



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 111787935 A

(43) 申请公布日 2020.10.16

(21) 申请号 201980016141.3

(22) 申请日 2019.02.27

(30) 优先权数据

PCT/EP2018/054985 2018.02.28 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.08.28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2019/054914 2019.02.27

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2019/166520 EN 2019.09.06

(71) 申请人 西姆莱斯股份公司

地址 德国霍尔茨明登

(72) 发明人 玛蒂娜·赫尔曼 桑德拉·盖布勒

多米尼克·斯托尔曼

A·C·维塞洛 伊姆克·迈耶

(74) 专利代理机构 北京五洲洋和知识产权代理
事务所(普通合伙) 11387

代理人 韩莉莉 荣红颖

(51) Int.Cl.

A61K 36/05 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 8/34 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61K 8/44 (2006.01)

A61Q 17/00 (2006.01)

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 8/9722 (2006.01)

A61K 8/60 (2006.01)

A61K 8/67 (2006.01)

权利要求书3页 说明书60页

(54) 发明名称

扁藻提取物

(57) 摘要

本发明涉及一种新的提取物和获得这种有效的扁藻提取物的方法,发现该扁藻提取物在皮肤病治疗中具有益处并且能够作为局部化妆品施用。

1. 一种肩突四扁藻提取物,包括基于提取物干重的下列:

- a) 占总组合物 $\geq 10\text{wt.}\%$ 的总无机盐,
- b) 占总组合物 $\geq 5\text{wt.}\%$ 的甘露醇,
- c) 占总组合物 $\geq 3\text{wt.}\%$ 的总半乳糖,所述总半乳糖为游离的和结合的半乳糖的总和,
- d) 占总组合物 $\geq 4\text{wt.}\%$ 的总葡萄糖,所述总葡萄糖为游离的和结合的葡萄糖的总和,
- e) 占总组合物 $\geq 3\text{wt.}\%$ 的总氨基酸,
- f) 占总组合物 $\geq 2\text{wt.}\%$ 的总氮。

2. 根据权利要求1所述的肩突四扁藻提取物,所述肩突四扁藻提取物包括基于提取物干重的下列:

- a) 占总组合物的11至25wt.%的总无机盐,
- b) 占总组合物的6至15wt.%的甘露醇,
- c) 占总组合物的4至15wt.%的总半乳糖,所述总半乳糖是游离的和结合的半乳糖的总和,
- d) 占总组合物的4至10wt.%的总葡萄糖,所述总葡萄糖为游离的和结合的葡萄糖的总和,
- e) 占总组合物的4至10wt.%的总氨基酸,
- f) 占总组合物的3至5wt.%的总氮。

3. 一种获得扁藻提取物的方法,包括:通过使用液体提取剂提取活的、冷冻干燥的或干燥细胞的扁藻的步骤,并且其中提取包括:a) 在高于60°C的温度下将细胞材料暴露于提取剂持续长达8小时,和b) 去除所述细胞材料以获得提取物,所述液体提取剂是从由2-丙酮、乙醇、水、甲醇、异丙醇和两种或更多种这些提取剂的混合物组成的组中选出的。

4. 根据权利要求1或2所述的扁藻提取物,所述扁藻提取物通过根据权利要求3所述的方法获得。

5. 根据权利要求3或4所述的方法或产品,其中所述扁藻的分类是扁藻的某个种,更优选为肩突四扁藻。

6. 一种联合组合物,所述联合组合物包括根据权利要求1、2、4或5中任一项所述的扁藻提取物,进一步包括烟酰胺。

7. 根据权利要求6所述的联合组合物,其中扁藻提取物与烟酰胺的重量比范围为1:10000至1:1,优选为1:500至1:10,其中所有重量都是基于干重计算的。

8. 一种扁藻提取浓缩物,包括:

- a) 基于干重计算的0.5至80wt.%,优选为1至10wt.%的根据权利要求1、2、4~7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物,
- b) 0.5至90wt.%的水,优选为30至70wt.%的水,
- c) 0.5至90wt.%的液体载体,优选为20至60wt.%的甘油,
- d) 任选地0.1至5wt.%的一种或多种防腐剂或防腐剂体系。

9. 一种液体扁藻提取浓缩物,包括:

- a) 基于干重计算的0.5至10wt.%的根据权利要求1、2、4~7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物,
- b) 30至70wt.%的水,

