



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116942569 B

(45) 授权公告日 2023. 12. 15

(21) 申请号 202311214060.9

A61Q 19/02 (2006.01)

(22) 申请日 2023.09.20

A61Q 19/08 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 116942569 A

(43) 申请公布日 2023.10.27

(73) 专利权人 广东顺德芳香世家天然产品制造有限公司

地址 528399 广东省佛山市顺德区大良街道办事处五沙社区居民委员会新悦路20号

(72) 发明人 陈国生

(74) 专利代理机构 北京一诺通成知识产权代理事务所(普通合伙) 16145

专利代理师 张学府

(51) Int. Cl.

A61K 8/92 (2006.01)

A61K 8/14 (2006.01)

A61K 8/33 (2006.01)

A61K 8/65 (2006.01)

A61K 8/67 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 112972316 A, 2021.06.18

CN 104447313 A, 2015.03.25

CN 116370378 A, 2023.07.04

CN 103800313 A, 2014.05.21

CN 109464354 A, 2019.03.15

CN 113855584 A, 2021.12.31

CN 106109279 A, 2016.11.16

CN 106619216 A, 2017.05.10

环境保护部.《国家污染物环境健康风险名录.化学.第一分册》.中国环境科学出版社, 2009,第163页倒数第1段-第164页第1段.

GRACE DOLOROSA LIMBONG.《Antioxidant and Antibacterial Activities Enhancement of Solid-state Fermented Candlenut Kernels by Aspergillus oryzae》.《Microbiology Indonesia》.2019,第13卷(第2期),第50页摘要.

审查员 陈炼明

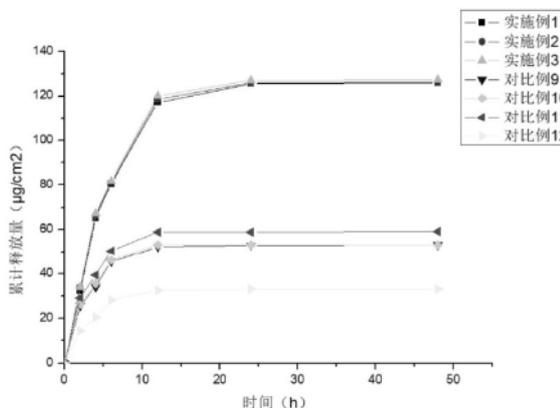
权利要求书2页 说明书19页 附图1页

(54) 发明名称

一种包含库奎果油的精油组合物及其应用

(57) 摘要

本发明提出了一种包含库奎果油的精油组合物及其应用,属于精油技术领域。包括库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为10-12:7-10:1-2:0.5-1:1-2:0.7-1.2。本发明中将包含库奎果油的精油组合物经过纳米乳液包埋,明显提高了精油组分的稳定性,减少了组合物的刺激性气温,控制组合物的释放速率,延长了作用时间,提高了作用效果,实现了抗菌、消炎、抗氧化、抗皱、美白、保湿等护肤作用,具有广阔的应用前景。

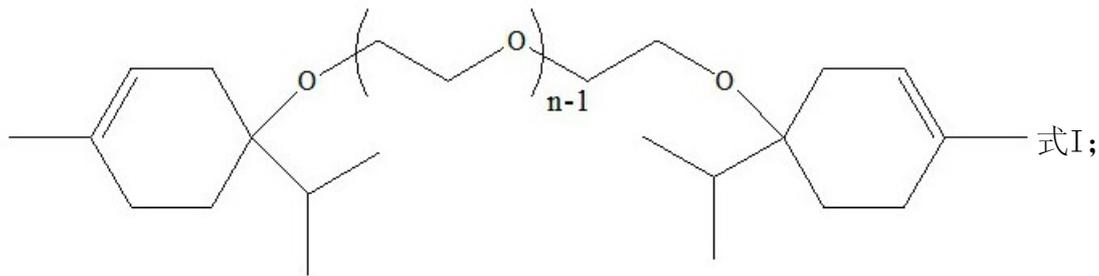


1. 一种包含库奎果油的精油组合物,其特征在于,包括库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为10-12:7-10:1-2:0.5-1:1-2:0.7-1.2;

所述花精油组合物为将茉莉花、玫瑰花、薰衣草经过超声波-微波协同提取制得的花精油组合物;

所述促透剂组合物包括薄荷油脂体和促透剂,质量比为3-5:7;

所述促透剂的结构式如式I所示:



其中, $n=2-5$;

所述库奎果油的制备方法如下:

- S1. 将库奎果干燥,粉碎,加入复合酶酶解,灭酶,干燥,制得酶解混合物;
- S2. 将步骤S1制得的酶解混合进行超临界流体萃取,过滤,固体留用,制得萃取精油;
- S3. 将步骤S2中固体加入水中,灭菌,分别接种枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液,发酵培养,灭菌,过滤,滤液加入混合溶剂,萃取,收集有机相,减压除去溶剂,制得发酵精油;
- S4. 将步骤S2制得的萃取精油和步骤S3制得的发酵精油混合均匀,制得库奎果油;

所述花精油组合物的制备方法如下:

- T1. 将茉莉花、玫瑰花、薰衣草干燥,粉碎,制得混合粉;
- T2. 将混合粉加入10-15wt%的氯化钠溶液中,超声波-微波协同处理,然后加入混合溶剂,萃取,收集有机相,减压除去溶剂,制得花精油组合物。

2. 根据权利要求1所述包含库奎果油的精油组合物,其特征在于,所述复合酶包括果胶酶和纤维素酶,质量比为3-5:10,所述酶解的温度为50-60℃,时间为2-4h,所述超临界流体萃取的条件为萃取压力:25-32MPa,萃取温度:37-42℃,CO₂流量:5-10L/h,萃取时间:1-3h,夹带剂为乙酸乙酯,添加量为2-3wt%;所述菌种种子液的含菌量为10⁸-10⁹cfu/mL,所述枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液的接种量分别为2-3v/v%和1-2v/v%,所述发酵培养的条件为40-45℃,50-70r/min,发酵培养36-48h,所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为5-7:4,所述萃取精油和发酵精油的质量比为10-12:5-7。

3. 根据权利要求1所述包含库奎果油的精油组合物,其特征在于,所述茉莉花、玫瑰花、薰衣草的质量比为7-10:2-3:3-5,所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为5-7:4,所述超声波-微波协同处理的温度为40-45℃,超声波功率为700-1000W,微波功率为300-500W,处理时间为30-50min。

4. 根据权利要求1所述包含库奎果油的精油组合物,其特征在于,所述薄荷油脂体的制备方法如下:

U1. 将氢化大豆卵磷脂、胆固醇溶于混合溶剂中,减压除去溶剂,制得脂质膜;
U2. 将薄荷油加入二氯甲烷中,然后加入水和乳化剂,混合均匀制得乳液;
U3. 将乳液逐滴滴加入脂质膜中,搅拌混合,超声反应,冷冻干燥,制得薄荷油脂质体;
所述促透剂的制备方法如下:

V1. 将乙二醇缩合物与二氯亚砷反应,制得中间体;
V2. 将4-萜品醇与中间体反应,制得促透剂。

5. 根据权利要求4所述包含库奎果油的精油组合物,其特征在于,所述氢化大豆卵磷脂、胆固醇的质量比为5-7:3-5,所述混合溶剂为二氯甲烷和丙二醇的混合溶剂,体积比为3-5:2,所述薄荷油、二氯甲烷、水和乳化剂的质量比为10-12:15-20:30-50:2-3,所述乳化剂选自吐温-20、吐温-40、吐温-60、吐温-80中的至少一种,所述搅拌混合的时间为20-30min,所述超声反应的功率为300-500W,时间为5-10min;所述乙二醇缩合物选自一缩乙二醇、二缩三乙二醇、三缩四乙二醇、四缩五乙二醇、五缩六乙二醇中的至少一种,所述乙二醇缩合物与二氯亚砷的摩尔比为1:2-2.2,所述4-萜品醇与中间体的摩尔比为2:1-1.1。

6. 一种如权利要求1-5任一项所述包含库奎果油的精油组合物的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 将壳聚糖溶于酸液中,制得壳聚糖溶液,将果胶溶于水中,制得果胶溶液,将壳聚糖溶液和果胶溶液混合均匀,制得乳液基质;

(2) 将库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物混合均匀,制得组合物,加入步骤(1)中的乳液基质中,加入乳化剂,均质,制得包含库奎果油的精油组合物。

