁豆提取物具有抗老化特性的组合，特别是以下所列的抗老化特性的组合，用作 (i) 胶原产生增强剂，(ii) UV- 保护剂，(iii) 抗氧化剂和 (iv) 代谢增强剂。

[0067] 典型的是,本发明的双花扁豆提取物增加胶原产生,同时是UV-保护剂、代谢增强剂和 / 或抗氧化剂,或这些的任何组合。

[0068] 本发明的双花扁豆提取物或包含所述提取物的化妆品组合物优选用于化妆品皮肤处理,特别是用于抗老化皮肤处理。一个优选的用途是增加胶原产生,优选增加以下一种或多种胶原的产生,所述的胶原选自胶原 I、III、IV、V、VI、VII、XII、XIV、XVI、XVIII 和 XIX,更优选增加胶原 I 和 / 或 V 的产生。特别优选的是用于增加胶原 I 和 V 产生的化妆品用途。其它优选的用途是一种或多种以下用途,其中双花扁豆提取物用作 (i) 胶原产生增强剂, (ii) UV-保护剂, (iii) 抗氧化剂和 (iv) 代谢增强剂。

[0069] 优选的化妆品用途是皮肤护理、皮肤保护和 / 或皮肤再生。双花扁豆提取物对皮肤和皮肤细胞的作用、特别是抗老化作用包括改善皮肤外表、改善皮肤硬度、预防和 / 或减少皮肤老化迹象。所述的皮肤老化迹象选自例如皮肤厚度减少、细线、皱纹、弹性丧失、下陷、更新速率降低以及异常脱屑。还包括UV-保护和 / 或预防和 / 或减少光老化迹象。双花扁豆提取物的皮肤抗老化作用包括增加皮肤再生和更新过程、恢复老化的或应激的人皮肤、改善年龄相关的更新损失和 / 或加强皮肤细胞外基质网络。更通常的是,其包括改善皮肤硬度、预防和 / 或减少内在和 / 或外在的皮肤老化、延缓皱纹出现、减少已出现的皱纹深度、减少细线的外表和 / 或改善皮肤外观和 / 或色泽。有利的是,皮肤抗老化作用组合多种或甚至全部这些作用。

[0070] 在随后的“双花扁豆提取物的制备”部分描述双花扁豆提取物的进一步优选特征。

[0071] 双花扁豆提取物的制备

[0072] 本发明的双花扁豆提取物可以通过已知的提取植物或其部分的方法制备。适合的提取方法,例如浸渍法、重新浸渍法、搅拌浸渍法、消化法、涡旋提取法、超声提取法、反流提取法、渗滤法、重新渗滤法、evacolation(减压提取法)、渗透萃取法、连续的固体 / 液体提取,可以例如在 Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis(第 5 版,第 2 卷,第 1029–1030 页,Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1991) 中查找。提取还可以在亚临界或超临界条件下进行,应用溶剂例如二氧化碳、含有或不含有醇或二元醇的水。

[0073] 通常,提取方法包括提取步骤,即固体植物材料与溶剂接触进行充分的混合并且持续一段时间足以确保固体植物材料充分暴露于溶剂。优选的是,所述的一段时间足以确保具有所需性质(例如作为 (i) 胶原产生增强剂, (ii) UV-保护剂, (iii) 抗氧化剂和 (iv) 代谢增强剂) 的化合物,特别是植物材料中增加胶原产生的化合物可以被溶剂提取出来。

[0074] 提取双花扁豆植物或植物部分的溶剂可以是适合提取植物或植物部分的任何溶剂,并且优选选自含水溶剂(例如水或含水缓冲液)和有机非极性或极性溶剂,例如低分子量醇,例如选自甲醇、乙醇、丙二醇、丁二醇、戊二醇、戊烷、己烷、庚烷、丙酮、乙基甲基酮、乙酸乙酯及其混合物和其含水混合物,更优选选自水和有机极性溶剂,例如甲醇、乙醇、丁二醇及其混合物和其含水混合物。甚至更优选的是,溶剂选自含水溶剂(特别是水)与一种或多种极性有机溶剂、优选与水互溶的有机溶剂、更优选与低分子量醇的混合物。特别优选水与有机溶剂的混合物,所述的有机溶剂选自 1,3-丁二醇、甲醇、乙醇及其混合物,特别是实施例部分描述的混合物之一。

[0075] 在优选的方面,提取物是通过醇或含水醇的提取获得的,特别是通过用以下溶剂提取获得的,所述的溶剂选自水、甲醇、乙醇及其含水混合物,特别是水 / 乙醇和水 / 甲醇混

合物,更特别是水 / 乙醇混合物。

[0076] 当提取方法是用含水混合物(即含水溶剂与有机溶剂的混合物)进行时,混合物中有机溶剂的含量范围为5%至95%(体积),优选40%至90%(v/v)。特别优选有机溶剂含量为60至80%(v/v)、特别是70%(v/v)。

[0077] 对于其中将提取物配制施用于皮肤的用途,选择与所述皮肤相容的溶剂。这类溶剂的实例包括水、含水缓冲液、低分子量醇以及含水溶剂与低分子量醇的混合物。

[0078] 提取方法通常是在温度为4至180°C、优选20至150°C、更优选20至80°C下进行的。特别优选在室温或在回流(即在溶剂沸腾温度)下提取。

[0079] 提取方法可以在惰性气氛下进行,以避免提取物的活性成分的氧化。

[0080] 提取方法通常是在pH 2.5至11、优选4至9,更优选在弱酸或中性pH、最优选在实施例所示的大约pH值下进行。在特别优选的方面,当溶剂是水时,pH优选调至酸性或中性pH、更优选pH 4至8、甚至更优选4.5至7.5。调节可以通过添加任何酸或碱来实现,所述的酸或碱适于获得所需的pH,但是优选添加化妆品可接受成分的pH调节剂。在一个方面,pH是通过添加硫酸来降低的。

[0081] 为了便于提取处理,植物材料可以在提取处理前预处理。典型的是,该预处理导致植物材料破碎,以便更大的表面积出现在溶剂中。例如,可以使用粉碎机或其它破碎装置将植物材料机械地破碎或碎裂。

[0082] 原始材料的颗粒大小和提取时间通常由专家根据提取方法、溶剂、温度和pH条件以及溶剂与原始材料的比值等来选择。通常,40分钟至20小时、优选约1至2小时的提取时间是足够的。提取处理可以进行至任何程度,但是通常持续到耗竭。

[0083] 在提取处理过程中或之后,粗提物可以进行其它典型的纯化和处理步骤,例如纯化、净化、浓缩、脱色和 / 或酶解。优选的是,这些步骤在提取步骤之后进行。

[0084] 在一个优选的方面,酶解是在提取处理过程中或之后进行的。在所述的方面,将水解酶加入到提取混合物中。所述的酶优选是蛋白酶,更优选是食物或饲料工业中所用的蛋白酶,最优选*alcalase*[®]或具有类似酶性质的蛋白酶。当加入酶时,优选的溶剂是水或含水混合物。优选的是,pH是在或约在蛋白酶最佳的pH。通常,pH是4至9,优选6至8.5,最优选在pH约7.5。

[0085] 如果需要,可以使用膜分离技术(例如纳米过滤、超滤)、沉淀技术、树脂的吸附 / 解吸技术和 / 或色谱法技术将由此制备的提取物进行进一步的纯化步骤。

[0086] 如果需要,可以将提取物例如进行选择性除去个别不需要的成分。可选择的是,选择提取方法,从而例如通过使用含水醇或醇提取溶剂从植物材料中仅少量地或一点都不提取不需要的成分。在优选的方面,减少或避免从植物材料中提取LEA蛋白质,例如通过选择适合的提取方法、提取溶剂(例如醇或含水醇)和 / 或原始材料(例如双花扁豆种子),或者通过一种或多种进一步的方法步骤从粗提物中除去LEA。最优选的是,产生的提取物实际上不含LEA。

[0087] 如果需要,可以将提取物进行干燥处理,例如喷雾干燥或冷冻干燥。在本发明上下文中,双花扁豆提取物优选在其用于皮肤处理前干燥。

[0088] 基于所用的原始材料的量,从原始植物材料中提取的干物质的典型产率范围为0.5至40%重量(w/w)并且更特别是范围为2至20% (w/w)。提取条件和最终提取物的产

率可以通过专家根据所需的应用来选择。

[0089] 提取物可以与一种或多种辅料混合,例如甘露醇、山梨醇、麦芽糖糊精合剂、环糊精、甘油、糖例如蔗糖、果糖、葡萄糖和海藻糖。

[0090] 根据本发明方法制备的某些双花扁豆提取物是新的。因此,本发明的一个实施方案涉及这些新的提取物。在所述的实施方案的一个方面,提取物是醇或含水醇的提取物,优选含水醇的提取物。在另一个方面,提取物由双花扁豆种子制备,优选由干燥的双花扁豆种子制备。特别优选的是干燥种子的含水醇的提取物,特别是用以上描述的优选的溶剂之一制备的含水醇的提取物。

[0091] 包含双花扁豆提取物的化妆品组合物

[0092] 本发明进一步涉及包含双花扁豆提取物、特别是上述的双花扁豆提取物的化妆品组合物。

[0093] 该化妆品组合物包含有效量的双花扁豆提取物,即该量的双花扁豆提取物获得所需的作用。

[0094] 所述的组合物优选包含浓度为占总组合物重量的约 0.0001 至约 10% 并且更优选约 0.001 至约 5%、甚至更优选约 0.01 至约 2% 重量的双花扁豆提取物。如果所需的作用是 UV 保护、特别是 UVA 保护,优选的浓度范围可以甚至低 10 个系数 (factor)。

[0095] 在一个方面,所述的组合物包含除双花扁豆提取物之外的一种或多种其它化妆品活性成分。

[0096] 在另一个方面,所述的组合物包含作为唯一抗老化剂、优选作为唯一化妆品活性成分的双花扁豆提取物。

[0097] 在进一步的方面,所述的组合物包含一种或多种其它增加胶原产生的成分。

[0098] 在优选的方面,所述的组合物包含双花扁豆提取物,作为唯一增加胶原 I、III、IV、V、VI、VII、XII、XIV、XVI、XVIII 和 / 或 XIX 产生的成分,更优选作为唯一增加胶原 I 和 / 或 V 产生的成分,甚至更优选作为唯一增加胶原 I 产生的成分,并且最优选作为唯一增加胶原产生的成分。

