



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114984063 A

(43) 申请公布日 2022.09.02

(21) 申请号 202210155151.9

A61P 31/02 (2006.01)

(22) 申请日 2022.02.21

(30) 优先权数据

10-2021-0027448 2021.03.02 KR

(71) 申请人 爱敬产业株式会社

地址 韩国首尔市

(72) 发明人 金汉泳 李慧旻

(74) 专利代理机构 北京清亦华知识产权代理事

务所(普通合伙) 11201

专利代理师 宋融冰

(51) Int. Cl.

A61K 36/04 (2006.01)

A23L 33/105 (2016.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

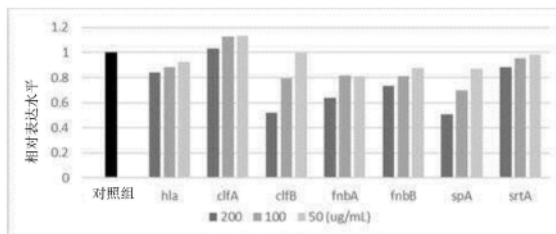
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

皮肤外用剂组合物及功能性食品组合物

(57) 摘要

本发明提供一种包含济州红网藻提取物作为有效成分的皮肤外用剂组合物及功能性食品组合物。



1. 一种包含济州红网藻 (*Martensia jejuensis*) 提取物作为有效成分的皮肤外用剂组合物。
2. 根据权利要求1所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述济州红网藻提取物的浓度为12.5 $\mu$ g/ml至200 $\mu$ g/ml。
3. 根据权利要求1所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述皮肤外用剂组合物用于预防皮肤屏障损伤。
4. 根据权利要求1所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 相对于所述皮肤外用剂组合物总重量, 包含所述济州红网藻提取物0.001重量%至10重量%。
5. 根据权利要求1所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述济州红网藻提取物缓解金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的毒性。
6. 根据权利要求1所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述济州红网藻提取物保持皮肤微生物组均衡。
7. 根据权利要求1所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述济州红网藻提取物利用水、有机溶剂或它们的混合物提取。
8. 根据权利要求7所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述有机溶剂为选自C1-C4的无水或含水乙醇、丙三醇、丙二醇、丁二醇、乙酸乙酯、己烷和三氯甲烷中的一种以上。
9. 根据权利要求1所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述皮肤外用剂组合物制备成选自自由化妆水、凝胶、水溶性液体、霜、粉、水包油型和油包水型组成的组中的剂型。
10. 根据权利要求1至9中任一项所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述皮肤外用剂组合物为化妆品组合物。
11. 根据权利要求1至9中任一项所述的皮肤外用剂组合物, 其中, 所述皮肤外用剂组合物为用于改善皮肤屏障功能的医药部外品组合物。
12. 一种用于改善皮肤屏障功能的功能性食品组合物, 包含济州红网藻 (*Martensia jejuensis*) 提取物作为有效成分。

## 皮肤外用剂组合物及功能性食品组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种皮肤外用剂组合物及功能性食品组合物。

### 背景技术

[0002] 皮肤屏障 (skin barrier) 是皮肤最外侧的角质层, 可以称为皮肤最初的防御膜。皮肤屏障由角质细胞、和由诸如神经酰胺的脂质以及诸如丝聚蛋白的蛋白质等组成的角质细胞间质构成, 它们形成多层结构, 从而发挥完全的皮肤屏障作用。皮肤屏障的主要功能是阻止体液流失、毒素攻击和病原菌侵入。因此, 皮肤屏障的损伤不仅仅是因为皮肤表层的单纯机械损伤, 还可能是因为多种病原菌侵入而引起的严重免疫反应所导致。现有的治疗方法之一的抗生素疗法的局限性在于, 不仅抑制皮肤有害菌 (例如金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*), 而且连同皮肤有益菌 (例如表皮葡萄球菌 *Staphylococcus epidermidis*) 也被抑制, 因而其效果不明显。因此, 迫切需要开发一种不抑制皮肤共生有益菌而只抑制有害菌以改善皮肤屏障功能的材料。