7. 根据权利要求6所述的制备方法,其特征在于,所述酸液为1-2wt%的乙酸溶液,所述壳聚糖溶液中壳聚糖的含量为0.5-1wt%,所述果胶溶液中果胶的含量为0.8-1.2wt%,所述壳聚糖溶液和果胶溶液的质量比为0.8-1.2:1,所述组合物、乳化剂和乳液基质的质量比为4-7:1:100,所述乳化剂选自吐温-20、吐温-40、吐温-60、吐温-80中的至少一种,所述均质的条件为10000-12000r/min均质3-5min。

8. 一种如权利要求1-5任一项所述包含库奎果油的精油组合物在制备祛皱、紧致、抗氧化、消炎、保湿、美白的化妆品中的应用。

一种包含库奎果油的精油组合物及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及精油技术领域,具体涉及一种包含库奎果油的精油组合物及其应用。

背景技术

[0002] 精油产自芳香植物(Aromatic Herbs)。并不是所有的植物都能产出精油,只有那些含有香脂腺的植物,才有可能产出精油。不同植物的香脂腺分布有区别,有的是花瓣、叶子、根茎或树干上。将香囊提炼萃取后,即成为我们所称的“植物精油”。精油里包含很多不同的成分,有的精油,例如玫瑰,可由250种以上不同的分子结合而成。精油具有亲脂性,很容易溶在油脂中,因为精油的分子链通常比较短,这使得它们极易渗透于皮肤,且藉着皮下脂肪下丰富的毛细血管而进入体内。精油是由一些很小的分子所组成,这些高挥发物质,可由鼻腔呼吸道进入身体,将讯息直接送到脑部,通过大脑的边缘系统,调节情绪和身体的生理功能。所以在芳香疗法中,精油可强化生理和心理的机能。每一种植物精油都有一个化学结构来决定它的香味、色彩、流动性和它与系统运作的方式,也使得每一种植物精油各有一套特殊的功能特质。

[0003] 精油有“西方的中药”之称,是可以通过皮肤渗透进入血液循环,能有效的调理身体,达到舒缓、净化等作用。精油本质可防传染病、对抗细菌、病毒、霉菌、可防发炎,防痉挛,促进细胞新陈代谢及细胞再生功能,让生命更美好。而某些精油能调节内分泌器官,促进荷尔蒙分泌,让人体的生理及心理活动,获得良好的发展。

[0004] 库奎果,又称石栗(ALEURITES MOLUCCANA)籽,石栗系大戟科木本油料植物,种子含油量很高,种仁出油率可达63.95%,亚油酸占40.41%。库奎果油又称“库奎油、库奎坚果油、石栗籽油黑桐木果油、夏威夷核果油、夏威夷胡桃油”库奎树在世界上许多地方都有种植包括夏威夷岛,以及菲律宾、马来西亚和中国。

[0005] 库奎果油富含 α -亚麻酸、亚油酸及丰富的维生素A、D、E有很好的抗氧化、舒缓作用很早以前就用来治疗强烈日照或海风受伤的皮肤或刀伤、烫伤等,可改善青春痘,湿疹对表皮烧伤、龟裂皮肤、扭伤淤青、昆虫叮咬、舒缓皮肤瘙痒轻微止血和伤口愈合有良好的恢复作用。

[0006] 单方精油是单纯的一种植物精油,一般是100%纯度,不能直接用在皮肤上,一般加在化妆品中,通常要和基础油调合才能使用。

[0007] 复方精油是由两种以上的单方精油与基础油按照一定比例混合调配出来的,可直接用于皮肤护理。有相辅相成,增强疗效的作用。复方精油作为以植物提取物为原料的产品,因其天然、安全的特性,被广泛应用于护肤品当中。但由于不同种类的精油存在协同拮抗作用,不同的配方组成得到的产品功效差异较大;大多针对促进血液循环,改善皮肤(需配合专业手法)等单一功效进行配比,目前抗皱的复方精油,使用时间长,效果不明显。或者将复方精油以乳膏作为基质,而市面上大多数配合使用的乳膏安全性系数低,且大多数都是以滋润肌肤,添加胶原蛋白为宣称,使用时间长而抗皱效果却不太明显。

[0008] 中国专利CN102860940B公开了一种除皱护理复方精油,包括下述重量份的组分:

小麦胚芽油40-60份、德国洋甘菊精油40-60份、罗勒精油4-8份、花梨木精油4-8份、快乐鼠尾草精油4-8份。该组合物有一定的消炎、抗菌和抗皱效果,但是,需要长期使用才能达到一定的抗皱、抚纹的效果。

发明内容

[0009] 本发明的目的在于提出一种包含库奎果油的精油组合物及其应用,明显提高了精油组分的稳定性,保证了胶原蛋白肽和左旋维生素C不与氧气接触而被氧化分解失活,同时,也减少了组合物的刺激性气温,控制组合物的释放速率,延长了作用时间,实现了抗菌、消炎、抗氧化、抗皱、美白、保湿等护肤作用。

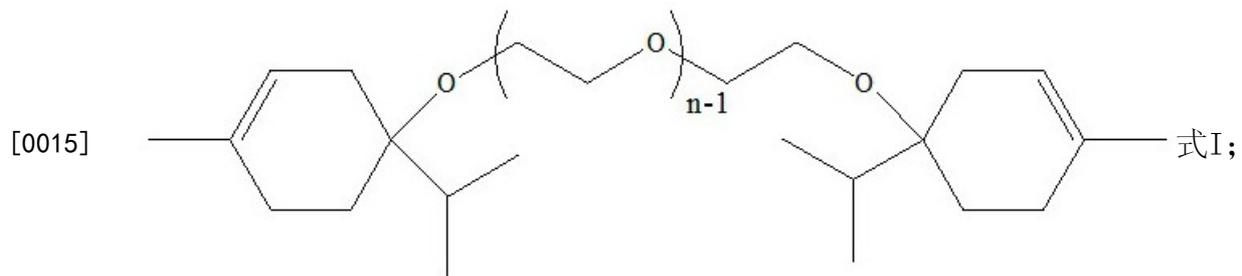
[0010] 本发明的技术方案是这样实现的:

[0011] 本发明提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为10-12:7-10:1-2:0.5-1:1-2:0.7-1.2;

[0012] 所述花精油组合物为将茉莉花、玫瑰花、薰衣草经过超声波-微波协同提取制得的花精油组合物;

[0013] 所述促透剂组合物包括薄荷油脂体和促透剂,质量比为3-5:7;

[0014] 所述促透剂的结构式如式I所示:



[0016] 其中, $n=2-5$ 。

[0017] 作为本发明的进一步改进,所述库奎果油的制备方法如下:

[0018] S1. 将库奎果干燥,粉碎,加入复合酶酶解,灭酶,干燥,制得酶解混合物;

[0019] S2. 将步骤S1制得的酶解混合进行超临界流体萃取,过滤,固体留用,制得萃取精油;

[0020] S3. 将步骤S2中固体加入水中,灭菌,分别接种枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液,发酵培养,灭菌,过滤,滤液加入混合溶剂,萃取,收集有机相,减压除去溶剂,制得发酵精油;

[0021] S4. 将步骤S2制得的萃取精油和步骤S3制得的发酵精油混合均匀,制得库奎果油。

[0022] 作为本发明的进一步改进,所述复合酶包括果胶酶和纤维素酶,质量比为3-5:10,所述酶解的温度为50-60℃,时间为2-4h,所述超临界流体萃取的条件为萃取压力:25-32MPa,萃取温度:37-42℃,CO₂流量:5-10L/h,萃取时间:1-3h,夹带剂为乙酸乙酯,添加量为2-3wt%;所述菌种种子液的含菌量为10⁸-10⁹cfu/mL,所述枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液的接种量分别为2-3v/v%和1-2v/v%,所述发酵培养的条件为40-45℃,50-70r/min,发酵培养36-48h,所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为5-7:4,所述萃取精油和发酵精油的质量比为10-12:5-7。

[0023] 作为本发明的进一步改进,所述花精油组合物的制备方法如下:

[0024] T1.将茉莉花、玫瑰花、薰衣草干燥,粉碎,制得混合粉;

[0025] T2.将混合粉加入10-15wt%的氯化钠溶液中,超声波-微波协同处理,然后加入混合溶剂,萃取,收集有机相,减压除去溶剂,制得花精油组合物。

[0026] 作为本发明的进一步改进,所述茉莉花、玫瑰花、薰衣草的质量比为7-10:2-3:3-5,所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为5-7:4,所述超声波-微波协同处理的温度为40-45℃,超声波功率为700-1000W,微波功率为300-500W,处理时间为30-50min。

[0027] 作为本发明的进一步改进,所述薄荷油脂质体的制备方法如下:

[0028] U1.将氢化大豆卵磷脂、胆固醇溶于混合溶剂中,减压除去溶剂,制得脂质膜;