[0099] 在进一步优选的方面,所述的组合物包含双花扁豆提取物,作为唯一的 UV 保护剂、抗氧化剂和 / 或代谢增强剂。

[0100] 本发明的组合物优选用于化妆品皮肤处理,特别是用于抗老化皮肤处理。组合物的一个优选用途是增加胶原产生,特别是增加胶原 I、III、IV、V、VI、VII、XII、XIV、XVI、XVIII 和 / 或 XIX 产生,特别是增加胶原 I 和 / 或 V 产生。其它优选的用途是一种或多种以下用途:用于 (i)UV 保护、(ii) 抗氧化处理和 (iii) 代谢增加。

[0101] 本发明的组合物是化妆品组合物。对于化妆品和药物组合物及其相应用途的区别,参见德意志联邦共和国的法律规定(例如 Kosmetikverordnung, Lebensmittel-und Arzneimittelgesetz)。

[0102] “化妆品组合物”应当表示旨在置于与人体多种外部(例如皮肤(特别是表皮)、头发、指甲、嘴唇)或与牙齿和口腔粘膜接触的任何制剂,所述的制剂具有优选的考虑,专一地或主要用于清洗它们、香化它们、改变它们的外观和 / 或纠正体臭和 / 或保护它们或使它们维持良好的条件。

[0103] 在本发明上下文中优选的化妆品组合物是皮肤护理组合物,即组合物旨在置于与

皮肤接触。所述的组合物可以用于皮肤护理、皮肤保护和 / 或皮肤再生。化妆品组合物的作用、特别是抗老化作用优选包括一种或多种改善皮肤外观、改善皮肤硬度、预防和 / 或减少皮肤老化迹象。所述的皮肤老化迹象例如选自皮肤厚度减少、细线、皱纹、弹性丧失、下陷、更新速率降低和异常脱屑。还包括 UV 保护和 / 或预防和 / 或减少光老化迹象。本发明的化妆品组合物的皮肤抗老化作用包括增加皮肤再生和更新过程、恢复老化的或应激的人皮肤、改善年龄相关的更新丧失、和 / 或增强皮肤细胞外基质网络。更通常的是，其包括提高皮肤硬度、预防和 / 或减少内部和 / 或外部皮肤老化、延缓皱纹的出现、减弱已出现的皱纹深度、减少细线的外观和 / 或改善皮肤外表和 / 或色泽。有利的是，皮肤抗老化作用是多种或甚至所有的这些作用的组合。

[0104] 本发明组合物可以是乳膏剂、凝胶剂、洗剂、糊剂、泡沫剂，水、醇的或水 / 醇的溶液剂，混悬剂、乳剂、乳状物、蜡 / 脂肪团块、贴剂、散剂或软膏剂，包括例如体乳或润肤露、皮肤护理化妆品、洗发剂、润发露、泡沫浴或淋浴。特别优选的组合物选自皮肤乳膏剂、日间护理产品、夜晚护理产品、眼膏剂、洗面膏、抗皱纹组合物、防晒产品、湿润剂、漂白乳膏剂、自我美黑 (tanning) 乳膏剂、维生素乳膏剂和相应的洗剂。优选 Ph. Eur. 第 6 版中定义的液体制剂（例如溶液剂）和半固体制剂（例如乳膏剂）。

[0105] 该组合物还包含一种或多种进一步的化妆品可接受的成分，例如载体、赋形剂、辅料和 / 或添加剂，例如弱的表面活性剂、油体、乳化剂、珠光蜡、稠度调节剂、增稠剂、富脂剂、稳定剂、聚合物、硅酮化合物、脂肪、蜡、卵磷脂、磷脂、UV 光保护剂、生物源活性成分、抗氧化剂、除臭剂、止汗剂、去头屑剂、薄膜形成剂、膨胀剂、驱虫剂、自我美黑剂、助水溶物、增溶剂、防腐剂、芳香油、染料等。

[0106] 通常，该组合物包含双花扁豆提取物和化妆品可接受的载体。

[0107] 在具体的方面，该组合物还可以包含除双花扁豆提取物之外的一种或多种其它化妆品活性成分，优选调节皮肤、保护皮肤和 / 或光滑皮肤的化合物。

[0108] 适合的进一步的化妆品可接受成分和活性成分（其可以存在于本发明的组合物中）例如在包括欧盟编写的“化妆品成分的详细目录”的欧盟在线数据库“CosIng”(<http://ec.europa.eu/enterprise/cosmetics/cosing>) 并且特别是在涉及“调节皮肤”、“保护皮肤”和 / 或“光滑皮肤”的化合物的那些部分中有描述。

[0109] 因此，用于化妆品组合物的基本赋形剂和载体以及适合的成分是众所周知的并且在数本教科书中有记录，例如 Schrader, Grundlagen und Rezepturen der Kosmetika, Hüthig Verlag, Heidelberg, 1989, 或 Umbach, Kosmetik :Entwicklung, Herstellung und Anwendung kosmetischer Mittel, 2. erweiterte Auflage, 1995, Georg Thieme Verlag.

[0110] 在本发明的一个优选方面，该组合物进一步包含至少一种表面活性剂。

[0111] 可以存在的表面活性剂是阴离子、非离子、阳离子和 / 或两性或两性离子表面活性剂，组合物中其含量通常为约 1 至 70% 重量、优选 5 至 50% 重量并且特别是 10 至 30% 重量。阴离子表面活性剂的典型实例是肥皂、烷基苯磺酸盐、烷磺酸盐、烯烃磺酸盐、烷基醚磺酸盐、甘油醚磺酸盐、 α -甲基酯磺酸盐、磺基脂肪酸、烷基硫酸盐、烷基醚硫酸盐、甘油醚硫酸盐、脂肪酸醚硫酸盐、羟基混合醚硫酸盐、单甘油酯（醚）硫酸盐、脂肪酸酰胺（醚）硫酸盐、单 - 和二 - 烷基磺基琥珀酸盐、单 - 和二 - 烷基磺基琥珀酰胺酸盐、磺基甘油三酯、酰胺肥皂、醚羧酸及其盐、脂肪酸羟乙基磺酸盐、脂肪酸肌氨酸盐、脂肪酸氨基乙磺酸盐、N- 酰基

氨基酸（例如酰基乳酸盐、酰基酒石酸盐、酰基谷氨酸盐和酰基天冬氨酸）、烷基寡糖昔硫酸盐、蛋白质脂肪酸缩合物（condensate）（特别是基于小麦的植物产品）和烷基（醚）磷酸盐。如果阴离子表面活性剂包含聚二元醇醚链，这些可以具有常规类似的分布，但是优选具有狭窄的类似分布。非离子型表面活性剂的典型实例是脂肪醇聚二元醇醚、烷基苯酚聚二元醇醚、脂肪酸聚二元醇醚、脂肪酸酰胺聚二元醇醚、脂肪胺聚二元醇醚、烷氧基化的三甘油酯、混合醚和混合甲醛，任选部分氧化的烷（烯）基寡糖昔和葡萄糖醛酸衍生物、脂肪酸 N- 烷基葡糖酰胺、蛋白质水解物（特别是基于小麦的植物产品）、多元醇脂肪酸酯、糖酯、脱水山梨醇酯、聚山梨醇酯和氧化胺。如果非离子型表面活性剂包含聚二元醇醚链，这些可以具有常规类似的分布，但是优选具有狭窄的类似分布。阳离子表面活性剂的典型实例是季铵化合物，例如二甲基二硬脂酰基 - 氯化铵和酯季铵化合物，特别是季铵化的脂肪酸三链烷醇胺酯盐。两性和两性离子表面活性剂的典型实例是烷基甜菜碱、烷基酰氨基甜菜碱、氨基丙酸盐、氨基甘氨酸盐、咪唑啉鎓甜菜碱和磺基甜菜碱。特别的表面活性剂是唯一已知的化合物，它们的制备和结构是教科书中已知的，例如 J. Falbe (ed.), “Surfactants in Consumer Products (消费品中的表面活性剂)”, Springer Verlag Berlin, 1987, 第 54-124 页，或 J. Falbe (ed.), “Katalysatoren, Tenside und **Mineralöladditive**”, Thieme Verlag Stuttgart, 1978, 第 123-217 页。特别适合的弱（即特别是皮肤相容的）表面活性剂的典型实例是脂肪醇聚二元醇醚硫酸盐、单甘油酯硫酸盐、单 - 和 / 或二烷基磺基琥珀酸盐、脂肪酸羟乙基磺酸盐、脂肪酸肌氨酸盐、脂肪酸氨基乙磺酸盐、脂肪酸谷氨酸盐、 α - 烯烃磺酸盐、醚羧酸、烷基寡糖、脂肪酸葡糖酰胺、烷基氨基甜菜碱、两性缩醛和 / 或蛋白质脂肪酸缩合物，后者优选是以小麦蛋白质为基础。

[0112] 在本发明进一步优选的方面，组合物进一步包含至少一种油体。

[0113] 适合的油体是例如基于具有 6 至 18、优选 8 至 10 个碳原子的脂肪醇的格尔伯特 (Guerbet) 醇、线性 C_6-C_{22} - 脂肪酸与线性或分支 C_6-C_{22} - 脂肪醇的酯和 / 或分支的 C_6-C_{13} - 羧酸与线性或分支的 C_6-C_{22} - 脂肪醇的酯，例如肉豆蔻酸肉豆蔻醇酯、棕榈酸肉豆蔻醇酯、硬脂酸肉豆蔻醇酯、异硬脂酸肉豆蔻醇酯、油酸肉豆蔻醇酯、山嵛酸肉豆蔻醇酯、芥酸肉豆蔻醇酯、肉豆蔻酸鲸蜡醇酯、棕榈酸鲸蜡醇酯、硬脂酸鲸蜡醇酯、异硬脂酸鲸蜡醇酯、油酸鲸蜡醇酯、山嵛酸鲸蜡醇酯、芥酸鲸蜡醇酯、肉豆蔻酸硬脂醇酯、棕榈酸硬脂醇酯、硬脂酸硬脂醇酯、异硬脂酸硬脂醇酯、油酸硬脂醇酯、山嵛酸硬脂醇酯、芥酸硬脂醇酯、肉豆蔻酸异硬脂醇酯、棕榈酸异硬脂醇酯、硬脂酸异硬脂醇酯、异硬脂酸异硬脂醇酯、油酸异硬脂醇酯、山嵛酸异硬脂醇酯、油酸异硬脂醇酯、肉豆蔻酸油醇酯、棕榈酸油醇酯、硬脂酸油醇酯、异硬脂酸油醇酯、油酸油醇酯、山嵛酸油醇酯、芥酸油醇酯、肉豆蔻酸山嵛醇酯、棕榈酸山嵛醇酯、硬脂酸山嵛醇酯、异硬脂酸山嵛醇酯、油酸山嵛醇酯、山嵛酸山嵛醇酯、芥酸山嵛醇酯、肉豆蔻酸芥醇酯 (erucyl myristate)、棕榈酸芥醇酯、硬脂酸芥醇酯、异硬脂酸芥醇酯、油酸芥醇酯、山嵛酸芥醇酯、芥酸芥醇酯。其它适合的是线性 C_6-C_{22} - 脂肪酸与分支醇（特别是 2- 乙基己醇）的酯、 $C_{18}-C_{38}$ - 烷基羟基羧酸与线性或分支 C_6-C_{22} - 脂肪醇的酯（例如 DE 19756377 A1 中描述的那些），特别是苹果酸二辛酯，线性和 / 或分支脂肪酸与多元醇（例如丙二醇、二聚醇 (dimerdiol) 或三聚醇）和 / 或格尔伯特醇的酯、基于 C_6-C_{10} - 脂肪酸的甘油三酯、基于 C_6-C_{18} - 脂肪酸的液体单 - / 二 - / 三 - 甘油酯混合物、 C_6-C_{22} - 脂肪醇和 / 或格尔伯特醇与芳香羧酸（特别是苯甲酸）的酯、 C_2-C_{12} - 二羧酸与含 1 至 22 个碳原子的线性或分支醇或含 2