- c) 20至50wt.%的甘油,
- d) 5至20wt.%的1,2-戊二醇,
- e) 任选地0.1至5wt.%的一种或多种防腐剂或防腐剂体系。

10. 固体扁藻提取浓缩物,包括:

a) 基于干重计算的0.5至10wt.%的根据权利要求1、2、4、5、6和7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物,

b) 0.5至8wt.%的水,

c) 50至98wt.%的固体载体,优选麦芽糊精。

11. 根据权利要求1、2、4~7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物,或根据权利要求8~10中任一项所述的扁藻提取浓缩物,作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、脂溢性皮炎、寻常痤疮、伤口愈合、组织再生、炎症后色素沉着、炎症相关疾病、头皮屑或花斑癣的药物。

12. 用于治疗皮肤疾病的皮肤病或治疗产品,包括根据权利要求1、2、4~7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物,或根据权利要求8~10中任一项所述的扁藻提取浓缩物,以及任选地辅助物质。

13. 非治疗或化妆品产品,包括根据权利要求1、2、4~7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物,或根据权利要求8~10中任一项所述的扁藻提取浓缩物,以及任选地辅助物质和/或香料,其中所述化妆品产品是皮肤和/或头发护理产品。

14. 根据权利要求12所述的皮肤病或治疗产品或根据权利要求13所述的化妆品产品,其中,在产品中基于干重计算的扁藻提取物或扁藻提取浓缩物的量,为0.0001至10wt.%,优选为0.005至3wt.%。

15. 根据权利要求1、2、4~7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物或根据权利要求8~10中任一项所述的扁藻提取浓缩物的非治疗或美容用途,用于施用、护理、清洁、防晒或保护皮肤或用于减少皮脂。

16. 根据权利要求1、2、4~7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物或根据权利要求8~10中任一项所述的扁藻提取浓缩物在以下方面的用途:

- a) 刺激皮肤的连接,
- b) 刺激皮肤的抗菌肽,
- c) 减少COX-2基因表达和前列腺素介导的效应,
- d) 减少炎症后色素沉着,
- e) 刺激丝聚蛋白。

17. 根据权利要求1、2、4~7中任一项所述的扁藻提取物或联合组合物或根据权利要求8~10中任一项所述的扁藻提取浓缩物的非治疗或美容用途:

- a) 用于改善皮肤的表皮完整性,
- b) 用于预防外界刺激,诸如空气污染或颗粒物诱导效应,
- c) 用于预防皮肤屏障功能障碍。

18. 根据权利要求12~14中任一项所述的治疗或化妆品产品,进一步包括以下的一种或多种:

其它减少皮脂药剂,

抗痤疮药剂，
去头皮屑药剂，
其它抗发炎药剂，
TRPV1拮抗剂，
抗瘙痒药剂，
抗菌药剂，尤其抗痤疮丙酸杆菌药剂，
抗马拉色氏霉菌属药剂。

19. 根据权利要求18所述的治疗产品，用作根据权利要求11或12疾病的所述治疗中的药物。

20. 根据权利要求18所述的化妆品产品，所述化妆品产品用于根据权利要求15~17中任一项所述的非治疗施用或作为皮肤和/或头发护理的化妆品产品使用。

扁藻提取物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种新的扁藻 (*Tetraselmis*) 提取物和获得该扁藻提取物的方法,发现该扁藻提取物在皮肤病治疗中具有益处并且能够作为局部化妆品施用。

背景技术

[0002] 文献EP 2 193 785 A2涉及肩突四扁藻 (*Tetraselmis suecica*) 的提取,但该过程是在低温下进行的。这些提取物具有不同的组成,特别是关于氨基酸和糖成分。令人惊讶地,发现具有该组成的提取物对局部施用肩突四扁藻提取物的皮肤治疗性质有影响。

[0003] 皮脂腺 (SGs) 是在除了手掌和脚掌及脚背以外的身体皮肤上各处可见的皮肤附属器。皮脂腺由同一腺体内的一个或多个小叶组成。SGs分泌一种称为皮脂的天然油脂,其与汗液一起参与组成覆盖皮肤的水脂膜。人体皮脂是约40-60%的甘油三酯、甘油二酯和游离脂肪酸、25-30%的蜡酯、12-15%的角鲨烯、3-6%的胆固醇酯和1.5-2.5%的胆固醇的复杂混合物。