[0029] U2.将薄荷油加入二氯甲烷中,然后加入水和乳化剂,混合均匀制得乳液;

[0030] U3.将乳液逐滴滴加入脂质膜中,搅拌混合,超声反应,冷冻干燥,制得薄荷油脂质体;

[0031] 所述促透剂的制备方法如下:

[0032] V1.将乙二醇缩合物与二氯亚砷反应,制得中间体;

[0033] V2.将4-萜品醇与中间体反应,制得促透剂。

[0034] 作为本发明的进一步改进,所述氢化大豆卵磷脂、胆固醇的质量比为5-7:3-5,所述混合溶剂为二氯甲烷和丙二醇的混合溶剂,体积比为3-5:2,所述薄荷油、二氯甲烷、水和乳化剂的质量比为10-12:15-20:30-50:2-3,所述乳化剂选自吐温-20、吐温-40、吐温-60、吐温-80中的至少一种,所述搅拌混合的时间为20-30min,所述超声反应的功率为300-500W,时间为5-10min;所述乙二醇缩合物选自一缩二乙二醇、二缩三乙二醇、三缩四乙二醇、四缩五乙二醇、五缩六乙二醇中的至少一种,所述乙二醇缩合物与二氯亚砷的摩尔比为1:2-2.2,所述4-萜品醇与中间体的摩尔比为2:1-1.1。

[0035] 本发明进一步保护一种上述包含库奎果油的精油组合物的制备方法,包括以下步骤:

[0036] (1)将壳聚糖溶于酸液中,制得壳聚糖溶液,将果胶溶于水中,制得果胶溶液,将壳聚糖溶液和果胶溶液混合均匀,制得乳液基质;

[0037] (2)将库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物混合均匀,制得组合物,加入步骤(1)中的乳液基质中,加入乳化剂,均质,制得包含库奎果油的精油组合物。

[0038] 作为本发明的进一步改进,所述酸液为1-2wt%的乙酸溶液,所述壳聚糖溶液中壳聚糖的含量为0.5-1wt%,所述果胶溶液中果胶的含量为0.8-1.2wt%,所述壳聚糖溶液和果胶溶液的质量比为0.8-1.2:1,所述组合物、乳化剂和乳液基质的质量比为4-7:1:100,所述乳化剂选自吐温-20、吐温-40、吐温-60、吐温-80中的至少一种,所述均质的条件为1000-12000r/min均质3-5min。

[0039] 本发明进一步保护一种上述包含库奎果油的精油组合物在制备祛皱、紧致、抗氧化、消炎、保湿、美白的化妆品中的应用。

[0040] 本发明具有如下有益效果:本发明制得的库奎果油的亚油酸和亚麻酸含量高,极易被皮肤吸收,油性非常温和,不刺激皮肤,而且延展性和渗透力都非常好,没有油腻感,可

形成理想保湿膜。与其它植物油相比,它最为优秀的性质是对皮肤的血液循环及排毒都有相当的功效,由于它的组成成分中含有很高比例的棕榈油酸,非常类似珍贵的鱼油内所含的棕榈油酸比例,具有保护肌肤细胞、防止细胞氧化的功效,因此能够预防肌肤老化,促进肌肤细胞再生。

[0041] 本发明将库奎果粉碎后,经过复合酶酶解,复合酶包括果胶酶和纤维素酶,能够将库奎果中大部分的胶质结构以及植物细胞壁酶解破坏,从而大大提高了库奎果的出油率,经过超临界流体萃取,将大部分精油得以萃取出来;进一步,将萃取后的固体经枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌发酵后,发酵过程中产生的酶能够进一步将固渣破坏植物结构,将剩余残油溶出,而富硒酵母菌的发酵不仅促进残油溶出,还能够产生富硒精油,该富硒精油具有很好的抗氧化作用,从而大大提高了制得的库奎果油的生理活性。

[0042] 库奎果油具有优良的保湿滋润作用,能够有效地锁住肌肤水分,补充肌肤水分,使肌肤细腻光滑,具有较强的抗氧化能力,能够抵抗过氧自由基的攻击,阻止皮肤老化,保持肌肤的弹性和光泽,富含植物性脂肪酸,对肌肤有很强的收紧作用,能够深层提升肌肤,显著减少皱纹,改善肌肤松弛,使肌肤显得更加紧致有弹性,还具有抗菌、抗真菌和抗炎症作用,可以治疗肌肤炎症、痤疮和脂溢性皮炎等皮肤病,同时,该库奎果油也可以用于抗痘护理、预防伤口感染、清洁和抗凝抗斑、改善问题皮肤等。

[0043] 本发明制备了花精油组合物,以茉莉花、玫瑰花、薰衣草为原料,相比传统的超临界流体萃取技术,利用CO₂气体可能会破坏花精油中化学物质的结构,水蒸气蒸馏法提取工艺简单,但温度难以控制,高温对挥发油中热敏物质和易水解物质造成不良影响,因此,本发明采用微波-超声波协同辅助萃取法,通过加入盐溶液,促进植物细胞内容物的脱水溶出,促进细胞壁在微波、超声波作用下的破坏,从而大大提高了萃取率,制得的花精油组合物提取率高,能最大限度的保存其活性物质,保证其分子结构,从而保障了其生物活性。其中,薰衣草精油、玫瑰精油和茉莉精油可以促进皮肤代谢,加快里面的胶原蛋白再生,减轻出现的皱纹症状,同时,有很好的抗菌消炎的作用。

[0044] 薄荷油是一种较好得透皮吸收促进剂,但是也存在易挥发,稳定性较差,刺激性较大,生物利用度低等问题,本发明通过将其经脂质体包埋,大大提高了其经皮促透的特点,同时,也提高了其稳定性,降低了其刺激性,提高了其生物利用度,通过改变角质层的微观结构,与脂质分子头基形成连续氢键,破坏脂质间的氢键网络,使角质层结构变得紊乱、疏松进而降低皮肤的屏障作用;与脂质分子层中的胆固醇具有较强的亲和力,增加角质层脂质双分子层的流动性,使得药物的渗透率提高。

[0045] 萜品醇,具有促透活性强、毒性低、刺激性小、对亲水性和亲脂性药物均有促透作用等优点,但较低的沸点及气味限制了其应用,本发明通过乙二醇缩合物氯化后,将两分子4-萜品醇连接,不仅提高了4-萜品醇的分子量,从而大大提高了其沸点,且合成产率高,合成路线简单,条件温和,对其气味有一定的掩埋作用,通过扰乱角质层层状结构,使角质层发生弯曲,层间空隙增大,进而促进活性组分的经皮渗透。

[0046] 本发明在薄荷油脂质体和促透剂的组合作用下,通过扰乱或破坏角质细胞间类脂双分子层结构,进而增加通透性,明显提高了活性组分的透皮吸收作用,相对温和、刺激性小,具有协同增效的作用。

[0047] 维生素C可促进胶原的产生,中和自由基,减少自由基对肌肤的伤害,油水共溶的

左旋维生素C溶剂则更容易通过皮脂膜,且不易被氧化和水解,有着更好的稳定性,可被皮肤吸收,吸收路径由毛孔渗入,融入皮脂膜,通过离子导入更加促进皮肤的吸收,效果明显。

[0048] 胶原蛋白肽是动物结缔组织的提取物,富含蛋白质、氨基酸等营养物质,有助于修复机体皮肤细胞的作用,恢复肌肤弹性、恢复肌肤光泽、延缓衰老、润泽发质的作用,且安全性高,能够给肌肤带来养分、水分,改善肌肤松弛、色素沉着等问题,有很好的皮肤紧致、祛皱、恢复弹性的作用,减少皱纹的出现。

[0049] 左旋维生素C和胶原蛋白肽能够通过协同作用,左旋维生素C打开皮肤肌底层,促进皮肤对胶原蛋白肽的吸收,胶原蛋白肽促进皮肤胶原蛋白的生成,促进对左旋维生素C的吸收,从而相辅相成,大大提高了皮肤的抗氧化、抗皱、美白等效果。

[0050] 本发明中将包含库奎果油的精油组合物经过纳米乳液包埋,明显提高了精油组分的稳定性,保证了胶原蛋白肽和左旋维生素C不与氧气接触而被氧化分解失活,同时,也减少了组合物的刺激性气温,控制组合物的释放速率,延长了作用时间,提高了作用效果。在本发明纳米乳液制备过程中,以带正电荷的壳聚糖和带负电荷的果胶为基质材料,带相反电荷的高分子材料间发生静电作用相互吸引,从而能够稳定的将组合物包埋形成纳米乳液,使用时,在促透剂组合物的作用下,也能够促进皮肤对活性组分的吸收,从而实现了抗菌、消炎、抗氧化、抗皱、美白、保湿等护肤作用,具有广阔的应用前景。