至 10 个碳原子和 2 至 6 个羟基的多元醇的酯、植物油、分支的伯醇、被取代的环己烷、线性和分支的 C₆-C₂₂- 脂肪醇碳酸酯，例如碳酸二辛酯（**Cetiol® CC**）、基于含 6 至 18、优选 8 至 10 个碳原子的格尔伯特碳酸酯、苯甲酸与线性和 / 或分支 C₆-C₂₂- 醇的酯（例如**Finsolv® TN**）、线性或分支的对称的或非对称的二烷基醚（每个烷基含 6 至 22 个碳原子），例如二辛基醚（**Cetiol® OE**）、环氧脂肪酸酯与多元醇的开环产物、硅油（特别是环甲硅油、硅甲硅油类型）和 / 或脂肪族或环烷烃，例如角鲨烷、角鲨烯或二烷基环己烷。

[0114] 在本发明的进一步优选的方面，该组合物进一步包含至少一种乳化剂。

[0115] 适合的乳化剂是例如非离子型 (nonionogenic) 表面活性剂，选自下组的至少一种：

[0116] • 2 至 30 摩尔环氧乙烷和 / 或 0 至 5 摩尔环氧丙烷与含 8 至 22 个碳原子的线性脂肪醇、含 12 至 22 个碳原子的脂肪酸、烷基中含 8 至 15 个碳原子的烷基酚以及烷基中含 8 至 22 个碳原子的烷基胺的加成产物；

[0117] • 烷 (烯) 基中含 8 至 22 个碳原子的烷基和 / 或烯基寡糖苷及其乙氧基化的类似物；

[0118] • 1 至 15 摩尔环氧乙烷与蓖麻油和 / 或氢化蓖麻油的加成产物；

[0119] • 15 至 60 摩尔环氧乙烷与蓖麻油和 / 或氢化蓖麻油的加成产物；

[0120] • 甘油和 / 或脱水山梨醇与含 12 至 22 个碳原子的不饱和、线性或饱和、分支的脂肪酸和 / 或含 3 至 18 个碳原子的羟基羧酸的偏酯，以及其与 1 至 30 摩尔环氧乙烷的加合物；

[0121] • 聚甘油 (平均自缩合度 2 至 8)、聚乙二醇 (分子量 400 至 5000)、三羟甲基丙烷、季戊四醇、糖醇 (例如山梨醇)、烷基葡萄糖苷 (例如甲基葡萄糖苷、丁基葡萄糖苷、月桂基葡萄糖苷) 和多聚葡萄糖苷 (例如纤维素) 与含 12 至 22 个碳原子的饱和和 / 或不饱和的线性或分支脂肪酸和 / 或含 3 至 18 个碳原子的羟基羧酸的偏酯，以及其与 1 至 30 摩尔环氧乙烷的加合物；

[0122] • 季戊四醇、脂肪酸、柠檬酸和脂肪醇 (例如 DE 1165574 中描述的那些) 的混合酯和 / 或含 6 至 22 个碳原子的脂肪酸、甲基葡萄糖和多元醇 (优选甘油或聚甘油) 的混合酯；

[0123] • 单 -、二 - 和三 - 烷基磷酸酯，和单 -、二 - 和 / 或三 -PEG 烷基磷酸酯及其盐；

[0124] • 羊毛蜡醇；

[0125] • 聚硅氧烷 - 聚烷基 - 聚醚共聚物和相应的衍生物；

[0126] • 嵌段共聚物，例如聚乙二醇 -30 二聚羟基硬脂酸酯；

[0127] • 聚合物乳化剂，例如 Goodrich 的 Pemulen 级 (TR-1、TR-2)；

[0128] • 聚亚烷基二醇，和

[0129] • 碳酸甘油酯。

[0130] 对这些组的一部分进行如下更特别的定义：

[0131] • 环氧乙烷加成产物

[0132] 环氧乙烷和 / 或环氧丙烷与脂肪醇、脂肪酸、烷基酚或蓖麻油的加成产物是已知的可商购获得的产品。这些是同系物混合物，它们的平均烷氧基化程度对应于环氧乙烷和 / 或环氧丙烷与进行加成反应的底物的物质的量的比值。环氧乙烷与甘油的加成反应的

C_{12/18-} 脂肪酸单 - 和二酯是已知的, 作为化妆品制剂的加脂剂 (例如来自 DE 2024051)。

[0133] • 烷基和 / 或链烯基寡糖苷

[0134] 烷基和 / 或链烯基寡糖苷、它们的制剂以及它们的用途是现有技术已知的。特别是它们是通过葡萄糖或寡糖与含 8 至 18 个碳原子的伯醇反应而制备的。关于糖苷基团, 单糖苷 (其中环状糖基通过糖苷键连接脂肪醇) 以及具有寡聚度至多、优选约 8 的寡聚糖苷是适合的。此处的寡聚度是统计平均值, 其是基于此类工业级产品的同系物分布习惯。

[0135] • 偏甘油酯

[0136] 适合的偏甘油酯的典型的实例是羟基硬脂酸单甘油酯、羟基硬脂酸二甘油酯、异硬脂酸单甘油酯、异硬脂酸二甘油酯、油酸单甘油酯、油酸二甘油酯、蓖麻油酸单甘油酯、蓖麻油酸二甘油酯、亚油酸单甘油酯、亚油酸二甘油酯、亚麻酸单甘油酯、亚麻酸二甘油酯、芥酸单甘油酯、芥酸二甘油酯、酒石酸单甘油酯、酒石酸二甘油酯、柠檬酸单甘油酯、柠檬酸二甘油酯、苹果酸单甘油酯、苹果酸二甘油酯及其工业级混合物, 其还可以包含少量甘油三酯, 这是制备过程的次要产物。同样适合的是 1 至 30 摩尔、优选 5 至 10 摩尔的环氧乙烷和所述的偏甘油酯的加成产物。

[0137] • 脱水山梨醇酯

[0138] 适合的脱水山梨醇酯是脱水山梨醇单异硬脂酸酯、脱水山梨醇倍半异硬脂酸酯、脱水山梨醇二异硬脂酸酯、脱水山梨醇三异硬脂酸酯、脱水山梨醇单油酸酯、脱水山梨醇倍半油酸酯、脱水山梨醇二油酸酯、脱水山梨醇三油酸酯、脱水山梨醇单芥酸酯、脱水山梨醇倍半芥酸酯、脱水山梨醇二芥酸酯、脱水山梨醇三芥酸酯、脱水山梨醇单蓖麻油酸酯、脱水山梨醇倍半蓖麻油酸酯、脱水山梨醇二蓖麻油酸酯、脱水山梨醇三蓖麻油酸酯、脱水山梨醇单羟基硬脂酸酯、脱水山梨醇倍半羟基硬脂酸酯、脱水山梨醇二羟基硬脂酸酯、脱水山梨醇三羟基硬脂酸酯、脱水山梨醇单酒石酸酯、脱水山梨醇倍半酒石酸酯、脱水山梨醇二酒石酸酯、脱水山梨醇三酒石酸酯、脱水山梨醇单柠檬酸酯、脱水山梨醇倍半柠檬酸酯、脱水山梨醇二柠檬酸酯、脱水山梨醇三柠檬酸酯、脱水山梨醇单马来酸酯、脱水山梨醇倍半马来酸酯、脱水山梨醇二马来酸酯、脱水山梨醇三马来酸酯及其工业级混合物。同样适合的是 1 至 30 摩尔、优选 5 至 10 摩尔环氧乙烷和所述的脱水山梨醇酯的加成产物。

[0139] • 聚甘油酯

[0140] 适合的聚甘油酯的典型的实例是聚甘油 -2 二聚羟基硬脂酸酯 (**Dehymuls®** PGPH)、聚甘油 -3 二异硬脂酸酯 (**Lameform® TGI**)、聚甘油 -4 异硬脂酸酯 (**Isolan® GI 34**)、聚甘油 -3 油酸酯、二异硬脂酰聚甘油 -3 二异硬脂酸酯 (**Isolan® PDI**)、聚甘油 -3 甲基葡萄糖二硬脂酸酯 (Tego **Care® 450**)、聚甘油 -3 蜂蜡 (Cera **Bellina®**)、聚甘油 -4 奚酸酯 (Polyglycerol CaprateT2010/90)、聚甘油 -3 鲸蜡基醚 (**Chimexane® NL**)、聚甘油 -3 二硬脂酸酯 (**Cremophor® GS 32**) 和聚甘油聚蓖麻油酸酯 (**Admul® WOL 1403**)、聚甘油二聚酸异硬脂酸酯及其混合物。进一步适合的多元醇酯的实例是三羟甲基丙烷或季戊四醇与月桂酸、椰子脂肪酸、牛油脂肪酸、棕榈酸、硬脂酸、油酸、山嵛酸等的单 -、二和三酯、任选与 1 至 30 摩尔环氧乙烷反应。

[0141] 进一步适合的乳化剂是例如阴离子、两性或阳离子乳化剂, 选自下组中的至少一种:

