



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103655221 A

(43) 申请公布日 2014. 03. 26

(21) 申请号 201210391238. 2

(22) 申请日 2012. 10. 16

(30) 优先权数据

10-2012-0101626 2012. 09. 13 KR

(71) 申请人 柯得股份有限公司

地址 韩国忠清南道天安市稷山邑三隐里
43-5 忠南科技园区天安谷生产管 2308
号

(72) 发明人 具昌燮 金珉珍 郑伦朱 张东逸

(74) 专利代理机构 北京华夏博通专利事务所

(普通合伙) 11264

代理人 刘俊

(51) Int. Cl.

A61K 8/63(2006. 01)

A61K 31/575(2006. 01)

A61Q 19/08(2006. 01)

A61P 17/02(2006. 01)

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

作为弹性蛋白酶活性抑制剂的植物甾醇新用途及含有它的组合物

(57) 摘要

本发明针对植物甾醇的弹性蛋白酶活性进行探究后得以完成,本发明涉及一种作为弹性蛋白酶活性抑制剂的植物甾醇的新用途及以有效成分含有而改善皮肤弹力乃至治疗皮肤伤口的外用剂组合物;本发明的含有植物甾醇的组合物不仅能够在不引起皮肤副作用的情形下安全地使用,还通过弹性蛋白酶活性改善皮肤弹力而得以大幅增强皮肤防老化效果及皮肤伤口治愈效果。

1. 作为弹性蛋白酶活性抑制剂的植物甾醇新用途。
2. 根据权利要求 1 所述的作为弹性蛋白酶活性抑制剂的植物甾醇新用途,其特征在
于,上述植物甾醇是 β -谷甾醇或豆甾醇。
3. 以抑制弹性蛋白酶活性的植物甾醇为有效成分的皮肤外用剂组合物。
4. 根据权利要求 3 所述的皮肤外用剂组合物,其特征在在于,上述植物甾醇是 β -谷甾醇
或豆甾醇。
5. 根据权利要求 3 或 4 所述的皮肤外用剂组合物,其特征在在于,上述植物甾醇的含量为
相比于整体组合物总重量的 0.001 到 10 重量%。
6. 根据权利要求 3 或 4 所述的皮肤外用剂组合物,其特征在在于,上述外用剂组合物是皮
肤弹力改善用化妆料组合物。
7. 根据权利要求 3 或 4 所述的皮肤外用剂组合物,其特征在在于,上述外用剂组合物是皮
肤伤口治愈用药学组合物。

作为弹性蛋白酶活性抑制剂的植物甾醇新用途及含有它的组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种发挥弹性蛋白酶活性抑制剂功能的植物甾醇及以其为有效成分的组合物,该组合物通过弹性蛋白酶减活性而改善皮肤弹力并且得以大幅增强皮肤防老化效果及皮肤伤口治愈效果。

背景技术

[0002] 在皮肤中,弹性蛋白纤维和胶原纤维一起在真皮(epiderm)内侧形成交联键而提供皮肤弹力。随着年龄增加,皮肤在组织学上呈现出弹性蛋白纤维缺乏与凝集、胶原纤维减少、炎细胞浸润增加的现象,在生物化学上则出现作为弹性蛋白分解酶的弹性蛋白酶的活性度显着增加的现象。因此,弹性蛋白酶的作用使得皮肤弹力急剧减弱而出现凹陷(sagging)现象。弹性蛋白酶是目前为止发现的唯一能够分解弹性蛋白的酶,抑制它就能从根本上减少皮肤老化。

[0003] 为了延迟皮肤老化而把保湿剂、抗炎症剂、弹性蛋白及针对胶原交联键被破坏的组织的营养剂及添加剂等加入化妆料内,但从根本上延迟老化是有限的。因此需要一种抑制剂,其能够从根本上把维持皮肤弹力的弹性蛋白及胶原的分解加以抑制。

[0004] 虽然为了该目的而使用其结构与动物性提取物或胶原及弹性蛋白相似的合成肽(peptide)衍生物等物质,但其具有安全性及稳定性问题并且也没有达到本领域所要求的预期效果,因此迫切需要开发出一种比现有技术对人体安全而且效果良好的新功能性物质,日本国专利公开第 2004-018793 号公报公开了细毛火烧兰、红山无叶兰、金兰花、羽蝶兰等具有弹性蛋白酶减活性效果的成分。