[0003] 微生物组 (microbiome) 是由表示微生物群落的微生物群 (microbiota) 和表示基因组基因的基因组 (genome) 合成的词。相比微生物组, 术语微生物群的侧重点在于微生物菌株本身, 指栖息于人类身体并具有共生关系的微生物, 而微生物组则是指脱离现有的个别微生物分析研究、基于基因组学的有关宿主生物与微生物间相互作用的研究和技术。众所周知, 保持微生物组均衡会影响人体功能。最近, 在化妆品、医学、制药领域正在对皮肤微生物组和皮肤屏障进行大量研究, 并基于此积极研发化妆品、皮肤外用剂等。

### 发明内容

[0004] 发明要解决的问题

[0005] 一实施例提供一种不抑制皮肤共生有益菌而只抑制有害菌以改善皮肤屏障功能的皮肤外用剂组合物。

[0006] 另一实施例提供一种不抑制皮肤共生有益菌而只抑制有害菌以改善皮肤屏障功能的功能性食品组合物。

[0007] 用于解决问题的方案

[0008] 一实施例提供包含济州红网藻提取物作为有效成分的皮肤外用剂组合物。

[0009] 所述济州红网藻提取物的浓度可以为  $12.5\mu\text{g}/\text{ml}$  至  $200\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

[0010] 所述皮肤外用剂组合物可以用于预防皮肤屏障损伤。

[0011] 相对于所述皮肤外用剂组合物总重量, 可以包含所述济州红网藻提取物  $0.001$  重量% 至  $10$  重量%。

[0012] 所述济州红网藻提取物可以缓解金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的毒性。

[0013] 所述济州红网藻提取物可以保持皮肤微生物组均衡。

[0014] 所述济州红网藻提取物可以利用水、有机溶剂或它们的混合物提取。

[0015] 所述有机溶剂可以为选自C1-C4的无水或含水乙醇、丙三醇、丙二醇、丁二醇、乙酸乙酯、己烷和三氯甲烷中的一种以上。

[0016] 所述皮肤外用剂组合物可以制备成选自由化妆水、凝胶、水溶性液体、霜、粉、水包油(O/W)型和油包水(W/O)型组成的组中的剂型。所述皮肤外用剂组合物可以为化妆品组合物。

[0017] 所述皮肤外用剂组合物可以为用于改善皮肤屏障功能的医药部外品组合物。

[0018] 另一实施例提供一种用于改善皮肤屏障功能的功能性食品组合物,包含济州红网藻(*Martensia jejuensis*)提取物作为有效成分。

[0019] 发明效果

[0020] 根据一实施例的皮肤外用剂组合物防止皮肤细胞损伤,并保持皮肤微生物组均衡,从而对预防皮肤屏障损伤有效。

[0021] 特别是对金黄色葡萄球菌有效,对于多种疾病诸如过敏性患者的皮肤,可以在皮肤屏障(skin barrier)损伤的状态下,极大地防止因金黄色葡萄球菌而导致的皮肤损伤,对诸如过敏性疾病的皮肤疾病患者极为有效。

[0022] 另外,所述化妆品组合物包含天然物质作为有效成分,因而由合成物质所导致的副作用或危险度小。

## 附图说明

[0023] 图1是示出根据一实施例的济州红网藻提取物对金黄色葡萄球菌的溶血活性的抑制程度的图表。

[0024] 图2是示出经根据一实施例的济州红网藻提取物处理的实验组和未经处理的对照组中的表皮葡萄球菌(*S.epidermidis*)与金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)的比率的图表。

[0025] 图3是示出在根据一实施例的济州红网藻提取物的不同浓度下金黄色葡萄球菌的毒性因子相关基因表达量的图表。

[0026] 图4是比较经根据一实施例的济州红网藻提取物处理的实验组与未经处理的对照组中的金黄色葡萄球菌引起皮肤细胞凋亡程度的图表。

## 具体实施方式

[0027] 下面更详细地说明本发明。不过,这只是为了帮助理解本发明而进行具体描述,本发明的范围以权利要求书为基础进行解释。

[0028] 根据一实施例的皮肤外用剂组合物包含济州红网藻提取物作为有效成分。

[0029] 所述济州红网藻提取物可以由济州红网藻提取而得到。所述济州红网藻(*Martensia jejuensis*)是属于红藻类仙菜目的原产济州海域的韩国特有种。