[0142] • 阴离子乳化剂

[0143] 典型的阴离子乳化剂是含 12 至 22 个碳原子的脂肪族脂肪酸（例如棕榈酸、硬脂酸或山嵛酸）和含 12 至 22 个碳原子的二羧酸（例如壬二酸或癸二酸）。

[0144] • 两性和阳离子乳化剂

[0145] 此外，两性离子表面活性剂可以用作乳化剂。术语“两性离子表面活性剂”表示那些表面活性化合物，其分子中含有至少一个季铵基团和至少一个羧酸以及一个磺酸基团。特别适合的两性离子表面活性剂是所谓的甜菜碱，例如 N- 烷基 -N, N- 二甲基铵甘氨酸盐，例如椰油烷基二甲基铵甘氨酸盐，N- 酰基氨基丙基 -N, N- 二甲基铵甘氨酸盐，例如椰油酰基氨基丙基二甲基铵甘氨酸盐和 2- 烷基 -3- 羧基甲基 -3- 羟基乙基咪唑啉，其中在每种情况中在烷基或酰基中含有 8 至 18 个碳原子，以及椰油酰基氨基乙基羟基乙基羧基甲基甘氨酸盐。特别优选 CTFA 命名下的脂肪酸酰胺衍生物，椰油酰氨基丙基甜菜碱。同样适合的乳化剂是两性表面活性剂。术语“两性表面活性剂”表示那些表面活性化合物，除了 C_{8/18}- 烷基或 - 酰基之外，其分子中包含至少一个游离氨基和至少一个 -COOH 或 -SO₃H 基团，并且能形成内盐。适合的两性表面活性剂的实例是 N- 烷基甘氨酸、N- 烷基氨基丙酸、N- 烷基氨基丁酸、N- 烷基 - 亚氨基二丙酸、N- 羟基乙基 -N- 烷基酰氨基丙基甘氨酸、N- 烷基牛磺酸、N- 烷基肌氨酸、2- 烷基氨基丙酸和烷基氨基乙酸，其中在每种情况中在烷基中含有约 8 至 18 个碳原子。特别优选的两性表面活性剂是 N- 椰油烷基氨基丙酸盐、椰油酰基氨基乙基氨基丙酸盐和 C_{12/18}- 酰基肌氨酸。最后，阳离子表面活性剂也适合作为乳化剂，特别优选那些酯季铵类，优选甲基 - 季铵化的二脂肪酸三乙醇胺酯盐。

[0146] 在本发明的进一步优选的方面，该组合物进一步包含至少一种脂肪或蜡。

[0147] 脂肪的典型实例是甘油酯，即固体或液体植物或动物产品，其基本上由高级脂肪酸的混合甘油酯组成，适合的蜡特别是天然蜡，例如小烛树蜡、巴西棕榈蜡、日本蜡、西班牙草蜡、软木蜡、guaruma 蜡、大米胚芽油蜡、甘蔗蜡、小冠巴西棕蜡、褐煤蜡、蜂蜡、紫胶蜡、鲸蜡、羊毛脂（羊毛蜡）、尾脂油脂（uropygial grease）、地蜡（ceresin）、地蜡（ozokerite）（地蜡（earth wax））、矿脂、石蜡、微晶蜡、化学修饰的蜡（硬蜡），例如褐煤酯蜡、沙索（sasol）蜡、氢化霍霍巴木蜡，以及合成蜡，例如聚亚烷基蜡和聚乙二醇蜡。除了脂肪外，适合的添加剂也是脂肪样物质，例如卵磷酯和磷脂。本领域技术人员理解术语卵磷酯意为那些甘油磷脂，其由脂肪酸、甘油、磷酸和胆碱通过酯化反应而建立。因此，在专家界卵磷酯还经常被指定为磷脂酰胆碱（PC）。可以提及的天然卵磷酯的实例是脑磷脂，其还称为磷脂酸并且组成 1,2- 二酰基 -sn- 甘油 -3- 磷酸的衍生物。相比之下，磷脂通常被理解为表示磷酸与甘油的单 - 并且优选二酯（甘油磷酸酯），其通常被归为脂肪。此外，鞘氨醇或鞘脂也是适合的。

[0148] 在本发明进一步优选的方面，该组合物进一步包含至少一种珠光蜡。

[0149] 适合的珠光蜡的实例是：亚烷基二元醇酯，特别是乙二醇二硬脂酸酯；脂肪酸链烷醇酰胺，特别是椰子脂肪酸二乙醇酰胺；偏甘油酯，特别是硬脂酸单甘油酯；多元、任选羟基取代的羧酸与含有 6 至 22 个碳原子的脂肪醇的酯，特别是酒石酸的长链酯；脂肪物质，例如脂肪醇、脂肪酮、脂肪醛、脂肪醚和脂肪碳酸酯，其总共含有至少 24 个碳原子，特别是月桂酮和二硬脂酰基醚；脂肪酸，例如硬脂酸、羟基硬脂酸或山嵛酸，含有 12 至 22 个碳原子的烯烃环氧化物与含有 12 至 22 个碳原子的脂肪醇和 / 或含有 2 至 15 个碳原子和 2 至 10

个羟基的多元醇的开环产物，及其混合物。

[0150] 在本发明进一步优选的方面，该组合物进一步包含至少一种稠度调节剂和 / 或增稠剂。

[0151] 适合的稠度调节剂是含有 12 至 22 个、优选 16 至 18 个碳原子的脂肪伯醇或羟基脂肪醇，以及偏甘油酯、脂肪酸或羟基脂肪酸。优选这些物质与烷基寡糖苷和 / 或相同链长的脂肪酸 N- 甲基葡萄糖胺和 / 或聚甘油聚 -12- 羟基硬脂酸酯的组合。适合的增稠剂是例如 Aerosil 级（亲水性二氧化硅），多糖，特别是黄原胶、瓜尔胶、琼脂、藻酸盐和纤维乙酸钠、羧甲基纤维素、羟乙基纤维素和羟丙基纤维素，以及脂肪酸的相对高分子量的聚乙二醇单 - 和二酯、聚丙烯酸酯（例如购自 Goodrich 的 **Carbopol®** 和 Pemulen 级；购自 Sigma 的 **Synthalens®**；购自 Kelco 的 Keltrol 级；购自 Seppic 的 Sepigel 级；购自 Allied Colloids 的 Salcare 级）、聚丙烯酰胺、聚合物、聚乙烯醇和聚乙烯吡咯烷酮。还证明膨润土是特别有效的，所述的膨润土例如 **Bentone® Gel VS 5PC(Rheox)**，其是环戊硅氧烷、二硬脂二甲铵锂蒙脱石 (dioctyldimmonium hectorite) 和碳酸丙烯酯的混合物。还适合的是表面活性剂，例如乙氧基化的脂肪酸甘油酯、脂肪酸与多元醇（例如季戊四醇或三羟甲基丙烷）的酯、含有狭窄同系物分布或烷基寡糖苷的脂肪醇乙氧基化物以及电解质，例如氯化钠和氯化铵。

[0152] 在本发明进一步优选的方面，该组合物进一步包含至少一种富脂剂。

[0153] 可以应用的富脂剂是这样的物质，例如羊毛脂和卵磷脂，以及聚乙氧基化的或酰化的羊毛脂和卵磷脂衍生物、多元醇脂肪酸酯、单甘油酯和脂肪酸链烷醇酰胺，后者也用作泡沫稳定剂。

[0154] 在本发明进一步优选的方面，该组合物进一步包含至少一种稳定剂。

[0155] 可以应用的稳定剂是脂肪酸的金属盐，例如硬脂酸镁、硬脂酸铝和 / 或硬脂酸锌或者蓖麻油酸镁、蓖麻油酸铝和 / 或蓖麻油酸锌。

[0156] 在本发明进一步优选的方面，该组合物进一步包含至少一种聚合物。

[0157] 适合的阳离子聚合物是例如阳离子纤维素衍生物，例如季铵化的羟乙基纤维素，可以商品名 Polymer JR 400® 从 Amerchol 获得，阳离子淀粉，二烯丙基铵盐和丙烯酰胺的共聚物、季铵化的乙烯吡咯烷酮 - 乙烯咪唑聚合物，例如 **Luviquat®** (BASF)，聚二元醇和胺的缩合产物，季铵化的胶原多肽，例如月桂基二甲基铵羟丙基水解胶原 (**Lamequat® L/Grünau**)，季铵化的小麦多肽，聚乙烯亚胺，阳离子硅酮聚合物，例如氨基聚二甲基硅氧烷 (amodimethicones)，己二酸和二甲基氨基羟基丙基二亚乙基三胺的共聚物 (**Cartaretins®** /Sandoz)，丙烯酸与二甲基二烯丙基氯化铵 (**Merquat® 550/Chemviron**) 的共聚物 (**Merquat® 550/Chemviron**)，聚氨基聚酰胺（例如 FR 2252840 中描述的那些）以及其交联的水溶性聚合物，阳离子壳多糖衍生物，例如季铵化的壳聚糖，任选微晶分散，二卤代烷基的缩合产物，例如二溴丁烷与双二烷基胺，例如双 - 二甲基氨基 -1,3- 丙烷，阳离子瓜尔胶，例如购自 Celanese 的 **Jaguar® CBS**、**Jaguar® C-17**、**Jaguar® C-16**，季铵化的铵盐聚合物，例如购自 Miranol 的 **Mirapol® A-15**、**Mirapol®**

AD-1、Mirapol[®] AZ-1。

[0158] 适合的阴离子、两性离子、两性和非离子型聚合物是例如乙酸乙烯酯 - 巴豆酸共聚物、乙烯基吡咯烷酮 - 丙烯酸乙烯酯共聚物、乙酸乙烯酯 - 马来酸丁酯 - 丙烯酸异冰片酯共聚物、甲基乙烯基醚 - 马来酸酐共聚物及其酯, 未交联的聚丙烯酸以及与多元醇交联的聚丙烯酸, 丙烯基酰氨基丙基三甲基氯化铵 - 丙烯酸酯共聚物, 辛基丙烯酰胺 - 甲基丙烯酸甲酯 - 叔丁基氨基乙基甲基丙烯酸酯 -2- 羟基丙基甲基丙烯酸酯共聚物, 聚乙烯吡咯烷酮, 乙烯基吡咯烷酮 - 乙酸乙烯酯共聚物, 乙烯基吡咯烷酮 - 二甲基氨基乙基甲基丙烯酸酯 - 乙烯基己内酰胺三元共聚物, 以及任选衍生化的纤维素醚和硅酮。进一步适合的聚合物和增稠剂在 Cosm. Toil. (1993) 108 :95 中有描述。