[0004] 在皮肤作为包括环境毒剂和UV光的环境压力屏障的角色中,皮肤由SGs支撑,并且皮脂对皮肤的健康状态和外观具有重要作用。其在屏障的保护和维持,尤其在经皮水分丢失量的调节、皮肤和毛发免受摩擦的保护、皮肤生物膜的维持和向皮肤表面输送抗氧化剂 (角鲨烯、辅酶Q10和维生素E) 的传输中发挥作用。此外,其涉及表皮发育、体臭和信息素的产生。皮脂直接涉及激素信号传导、表皮分化和防紫外线 (UV) 辐射。其还会调节皮肤的天然微生物群落的组成和增殖。

[0005] SGs存在两种类型:在毛囊皮脂腺单位内连接到毛囊的和独立存在的 (与毛囊没有关联) 哪些。当它们与毛囊相关联时,一个或多个腺体能够包围每个毛囊,并且腺体自身被立毛肌所包围。SGs在面部、头皮和背部中线中特别丰富。它们在面部总数能够达到400-900腺体/cm²。它们还存在于眼睑 (称为睑板腺)、耳 (盯聆腺)、鼻、阴茎、小阴唇、面颊的内口腔粘膜 (福代斯氏斑 (Fordyce's spots)) 以及乳头的无毛区域 (无毛的皮肤)。

[0006] 皮脂腺细胞 (Sebocyte) 是SGs内的主要细胞。其目的是通过完全成熟的细胞的分化和裂变来产生和分泌皮脂,这种独特的过程称为全分泌。皮脂腺细胞能够分类为布置在面向基膜的单层中的未分化细胞。因为其引起增殖和分化细胞的持续通量 (continual flux), 所以其具有干细胞的特性。朝向腺体小叶中心生长,基底细胞逐渐分化为早期分化细胞型、晚期分化细胞型、全分化细胞型和成熟皮脂腺细胞。特征性地,脂质在皮脂腺细胞的细胞质中的积累随着晚期分化而增加。在完全分化的和在成熟的皮脂腺细胞中,细胞核变得扭曲和分裂,并且细胞破裂。皮脂排入到皮脂腺管中,进而释放到毛干周围的毛囊中。皮脂一经分泌,便会被各种异生物 (xenobiotics) 定殖,异生物的发育被几种防御机制和与环境氧的接触控制。氧和微生物转化“天然”皮脂,甘油三酯分解成脂肪酸是最明显的活性。

[0007] 皮脂腺细胞具有能够合成皮脂中存在的所有脂质种类的酶机械能力 (enzymatic machinery competent)。皮脂脂肪酸的特征在于种类繁多,其包括具有奇数或偶数碳原子、长链和不寻常的不饱和度的直链和支链种类。乙酸酯、丙酸酯、异丁酸酯、异戊酸酯和2-甲

基丁酸酯用于通过添加衍生自丙二酸单酰辅酶A的两个碳基团扩展来产生不同的脂肪酸。通过 $\Delta 6$ -去饱和酶(脂肪酸去饱和酶2)和 $\Delta 9$ -去饱和酶(硬脂酰辅酶A去饱和酶)的活性来发生去饱和。

[0008] 亚油酸被认为直接参与皮脂脂质合成,并且被吸收到漏斗腺(infundibulum)的表皮脂质中。通过 β -氧化的活化,亚油酸被转化为二碳前体,其产生作为生物合成途径的起始物的乙酰辅酶A。后者导致角鲨烯和蜡酯的形成。由于亚油酸是必需脂肪酸,其血浆水平可以调节其在皮脂腺细胞中的浓度。脂肪酸随后用于合成甘油三酯、胆固醇和蜡酯。

[0009] 甘油三酯由脂肪酸和甘油合成。单酰基甘油酰基转移酶(MGAT)将单酰基甘油转化为二酰甘油,二酰甘油用于甘油三酯合成的一个途径中的倒数第二步。脂酰辅酶A/二酰甘油酰基转移酶(DGAT)1和2是催化甘油三酯合成中最后步骤的关键酶。蜡酯在涉及脂酰辅酶还原酶和蜡合酶的两步过程中产生。优选包括饱和脂肪酸而不是单不饱和的。酶脂酰辅酶A胆固醇酰基转移酶1(ACAT 1)在SG中高度表达,其允许胆固醇酯吸收到细胞质的脂滴中。胆固醇和角鲨烯共享其生物合成的初始步骤。角鲨烯是胆固醇生物合成中的最后一个线性中间体。