附图说明

[0051] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动性的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0052] 图1为本发明测试例1中各组透皮吸收结果对比图。

具体实施方式

[0053] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0054] 枯草芽孢杆菌,1000亿cfu/g,购于济南国丰化工有限公司。

[0055] 富硒酵母菌,购于安琪酵母股份有限公司。

[0056] 果胶酶,1万U/g,购于南宁东恒华道生物科技有限责任公司。

[0057] 纤维素酶,1万U/g,购于南宁东恒华道生物科技有限责任公司。

[0058] 库奎果,购于广东顺德芳香世家天然产品制造有限公司。

[0059] 香柠檬精油,购于上海源叶生物科技有限公司。

[0060] 左旋维生素C,含量>99%,购于陕西康洲生物科技有限公司。

[0061] 胶原蛋白肽,含量>99%,购于浙江鸿顺生物工程有限公司。

[0062] 制备例1 库奎果油的制备

[0063] 方法如下:

[0064] S1.将100重量份库奎果干燥,粉碎,加入500重量份水中,加入3重量份复合酶,50℃酶解2h,灭酶,干燥,制得酶解混合物;

[0065] 所述复合酶包括果胶酶和纤维素酶,质量比为3:10;

[0066] S2.将步骤S1制得的酶解混合进行超临界流体萃取,过滤,固体留用,制得萃取精油;

[0067] 所述超临界流体萃取的条件为萃取压力:25MPa,萃取温度:37℃,CO₂流量:5L/h,萃取时间:1h,夹带剂为乙酸乙酯,添加量为2wt%;

[0068] S3.将枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌接种至高氏培养基中,40℃,50r/min,活化培养18h,制得含菌量为10⁸cfu/mL的菌种种子液;

[0069] S4.将20重量份步骤S2中固体加入100重量份水中,混合均匀,灭菌,分别接种步骤S3制得的枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液,所述枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液的接种量分别为2v/v%和1v/v%,40℃,50r/min,发酵培养36h,灭菌,过滤,滤液加入等体积混合溶剂,萃取,收集有机相,减压除去溶剂,制得发酵精油;

[0070] 所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为5:4;

[0071] S5.将10重量份步骤S2制得的萃取精油和5重量份步骤S4制得的发酵精油混合均匀,制得库奎果油。

[0072] 制备例2 库奎果油的制备

[0073] 方法如下:

[0074] S1.将100重量份库奎果干燥,粉碎,加入500重量份水中,加入5重量份复合酶,60℃酶解4h,灭酶,干燥,制得酶解混合物;

[0075] 所述复合酶包括果胶酶和纤维素酶,质量比为5:10;

[0076] S2.将步骤S1制得的酶解混合进行超临界流体萃取,过滤,固体留用,制得萃取精油;

[0077] 所述超临界流体萃取的条件为萃取压力:32MPa,萃取温度:42℃,CO₂流量:10L/h,萃取时间:3h,夹带剂为乙酸乙酯,添加量为3wt%;

[0078] S3.将枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌接种至高氏培养基中,45℃,70r/min,活化培养18h,制得含菌量为10⁹cfu/mL的菌种种子液;

[0079] S4.将20重量份步骤S2中固体加入100重量份水中,混合均匀,灭菌,分别接种步骤S3制得的枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液,所述枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液的接种量分别为3v/v%和2v/v%,45℃,70r/min,发酵培养48h,灭菌,过滤,滤液加入等体积混合溶剂,萃取,收集有机相,减压除去溶剂,制得发酵精油;

[0080] 所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为7:4;

[0081] S5.将12重量份步骤S2制得的萃取精油和7重量份步骤S4制得的发酵精油混合均匀,制得库奎果油。

[0082] 制备例3 库奎果油的制备

[0083] 方法如下:

[0084] S1.将100重量份库奎果干燥,粉碎,加入500重量份水中,加入4重量份复合酶,55℃酶解3h,灭酶,干燥,制得酶解混合物;

[0085] 所述复合酶包括果胶酶和纤维素酶,质量比为4:10;

- [0086] S2. 将步骤S1制得的酶解混合进行超临界流体萃取, 过滤, 固体留用, 制得萃取精油;
- [0087] 所述超临界流体萃取的条件为萃取压力:30MPa, 萃取温度:40℃, CO₂流量:7L/h, 萃取时间:2h, 夹带剂为乙酸乙酯, 添加量为2.5wt%;
- [0088] S3. 将枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌接种至高氏培养基中, 42℃, 60r/min, 活化培养18h, 制得含菌量为10⁹cfu/mL的菌种种子液;
- [0089] S4. 将20重量份步骤S2中固体加入100重量份水中, 混合均匀, 灭菌, 分别接种步骤S3制得的枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液, 所述枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液的接种量分别为2.5v/v%和1.5v/v%, 42℃, 60r/min, 发酵培养42h, 灭菌, 过滤, 滤液加入等体积混合溶剂, 萃取, 收集有机相, 减压除去溶剂, 制得发酵精油;
- [0090] 所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物, 体积比为6:4;
- [0091] S5. 将11重量份步骤S2制得的萃取精油和6重量份步骤S4制得的发酵精油混合均匀, 制得库奎果油。
- [0092] 对比制备例1
- [0093] 与制备例3相比, 不同之处在于, 未进行步骤S1酶解。
- [0094] 具体如下:
- [0095] S1. 将100重量份库奎果干燥, 粉碎, 制得粉料。
- [0096] 对比制备例2
- [0097] 与制备例3相比, 不同之处在于, 未进行步骤S4发酵。
- [0098] 具体如下:
- [0099] S1. 将100重量份库奎果干燥, 粉碎, 加入500重量份水中, 加入4重量份复合酶, 55℃酶解3h, 灭酶, 干燥, 制得酶解混合物;
- [0100] 所述复合酶包括果胶酶和纤维素酶, 质量比为4:10;
- [0101] S2. 将步骤S1制得的酶解混合进行超临界流体萃取, 过滤, 固体留用, 制得萃取精油, 即为制得库奎果油;
- [0102] 所述超临界流体萃取的条件为萃取压力:30MPa, 萃取温度:40℃, CO₂流量:7L/h, 萃取时间:2h, 夹带剂为乙酸乙酯, 添加量为2.5wt%。
- [0103] 对比制备例3
- [0104] 与制备例3相比, 不同之处在于, 未进行步骤S2超临界流体萃取。
- [0105] 具体如下:
- [0106] S1. 将100重量份库奎果干燥, 粉碎, 加入500重量份水中, 加入4重量份复合酶, 55℃酶解3h, 灭酶, 干燥, 制得酶解混合物;
- [0107] 所述复合酶包括果胶酶和纤维素酶, 质量比为4:10;
- [0108] S2. 将枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌接种至高氏培养基中, 42℃, 60r/min, 活化培养18h, 制得含菌量为10⁹cfu/mL的菌种种子液;
- [0109] S3. 将20重量份步骤S1中酶解混合物加入100重量份水中, 混合均匀, 灭菌, 分别接种步骤S3制得的枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液, 所述枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌菌种种子液的接种量分别为2.5v/v%和1.5v/v%, 42℃, 60r/min, 发酵培养42h, 灭菌, 过滤, 滤液加入等体积混合溶剂, 萃取, 收集有机相, 减压除去溶剂, 制得发酵精油, 即为库奎果

油;

[0110] 所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为6:4。

[0111] 制备例4 花精油组合物的制备

[0112] 方法如下:

[0113] T1.将7重量份茉莉花、2重量份玫瑰花、3重量份薰衣草干燥,粉碎,制得混合粉;

[0114] T2.将10重量份混合粉加入100重量份10wt%的氯化钠溶液中,超声波-微波协同处理,所述超声波-微波协同处理的温度为40℃,超声波功率为700W,微波功率为300W,处理时间为30min,然后加入等体积混合溶剂,萃取2次,收集有机相合并,减压除去溶剂,制得花精油组合物;

[0115] 所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为5:4。

[0116] 制备例5 花精油组合物的制备

[0117] 方法如下:

[0118] T1.将10重量份茉莉花、3重量份玫瑰花、5重量份薰衣草干燥,粉碎,制得混合粉;

[0119] T2.将10重量份混合粉加入100重量份15wt%的氯化钠溶液中,超声波-微波协同处理,所述超声波-微波协同处理的温度为45℃,超声波功率为1000W,微波功率为500W,处理时间为50min,然后加入等体积混合溶剂,萃取3次,收集有机相合并,减压除去溶剂,制得花精油组合物;