[0159] 在本发明进一步优选的方面, 该组合物进一步包含至少一种硅酮化合物。

[0160] 适合的硅酮化合物是例如二甲基聚硅氧烷、甲基苯基聚硅氧烷、环状硅酮, 以及氨基 -、脂肪酸 -、醇 -、聚醚 -、环氧 -、氟 -、糖苷 - 和 / 或烷基 - 修饰的硅酮化合物, 在室温下其可以是液体或树脂形式。还适合的是西甲硅油, 其是二甲硅油的混合物, 所述的二甲硅油具有 200 至 300 二甲基硅氧烷单元和氢化硅酸盐的平均链长。Todd 等人 (1976) Cosm. Toil. 91 :27 提供了关于适合的挥发性硅酮的详细研究。

[0161] 在本发明进一步的方面, 该组合物进一步包含至少一种 UV 光保护剂。

[0162] 适合的 UV 光保护剂例如被理解为包括有机物质 (光保护过滤剂), 其在室温下是液体或结晶, 并且其能吸收紫外线并且以更长波长辐射的形式 (例如热) 再次放出吸收的能量。UV-B 过滤剂可以是油溶性或水溶性的。油溶性 UV-B 过滤剂的实例是 :

[0163] •3- 亚苄基樟脑或 3- 亚苄基降樟脑及其衍生物 (例如 EP 0693471 B1 中描述的), 例如 3-(4- 甲基亚苄基) 樟脑;

[0164] •4- 氨基苯甲酸衍生物, 优选 4-(二甲基氨基) 苯甲酸 2- 乙基己酯、4-(二甲基氨基) 苯甲酸 2- 辛酯和 4-(二甲基氨基) 苯甲酸戊酯;

[0165] •肉桂酸酯, 优选 4- 甲氧基肉桂酸 2- 乙基己酯、4- 甲氧基肉桂酸丙酯、4- 甲氧基肉桂酸异戊酯、2- 氯基 -3,3- 苯基肉桂酸 2- 乙基己酯 (氯双苯丙烯酸辛酯);

[0166] •水杨酸酯, 优选水杨酸 2- 乙基己酯、水杨酸 4- 异丙基苄酯、水杨酸薄荷酯 (homomenthyl salicylate);

[0167] •二苯酮的衍生物, 优选 2- 羟基 -4- 甲氧基二苯酮、2- 羟基 -4- 甲氧基 -4'- 甲基二苯酮、2,2' - 二羟基 -4- 甲氧基二苯酮;

[0168] •亚苄基丙二酸酯, 优选二 -2- 乙基己基 -4- 甲氧基亚苄基丙二酸酯;

[0169] •三嗪衍生物, 例如 2,4,6- 三苯胺基 (对 - 磺 -2'- 乙基 -1'- 己基氨基) -1,3,5- 三嗪和辛基三嗪酮 (例如 EP 0818450 A1 中描述的) 或二辛基丁酰氨基三嗪酮 (**Uvasorb**[®] HEB);

[0170] •丙 -1,3- 二酮, 例如 1-(4- 叔丁基苯基) -3-(4' - 甲氧基苯基) 丙 -1,3- 二酮;

[0171] •酮基三环 (5.2.1.0) 烃烷衍生物 (例如 EP 0694521 B1 中描述的)。

[0172] 适合的水溶性 UV-B 过滤剂是 :

[0173] •2- 苯基苯并咪唑 -5- 磺酸及其碱金属、碱土金属、铵、烷基铵、链烷醇铵和葡糖铵盐;

[0174] •二苯酮的磺酸衍生物, 优选 2- 羟基 -4- 甲氧基二苯酮 -5- 磺酸及其盐;

[0175] •3-亚苄基樟脑的磺酸衍生物,例如4-(2-氧代-3-亚冰片基甲基)苯磺酸和2-甲基-5-(2-氧代-3-亚冰片基)磺酸及其盐。

[0176] 适合的UV-A过滤剂特别是苯甲酰基甲烷衍生物,例如1-(4'-叔丁基苯基)-3-(4'-甲氧基苯基)丙-1,3-二酮、4-叔丁基-4'-甲氧基二苯甲酰基甲烷(**Parsol® 1789**)、1-苯基-3-(4'-异丙基苯基)丙-1,3-二酮和烯胺化合物(例如DE 19712033 A1中描述的)。UV-A和UV-B过滤剂当然也可以用于混合物。特别有用的组合由苯甲酰基甲烷衍生物(例如4-叔丁基-4'-甲氧基二苯甲酰基甲烷(**Parsol® 1789**))和2-氰基-3,3-苯基肉桂酸2-乙基己酯(氰双苯丙烯酸辛酯)组成,并组合肉桂酸酯,优选4-甲氧基肉桂酸2-乙基己酯和/或4-甲氧基肉桂酸丙酯和/或4-甲氧基肉桂酸异戊酯。有利的是,该组合与水溶性过滤剂组合,例如2-苯基苯并咪唑-5-磺酸及其碱金属、碱土金属、铵、烷基铵、链烷醇铵和葡萄糖铵盐。

[0177] 除了所述的可溶性UV保护剂,不溶性光保护色素,即细微分散的金属氧化物或盐,也适合于该目的。适合的金属氧化物的实例特别是氧化锌和二氧化钛,以及铁、锆、硅、锰、铝和铈的氧化物及其混合物。可以应用的盐是硅酸盐(滑石粉)、硫酸钡或硬脂酸锌。氧化物和盐是以适合于皮肤护理和皮肤保护性乳化剂和修饰性化妆品的色素形式使用。此处的颗粒应当具有平均直径小于100nm、优选在5至50nm之间,并且特别是在15至30nm之间。它们可以是球形,但也可能使用椭圆形或以其它方式不同于球形的形状的颗粒。色素还可以是表面处理的,即亲水化的或疏水化的。典型的实例是包衣的二氧化钛,例如二氧化钛T 805(Degussa)或**Eusolex® T2000**(Merck)。此处适合的疏水包衣剂主要是硅酮,并且特别是在该情况中是三烷氧基辛基硅烷或西甲硅油。在遮光剂中,优选应用所谓的微米或纳米色素。优选应用微粒化的氧化锌。进一步适合的UV保护剂列于P.Finkel **SÖFW-Journal**(1996)122:543和Parf. Cosm.(1999)3:11的研究中。

[0178] 在本发明进一步优选的方面,该组合物进一步包含至少一种生物源活性成分和/或抗氧化剂。

[0179] 生物源活性成分应当理解为表示例如生育酚、乙酸生育酚酯、棕榈酸生育酚酯、抗坏血酸、(脱氧)核糖核酸及其断裂产物、 β -葡聚糖、视黄醇、没药醇、尿囊素、植三醇、泛醇、AHA酸、氨基酸、神经酰胺、假神经酰胺、精油、其它植物提取物,例如李属提取物、bambara nut提取物和维生素复合物。

[0180] 抗氧化剂阻断光化学反应链,当UV辐射穿透皮肤时触发光化学反应链。其典型的实例是氨基酸(例如甘氨酸、组氨酸、酪氨酸、色氨酸)及其衍生物、咪唑(例如尿刊酸)及其衍生物,肽,例如D,L-肌肤、D-肌肤、L-肌肤及其衍生物(例如鹅肌肤),类胡萝卜素、胡萝卜素(例如 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素、番茄红素)及其衍生物,绿原酸及其衍生物,硫辛酸及其衍生物(例如二氢硫辛酸),金硫葡萄糖,丙硫氧嘧啶以及其它硫醇(例如硫氧还蛋白、谷胱甘肽、半胱氨酸、胱氨酸、胱胺和其糖基、N-乙酰基、甲基、乙基、丙基、戊基、丁基和月桂基、棕榈酰基、油基、 γ -亚油基、胆固醇基和甘油基酯)及其盐,硫代二丙酸二月桂酯,硫代二丙酸二硬脂基酯,硫代二丙酸及其衍生物(酯、醚、肽、脂质、核苷酸、核苷和盐),以及亚砜亚胺(sulphoximine)化合物(例如丁硫氨酸亚砜亚胺、高半胱氨酸亚砜亚胺、丁硫氨酸砜、戊-、己-、庚硫堇亚砜亚胺),非常低的耐受剂量(例如pmol至 μ mol/kg),以及(金属)螯合剂(例如 α -羟基脂肪酸、棕榈酸、植酸、乳铁蛋白), α -羟基酸

(例如柠檬酸、乳酸、苹果酸), 腐殖酸, 胆汁酸, 胆汁提取物, 胆红素, 胆绿素, EDTA, EGTA 及其衍生物, 不饱和脂肪酸及其衍生物(例如 γ -亚麻酸、亚油酸、油酸), 叶酸及其衍生物, 泛醌和泛醇及其衍生物, 维生素 C 及其衍生物(例如棕榈酸抗坏血酸酯、磷酸抗坏血酸酯镁、乙酸抗坏血酸酯), 生育酚及其衍生物(例如乙酸维生素 E 酯), 维生素 A 及其衍生物(棕榈酸维生素 A 酯), 以及安息香树胶的苯甲酸松柏酯, 芸香十烯酸及其衍生物, α -葡萄糖基芦丁, 阿魏酸, 亚糠基葡萄糖醇, 肌肽, 丁羟基甲苯, 丁羟基茴香醚, 去甲二氢愈创木脂酸(nordihydroguaiacic acid), 去甲二氢愈创木酸, 三羟基丙基苯基酮, 尿酸及其衍生物, 甘露糖及其衍生物, 超氧化物歧化酶, 锌及其衍生物(例如 ZnO、ZnSO₄), 硒及其衍生物(例如硒代甲硫氨酸), 茜及其衍生物(例如茜氧化物、反式-茜氧化物)以及适合于本发明的所述的活性成分的衍生物(盐、酯、醚、糖、核苷酸、核苷、肽和脂质)。