[0010] 肝X受体(LXR_s)是NHR家族中的成员,其在胆固醇平衡和脂质代谢中起到关键作用。通过LXR配体对SZ95皮脂腺细胞的处理增进了脂滴在细胞中的积累,这能够通过诱导LXR α 受体和已知的LXR靶标——诸如脂肪酸合酶(FASN)和固醇调节元件结合蛋白-1(SREBP-1)——的表达来解释。

[0011] 过氧化物体增殖物激活型受体(PPAR)是核激素受体(NHR)家族中的成员,并且充当包括那些涉及皮肤脂质代谢的多种基因的转录调节因子。各种脂肪酸、类花生酸和前列腺素类(包括前列腺素、前列环素和血栓素)激活PPAR_s。PPAR_s在人体SGs和人体SZ95皮脂腺细胞中表达。PPAR γ 激活皮脂腺细胞发育(增殖)和脂肪合成。PPAR γ 参与氧化应激介导的前列腺素E₂的产生,并诱导人体SZ95皮脂腺细胞中的COX-2表达。

[0012] 前列腺素是响应多种生长因子和环境刺激而合成的脂质介质。前列腺素的产生依赖于环氧合酶(cyclooxygenase enzymes)(COX-1和COX-2)的活性。皮脂腺细胞在体内和体外产生环氧合酶2(COX-2),也称为前列腺素合酶-2(PGHS-2)。在具有可诱导的COX-2同种型的靶向过表达的转基因小鼠中观察到COX-2在皮脂腺发育中的重要性。这些小鼠发生皮脂腺增生、皮脂分泌增加和毛发油腻,表明COX-2和前列腺素在皮脂腺细胞增殖和脂质代谢中的重要作用。

[0013] SGs的功能受诸如例如生长因子的多种其他因子的控制。胰岛素样生长因子1(IGF-1)在诱导人体皮脂腺细胞的脂质合成中起关键作用。IGF-1通过诱导SREBP-1增加脂质合成,SREBP-1优先调节脂肪酸合成的基因。

[0014] 每个皮脂腺细胞的高比率的皮脂分泌会导致皮脂酯中低水平的亚油酸酯,使毛囊上皮缺乏必需脂肪酸和导致粉刺形成的特征性角化过度。通过药物抑制皮脂分泌会提高皮脂中的亚油酸酯的浓度,并减轻毛囊角化过度。

[0015] 例如在脸上发生不期望的皮脂腺活性过强。此处,皮脂的过度产生给予皮肤油光发亮、油腻和不美观的外观(油性皮肤),通常伴有大的毛孔。全球人口统计研究表明油性皮肤是70%的美国女性和62%的日本女性的共同关注。过量的皮脂堵塞毛孔,为生存在皮肤上的细菌提供营养。这能够促进其他轻微瑕疵,诸如粉刺。在一些情况下,存在过量皮脂会

引发更加严重的病症,例如痤疮。寻常痤疮(Acne vulgaris)是最常见的炎性的皮肤病,其影响多达85%的青少年,并且经常持续到成年。发病机制是多因素的,并且包括皮脂腺过度活性;皮脂分泌率与痤疮严重程度相关并预测痤疮结果。皮脂腺是相对缺氧的并且支持诸如痤疮丙酸杆菌(*Propionibacterium acne*)的兼性厌氧菌的生长,痤疮丙酸杆菌在痤疮中起重要作用并且其密度随着皮脂分泌率增加而增加。

[0016] 变大的皮肤毛孔是指在皮肤表面的明显可见局部变化的状况。尽管不是医疗问题,但变大的毛孔对于大量个体而言是美容问题。面部毛孔变大的主要临床原因有三种,即高皮脂分泌率、毛孔周围的弹性降低和毛囊体积增大。因此,减少皮肤毛孔对皮肤局部特征的影响的一种方式减少皮脂的过度产生和累积。