[0030] 所述济州红网藻提取物的浓度可以为12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,例如,可以为25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 至200 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 。济州红网藻提取物的浓度在上述范围内时,可以在皮肤屏障损伤的状态下极大地防止金黄色葡萄球菌引起的皮肤损伤。

[0031] 相对于所述皮肤外用剂组合物总重量,可以包含所述济州红网藻提取物0.001重量%至10.0重量%,例如,可以包含0.01重量%至0.2重量%。

[0032] 如果所述含量不足0.001重量%,则无法表现出有效的效果,如果超过10.0重

量%，则存在变色、变臭等剂型稳定性的问题。

[0033] 所述济州红网藻提取物可以缓解金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的毒性，改善皮肤屏障功能。

[0034] 金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 存在于人体皮肤表面和毛孔中。一般驻留于皮肤的葡萄球菌不会在正常人身上引起疾病，但金黄色葡萄球菌即使对正常人也会引起疾病。特别是通过伤口部位侵入体内时往往发病。金黄色葡萄球菌的毒性因子 (virulence factor) 大致分为存在于细胞中的毒性因子、外部毒素 (external toxin) 和酶 (enzyme)。存在于细胞中的毒性因子包括蛋白A、纤连蛋白结合因子、磷壁酸等。外部毒素有肠毒素、中毒休克综合征毒素-1 (TSST-1)、 $\alpha$ -溶血素 (H1a) 等，酶有血浆凝固酶 (coagulase)、葡萄球菌激酶 (staphylokinase)、蛋白酶 (protease)、脱氧核糖核酸酶 (DNase)、脂肪酶 (lipase) 等 (微生物学百科)。具有上述特性的金黄色葡萄球菌起到致病菌作用，引起脓肿等各种表皮感染、食物中毒、肺炎、脑膜炎、败血症等。已知多种疾病诸如过敏性患者的皮肤，在皮肤屏障 (skin barrier) 损伤的状态下，金黄色葡萄球菌充分形成菌落 (colony) 和生物膜，由此导致的炎症反应和皮肤细胞损伤会进一步加剧症状。结果导致具有正常皮肤屏障者与不具有正常皮肤屏障者的皮肤微生物分布各异。

[0035] 本发明的发明人发现，济州红网藻提取物对改善皮肤屏障功能有效，特别是对抑制金黄色葡萄球菌有效。因此，根据一实施例的组合物对于特别是因皮肤疾病而导致皮肤屏障损伤或弱化的皮肤，可以更有效改善并保持皮肤屏障功能，具有加强皮肤保湿力、防止皮肤问题和防止皮肤老化的效果。

[0036] 另外，所述济州红网藻提取物可以保持皮肤微生物组均衡，从而改善皮肤屏障功能。

[0037] 所述济州红网藻提取物可以使用水、有机溶剂或它们的混合溶剂、通过本行业公知的普遍使用的提取方法提取，例如，可以利用有机溶剂提取。

[0038] 所述有机溶剂可以为选自由C1-C4的无水或含水乙醇、丙三醇、丙二醇、丁二醇、乙酸乙酯、己烷和三氯甲烷组成的组中的一种以上。

[0039] 例如，可以使用所述济州红网藻的乙醇提取物。

[0040] 所述提取物可以使用冷浸提取法、温浸提取法或热提取法等方法，可以利用普遍使用的提取设备、超声波粉碎提取器或分馏器。

[0041] 所述制备的提取物可以通过过滤或浓缩或干燥而去除溶剂，具体地，所述过滤可以利用滤纸或减压过滤器，所述浓缩可以利用减压浓缩器，例如可以利用旋转蒸发器进行减压浓缩，所述干燥例如可以通过冷冻干燥法执行。

[0042] 所述皮肤外用剂组合物除济州红网藻提取物外，根据使用方法和使用目的，还可以包含多种成分。

[0043] 所述皮肤外用剂组合物可以制备成选自由护肤水、乳液、霜和粉组成的组中的一种以上剂型使用，但不限于此。

[0044] 具体而言，所述皮肤外用剂组合物可以制备成由化妆水、凝胶、水溶性液体、霜、粉、水包油 (O/W) 型和油包水 (W/O) 型组成的组中的剂型使用。

[0045] 根据一实施例的皮肤外用剂组合物可以用作化妆品组合物。由于由天然物质构成，即使经常使用也不会引起皮肤问题，并可以持续改善皮肤屏障功能，提供皮肤保湿、改