[0181] 在本发明的另一个优选方面, 该组合物进一步包含至少一种抗微生物剂和 / 或防腐剂。

[0182] 适合的抗微生物剂基本上是有效抗革兰氏阳性菌的所有物质, 例如 4-羟基苯甲酸及其盐和酯、N-(4-氯苯基)-N'-(3,4-二氯苯基)脲、2,4,4'-三氯-2'-羟基二苯基醚(三氯生)、4-氯-3,5-二甲基苯酚、2,2'-亚甲基双(6-溴-4-氯苯酚)、3-甲基-4-(1-甲基乙基)苯酚、2-苄基-4-氯苯酚、3-(4-氯苯氧基)-1,2-丙二醇、3-碘-2-丙炔基丁基氨基甲酸酯、氯己定、3,4,4'-三氯二苯脲(TTC)、抗菌芳香剂、百里酚、百里酚油、丁子香酚、丁子香油、薄荷醇、薄荷油、法尼醇、苯氧基乙醇、单癸酸甘油酯、单辛酸甘油酯、单月桂酸甘油酯(GML)、单癸酸二甘油酯(DMC), 水杨酸 N-烷基酰胺, 例如 N-辛基水杨酰胺或 N-癸基水杨酰胺。

[0183] 适合的防腐剂是例如苯氧基乙醇、甲醛溶液、对羟基苯甲酸、戊二醇或山梨酸, 和商品名为**Surfacins**[®]的银络合物, 以及化妆品规范(Cosmetics Directive)的附录 6 的部分 A 和 B 中所列的其它类型的物质。

[0184] 在本发明进一步优选的方面, 该组合物进一步包含至少一种成膜剂。

[0185] 常见的成膜剂是例如壳聚糖、微晶壳聚糖、季铵化的壳聚糖、聚乙烯吡咯烷酮、乙烯基吡咯烷酮-乙酸乙烯酯共聚物、丙烯酸系列的聚合物、四元纤维素衍生物、胶原、透明质酸及其盐以及类似的化合物。

[0186] 在本发明进一步优选的方面, 该组合物进一步包含至少一种膨胀剂。

[0187] 水相的膨胀剂可以是蒙脱石、粘土矿物质、Pemulen 以及烷基-修饰的卡波普级(Goodrich)。其它适合的聚合物和膨胀剂在 R. Lochhead Cosm. Toil. (1993) 108 :95 的综述中有描述。

[0188] 在本发明进一步优选的方面, 该组合物进一步包含至少一种水溶助长剂。

[0189] 为了改善流动行为, 可能应用水溶助长剂, 例如乙醇、异丙醇或多元醇。适合的多元醇优选含有 2 至 15 个碳原子和至少两个羟基。多元醇还可以进一步包含官能团, 特别是氨基, 或者用氮修饰。典型的实例是

[0190] • 甘油;

[0191] • 亚烷基二醇, 例如乙二醇、二乙二醇、丙二醇、丁二醇、己二醇以及平均分子量 100 至 1000 道尔顿的聚乙二醇;

[0192] • 自缩合度为 1.5 至 10 的工业级寡聚甘油混合物, 例如工业级二甘油混合物, 其中

二甘油含量为 40 至 50% 重量；

[0193] • 羟甲基化合物,例如特别是三羟甲基乙烷、三羟甲基丙烷、三羟甲基丁烷、季戊四醇和二季戊四醇；

[0194] • 低级烷基葡萄糖苷,特别是在烷基中含有 1 至 8 个碳原子的那些,例如甲基和丁基葡萄糖苷；

[0195] • 含有 5 至 12 个碳原子的糖醇,例如山梨醇和甘露醇；

[0196] • 含有 5 至 12 个碳原子的糖,例如葡萄糖或蔗糖；

[0197] • 氨基糖,例如葡糖胺；

[0198] • 二醇胺,例如二乙醇胺或 2-氨基-1,3-丙二醇。

[0199] WO 02/055049 中描述了进一步任选的添加组分,包括除臭剂、去头屑剂、驱虫剂、自我美黑剂和脱色剂、染料、芳香油和香味剂。

[0200] 组合物的优选的进一步的组分是皮肤护理或皮肤保护性组分,特别是选自 UV 过滤剂、水溶助长剂(特别是甘油)、生物源成分和抗氧化剂的组分。

[0201] 除了组合物中的双花扁豆提取物和任选的载体或赋形剂之外,进一步的组分的总量可以是占总组合物重量的 0 至 90% 重量并且典型地为 1 至 50%、通常为 5 至 40% 重量。该组合物可以通过常规冷或热处理制备,优选应用相转化温度方法。

[0202] 双花扁豆提取物和组合物的用途以及抗老化化妆品皮肤处理的方法

[0203] 本发明涉及双花扁豆提取物或包含所述提取物的组合物在化妆品皮肤处理中的化妆品用途。对于化妆品和药物用途之间的区别,参见德意志联邦共和国的法律规定(例如 Kosmetikverordnung, Lebensmittel-und Arzneimittelgesetz)。

[0204] 对于本文描述的用途,双花扁豆提取物和包含双花扁豆提取物的组合物也是本发明的实施方案。

[0205] 先前部分中描述的本发明的双花扁豆提取物和包含本发明的双花扁豆提取物的化妆品组合物的性质和优选特征规定了以下描述的化妆品用途和方法中所用的双花扁豆提取物和组合物的性质和优选特征。

[0206] 本发明的双花扁豆提取物和包含本发明的双花扁豆提取物的化妆品组合物的优选用途在先前部分和以下描述。

[0207] 在特别的实施方案中,本发明涉及双花扁豆提取物或包含该提取物的组合物在增加胶原产生、特别是皮肤和 / 或皮肤细胞中胶原产生中的用途。优选增加胶原 I、III、IV、V、VI、VII、XII、XIV、XVI、XVIII 和 / 或 XIX 的产生,更优选增加胶原 I 和 / 或 V 的产生并且甚至更优选增加胶原 I 和 V 的产生。

[0208] 在进一步特别的实施方案中,本发明涉及双花扁豆提取物或包含该提取物的组合物在皮肤和 / 或皮肤细胞的 UV 保护中的用途。有利的是,双花扁豆提取物用于增加胶原产生和 UV 保护。UV 保护包括抗 UV-A、UV-B 或两者的保护。双花扁豆提取物在提供 UV-A 保护中特别有效。

[0209] 双花扁豆提取物刺激 mRNA 产生和培养的人成纤维细胞的胶原蛋白胶原 I 和 V 的产生(比较实施例 9 和 10)。其还刺激培养的人成纤维细胞的代谢(比较实施例 8),特别是它们的能量代谢(例如它们的 ATP 合成速率)。

[0210] 除了其对成纤维细胞代谢和胶原 I 和 V 产生的作用,双花扁豆提取物证实具有抗

UV-A 和 UV-B 对培养的成纤维细胞和角质形成细胞损伤的保护作用 (比较实施例 11 和 12)。

[0211] 根据本发明, 双花扁豆提取物或包含所述提取物的组合物可以用于增加皮肤再生和更新过程, 恢复老化的或应激的人皮肤, 改善年龄相关的更新丧失, 和 / 或增强皮肤细胞外基质网络。更通常地, 双花扁豆提取物能够改善皮肤硬度, 预防和 / 或减少内在和 / 或外在的皮肤老化, 延缓皱纹出现, 减少已出现皱纹的深度, 减轻细线的外表和改善皮肤外观和 / 或色泽。有利的是, 本发明的双花扁豆提取物或包含所述提取物的组合物的皮肤抗老化作用是多种或甚至所有这些作用的组合。

[0212] 而且, 双花扁豆提取物或包含所述提取物的组合物可以用于改善皮肤胶原组分并且提高胶原产生, 特别是提高胶原 I、III、IV、V、VI、VII、XII、XIV、XVI、XVIII 和 / 或 XIX 的产生, 特别是胶原 I 和 / 或 V 的产生。

[0213] 此外, 双花扁豆提取物或包含所述提取物的组合物可以用于保护皮肤或皮肤细胞抵抗 UV 射线损伤, 并且刺激皮肤细胞的生长和 / 或代谢。在所述的方面, 皮肤细胞优选是角质形成细胞和 / 或成纤维细胞。因此, 双花扁豆提取物或包含所述提取物的组合物可以用于提供 UV 保护和 / 或预防和 / 或减少皮肤和 / 或皮肤细胞的光老化迹象, 和 / 或提高皮肤再生和 / 或恢复。

[0214] 在第一优选的实施方案中, 本发明涉及所述的双花扁豆提取物特别是在皮肤护理、皮肤保护和 / 或皮肤再生中的化妆品用途, 以及相应的化妆品组合物。

[0215] 在第一优选的方面, 所述的化妆品用途是增加胶原产生, 优选增加胶原 I、III、IV、V、VI、VII、XII、XIV、XVI、XVIII 和 / 或 XIX 的产生, 特别是增加胶原 I 和 / 或 V 的产生, 并且特别增加胶原 I 和 V 的产生。在第二优选的方面, 所述的化妆品用途是保护皮肤和 / 或皮肤细胞 (特别是角质形成细胞和 / 或成纤维细胞) 抵抗 UV 射线损伤, 和 / 或刺激皮肤细胞 (特别是成纤维细胞) 的生长和 / 或代谢。后者作用可以导致皮肤恢复。在第三优选的方面, 所述的化妆品用途是改善皮肤外观, 改善皮肤硬度, 预防和 / 或减少皮肤老化迹象。所述的皮肤老化迹象选自例如皮肤厚度减少、细线、皱纹、弹性丧失、下陷、更新速率减慢和异常脱屑。化妆品用途还可以包括预防皮肤老化、光老化的现象, 和 / 或生物学年轻皮肤的恢复。本发明的化妆品用途还包括这些优选方面和其中所列的特征的任何组合。

[0216] 特别优选双花扁豆提取物作为皮肤抗老化剂的化妆品用途。其包括一种或多种以下作用 : 增加皮肤再生和更新过程, 恢复老化的或应激的人皮肤, 改善年龄相关的更新丧失, 和 / 或增强皮肤细胞外基质网络。更通常地, 其包括提高皮肤硬度, 预防和 / 或减少内在和 / 或外在的皮肤老化, 延缓皱纹出现, 减少已出现皱纹的深度, 减轻细线的外表和改善皮肤外观和 / 或色泽。有利的是, 皮肤抗老化作用是多种或甚至所有这些作用的组合。

[0217] 在特别的方面, 本发明的双花扁豆提取物在皮肤处理中的化妆品用途是基于所述提取物增加胶原 I 和 V 的产生的能力。这可能导致老化皮肤中高质量胶原网络的从头合成。其结果包括改善皮肤外观, 改善皮肤硬度, 预防和 / 或减少皮肤老化迹象。所述的皮肤老化迹象选自例如皮肤厚度减少、细线、皱纹、弹性丧失、下陷、更新速率减慢。