[0017] 皮脂腺过度产生的皮脂在护发中具有重要作用。头皮的皮脂腺产生的过多的皮脂是导致毛发油腻的原因,这被认为是显著的美观问题。许多含药物的洗发剂和洗剂类型的化妆治疗被提出用于减轻头皮的皮脂的过度产生。然而,化妆品公司不断寻求新产品,特别是从天然成分获得。皮脂溢出与头皮屑的发生有关,头皮屑是一种以大量且松散粘附的薄片为特征头皮疾病,通常伴有瘙痒。头皮屑影响了50%的世界人口。这种加重的头皮脱屑能够发展为脂溢性皮炎,其为伴随有炎症和红斑的严重类型的头皮屑。头皮屑和脂溢性皮炎的病因呈现取决于三个因素:皮脂腺分泌物、微生物群落(亲脂性真菌马拉色氏菌属,特别是球形马拉色氏菌(*M.globosa*)和局限马拉色氏菌(*M.restricta*))新陈代谢和个体易感性。因此,调节皮脂分泌是(预防头皮屑和脂溢性皮炎的核心问题,并且本发明尤其涉及该问题。

[0018] 最后,由于女性外生殖器具有许多皮脂腺,适于调节皮脂分泌的化合物也能够应用于私密卫生的产品中。阴阜、大阴唇、小阴唇和阴道前庭外侧富含皮脂腺,并且其皮脂分泌与细菌微生物群落相互作用,调节生殖区的pH。新的皮脂并不含有显著量的游离脂肪酸,但这些游离脂肪酸由于细菌产生的脂肪酶的作用而被释放,从而诱导生殖器环境的酸化。因此,皮脂的调节能够代表防止生殖器微生物群落的改变、刺激、瘙痒等的重要条件。

[0019] 因此,本行业对寻找适于减少皮脂产生的新的试剂非常感兴趣。理想地,试剂是原始天然的、易于生产、易于储存、安全且能够用于许多不同的制剂中,特别是用于皮肤和头发护理的化妆品和皮肤病制剂、以及用于私密卫生的制剂中。

[0020] 皮肤病文献包括的研究中引用了已被研究出减少皮脂能力的许多物质,诸如例如类视黄醇(retinoid)如13-顺式-维生素A酸(异维A酸)、全反式维甲酸、阿达帕林、其盐或衍生物,雄激素抑制剂如螺内酯和环丙孕酮、抗生素,优选氯林可霉素、红霉素和四环素、以及抗雄激素。然而,这些通常是主要用于治疗痤疮的处方药,其次是减少皮脂。其他已知的减少皮脂药剂包括例如烟酰胺、5- α -还原酶抑制剂、D-泛酰醇、 α -羟基酸,诸如例如水杨酸和乳酸、丙酮酸(α -酮酸),脂肪族二羧酸,诸如例如壬二酸、L-肉毒碱、补骨脂酚(bakuchiol)、1,2-癸二醇、洋川芎内酯-A(senkyunolide-A)、包括洋川芎内酯-A的芹菜籽油、皂皮树(*Quillaja saponaria*)提取物、绿花恩南蕃茄茎皮(*Enantia chlorantha bark*)提取物、榆绣线菊(*Spiraea ulmaria*)提取物、鳄梨油酸丁酯(butyl avocate)、维生素B6(也称为吡哆醇)或其盐、维生素B3(也称为烟碱酸或烟酸)或其盐或衍生物、过氧化苯甲酰(benzoyl peroxide)、根皮素、茶树(*Camellia sinensis*)提取物和含有的多酚诸如例如表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate)、红车轴草(假三叶草(*Trifolium*

pretense)) 提取物、大豆(野生大豆(Glycine Soja))种子提取物、异黄酮或含有异黄酮提取物,优选鸡豆黄素A(biochanin A)、金雀异黄素(genistein)、大豆黄素(daidzein)、染料木苷(genistin)和黄豆苷元(daizin)。

[0021] 屏障/机械、粘附和紧密连接/分化:

[0022] 陆生动物和人体的体表暴露于空气和暴露于机械应力,两者在生物体与其环境之间的直接界面上都与活细胞持久性不相容。皮肤的表皮分层在物理上使生物体与其环境隔离,并作为其抵抗脱水、化学物质、物理损伤和微生物的结构和功能的第一道线。表皮的活细胞层在两个不同水平上对屏障的形成和维持至关重要。首先,角质形成细胞(keratinocyte)通过复杂的空间和时间的分化过程最终形成皮肤的最外层保护死层。例如在特应性皮炎中能够观察到这种分化的损伤(Impairment)导致角质层(SC)屏障功能降低。其次,活细胞层本身通过在相同和不同表皮层的细胞之间提供紧密的机械内聚力而形成屏障。为了建立该屏障,存活的细胞必须通过使细胞间接触结合至细胞骨架的细胞间连接而彼此连接,例如紧密连接处、(角膜(corneo))桥粒和粘附连接处(adherens junction)。