[0005] 但这样的事实目前还没有被广泛地认知,亦即,植物甾醇可以通过弹性蛋白酶减活性而改善皮肤弹力并且得以大幅增强皮肤防老化效果及皮肤伤口治愈效果。

发明内容

[0006] 发明需要解决的技术课题

[0007] 本发明人们以植物性天然物为对象探索了能够改善弹性蛋白降低及破坏所导致的皮肤弹力减弱现象并且解决皮肤安全性及化妆料配合时的稳定性问题的抗老化物质,结果发现植物甾醇显示出良好的弹性蛋白酶抑制效果,涂敷在人的皮肤上时也能明显地改善皮肤弹力而显著提升防老化效果及皮肤伤口治愈效果,从而完成了本发明。

[0008] 因此,本发明的目的是提供一种含有植物甾醇的外用剂组合物,该植物甾醇不引起皮肤副作用并且有效地抑制弹性蛋白酶的活性而发挥皮肤弹力改善效果及皮肤伤口治愈效果。

[0009] 解决课题的技术方案

[0010] 为了解决上述课题,本发明提供一种作为弹性蛋白酶活性抑制剂的植物甾醇新用途。

[0011] 较佳地,上述植物甾醇是 β -谷甾醇(Beta sitosterol)或豆甾醇(stigmasterol)。

[0012] 为了解决另一个课题,本发明提供一种以抑制弹性蛋白酶活性的植物甾醇为有效成分的皮肤外用剂组合物。

[0013] 较佳地,本发明皮肤外用剂组合物的上述植物甾醇是 β -谷甾醇或豆甾醇。

[0014] 较佳地,本发明皮肤外用剂组合物的上述植物甾醇的含量为相比于整体组合物总重量的0.001到10重量%。

[0015] 本发明皮肤外用剂组合物可以是皮肤弹力改善用化妆料组合物(Cosmetic composition)或皮肤伤口治愈用药学组合物。

[0016] 有益效果

[0017] 如前所述,本发明的植物甾醇通过弹性蛋白酶减活性改善改善皮肤弹力而得以大幅增强皮肤防老化效果及皮肤伤口治愈效果。

具体实施方式

[0018] 本发明提供一种作为弹性蛋白酶抑制剂的植物甾醇的新用途及以其为有效成分而有效地抑制弹性蛋白酶活性的外用剂组合物。

[0019] 一般来说,植物甾醇由于稳定乳化状态的能力较强而在制造化妆品或油墨时作为乳化剂使用,包括人类在内的动物摄取豆甾醇与 β -谷甾醇时可以降低血中的总胆固醇水平及LDL胆固醇水平,因此其作为医药品原料而发挥重要作用。而且,植物甾醇还被认为能减少心绞痛、心肌梗塞症之类的冠心病(coronary heart disease)的危险性。

[0020] 本发明的植物甾醇虽然可以从水果、蔬菜、坚果类、谷类、豆类及植物性油脂,例如油菜籽油、玉米油、葵花油、裸麦、麦、大麦、雀麦等含有高浓度植物甾醇的植物资源中萃取,但不限于上述植物资源。该植物甾醇可以通过各种方法获得,考虑到经济效益时,较佳地,从制作大豆油时获取的脱臭馏出物分离而获得。

[0021] 上述植物甾醇利用非极性萃取用溶剂对油菜籽油、玉米油、葵花油、裸麦、麦、大麦、雀麦等含有高浓度植物甾醇的植物资源进行萃取、过滤并制成,萃取用溶剂可以使用己烷(hexane)、乙醚(ether)、苯(benzene)、氯仿(chloroform)、环己烷(cyclohexane)、甲苯(toluene),可以利用超临界萃取之类的方法萃取。可以通过单独进行或并行进行充填有C18或硅胶凝体(silica gel)等各种合成树脂的柱色谱分离(column chromatography)及高性能液体色谱分析法(HPLC)等而从上述植物提取物分离及精炼植物甾醇。然而,有效成分的萃取及分离精炼方法不必一定要限定于上述方法。