[0218] 在第二优选的实施方案中, 本发明涉及双花扁豆提取物和 / 或包含所述提取物的组合物用于增加皮肤或皮肤细胞中胶原产生, 特别是胶原 I 和 / 或 V 的产生, 以及相应的化妆品用途。在该方面, 双花扁豆提取物和 / 或包含所述提取物的组合物可以在体内或体外应用于皮肤或分离的皮肤细胞。

[0219] 所述实施方案的第一方面是双花扁豆提取物和 / 或组合物在增加胶原产生中的化妆品用途。

[0220] 所述实施方案的第二方面是双花扁豆提取物和 / 或组合物在体外增加皮肤细胞或皮肤的胶原产生中的用途。在所述的方面，皮肤细胞优选成纤维细胞、更优选人成纤维细胞。在任何方面，双花扁豆提取物可以以其纯的形式或作为包含进一步的成分的组合物的部分来使用。在组合物中其特别优选以占总组合物重量的约 0.0001 至约 10% 并且更优选约 0.001 至约 5%、甚至更优选约 0.01 至约 2% 重量使用。

[0221] 本发明还涉及在细胞、特别是皮肤细胞中引起双花扁豆提取物对本部分和先前部分中描述的细胞的作用的方法。该方法包括将细胞与有效量的双花扁豆提取物接触的步骤。该方法可以在体外使用，但是特别是在体内用于增加细胞的胶原产生。该方法是通过将细胞与有效量的双花扁豆提取物接触而实现的。优选的是，该方法用于增加细胞的胶原产生。

[0222] 当细胞在体外与双花扁豆提取物接触时，溶液或混悬液中双花扁豆提取物的量范围典型地为约 0.00001 至约 10% (w/v)、优选约 0.0001 至约 1% (w/v)、更优选约 0.001 至 0.5% (w/v)、甚至更优选约 0.003 至 0.1% (w/v)、包括范围约 0.003 至约 0.01% (w/v) 和约 0.03 至约 0.1% (w/v) 的干物质提取物。

[0223] 先前部分阐述了本发明的提取物和包含所述提取物的组合物（其适用于本文描述的用途）的进一步的特征。

[0224] 本发明还涉及改善皮肤老化迹象的方法，即抗老化方法。所述的方法包括给皮肤应用本发明的双花扁豆提取物或本发明的化妆品组合物的步骤。所述的应用典型地是局部应用。提取物或化妆品组合物是以有效量和 / 或时间来应用的，所述的量或时间足以获得本发明化妆品用途的作用。

[0225] 本发明的抗老化方法具有与本发明化妆品用途相同的作用。因此，上述化妆品用途的特征也是抗老化方法的特征。

[0226] 本发明通过参考以下实施例更详细地进一步描述。应当理解的是这些实施例仅用于说明目的，而不能理解为限制本发明。

实施例

[0227] 在以下实施例中，使用分子生物学和细胞培养的标准技术，其在多种教科书出版物中有描述，例如 Sambrook 等人 (2001), Molecular Cloning :A Laboratory Manual (分子克隆 : 实验室指南)，第 3 版，Cold Spring Harbor Laboratory Press，或 Ausubel 等人 (1987), Current Protocols in Cell Biology (细胞生物学实验室指南)，2002 年出版，Wiley Interscience。除非另外说明，根据厂商的说明书使用所有的酶、细胞、试剂、装置和试剂盒，并且化学品是可获得的最纯级别。

[0228] 实施例 1：双花扁豆种子的水 - 乙二醇提取物

[0229] 将 100g 干燥的双花扁豆种子磨碎。在获得的碎粉中加入 700mL 1,3-丁二醇和 300mL 蒸馏水，在 80℃ 下搅拌 1 小时完成提取。将悬浮液在室温下冷却并且离心以获得澄清的上清液，将其在纸上过滤，获得 828mL 淡黄色澄清液体，用卤素水分分析仪 (Mettler Toledo) 测定水醇提取物中含 0.75wt.-% 的干物质。

[0230] 实施例 2 :双花扁豆种子的水 - 甲醇提取物

[0231] 将 50g 干燥的双花扁豆种子磨碎。在获得的碎粉中加入 800mL 甲醇和 200mL 蒸馏水，并且在室温下搅拌 20 小时完成提取。倾析 1 小时后，将悬浮液在纸上过滤，获得淡黄色澄清液体。真空除去甲醇后，将液体提取物冷冻干燥，获得 3.8g 褐色粉末。

[0232] 实施例 3 :20 小时的双花扁豆种子的水 - 乙醇提取物

[0233] 将 50g 干燥的双花扁豆种子磨碎。在获得的碎粉中加入 700mL 乙醇和 300mL 蒸馏水，并且在室温下搅拌 20 小时完成提取。倾析 1 小时后，将悬浮液在纸上过滤，获得淡黄色澄清液体。真空除去乙醇后，将液体提取物冷冻干燥，获得 4.8g 褐色粉末。

[0234] 实施例 4 :1 小时的双花扁豆种子的水 - 乙醇提取物

[0235] 将 100g 干燥的双花扁豆种子磨碎。在获得的碎粉中加入 700mL 乙醇和 300mL 蒸馏水，并且在室温下搅拌 1 小时完成提取。倾析 1 小时后，将悬浮液在纸上过滤，获得淡黄色澄清液体。真空除去乙醇后，将液体提取物冷冻干燥，获得 7.9g 褐色粉末。

[0236] 实施例 5 :回流下的双花扁豆种子的水 - 乙醇提取物

[0237] 将 100g 干燥的双花扁豆种子磨碎。在获得的碎粉中加入 630mL 乙醇和 270mL 蒸馏水，将悬浮液在 70°C 下加热，并且当获得回流时搅拌 1 小时完成提取。将悬浮液在室温下冷却，并且在纸上过滤，获得淡黄色澄清液体。真空除去乙醇后，将液体提取物冷冻干燥，获得 9g 褐色粉末。

[0238] 实施例 6 :双花扁豆种子的水提取物

[0239] 将 150g 干燥的双花扁豆种子磨碎。在获得的碎粉中加入 850mL 蒸馏水，用 4N 硫酸将 pH 调至 4.5，并且在室温下搅拌 1 小时完成提取。将悬浮液离心并且在纸上过滤，获得澄清液体，通过卤素水分分析仪 (Mettler Toledo) 测定，水提取物中含有 2.6wt.-% 的干物质。加入 2.6wt.-% 麦芽糖糊精合剂后，将溶液喷雾干燥，获得 15.4g 浅褐色粉末。

[0240] 实施例 7 :双花扁豆种子酶水解的水提取物

[0241] 将 150g 干燥的双花扁豆种子磨碎。在获得的碎粉中加入 850mL 蒸馏水，用 4N 氢氧化钠将 pH 调至 7.5，并且在室温下搅拌完成提取。1 小时后，加入 2g **alcalase®** 2.4L FG (Novozymes)，并且将提取物在 50°C 下水解 2 小时 30 分钟。通过在 85°C 下加热悬浮液 15 分钟灭活酶。在室温下冷却后，将悬浮液离心并且在纸上过滤，获得澄清液体。将液体水解的提取物冷冻干燥，获得 47.2g 浅褐色粉末。

[0242] 实施例 8 :对培养中的人成纤维细胞的再生和恢复作用

[0243] 这些试验的目的是评价上述实施例中制备的提取物对体外培养的人成纤维细胞的恢复和再生活性。

[0244] 为了评价再生和生长因子样活性，进行对生长的人成纤维细胞的功效试验 (“生长试验”)。在所述试验中，将人成纤维细胞 (细胞系 MRC5) 接种在细胞培养的标准培养基 (DMEM = 达尔伯克必需基本培养基，Invitrogen N° 41965-039，含 10% (v/v) 胎牛血清 (FCS)) 中。在 37°C 和 5% CO₂ 下培养 1 天后，将生长培养基换成含不同浓度双花扁豆提取物的标准培养基 (不含 FCS 的 DMEM)。培养 3 天后，根据 Bradford 法 (Bradford 等人 (1976) Anal. Biochem. 72 :248-254)，通过测量细胞匀浆中蛋白质水平来测定活细胞数量。

[0245] 存活功效试验 (“存活试验”) 是在人成纤维细胞上进行的，通过测量双花扁豆提取物存在下培养的人成纤维细胞的细胞活力来评价再生和恢复活性。将人成纤维细胞 (细

胞系 MRC5) 接种在上述含 FCS 细胞培养物的标准培养基中。培养 3 天后, 细胞休眠, 并且将生长培养基换成含一定范围浓度的每种待测物质的标准培养基(不含 FCS 的 DMEM)。在 37°C 下继续培养 3 天后, 通过 Bradford 法测量细胞匀浆(在 0.1N NaOH 溶液中)的细胞蛋白质水平以及测量 ATP 含量(根据 Vasseur(1981) Journal francais Hydrologie 9 : 149-156 的酶法)和细胞 DNA(通过用 Hoechst 33258 试剂染色 DNA 并且根据 Rao, J. 和 Otto, W. R. Fluorimetric DNA assay for cell growth estimation(荧光 DNA 分析用于细胞生长评价), Anal. Biochem. 207 :186-192 ;1992 记录 365nm 处激发、455nm 处发射的荧光来测量的)来测定对培养的细胞代谢的作用。

[0246] 这些分析一式三份进行并且重复测量 3 或 4 次, 参照蛋白质、ATP 和 DNA 的标准范围来计算结果, 并且以相比对照(不含添加物的标准培养基)的%表示。

[0247] 表 1: 生长试验和存活试验的结果(%对照)。剂量: 添加到培养基中的双花扁豆提取物粉末的量

[0248]

提取物	生长试验		存活试验			
	剂量 %w/v	蛋白质 水平	剂量 %w/v	DNA 水平	ATP 水平	蛋白质 水平
对照(未处理的)	/	100	/	100	100	100
实施例 2 的提取物	0.1	254	0.1	166	212	181
实施例 3 的提取物	0.1	234	0.1	140	205	181
实施例 4 的提取物	0.1	218	0.03	186	203	190
实施例 5 的提取物	0.1	230	0.1	170	247	180