[0023] 粘附连接处是细胞间结构,其将细胞间粘附耦合至细胞骨架,从而产生协调细胞群落行为的跨细胞网络。粘附连接处是动态实体并且还起到作为调节细胞骨架动态和细胞极性的信号平台的作用。这样,其除了粘附力外还调节各种各样的其他细胞过程,例如细胞形状、分裂、生长、细胞凋亡和屏障功能。粘附连接的分子主要成分由两种细胞粘着受体复合物形成,即典型的钙黏蛋白/连环蛋白复合物和连接素/胞黏蛋白复合物,其均能够结合至肌动蛋白细胞骨架。典型的钙黏蛋白是单跨膜Ca²⁺依赖性细胞粘着分子,其在其细胞质面上与连环蛋白相互作用。两类典型的钙黏蛋白在表皮中表达:主要在毛囊周围和毛囊内的基底层表达的P-钙黏蛋白(钙黏蛋白3)和在表皮的各层发现的E-钙黏蛋白(钙黏蛋白1)。

[0024] 桥粒是“机械”连接处,主要涉及细胞内聚力[14]。其由与类似粘附连接的典型的钙黏蛋白的桥粒钙黏蛋白组成,桥粒钙黏蛋白属于钙黏蛋白超家族的一部分。在人体表皮中发现了桥粒芯糖蛋白1-4和桥粒芯胶粘蛋白1-3。将桥粒钙黏蛋白的细胞间末端植入形成桥粒斑块的衔接蛋白的分子网络中,该桥粒斑块与角蛋白纤维结合。随着角质形成细胞穿过表皮层,其不断地在细胞边缘形成并回收桥粒。在此期间,构成连接处(甚至没有结构的物理解离)的分子也被不断地替换。根据角质形成细胞分化的水平,来自下表皮区室的桥粒芯糖蛋白2和3逐渐被上活表皮层中的桥粒芯糖蛋白1和4所代替。以相同的方式由桥粒芯胶粘蛋白1代替桥粒芯胶粘蛋白3。桥粒的这种分化依赖性组成与其机械稳定性的增加一致。

[0025] 紧密连接(TJ)是封闭连接。其密封表皮细胞间的细胞间隙,并且该结构的“紧密性”由环境因素动态调节并满足生理的需要。已经在人(和/或鼠)表皮及其培养的角质形成细胞中发现了许多TJ蛋白。其包括闭合蛋白(claudin)、TJ相关MARVEL蛋白(TAMP)和连接粘着分子(JAM)跨膜家族以及几种TJ斑蛋白(例如封闭小带/ZO和扣带蛋白)。有趣的是,大多数通过表皮的免疫染色发现的TJ蛋白定位于颗粒层(例如,紧密连接蛋白(cldns)-1、-4、-6、-7、-11、-12、-18、密封蛋白(occludin)、ZO-1、ZO-2、扣带蛋白)的细胞-细胞边界,其中已经发现了功能性TJ屏障。表皮屏障功能所需要的紧密连接成分的功能性证据来自闭合蛋白-1缺陷小鼠,其由于颗粒层的屏障功能受损而死于大量的经皮水分丢失(TEWL)。使用培养的角质形成细胞,显示出TJs形成对水和不同大小的分子以及离子的屏障。

[0026] 通过刺激连接基因和蛋白增强表皮完整性并由此增加防御功能的药剂也会促进

头皮内环境动态平衡,因此期望能够对头皮屑也是有益的,尤其是如果这些药剂也具有减少皮脂活性的话。

[0027] 皮脂/屏障污染:

[0028] 根据世界卫生组织(WTO)标题为“全球空气状况2017(State of Global Air 2017)”的年度报告,超过90%的世界人口生活在空气不健康的地区。术语空气污染包括但不限于交通的废气,在本文中还包括工业的废气。在本文中,空气污染是指排放的气体污染物,但也指排放的颗粒。还包括橡胶轮磨损产生的颗粒。涉及到空气污染的颗粒可能已经与多环芳香烃(PAH)结合,但并不限于这些富含PAH的颗粒。打印机排放出的炭黑颗粒也是在室内发生的空气污染问题。另一个问题是通过室内加热以及使用煤或木柴烹调所产生空气污染。