[0022] 以相对于组合物总重量的0.001~10重量%含有上述植物甾醇。本发明为了得到所期望的效果而以相对于组合物总重量的0.001~10重量%含有上述植物甾醇。低于0.001重量%时难以得到适当效能,超过10重量%时会影响到产品的安全性与稳定性。

[0023] 作为直接涂敷在皮肤上发挥作用的组合物,本发明的外用剂组合物不会对药学组合物乃至化妆料组合物的剂型加以特别限制,例如,可以制成柔润化妆水、紧致化妆水、营养化妆水、营养霜、按摩霜、精化露(essence)、眼霜、眼部修护霜(eye essence)、清洁霜、清洁乳霜、洁面霜、卸妆水、面膜膏、化妆粉、护肤乳(body lotion)、身体乳(cream)、身体护理油、身体精化乳(body essence)、身体清洁剂、染发剂、生发水(hair tonic)、头发护理液

(scalp treatment)、乳霜 (lotion)、软膏、化妆胶水 (gel)、乳液 (cream)、模料 (patch) 或喷雾剂等。

[0024] 下面结合实施例及试验例具体说明本发明的构成及作用效果,但本发明不限于这些例子。

[0025] [实施例 1] 用大豆油脱臭馏出物制造植物甾醇

[0026] 把大豆油脱臭馏出物 (植物甾醇含量 :27%)200g 与甲苯 200g 倒入 3L 的三口烧瓶后用 300rpm 搅拌并且升温到 90°C,然后添加 25% (w/w)NaOH 溶液 200g。之后,在 80°C 下以 300rpm 搅拌上述反应生成物并且缓慢地添加 50% (w/w) 硫酸溶液 150g,再搅拌 15 分钟后静置,清除水层而得到油层。反复清洗油层直到硫酸被完全清除为止,在 110°C 下进行减压压缩清除甲苯后加以过滤。在上述过滤物上混合甲醇 300g 后倒入 3L 的三口烧瓶,然后在 65°C 下反应 30 分钟后冷却到室温,再搅拌 24 小时,把搅拌过程中生成的固定生成物加以过滤后利用甲醇 200g 清洗,把固体生成物加以减压蒸馏完全清除甲醇后制成植物甾醇。所制成的植物甾醇的良率与纯度分别为 75% 与 98%。

[0027] [实施例 2] 植物甾醇的分离及确认

[0028] 针对上述植物甾醇 1.5g 进行了 C18 柱色谱分离。此时,所使用的柱溶出液以甲醇与水各自按照 80 : 20 (v/v) 的体积比混合的溶剂起始而在 40 分钟内逐渐增加甲醇比率以使得甲醇成为 100%,溶剂的溶出速度与检测波长各为 60ml/分与 UV 210nm。进行上述 C18 柱色谱分离后从亚组份 48 ~ 52 与 55 ~ 60 得到了 β -谷甾醇 0.75g 与豆甾醇 0.38g。

[0029] 所分离的植物甾醇的仪器分析结果如下。

[0030] 化合物 1 (β -谷甾醇)

[0031] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600MHz) δ 3.53 (tdd, 1H, J = 4.5, 4.2, 3.8Hz, H-3), δ 5.36 (t, 1H, J = 6.4Hz, H-5), δ 0.93 (d, 3H, J = 6.5Hz, H-19), δ 0.84 (t, 3H, J = 7.2Hz, H-24), δ 0.83 (d, 3H, J = 6.4Hz, H-26), δ 0.81 (d, 3H, J = 6.4Hz, H-27), δ 0.68 (s, 3H, H-28), δ 1.01 (s, 3H, H-29)

[0032] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ 37.5 (C-1), δ 31.9 (C-2), δ 72.0 (C-3), δ 42.5 (C-4), δ 140.9 (C-5), δ 121.9 (C-6), δ 32.1 (C-7), δ 32.1 (C-8), δ 50.3 (C-9), δ 36.7 (C-10), δ 21.3 (C-11), δ 39.9 (C-12), δ 42.6 (C-13), δ 56.9 (C-14), δ 26.3 (C-15), δ 28.5 (C-16), δ 56.3 (C-17), δ 36.3 (C-18), δ 19.2 (C-19), δ 34.2 (C-20), δ 26.3 (C-21), δ 46.1 (C-22), δ 23.3 (C-23), δ 12.2 (C-24), δ 29.4 (C-25), δ 20.1 (C-26), δ 19.6 (C-27), δ 19.0 (C-28), δ 12.0 (C-29)