[0249] 这些结果显示双花扁豆种子提取物改善了细胞生长和细胞代谢, 因此具有良好的潜力来刺激皮肤更新并且延缓皮肤老化。

[0250] 实施例 9: 刺激胶原 I 产生

[0251] 该试验的目的是评价双花扁豆种子提取物增加胶原 I 水平的潜力。将人真皮成纤维细胞(来自化妆品外科手术的皮肤)在生长培养基(含 10% (v/v) FCS 的 DMEM Invitrogen N° 41965-039) 中在 37°C 下培养 24 小时。然后将培养基换成含待测产物的标准培养基(含 1% (v/v) FCS 的 DMEM Invitrogen N° 41965-039), 并且在 37°C 下培养 72 小时。通过 Bradford 法测量细胞匀浆(在 0.1N NaOH 溶液中)中细胞蛋白质的量。通过 ELISA 法(试剂盒 Metra N° , 购自 Osteomedical) 测量细胞培养基中释放的胶原肽的量来测定合成的 I 型胶原的量。

[0252] 结果如表 2 所示。它们以相比对照(不含细胞的标准培养基)的%蛋白质表示。

[0253] 表 2: 双花扁豆提取物对细胞蛋白质和释放胶原 I 的作用。结果以相比对照的%蛋白质表示(一式三份的 3 次测量的平均值)。剂量: % w/v 的提取物 / 细胞培养基。

[0254]

试验物质	剂量 [% w/v]	细胞蛋白质	释放的 I 型胶原
对照	-	100.0	100.0
维生素 C	20 μg/mL	77.3	118.3
实施例 3 的提取物	0.1	95.1	117.6

[0255] 这些结果显示双花扁豆种子提取物以及维生素 C 显著增加了真皮人成纤维细胞释放的胶原 I 的水平。

[0256] 实施例 10 :刺激培养的人成纤维细胞中胶原 V 编码基因的表达

[0257] 该试验是为了评价实施例 3 的双花扁豆提取物对人成纤维细胞中胶原 V 编码基因的表达的刺激功效。由于 2 个基因负责胶原 V 的产生,即基因 COL5A1 和 COL5A2,因此分析两个基因的表达。

[0258] 将人真皮成纤维细胞(由整形外科手术获得)接种在含 10% FCS (Invitrogen) 的细胞培养的标准 DMEM 培养基中。当出现细胞汇合时,将待测物质引入到不含 FCS 的新的 DMEM 中。将成纤维细胞与试验物质温育 24 小时,然后用商购的提取试剂盒 (Nucleospin™ RNA II, Macherey-Nagel™, France) 提取总 RNA。通过测量 260 和 280nm 处的荧光实现总 RNA 的定量和质量控制。

[0259] 进行特异性 qRT-PCR 方法用于分析 COL5A1 或 COL5A2 基因表达。在这两种情况中,将靶 mRNA 水平与持家基因 mRNA 的速率比较,持家基因 mRNA 的表达不受处理(翻译延伸因子 1-α (EF1 α)) 的强烈修饰。

[0260] 反转录步骤是用反转录 (RT) 试剂盒 (ThermoScript™ RT-PCR System, Invitrogen, France) 进行的,在 20 μL 终体积中使用 0.1 μg 的总 RNA。根据厂商信息 (**LightCycler®** 480 SYBR Green I Master, Roche, France) 进行定量 PCR, 将 2 μL RT 混合物与特异性引物在 20 μL 终体积中混合。每个分析重复两次。结果(以相比对照的 RNA 百分数表示)是三个独立分析的平均值(表 3)。

[0261] TGF-β 1 用作阳性参考。该生长因子是编码真皮主要胶原 I 和 III 的基因的强烈转录激活子。证实 TGF-β 1 还增加 COL5A1 和 COL5A2 mRNA 的水平。由于该生长因子是高度易变的,在载体蛋白质中加入 TGF-β 1,以增加其稳定性。进行仅用载体蛋白质的对照处理。该蛋白质对胶原 V mRNA 的水平仅有非常弱的作用。

[0262] 表 3 :与试验物质温育后 COL5A1 和 COL5A2 的 RNA 水平 [% / 对照]。

[0263]

试验物质	COL5A1	COL5A2
对照	100	100
0.03% w/v 的实施例 3 的提取物	185	135
10ng/mL 的参考 (TGF-β 1)	567	171

参考对照	99	95
------	----	----

[0264]

[0265] 这些结果清楚显示用双花扁豆种子提取物处理增加了人真皮成纤维细胞中编码 V 型胶原的两种 mRNA 的水平。该作用诱导了胶原 V 合成的增加。胶原 V 参与胶原 I 纤维的正确形成和结构, 所述的胶原 I 纤维在老化过程中被改变。因此, 除了其对胶原 I 产生速率的作用, 双花扁豆种子提取物正向影响这些新合成的胶原 I 纤维的结构并且限制皮肤老化过程。

[0266] 实施例 11 :UVA 细胞光保护、抗氧化作用

[0267] 通过对人成纤维细胞的试验评价对 UVA 辐射的细胞保护, 因为 UVA 射线穿透表皮进入真皮, 在真皮中它们主要通过活化光敏生物组分诱导氧化性应激, 所述的组分催化活性氧类别 (ROS, 例如超氧阴离子、过氧化氢和单态氧) 的形成和细胞膜的脂质过氧化 (Dalle Carbonare M, Pathak MA (1992) J Photochem & Photobiol 14 :1-2, 105-124)。UVA 辐射后形成的脂质过氧化物腐解成丙二醛, 所述的丙二醛能在很多生物分子 (例如蛋白质) 间形成交联, 导致酶的抑制并且损伤核酸, 从而存在诱变的风险。因此, 通过测量释放的丙二醛 (MDA) 的水平来体外评价氧化性应激。

[0268] 将人成纤维细胞 (细胞系 MRC5) 接种到上述的生长培养基 (DMEM (Invitrogen N° 41965-039)+FCS) 中并且在 37°C、5% CO₂ 下培养 3 天。然后将生长培养基换成含试验物质的培养基, 并且在 37°C、5% CO₂ 下培养 2 天。用平衡的盐溶液 (Hank's BSS SIGMA H1387) 交换培养基后, 用 UVA 20J/cm² 辐射细胞培养。用 Bradford 试剂 (根据 MM. Bradford : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding (利用蛋白质 - 染料结合原理的一种快速且灵敏的微克量蛋白质的定量方法), Anal. Biochem 72 :248-254 (1976)) 和 OPT(邻苯二醛) 法 (根据 Hissin PJ, Hilf R. :A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues (组织中氧化型和还原型谷胱甘肽的荧光测量法), ANALYTICAL BIOCHEMISTRY 74 :214-26 (1976)) 分别测量细胞蛋白质和 GSH(谷胱甘肽), 并且应用 TBA(硫代巴比土酸) 试剂 (根据 Morliere P 等人, UV-A induced lipid peroxydation in cultured human fibroblasts (培养的人成纤维细胞中 UV-A 诱导的脂质过氧化), Biochim. Biophys. Acta, 1084, 3 :261-269 (1991)), 分光光度计测量上清液中释放的 MDA。

[0269] 表 4 :UVA 辐射后 MDA 释放。结果以相比对照的 % 表示 (一式三份的 2 个分析的平均值)。剂量 : % w/v 的提取物 / 细胞培养基。

[0270]

试验物质	剂量 %w/v	释放的 MDA	细胞蛋白质
对照(未被辐射)	-	0	100
对照 UVA 辐射的(20 J/cm^2)	-	100	108
实施例 2 的提取物/UVA 辐射的(20 J/cm^2)	0.003	63	142
	0.01	58	171

[0271] 还试验了一次一式三份的更高剂量的 0.03 和 0.1% (w/v) 实施例 2 的提取物，并且也是非常有效的。

[0272] UVA 辐射诱导了对照中 MDA 的释放。成纤维细胞与双花扁豆提取物温育后，相比未处理的对照，MDA 释放被降低。因此，通过双花扁豆处理可获得细胞对 UVA- 诱导的氧化损伤的保护。

[0273] 实施例 12 :UVB- 细胞光保护

[0274] 花生四烯酸级联是皮肤炎症的重要机制。该级联可能受多个因素诱导，特别是受 UVB 辐射诱导。UVB 通过活化磷脂酶 A2 (PLA2) 诱导炎性响应，其从细胞膜释放花生四烯酸 (De Leo VA 等人, Photochemistry and Photobiology (1985) 41 :51-56)。随后，环加氧酶将花生四烯酸转变成前列腺素 (PG)，其分泌到细胞外。某些前列腺素 (PGE_2) 结合特定的皮肤受体后引起人皮肤发红和肿胀。在培养的人细胞中，UVB 对细胞膜的作用与细胞质酶 (乳酸脱氢酶 (LDH)) 释放进入上清液培养基相关 (Bonnekoh B 等人 (1990) Dermatological Research 282 :325-331)。

[0275] 将人角质形成细胞 (细胞系 A431) 接种到生长培养基 (DMEM+FCS) (1mL/ 孔，每个板含 12 个孔) 中，并且在 37°C 、5% CO_2 下温育 3 天。然后将生长培养基换成含待测物质的平衡的盐溶液，并且将细胞培养用 UVB 50mJ/cm^2 (DUKE GL40E 灯) 辐射。在 37°C 、5% CO_2 下温育 1 天后，测定释放进入培养基中的 LDH (试剂盒 Roche N° 1644793) 和 PGE_2 (试剂盒 Oxford Biomedical N° EA02, 购自 Euromedex)，并且应用荧光探针 Hoechst33258 试剂 (根据 Rao, J. 和 Otto, W. R. Fluorimetric DNA assay for cell growth estimation (用于细胞生长评价的荧光 DNA 分析法). Anal. Biochem. 207 :186-192 (1992)) 测量细胞 DNA，从而测定细胞活力。

[0276] 表 5:UVB 辐射后 LDH 和 PGE_2 的释放。结果以相比对照的 % 表示 (一式三份的 2 或 3 个分析的平均值)。剂量：% w/v 的提取物 / 细胞培养基。

[0277]

产品	剂量 %w/v	角质形成 细胞 DNA	释放的 LDH	释放的 PGE ₂
对照(未被辐射)	-	100	0	0
对照/UVB (50 mJ/cm ²)	-	23	100	100
实施例 2 的提取物/UVB (50 mJ/cm ²)	0.03	35	47	43
	0.1	45	40	29

[0278] 对照的 UVB 辐射诱导具有 PGE₂ 的释放和细胞膜损伤的炎症, 如培养基中 LDH 活性的释放和角质形成细胞数量减少 (细胞 DNA 减少约 77%) 所证实的。角质形成细胞与双花扁豆提取物温育和 UVB 辐射后, 相比 UVB 辐射的对照, 获得了活细胞的增加和释放的 LDH 和 PGE₂ 的减少。这些结果证实了双花扁豆提取物保护皮肤细胞免受 UVB 辐射诱导的损伤的能力。