[0120] 所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为7:4。

[0121] 制备例6 花精油组合物的制备

[0122] 方法如下:

[0123] T1.将8.5重量份茉莉花、2.5重量份玫瑰花、4重量份薰衣草干燥,粉碎,制得混合粉;

[0124] T2.将10重量份混合粉加入100重量份12wt%的氯化钠溶液中,超声波-微波协同处理,所述超声波-微波协同处理的温度为42℃,超声波功率为850W,微波功率为400W,处理时间为40min,然后加入等体积混合溶剂,萃取3次,收集有机相合并,减压除去溶剂,制得花精油组合物;

[0125] 所述混合溶剂为乙酸乙酯和石油醚的混合物,体积比为6:4。

[0126] 对比制备例4

[0127] 与制备例6相比,不同之处在于,未添加茉莉花。

[0128] 具体如下:

[0129] T1.将11重量份玫瑰花、4重量份薰衣草干燥,粉碎,制得混合粉。

[0130] 对比制备例5

[0131] 与制备例6相比,不同之处在于,未添加玫瑰花。

[0132] 具体如下:

[0133] T1.将11重量份茉莉花、4重量份薰衣草干燥,粉碎,制得混合粉。

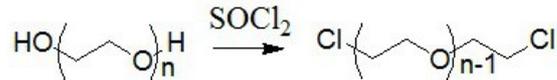
[0134] 对比制备例6

[0135] 与制备例6相比,不同之处在于,未添加茉莉花和玫瑰花。

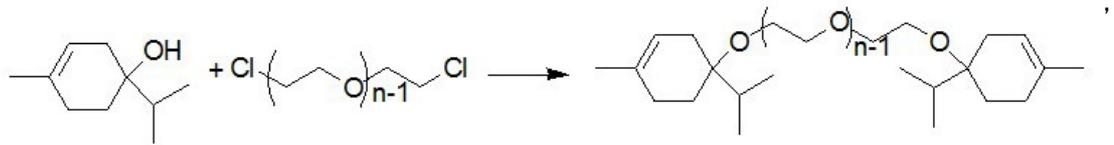
[0136] 具体如下:

[0137] T1.将薰衣草干燥,粉碎,制得粉料。

- [0138] 对比制备例7
- [0139] 与制备例6相比,不同之处在于,步骤T2改为超临界流体萃取。
- [0140] 具体如下:
- [0141] T1.将8.5重量份茉莉花、2.5重量份玫瑰花、4重量份薰衣草干燥,粉碎,制得混合粉;
- [0142] T2.将混合粉进行超临界流体萃取,制得花精油组合物;
- [0143] 所述超临界流体萃取的条件为萃取压力:30MPa,萃取温度:40℃,CO₂流量:7L/h,萃取时间:2h,夹带剂为乙酸乙酯,添加量为2.5wt%。
- [0144] 制备例7 薄荷油脂质体的制备
- [0145] 方法如下:
- [0146] U1.将5重量份氢化大豆卵磷脂、3重量份胆固醇溶于100重量份混合溶剂中,减压除去溶剂,制得脂质膜;
- [0147] 所述混合溶剂为二氯甲烷和丙二醇的混合溶剂,体积比为3:2;
- [0148] U2.将10重量份薄荷油加入15重量份二氯甲烷中,然后加入30重量份水和2重量份吐温-40,混合均匀制得乳液;
- [0149] U3.将10重量份乳液逐滴滴加入15重量份脂质膜中,搅拌混合20min,300W超声反应5min,冷冻干燥,制得薄荷油脂质体。
- [0150] 制备例8 薄荷油脂质体的制备
- [0151] 方法如下:
- [0152] U1.将7重量份氢化大豆卵磷脂、5重量份胆固醇溶于100重量份混合溶剂中,减压除去溶剂,制得脂质膜;
- [0153] 所述混合溶剂为二氯甲烷和丙二醇的混合溶剂,体积比为5:2;
- [0154] U2.将12重量份薄荷油加入20重量份二氯甲烷中,然后加入50重量份水和3重量份吐温-60,混合均匀制得乳液;
- [0155] U3.将30重量份乳液逐滴滴加入15重量份脂质膜中,搅拌混合30min,500W超声反应10min,冷冻干燥,制得薄荷油脂质体。
- [0156] 制备例9 薄荷油脂质体的制备
- [0157] 方法如下:
- [0158] U1.将6重量份氢化大豆卵磷脂、4重量份胆固醇溶于100重量份混合溶剂中,减压除去溶剂,制得脂质膜;
- [0159] 所述混合溶剂为二氯甲烷和丙二醇的混合溶剂,体积比为4:2;
- [0160] U2.将11重量份薄荷油加入17重量份二氯甲烷中,然后加入40重量份水和2.5重量份吐温-80,混合均匀制得乳液;
- [0161] U3.将30重量份乳液逐滴滴加入15重量份脂质膜中,搅拌混合25min,400W超声反应7min,冷冻干燥,制得薄荷油脂质体。
- [0162] 制备例10 促透剂的制备
- [0163] 合成路线如下:



[0164]



[0165] 方法如下:

[0166] V1. 将0.1mol 一缩二乙二醇溶于100mL二氯甲烷中,冰水浴条件下,滴加20mL含有0.21mol二氯亚砷的二氯甲烷溶液,滴加完成后,室温搅拌反应30min,减压除去溶剂和过量的二氯亚砷,制得中间体,收率为95.6%;ESI-MS计算值: $\text{C}_4\text{H}_9\text{Cl}_2\text{O}$ (M+H) + 143.00,实测值:143.0。

[0167] 核磁结果: ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 3.65 (t, 4H), 3.55 (t, 4H)。

[0168] V2. 将0.2mol 4-萜品醇、0.105mol中间体和0.4mol三乙胺溶于200mL二氯甲烷中,加热回流反应3-4h,加入沉淀,过滤,乙醇洗涤,干燥,制得促透剂,收率为92.2%。ESI-MS计算值: $\text{C}_{24}\text{H}_{43}\text{O}_3$ (M+H) + 378.31,实测值:378.1。

[0169] 核磁结果: ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 5.37 (m, 2H), 3.54-3.55 (m, 8H), 2.14 (m, 2H), 2.05 (d, 4H), 1.97 (d, 4H), 1.74 (t, 4H), 1.70 (s, 6H), 1.02 (d, 12H)。

[0170] 实施例1:本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例1制得的库奎果油、制备例4制得的花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为10:7:1:0.5:1:0.7。所述促透剂组合物包括制备例7制得的薄荷油脂质体和制备例10制得的促透剂,质量比为3:7。

[0171] 制备方法包括以下步骤:

[0172] (1) 将壳聚糖溶于1wt%的乙酸溶液中,制得含0.5wt%壳聚糖的溶液,将果胶溶于水中,制得含0.8wt%果胶的溶液,将含0.5wt%壳聚糖的溶液和含0.8wt%果胶的溶液按照质量比为0.8:1混合均匀,制得乳液基质;

[0173] (2) 将库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物混合均匀,制得组合物,将4重量份组合物加入100重量份步骤(1)中的乳液基质中,加入1重量份吐温-40,10000r/min均质3min,制得包含库奎果油的精油组合物。

[0174] 实施例2:本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例2制得的库奎果油、制备例5制得的花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为12:10:2:1:2:1.2。所述促透剂组合物包括制备例8制得的薄荷油脂质体和制备例10制得的促透剂,质量比为5:7。

[0175] 制备方法包括以下步骤:

[0176] (1) 将壳聚糖溶于2wt%的乙酸溶液中,制得含1wt%壳聚糖的溶液,将果胶溶于水中,制得含1.2wt%果胶的溶液,将含1wt%壳聚糖的溶液和含1.2wt%果胶的溶液按照质量比为1.2:1混合均匀,制得乳液基质;

[0177] (2) 将库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物混合均匀,制得组合物,将7重量份组合物加入100重量份步骤(1)中的乳液基质中,加

入1重量份吐温-60,12000r/min均质5min,制得包含库奎果油的精油组合物。

[0178] 实施例3:本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例3制得的库奎果油、制备例6制得的花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为11:8.5:1.5:0.7:1.5:1。所述促透剂组合物包括制备例9制得的薄荷油脂质体和制备例10制得的促透剂,质量比为4:7。

[0179] 制备方法包括以下步骤:

[0180] (1) 将壳聚糖溶于1.5wt%的乙酸溶液中,制得含0.7wt%壳聚糖的溶液,将果胶溶于水中,制得含1wt%果胶的溶液,将含0.7wt%壳聚糖的溶液和含1wt%果胶的溶液按照质量比为1:1混合均匀,制得乳液基质;