[0033] EIMS ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ m/z (rel. int.)) :412 [M^+] (39.7 %), 351 (13.5 %), 314 (7.0 %), 300 (25.5 %), 271 (38.4 %), 229 (8.6 %), 213 (10.6 %), 55 (100 %)

[0034] 化合物 2 (豆甾醇)

[0035] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600MHz) δ 3.51 (tdd, 1H, J = 4.5, 4.3, 3.8Hz, H-3), δ 5.31 (t, 1H, J = 6.1Hz, H-5), δ 0.91 (d, 3H, J = 6.2Hz, H-19), δ 4.98 (m, 1H, H-20), δ 5.14 (m, 1H, H-21), δ 0.83 (t, 3H, J = 7.1Hz, H-24), δ 0.82 (d, 3H, J = 6.6Hz, H-26), δ 0.80 (d, 3H, J = 6.6Hz, H-27), δ 0.71 (s, 3H, H-28), δ 1.03 (s, 3H, H-29)

[0036] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ 37.6 (C-1), δ 32.1 (C-2), δ 72.1 (C-3), δ 42.4 (C-4), δ 141.1 (C-5), δ 121.8 (C-6), δ 31.8 (C-7), δ 31.8 (C-8), δ 50.2 (C-9), δ 36.6 (C-10),

δ 21.5 (C-11), δ 39.9 (C-12), δ 42.4 (C-13), δ 56.8 (C-14), δ 24.4 (C-15),
 δ 29.3 (C-16), δ 56.2 (C-17), δ 40.6 (C-18), δ 21.7 (C-19), δ 138.7 (C-20),
 δ 129.6 (C-21), δ 46.1 (C-22), δ 25.4 (C-23), δ 12.1 (C-24), δ 29.6 (C-25),
 δ 20.2 (C-26), δ 19.8 (C-27), δ 18.9 (C-28), δ 12.2 (C-29)

[0037] EIMS(C₂₉H₅₀O m/z(rel. int.)) :414[M⁺](100 %),396(30.8 %),381(14.0 %),
329(13.7 %),303(22.1 %),255(11.8 %),213(12.2 %),145(18.5 %),95(21.6 %),
81(21.3%),55(25.8%),43(45.0%).

[0038] [试验例 1] 植物甾醇的弹性蛋白酶抑制效果

[0039] 弹性蛋白酶萃取自猪胰脏,使用了 Sigma 公司产品。利用基于凭借胰脏弹性蛋白酶的合成肽(peptide)基质(Sigma)的水解的试验法进行了试验,把光波长 410nm 处的每单位时间的 4-硝基苯胺(4-nitroanilide)排放量的增加作为弹性蛋白酶的催化剂活性值。把各试验溶液调剂到 1mg/ml 的一定浓度后各自提取 40 μ l,在此添加溶于 50mM Tris-HCl buffer(pH8.6)的 porcine pancreas elastase(2.5U/ml)溶液 40 μ l 后,把作为基质而溶于 50mM Tris-HCl buffer(pH8.6)的 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide (0.5mg/ml) 添加 80 μ l,然后在 37°C 进行了 30 分钟反应。对于从基质生成的 4-硝基苯胺的生成量,在 410nm 测量了吸收度,利用下列数学式 1 计算了弹性蛋白酶抑制程度。

[0040] [数学式 1]

[0041] 弹性蛋白酶抑制率(%) = 1-(试料添加组的吸收度 / 试料非添加组的吸收度)
x100

[0042] 【表 1】

[0043]

化合物	浓度($\mu\text{g/ml}$)	弹性蛋白酶抑制率(%)
大豆油脱臭馏出物的植物甾醇	125	13.3
	250	15.0
	500	43.9
	1,000	72.8
	2,000	100.0
[0044] β -谷甾醇	125	19.6
	250	27.2
	500	35.3
	1,000	68.7
	2,000	95.6
豆甾醇	125	10.6
	250	44.4
	500	51.8
	1,000	66.6
	2,000	93.8