善皱褶及防止老化等效果。所述化妆品组合物不限于制备成本领域常规制备的任何剂型，例如可以但不限于制备成溶液、悬浮液、乳浊液、糊状物、凝胶、霜、乳液、粉、肥皂、含表面活性剂的清洁剂、油、粉状粉底、乳液粉底、蜡粉底和喷雾等。更详细地，可以适用于制备功能性化妆品，例如化妆水、营养霜、保湿霜、精华、眼霜、乳液、面膜和精华等基础化妆品。另一方面，一实施例的化妆品组合物所包含的成分，除作为有效成分的所述济州红网藻提取物之外，还可以包含化妆品组合物中普遍使用的成分，例如可以包含诸如抗氧化剂、稳定剂、增溶剂、维生素、颜料和香料的常用辅助剂和载体。

[0046] 根据一实施例的皮肤外用剂组合物可以用作用于改善皮肤屏障功能的医药部外品组合物。与上述化妆品组合物一样，所述医药部外品组合物也可以具有选自加强皮肤保湿、防止皮肤问题和防止皮肤老化中的一种以上用途。

[0047] 本说明书中使用的术语“医药部外品”是指用于诊断、治疗、改善、减轻、处置或预防人或动物疾病目的的物品中作用比医药品轻微的物品，例如根据药事法，所谓医药部外品是指除用作医药品用途的物品之外的物品，包括用于人或动物疾病的治疗或预防的制品、对人体作用轻微或不直接作用的制品等。

[0048] 所述医药部外品组合物用于改善皮肤屏障功能的目的，更详细地，用作加强皮肤保湿、防止皮肤问题和防止皮肤老化的目的，其剂型没有特殊限制，例如可以为柔肤水、营养化妆水、按摩霜、营养霜、敷料、面膜、片装面膜、凝胶或皮肤粘附型化妆品剂型的组合物，也可以是诸如乳液、软膏、凝胶、霜、贴片或喷雾剂的经皮给药剂型的组合物。

[0049] 另一方面，所述医药部外品组合物除所述济州红网藻提取物之外，还可以根据需要追加配合诸如增稠剂、稳定剂、增溶剂、维生素、颜料和香料的常用的辅助剂和载体等。

[0050] 根据另一实施例，提供一种含有济州红网藻 (*Martensia jejuensis*) 提取物作为有效成分的用于改善皮肤屏障功能的功能性食品组合物。所述功能性食品可以包括健康功能食品。与上述化妆品组合物一样，所述功能性食品组合物也可以具有选自加强皮肤保湿、防止皮肤问题和防止皮肤老化中的一种以上用途。

[0051] 对于所述功能性食品组合物，功能性食品的种类没有特殊限制，例如可以为肉类、香肠、面包、巧克力、糖果类、零食类、点心类、比萨、拉面、口香糖类、乳制品、各种汤类、饮料、茶、饮剂、酒精饮料和维生素复合剂等，并且广义上可以包括所有的食物。

[0052] 所述功能性食品组合物除所述济州红网藻提取物外，还可以在功能性食品组合物中包含普遍使用的成分，例如还可以包含营养剂、维生素、电解质、调味剂、着色剂、果胶酸及其盐、海藻酸及其盐、有机酸、保护性胶体增稠剂、pH调节剂、稳定剂、防腐剂、丙三醇、乙醇、碳酸饮料中使用的碳酸化剂或它们的组合。

[0053] 下面为了具体说明本发明而举出实验例和实施例进行详细说明。但是，本发明的实验例可以变形为多种不同形态，不能理解为本发明的范围限定于以下详细描述实验例和实施例。本发明的实验例和实施例用于向本领域的普通技术人员更完整地说明本发明。

[0054] 制备例1:济州红网藻提取物的制备

[0055] 粉碎已干燥的济州红网藻全株，浸于2倍重量比的95%的乙醇中，在此状态下暴露于超声波装置(150w、30℃)30分钟。浸渍24小时后，经滤纸过滤，随后利用旋转减压浓缩机去除溶剂，从而制备了济州红网藻提取物。