[0181] (2) 将库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物混合均匀,制得组合物,将5.5重量份组合物加入100重量份步骤(1)中的乳液基质中,加入1重量份吐温-80,11000r/min均质4min,制得包含库奎果油的精油组合物。

[0182] 对比例1

[0183] 与实施例3相比,不同之处在于,库奎果油由对比制备例1制得。

[0184] 对比例2

[0185] 与实施例3相比,不同之处在于,库奎果油由对比制备例2制得。

[0186] 对比例3

[0187] 与实施例3相比,不同之处在于,库奎果油由对比制备例3制得。

[0188] 对比例4

[0189] 与实施例3相比,不同之处在于,花精油组合物由对比制备例4制得。

[0190] 对比例5

[0191] 与实施例3相比,不同之处在于,花精油组合物由对比制备例5制得。

[0192] 对比例6

[0193] 与实施例3相比,不同之处在于,花精油组合物由对比制备例6制得。

[0194] 对比例7

[0195] 与实施例3相比,不同之处在于,花精油组合物由对比制备例7制得。

[0196] 对比例8

[0197] 与实施例3相比,不同之处在于,未进行包埋,各组分简单混合。

[0198] 具体如下:

[0199] 将库奎果油、花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物混合均匀,制得包含库奎果油的精油组合物。

[0200] 对比例9

[0201] 与实施例3相比,不同之处在于,所述促透剂组合物包括单一的制备例9制得的薄荷油脂质体。

[0202] 对比例10

[0203] 与实施例3相比,不同之处在于,所述促透剂组合物包括单一的制备例10制得的促透剂。

[0204] 对比例11

[0205] 与实施例3相比,不同之处在于,制备例9制得的薄荷油脂质体由等量的薄荷油替

代。

[0206] 对比例12

[0207] 与实施例3相比,不同之处在于,未添加促透剂组合物。

[0208] 具体如下:

[0209] 本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例3制得的库奎果油、制备例6制得的花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽,质量比为11:8.5:1.5:0.7:1.5。

[0210] 对比例13

[0211] 与实施例3相比,不同之处在于,未添加左旋维生素C。

[0212] 具体如下:

[0213] 本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例3制得的库奎果油、制备例6制得的花精油组合物、香柠檬精油、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为11:8.5:1.5:2.2:1。

[0214] 对比例14

[0215] 与实施例3相比,不同之处在于,未添加胶原蛋白肽。

[0216] 具体如下:

[0217] 本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例3制得的库奎果油、制备例6制得的花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、促透剂组合物,质量比为11:8.5:1.5:2.2:1。

[0218] 对比例15

[0219] 与实施例3相比,不同之处在于,未添加左旋维生素C和胶原蛋白肽。

[0220] 具体如下:

[0221] 本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例3制得的库奎果油、制备例6制得的花精油组合物、香柠檬精油、促透剂组合物,质量比为11:8.5:1.5:1。

[0222] 对比例16

[0223] 与实施例3相比,不同之处在于,未添加库奎果油。

[0224] 具体如下:

[0225] 本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例6制得的花精油组合物、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为8.5:1.5:0.7:1.5:1。

[0226] 对比例17

[0227] 与实施例3相比,不同之处在于,未添加花精油组合物。

[0228] 具体如下:

[0229] 本实施例提供一种包含库奎果油的精油组合物,包括制备例3制得的库奎果油、香柠檬精油、左旋维生素C、胶原蛋白肽、促透剂组合物,质量比为11:1.5:0.7:1.5:1。

[0230] 测试例1 透皮吸收促进实验

[0231] 将本发明实施例1-3和对比例9-12制得的包含库奎果油的精油组合物进行实验。

[0232] 离体皮肤的制备:在小鼠腹部涂抹脱毛膏进行脱毛处理后,用生理盐水洗净,正常饮水饮食,饲养24h后处死,用镊子剥离无毛的皮肤,去除皮下脂肪,用生理盐水洗净,吸干,4℃保存备用。

[0233] 透皮吸收促进实验:采用改良的Franz扩散池测定包含库奎果油的精油组合中左旋维生素C的渗透吸收规律。将制得的离体鼠皮取出,恢复至室温,吸干水分。把鼠皮放于扩散池的供给池和接收池中间,角质层在供给池一侧,固定供给池和接收池,接收池内装满含20v/v%乙醇的生理盐水。

[0234] 取1mL包含库奎果油的精油组合置于鼠皮上。在 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 恒温水浴中,进行透皮试验。于0,2,4,6,12,24,48h取样0.2 mL,随即补等量 37°C 的20v/v%乙醇的生理盐水。取得的样品过滤,HPLC检测其中左旋维生素C的含量,以单位面积累计透过量Q对时间t做图,计算左旋维生素C的体外渗透参数。

[0235] 结果见图1。由图可知,本发明实施例1-3制得的包含库奎果油的精油组合具有很好的经皮促透效果。

[0236] 对比例9、10与实施例3相比,所述促透剂组合包括单一的制备例9制得的薄荷脂质体或制备例10制得的促透剂。对比例12与实施例3相比,未添加促透剂组合。本发明通过将其经脂质体包埋,大大提高了其经皮促透的特点,同时,也提高了其稳定性,降低了其刺激性,提高了其生物利用度,通过改变角质层的微观结构,与脂质分子头基形成连续氢键,破坏脂质间的氢键网络,使角质层结构变得紊乱、疏松进而降低皮肤的屏障作用;与脂质分子层中的胆固醇具有较强的亲和力,增加角质层脂质双分子层的流动性,使得药物的渗透率提高。萜品醇,具有促透活性强、毒性低、刺激性小、对亲水性和亲脂性药物均有促透作用等优点,但较低的沸点及气味限制了其应用,本发明通过乙二醇缩合物氯化后,将两分子4-萜品醇连接,不仅提高了4-萜品醇的分子量,从而大大提高了其沸点,且合成产率高,合成路线简单,条件温和,对其气味有一定的掩埋作用,通过扰乱角质层层状结构,使角质层发生弯曲,层间空隙增大,进而促进活性组分的经皮渗透。本发明在薄荷脂质体和促透剂的组合作用下,通过扰乱或破坏角质细胞间类脂双分子层结构,进而增加通透性,明显提高了活性组分的透皮吸收作用,相对温和、刺激性小,具有协同增效的作用。

[0237] 对比例11与实施例3相比,薄荷脂质体由薄荷油替代。薄荷油是一种较好得透皮吸收促进剂,但是也存在易挥发,稳定性较差,刺激性较大,生物利用度低等问题,因此,其促透效果不如薄荷脂质体。

[0238] 测试例2 抗氧化实验

[0239] 将本发明实施例1-3和对比例1-8、13-17制得的包含库奎果油的精油组合进行清除DPPH自由基能力的测定:

[0240] 取0.5mL包含库奎果油的精油组合与0.5mL新鲜配制的DPPH溶液均匀混合,避光反应30min后,常温下离心3min,取200 μL 反应溶液加入至96孔板中,检测其517nm处吸光度值 A_2 ,吸光度值越低表示对DPPH自由基的清除能力越强。

[0241] 取0.5mL包含库奎果油的精油组合与0.5mL无水乙醇均匀混合,避光反应30min后,常温下离心3min,取200 μL 反应溶液加入至96孔板中,以多功能酶标仪检测其517nm处吸光度值 A_1 。

[0242] 取0.5mL无水乙醇,与0.5mL新鲜配制的DPPH溶液均匀混合避光反应30min后,常温下离心3min,取200 μL 反应溶液加入至96孔板中,以多功能酶标仪检测其517nm处吸光度值 A_0 。

[0243] 以上实验重复三次,求得清除率的平均值。

[0244] DPPH自由基清除率的计算公式如下：

[0245] 清除率 (%) = $[1 - (A_2 - A_1) / A_0] \times 100$

[0246] 式中： A_0 为0.5mL无水乙醇+0.5mL DPPH乙醇溶液的吸光度值； A_1 为0.5mL样品+0.5mL无水乙醇的吸光度值； A_2 为0.5mL样品+0.5mL DPPH乙醇溶液的吸光值。

[0247] 结果见表1。

[0248] 表1

[0249]

组别	DPPH 自由基清除率 (%)
实施例 1	98.21
实施例 2	98.37
实施例 3	98.52
对比例 1	94.21
对比例 2	92.07
对比例 3	90.15
对比例 4	93.17
对比例 5	94.64
对比例 6	89.79
对比例 7	88.12
对比例 8	95.17
对比例 13	91.12
对比例 14	93.57
对比例 15	90.89
对比例 16	72.10
对比例 17	80.24