[0045] 由上述表 1 得知,植物甾醇化合物具备有浓度依赖型弹性蛋白酶活性抑制效果。

[0046] [试验例 :2] 植物甾醇的皮肤保湿及弹力效果

[0047] 使用含有本发明的植物甾醇的乳液 (cream) 化妆料及不含有植物甾醇的乳液化妆料针对皮肤保湿及弹力效果进行了临床试验。临床试验所用乳液按照下列表 2 所示内容制作。

[0048] 【表 2】

[0049]

配合成分	含量(重量%)			
	剂型1	剂型2	剂型3	比较剂型
大豆油脱臭馏出物的植物甾醇	1.00	-	-	-
β -谷甾醇	-	1.00	-	-
豆甾醇	-	-	1.00	-

[0050]

角鲨烷(squalane)	5.0	5.0	5.0	5.0
蜜蜡	4.0	4.0	4.0	4.0
聚山梨醇酯60	1.5	1.5	1.5	1.5
去水山梨醇倍半油酸酯(sorbitan sesquioleate)	1.5	1.5	1.5	1.5
液状石蜡	0.5	0.5	0.5	0.5
辛酸/癸酸甘油三酯	5.0	5.0	5.0	5.0
甘油	3.0	3.0	3.0	3.0
丙二醇	3.0	3.0	3.0	3.0
聚羧乙烯(Carboxyvinyl polymer)	0.1	0.1	0.1	0.1
三乙醇胺(triethanolamine)	0.2	0.2	0.2	0.2
防腐剂、香、色素	适当量	适当量	适当量	适当量
纯化水	余量	余量	余量	余量

[0051] 为了试验植物甾醇对皮肤弹力的影响,每天在受检有 20 人的左眼边缘适用了两次。没有进行处理的右眼边沿则作为对照组。利用皮肤水分测量仪 CM 80 与皮肤弹力测量仪 SEM 474 测量了以含有植物甾醇的化妆料进行处理之前及进行处理并经过 14 天后的皮肤表面的皮肤弹力性。在皮肤水分测量仪 CM 820 进行的皮肤保湿测量中,与对照组相比所增加的保湿力值以%表示,并且把受检者 20 人的平均值显示在结果中。利用皮肤弹力测量仪 SEM 474 测量皮肤弹力度时测量皱纹深度,其值越小表示弹力性越好。与对照组相比所减少的弹力度值以%表示,并且把受检者 20 人的平均值显示在结果中。

[0052] 【表 3】

[0053]

剂型例	皮肤保湿效果 (%)	皮肤弹力度效果 (%)
剂型 1	34	42
剂型 2	39	48
剂型 3	33	40
比较剂型	12	18

[0054] 由上述表 3 得知,含有植物甾醇的剂型 1 到 3 对皮肤的保湿及弹力度效果明显优于没有使用植物甾醇的比较剂型。

[0055] [试验例 3 :植物甾醇的伤口治愈效果]

[0056] 让软膏剂基质 (base) 以各自相对于整体重量的 5 重量%包含大豆油脱臭馏出物的植物甾醇、 β -谷甾醇及豆甾醇后制成软膏 1、软膏 2 及软膏 3,对照组则只使用了软膏剂基质。

[0057] 为了测量伤口治愈效果而利用小鼠进行了动物实验。

[0058] 利用聚维酮 (Povidone) 及酒精消毒液处理小鼠肚子的皮肤后,使用 15 号手术刀在皮肤上生成伤口,然后接着把软膏 1、软膏 2、软膏 3 及对照组涂敷到伤口,再利用纱布覆盖涂敷部位加以保护。一天实行两次这种涂敷。

[0059] 对于各自涂敷了软膏的 4 只小鼠,每次重新涂敷时都进行肉眼观察。

[0060] 肉眼观察时,对照组的伤口扩大、治愈延迟并发生感染,但本发明的软膏 1、2 及 3 的伤口没有扩大并且逐渐获得治愈。