[0029] 空气污染的最常见成分之一是颗粒物(PM),根据颗粒的空气动力学直径,将颗粒物分为PM₁₀、细PM和超细颗粒。PM₁₀(直径小于10 μ m的颗粒)由来自灰尘、工业排放物和交通排放物的颗粒组成。小于2.5 μ m的较小的PM直径被定义为细PM(PM_{2.5});PM_{2.5}主要由有机碳化合物、硝酸盐和硫酸盐组成。对污染中的、特别是环境空气污染的流行病学调查表明:PM与诸如特应性皮炎、痤疮、银屑病和过敏反应的炎性的皮肤病的进程有关。

[0030] 环境/外源因素与分泌的皮脂的质量和数量有关。因此,例如污染:无论是天然还是由于人类活动(臭氧、工业、农业、吸烟等),都会影响皮脂的组成并且还被认为会刺激其分泌。因此,低浓度(1和10 μ g/mL)的PM_{2.5}显示出促进培养的皮脂腺细胞(sebocyte)中的脂质合成(Q.Liu et al., Int J Mol Med.2017, 40(4), 1029-1036)。

[0031] 此外,对人体角质形成细胞细胞系的研究证明,在皮肤屏障功能障碍的发展中的COX2/PGE2(前列腺素E2)和丝聚蛋白之间的相互作用,提供了PMs引起在COX2蛋白水平、mRNA表达、启动子活性和PGE2产生的显著性且剂量依赖性增加,而最终导致丝聚蛋白下调的证据。

[0032] 人体皮肤暴露于反复的空气污染还显示,支持由于角质形成细胞和黑色素细胞的串扰(crosstalk)的色素斑的形成,所述黑色素细胞是皮肤的黑色素产生细胞。

[0033] 因此,对于一方面减少皮脂腺的皮脂产生,并且另一方面通过刺激桥粒、粘附和紧密连接蛋白来增强表皮完整性,从而减少助长环境刺激(stimuli)的颗粒物的渗透和其他脂质合成的药剂是特别有利的。

[0034] 抗菌肽和蛋白质

[0035] 抗菌肽或蛋白质(AMPs)代表保护界面免受来自病原微生物感染的古老且有效的先天防御机制。在人体皮肤中,AMPs主要由角质形成细胞、嗜中性粒细胞、皮脂腺细胞或汗腺产生,并且为组成性地表达或在炎症刺激后表达。具有特应性皮炎的患者的皮肤受损显示为 β -防御素和组织蛋白酶抑制素LL-37的表达减少。此外,AMPs水平降低与烧伤和慢性伤口有关。相反地,如在患有银屑病和红斑痤疮(很少导致重复感染的炎性皮肤病)的患者中所见,AMPs的过表达能够增强对皮肤感染的保护。在其他皮肤病例如寻常痤疮患者中,通常在发炎或感染的皮肤区域中发现AMPs水平增加,表明这些肽在免受感染的保护中的作用。抗菌活性的广谱性、细菌抗性的低发生率以及其作为免疫调节剂的功能是AMPs用于其临床应用的有吸引力的特征。

[0036] 包括 α 和 β 家族的防卫素(Defensin)是哺乳动物中最大且研究最多的AMPs的家族

之一。人体防御素对抵抗革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌、病毒、真菌和一些原生动物具有广谱的抗菌活性,并且是先天免疫系统的重要组成部分。

[0037] β 防御素是具有抗菌活性的阳离子肽,其防御包括皮肤、胃肠道、泌尿道和呼吸道的上皮表面。人体 β -防御素1肽(hBD-1)由DEFB1基因座(locus)编码并针对革兰氏阳性菌和阴性菌起作用。在二硫桥(disulphide-bridge)还原后,hBD-1成为抵抗机会致病性真菌白色念珠菌的有效AMP。这显示出LL-37或溶菌酶抵抗金色葡萄球菌和大肠杆菌的协同效应。

[0038] S100蛋白是通过两种钙结合EF-手型基序(two calcium-binding EF-hand motifs)表征的低分子量阳离子蛋白。其参与诸如钙依赖性细胞信号传导、细胞生长和抗菌防御的多种细胞过程。