[0250] 由上表可知，本发明实施例1-3制得的包含库奎果油的精油组合物具有很好的抗氧化效果。

[0251] 测试例2

[0252] 将实施例1-3和对比例1-17制得的包含库奎果油的精油组合物用深色瓶灌装，敞开瓶盖，置于室温 $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ，相对湿度为 $75 \pm 5\%$ 环境下，持续观察，结果见表2。

[0253] 表2

组别	观察结果
实施例 1	90 天未见异常, 香味纯正
实施例 2	90 天未见异常, 香味纯正
实施例 3	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 1	80 天后发生酸败, 散发出不愉快气味
对比例 2	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 3	67 天后发生酸败, 散发出不愉快气味
对比例 4	72 天后发生酸败, 散发出不愉快气味
对比例 5	70 天后发生酸败, 散发出不愉快气味
对比例 6	65 天后发生酸败, 散发出不愉快气味
[0254] 对比例 7	82 天后发生酸败, 散发出不愉快气味
对比例 8	18 天后发生酸败, 散发出不愉快气味
对比例 9	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 10	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 11	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 12	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 13	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 14	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 15	90 天未见异常, 香味纯正
对比例 16	35 天后发生酸败, 散发出不愉快气味
对比例 17	42 天后发生酸败, 散发出不愉快气味

[0255] 由上表可知, 本发明实施例1-3制得的包含库奎果油的精油组合物稳定性好, 能够长时间保持稳定。

[0256] 测试例3 致敏性试验

[0257] 选择白色豚鼠220只, 雌雄各半, 体重 280 ± 20 g, 试验前24小时在动物脊柱两侧去毛, 每侧的去毛面积为 3×3 cm²。将豚鼠随机分为22组, 每组10只, 分别为实施例1-3、对比例1-17组、阳性对照组、阴性对照组。

[0258] 试验组: 取1cm²纱布块, 在相应组制得的包含库奎果油的精油组合物中浸泡10min, 取出, 将其半封闭固定在动物背侧去毛区, 持续6h, 去掉斑贴物。

[0259] 阳性对照组: 取1cm²纱布块, 在质量分数为0.1wt%的甲醛水溶液中浸泡10min, 取出, 将其半封闭固定在动物背侧去毛区, 持续6h, 去掉斑贴物。

[0260] 阴性对照组: 取1cm²纱布块, 在生理盐水中浸泡10min, 取出, 将其半封闭固定在动物背侧去毛区, 持续6h, 去掉斑贴物。

[0261] 观察记录各组动物激发部位的皮肤有无红斑及水肿等现象, 每天1次, 连续3天, 按标准进行评分, 并算出致敏率。

[0262] 结果判断与评价: 出现红斑与水肿则判断对致敏, 根据致敏阳性率(致敏动物数/

动物总数*100%)判断致敏等级。

[0263] 致敏阳性率为0%时,致敏强度为0级;致敏阳性率为1-20%时,致敏强度为1级;致敏阳性率为21-40%时,致敏强度为2级;致敏阳性率为41-60%时,致敏强度为3级;致敏阳性率为61-80%时,致敏强度为4级;致敏阳性率为81-100%时,致敏强度为5级。

[0264] 结果见表3。

[0265] 表3

[0266]

组别	致敏强度
实施例 1	0 级
实施例 2	0 级
实施例 3	0 级
对比例 1	0 级
对比例 2	0 级
对比例 3	0 级
对比例 4	0 级
对比例 5	0 级
对比例 6	0 级
对比例 7	0 级
对比例 8	0 级
对比例 9	0 级
对比例 10	0 级
对比例 11	0 级
对比例 12	0 级
对比例 13	0 级
对比例 14	0 级
对比例 15	0 级
对比例 16	0 级
对比例 17	0 级
阳性对照组	5 级
阴性对照组	0 级

[0267] 由上表可知,本发明制得的包含库奎果油的精油组合物不具有致敏性。

[0268] 测试例4

[0269] 将本发明实施例1-3和对比例1-17制得的包含库奎果油的精油组合物进行实验。

[0270] 选取健康女性受试者30名。纳入标准:年龄39-60岁之间,眼角有肉眼可见的细纹或皱纹,无痣、痘等,身体健康;态度认真积极,能够按规定正确使用产品并按时回访。

[0271] 排除标准:妊娠或哺乳期妇女;面部皮肤易过敏或晒伤者;面部有严重干扰试验的表皮特征,如抓痕、胎记、疙瘩、痘印等;近期面部接受皮肤科医生治疗者。

[0272] 测试方法:受试者每天固定早上8点半至10点在左半半脸早晚各用一次样品2mL,右半脸使用等量的清水,连续4周,试验期间不与其他祛皱护肤品同用,结束实验后进行测

试。

[0273] 测试前,受试者需用清水清洁面部,擦干面部水分,在恒温恒湿环境下($20\pm 5^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $60\pm 5\%$)静坐20min,随后进行测定。

[0274] 皮肤角质层含水量:使用水分测试仪测定左右面颊的皮肤角质层水分含量,计算差值,为皮肤角质层含水量增长率(%),对左右面颊各测量5次,取平均值。

[0275] 面部成像:通过面部图像分析仪对受试者左右眼尾部位进行拍照,计算皱纹可视度系数和皱纹占有系数,计算两边的差值,评估使用产品前后面部皱纹降低率(%),各测量5次,取平均值。

[0276] 弹性和粗糙度:测试受试者的皮肤弹性和粗糙度,计算皮肤弹性和粗糙度变化率(%),各测量5次,取平均值。

[0277] 结果见表4。

[0278] 表4

[0279]

组别	皮肤角质层含水量增长率 (%)	皮肤弹性变化率 (%)	粗糙度变化率 (%)	皱纹降低率 (%)
实施例 1	19.0	17.5	22.5	20.5
实施例 2	19.2	17.9	23.1	21.1
实施例 3	20.4	18.2	23.7	21.7
对比例 1	17.1	15.6	19.2	18.0
对比例 2	16.8	15.1	18.4	18.2
对比例 3	15.4	14.2	17.1	16.9
对比例 4	18.4	15.7	18.9	17.2
对比例 5	18.6	15.2	18.2	17.4
对比例 6	18.2	14.8	17.5	16.7
对比例 7	17.5	13.7	15.6	16.2
对比例 8	18.6	17.0	21.6	19.2
对比例 9	18.2	16.1	20.1	18.3
对比例 10	17.9	15.8	19.6	17.9
对比例 11	17.4	15.6	19.4	17.5
对比例 12	16.8	14.9	18.7	16.8
对比例 13	17.0	16.0	18.8	17.9
对比例 14	17.2	15.7	19.0	18.1
对比例 15	15.3	14.6	16.8	16.5
对比例 16	12.8	11.6	13.4	13.1
对比例 17	16.2	13.2	12.8	12.0

[0280] 由上表可知,本发明实施例1-3制得的包含库奎果油的精油组合物有较好的保湿性、促进皮肤的弹性,改善皮肤粗糙度,同时有很好的祛皱效果。

[0281] 对比例1-3与实施例3相比,库奎果油由对比制备例1-3制得。

[0282] 其中,对比制备例1与制备例3相比,未进行步骤S1酶解。抗氧化、保湿效果、皮肤紧

致、粗糙度改善、祛皱效果下降。本发明将库奎果粉碎后,经过复合酶酶解,复合酶包括果胶酶和纤维素酶,能够将库奎果中大部分的胶质结构以及植物细胞壁酶解破坏,从而大大提高了库奎果的出油率。

[0283] 对比制备例2与制备例3相比,未进行步骤S4发酵。抗氧化、保湿效果、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果下降。本发明将萃取后的固体经枯草芽孢杆菌和富硒酵母菌发酵后,发酵过程中产生的酶能够进一步将固渣破坏植物结构,将剩余残油溶出,而富硒酵母菌的发酵不仅促进残油溶出,还能够产生富硒精油,该富硒精油具有很好的抗氧化作用,从而大大提高了制得的库奎果油的生理活性。

[0284] 对比制备例3与制备例3相比,未进行步骤S2超临界流体萃取。抗氧化、保湿效果、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果下降。本发明经过超临界流体萃取,将大部分精油得以萃取出来,从而获得活性较好的库奎果油。