[0056] 实验例1:菌株、细胞株和培养条件

[0057] 菌株使用金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*, ATCC 6538) 作为皮肤有害菌, 使用表皮葡萄球菌 (*S. epidermidis*, ATCC 12228) 作为有益菌, 在胰酶大豆肉汤 (TSB) 中以37°C的温度条件培养, 并用于实验。

[0058] 将皮肤角质形成细胞HaCaT细胞在添加了10%FBS的无抗生素DMEM培养基中以37°C、5%CO<sub>2</sub>的条件培养, 并用于实验。

#### [0059] 实验例2: 溶血活性抑制程度测量

[0060] 为了测量济州红网藻提取物对金黄色葡萄球菌的溶血活性的抑制程度, 利用兔血进行溶血试验 (hemolysis assay)。

[0061] 在进行与济州红网藻提取物相关的金黄色葡萄球菌的毒性相关实验之前, 通过事先实验确认了济州红网藻提取物对金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度 (MIC) 为2mg/μl以上。

[0062] 在金黄色葡萄球菌1x10<sup>6</sup>CFU/ml中, 按100μg/ml、50μg/ml、25μg/ml的济州红网藻提取物浓度进行处理, 在TSB培养基中培养24小时。将所培养的菌液离心分离, 只取上清液, 利用0.2μm的针头式过滤器过滤后用于实验。

[0063] 将用PBS清洗3次的25μl的兔血和975μl的细菌培养上清液加入1.5ml的微管中, 在37°C下培养1小时后, 以5500g (重力加速度) 的条件离心分离1分钟, 得到200μl的上清液, 将其转移至微孔板后, 用酶标仪在540nm下测量吸光度。

[0064] 如图1所示, 在经一实施例的济州红网藻提取物处理的实验组中, 确认了金黄色葡萄球菌培养液的溶血活性受到抑制。

#### [0065] 实验例3: 皮肤微生物调节效能评价

[0066] 将在TSB中培养24小时的金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 和表皮葡萄球菌 (*S. epidermidis*) 分别约1x10<sup>6</sup>CFU/ml接种于新培养基中, 与200μg/mL的济州红网藻提取物一同培养24小时。然后, 将稀释10<sup>7</sup>倍的培养液涂抹于TSA, 计数金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的菌落 (colony) 数。

[0067] 结果如图2所示, 确认了在经一实施例的济州红网藻提取物处理的实验组中, 相比未处理的对照组, 作为有益菌的表皮葡萄球菌的比率增加, 作为有害菌的金黄色葡萄球菌的比率减少。

#### [0068] 实验例4: 金黄色葡萄球菌毒性因子表达

[0069] 进行实时PCR实验以确认金黄色葡萄球菌的毒性因子即α-溶血素 (Hla)、凝集因子A/B (ClfA、ClfB)、纤连蛋白结合因子A/B (FnbA、FnbB)、蛋白A (SpA)、分选酶 (SrtA) 基因的mRNA表达抑制效果。

[0070] 在金黄色葡萄球菌约1x10<sup>6</sup>CFU/ml中, 按200μg/ml、100μg/μl、50μg/μl的济州红网藻提取物浓度进行处理, 随后培养24小时。24小时后回收菌落并提取RNA (TE缓冲液, 100°C沸腾)。测量所提取的RNA浓度和纯度后, 利用1μgRNA, 使用cDNA合成试剂盒 (Intron) 合成cDNA后, 使用SYBR green进行实时PCR。

[0071] 结果如图3所示, 确认了与未经济州红网藻提取物处理的对照组相比, 在济州红网藻提取物处理的实验组中, 金黄色葡萄球菌的毒性因子Hla、ClfB、FnbA/B、SpA基因的mRNA表达减少。

#### [0072] 实验例5: 皮肤角质细胞保护效果

[0073] 实施皮肤角质形成细胞 (HaCaT) 与金黄色葡萄球菌的共培养以确认基于济州红网

藻提取物的皮肤细胞保护效果。

[0074] 在24孔板中培养皮肤角质形成细胞直至充满底面的80%为止,按约1000CFU/孔进行金黄色葡萄球菌处理,共培养(co-culture)既定时间后,执行MTT实验以测量细胞存活率。