[0285] 对比例16与实施例3相比,未添加库奎果油。抗氧化、保湿效果、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果明显下降。库奎果油具有优良的保湿滋润作用,能够有效地锁住肌肤水分,补充肌肤水分,使肌肤细腻光滑,具有较强的抗氧化能力,能够抵抗过氧自由基的攻击,阻止皮肤老化,保持肌肤的弹性和光泽,富含植物性脂肪酸,对肌肤有很强的收紧作用,能够深层提升肌肤,显著减少皱纹,改善肌肤松弛,使肌肤显得更加紧致有弹性,还具有抗菌、抗真菌和抗炎作用,可以治疗肌肤炎症、痤疮和脂溢性皮炎等皮肤病,同时,该库奎果油也可以用于抗痘护理、预防伤口感染、清洁和抗凝抗斑、改善问题皮肤等。

[0286] 对比例4-7与实施例3相比,花精油组合物由对比制备例4-7制得。

[0287] 其中,对比制备例4、5与制备例6相比,未添加茉莉花或玫瑰花。抗氧化、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果下降。对比制备例6与制备例6相比,未添加茉莉花和玫瑰花。本发明玫瑰精油和茉莉精油可以促进皮肤代谢,加快里面的胶原蛋白再生,减轻出现的皱纹症状,同时,有很好的抗菌消炎的作用,具有协同增效的作用。

[0288] 对比制备例7与制备例6相比,步骤T2改为超临界流体萃取。抗氧化、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果下降。本发明制备了花精油组合物,以茉莉花、玫瑰花、薰衣草为原料,相比传统的超临界流体萃取技术,利用CO₂气体可能会破坏花精油中化学物质的结构,水蒸气蒸馏法提取工艺简单,但温度难以控制,高温对挥发油中热敏物质和易水解物质造成不良影响,因此,本发明采用微波-超声波协同辅助萃取法,通过加入盐溶液,促进植物细胞内容物的脱水溶出,促进细胞壁在微波、超声波作用下的破坏,从而大大提高了萃取率,制得的花精油组合物提取率高,能最大限度的保存其活性物质,保证其分子结构,从而保障了其生物活性。

[0289] 对比例17与实施例3相比,未添加花精油组合物。抗氧化、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果下降。本发明花精油组合物具有较好的抗菌、消炎、抗氧化、抗皱、美白、保湿等护肤作用。

[0290] 对比例8与实施例3相比,未进行包埋,各组分简单混合。抗氧化、保湿效果、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果、稳定性下降。本发明中将包含库奎果油的精油组合物经过纳米乳液包埋,明显提高了精油组分的稳定性,保证了胶原蛋白肽和左旋维生素C不与氧气接触而被氧化分解失活,同时,也减少了组合物的刺激性气温,控制组合物的释放速率,延长了作用时间,提高了作用效果。在本发明纳米乳液制备过程中,以带正电荷的壳聚糖和带负电

荷的果胶为基质材料,带相反电荷的高分子材料间发生静电作用相互吸引,从而能够稳定的将组合物包埋形成纳米乳液。

[0291] 对比例9、10与实施例3相比,所述促透剂组合物包括单一的制备例9制得的薄荷油脂质体或制备例10制得的促透剂。对比例12与实施例3相比,未添加促透剂组合物。保湿效果、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果下降。本发明在薄荷油脂质体和促透剂的组合作用下,通过扰乱或破坏角质细胞间类脂双分子层结构,进而增加通透性,明显提高了活性组分的透皮吸收作用,相对温和、刺激性小,具有协同增效的作用。

[0292] 对比例11与实施例3相比,制备例9制得的薄荷油脂质体由等量的薄荷油替代。保湿效果、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果下降。薄荷油是一种较好得透皮吸收促进剂,但是也存在易挥发,稳定性较差,刺激性较大,生物利用度低等问题,且未经过脂质体包埋的薄荷油与脂质分子层中的胆固醇具有较强的亲和力,增加角质层脂质双分子层的流动性,使得药物的渗透率提高。

[0293] 对比例13、14与实施例3相比,未添加左旋维生素C或胶原蛋白肽。对比例15与实施例3相比,未添加左旋维生素C和胶原蛋白肽。抗氧化、保湿效果、皮肤紧致、粗糙度改善、祛皱效果下降。维生素C可促进胶原的产生,中和自由基,减少自由基对肌肤的伤害,油水共溶的左旋维生素C溶剂则更容易通过皮脂膜,且不易被氧化和水解,有着更好的稳定性,可被皮肤吸收,吸收路径由毛孔渗入,融入皮脂膜,通过离子导入更加促进皮肤的吸收,效果明显。胶原蛋白肽是动物结缔组织的提取物,富含蛋白质、氨基酸等营养物质,有助于修复机体皮肤细胞的作用,恢复肌肤弹性、恢复肌肤光泽、延缓衰老、润泽发质的作用,且安全性高,能够给肌肤带来养分、水分,改善肌肤松弛、色素沉着等问题,有很好的皮肤紧致、祛皱、恢复弹性的作用,减少皱纹的出现。左旋维生素C和胶原蛋白肽能够通过协同作用,左旋维生素C打开皮肤肌底层,促进皮肤对胶原蛋白肽的吸收,胶原蛋白肽促进皮肤胶原蛋白的生成,促进对左旋维生素C的吸收,从而相辅相成,大大提高了皮肤的抗氧化、抗皱、美白等效果。

[0294] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

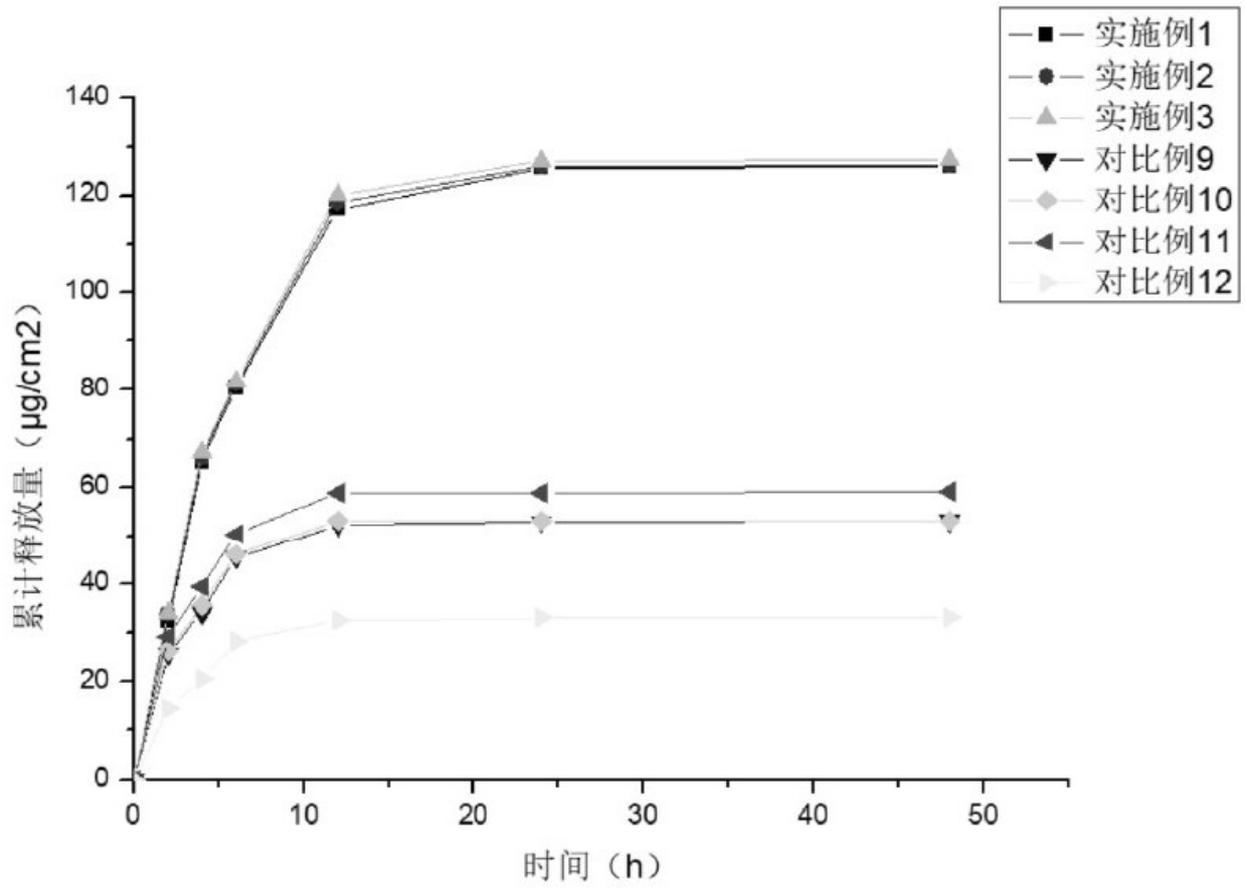


图 1