[0075] 结果如图4所示,确认了相比未经金黄色葡萄球菌处理的皮肤角质形成细胞(K),在经金黄色葡萄球菌处理的皮肤角质形成细胞(K+S)中出现细胞凋亡,在经济州红网藻提取物处理的组中,金黄色葡萄球菌所致的细胞凋亡受到抑制。

[0076] 根据上述实验结果,确认了根据一实施例的济州红网藻提取物是通过调节金黄色葡萄球菌的毒性从而具有预防皮肤屏障损伤效果的天然材料。

[0077] 下面根据上述实验例的结果,示出利用济州红网藻提取物制备的多种剂型例。但是,本领域的普通技术人员应当理解,这些剂型例仅用于说明本发明,本发明的剂型不限于这些剂型例。

[0078] (剂型例1至3:制备含有济州红网藻提取物的化妆品组合物)

[0079] 剂型例1:乳液(emulsion)

[0080] 【表1】

成分名	实施例(重量%)
硬脂酸	0.5
乙醇	10.0
凡士林	1.0
角鲨烷	2.5
液体石蜡	6.0
聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯	1.5
1,3-丁二醇	8.0
三乙醇胺	0.05
香料	0.2
防腐剂	适量
抗氧化剂	适量
济州红网藻提取物	0.05
纯化水	至100

[0082] 剂型例2:柔肤水(skin toner)

[0083] 【表2】

成分名	重量%
丙三醇	5.0
1,3-丁二醇	3.0
乙醇	5.0
聚氧乙烯壬基苯基醚	0.5
香料	适量
防腐剂	适量
济州红网藻提取物	0.05



纯化水	至100
-----	------

[0085] 剂型例3:霜 (cream)

[0086] 【表3】

成分名	实施例 (重量%)
丙三醇	5.0
硬脂酸	8.0
角鲨烷	5.0

自乳化单硬脂酸甘油酯	2.5
聚氧乙烯山梨醇酐单硬脂酸酯	1.5
丙二醇	4.0
硬脂醇甘草亭酸酯	0.2
凡士林	2.0
抗氧化剂	适量
香料	适量
防腐剂	适量
济州红网藻提取物	0.05
纯化水	至100

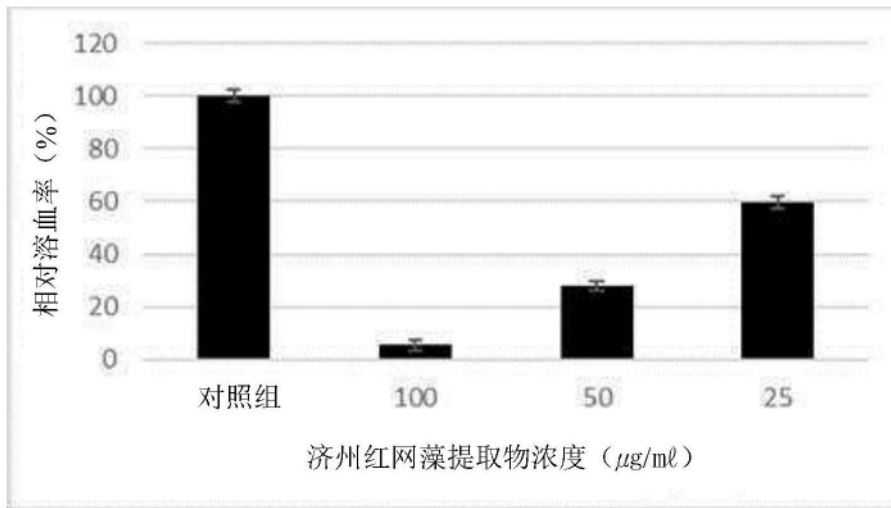


图1

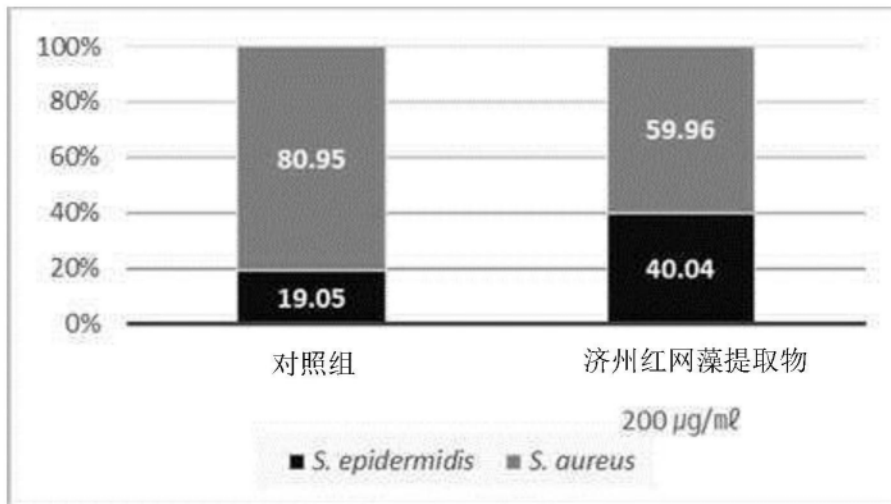


图2

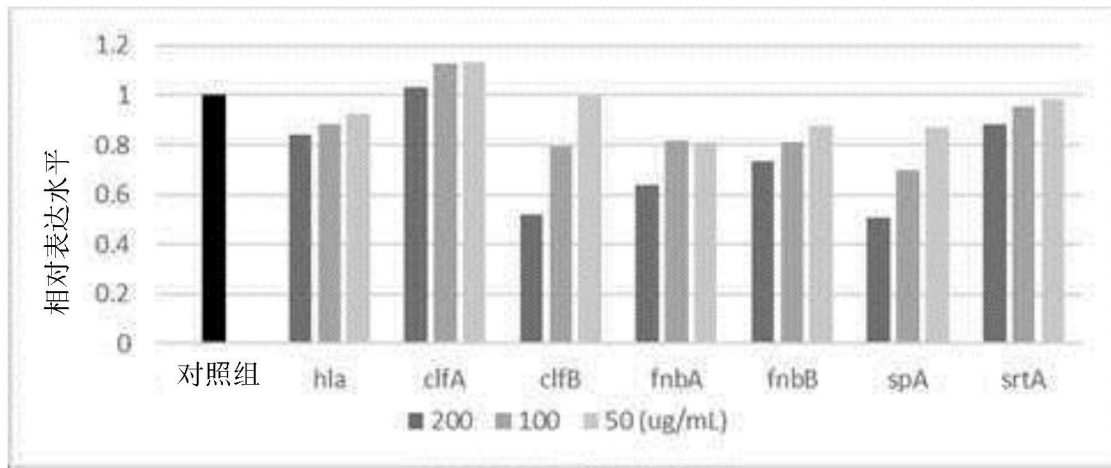


图3

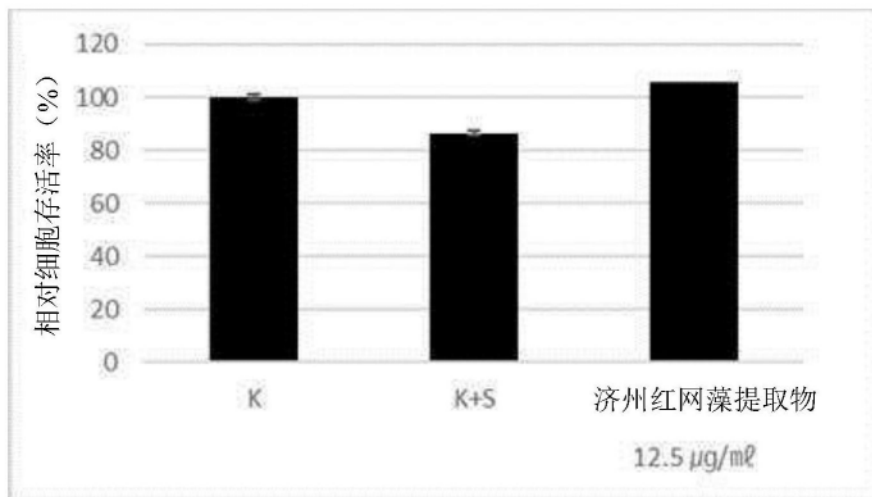


图4