[0039] 牛皮癣素(S100A7)是一种 Ca^{2+} 结合S100蛋白,其在银屑病皮损中被发现,并且在正常的上皮细胞中以低水平表达。在与高密度的细菌相关的皮肤中,尤其在局部中,发现牛皮癣素的病灶性表达。此外,肽在分泌脂质的皮肤的表皮和皮脂腺中累积并分泌到皮肤外表面。其显示出优选针对大肠杆菌的抗菌活性。具有抗菌活性的S100A家族的另一个成员是钙卫蛋白(calprotectin),即两种钙结合蛋白S100A8和S100A9的杂合物。钙卫蛋白表现出尤其对大肠杆菌、克留氏菌属某些种(*Klebsiella* spp.)、金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌的抑菌性质,以及对真菌白色念珠菌的抑真菌活性。

[0040] 肾上腺髓质素(AM)是由包括角质形成细胞的多种细胞产生的多功能肽。其具有作为皮肤的生长调节因子的作用并且在外皮的保护屏障中作为抗菌剂而作出贡献。

[0041] 表皮完整性/炎症/炎症后色素沉着:

[0042] 导致炎症的皮肤受损不仅能够诱导皮脂分泌,而且还能够导致炎症后色素沉着(PIH),特别是对于皮肤较暗的人(皮肤III型至VI型)。在这样的受损中有例如痤疮。此外,空气污染/颗粒物(PM)成为黄褐斑和其他面部色素性皮肤病(dyschromias)发展的病因。

[0043] PGE2是花生四烯酸最丰富的代谢物之一,其通过受环氧合酶(COX)控制的酶级联反应而产生。COX-2响应于皮肤细胞中的多种炎性刺激而被诱导。PGE2通过导致PKC- ζ (蛋白激酶C ζ (protein kinase C zeta))激活的G蛋白偶联受体EP1和EP3调节其在黑色素细胞中的作用。PGE2刺激黑色素细胞树突形成和黑色素体转移。此外,在黑色素细胞中示出了COX-2显著地降低了酪氨酸酶、TRP-1、TRP-2、gp100和MITF的表达并且还降低了酪氨酸酶活性。此外,COX-2siRNA转染的黑色素细胞显示出,诱导黑色素产生的 α -黑色素细胞刺激素(α -MSH)明显减少。

[0044] 因此,证明COX-2和PGE2在PIH中起重要作用。

[0045] 与化妆品和皮肤病的领域中的微藻开发相关的现有技术提供了一些实例:

[0046] FR 2980698 A1(Gelyma)公开了通过利用来自微藻类四片藻(*Tetraselmis chui*)和大型藻类墨角藻(*Fucus spiralis*)的提取物的组合活性来调节皮脂产生。四片藻是通过具有受控的代谢诱导培养过程的生物技术获得的,以诱导无机生物累积,目前为生物可利用锌。因此,该提取物由通过在富含锌的培养基中培养获得的四片藻而制备,并且其特征在于,锌含量为10至2000ppm。根据本公开,四片藻在其化学组成上不同于肩突四扁藻。仅示出了四片藻和墨角藻的组合提取物对由于5 α -还原酶抑制剂引起的减少皮脂活性,以及白介

素(IL)-8和肿瘤坏死因子(TNF)- α 抑制剂的抗发炎功效,而并非针对单个提取物,因此尚不清楚其中只有一个具有这些活性或是两者都具有这些活性。

[0047] KR2013015037 A公开了一种用于从肩突四扁藻或椭圆小球藻(*Chlorella ellipsoidea*)分离具有抗发炎和抗痤疮功能的物质的提取方法。有效的提取物是通过对微藻物质进行脱盐和脱水并将其加工成粉末而获得的。在该预处理之后,将微藻直接用乙酸乙酯(TS-6000)进行提取或用1%的氢氧化钠溶液(=碱提取)进行提取。然后用HCl中和碱性混合物,将提取液过滤分离,加入乙酸乙酯并分离有机相(TS-2000)。这两种亲脂性提取物抑制巨噬细胞的炎性细胞因子,即一氧化氮(NO)、IL-6和TNF- α 的分泌。从抵抗痤疮丙酸杆菌的抑菌活性推理出该提取物的抗痤疮作用。这没有表明,肩突四扁藻提取物具有减少皮脂活性。

[0048] W02016020339 A2 (Cutech)公开了通过用从由C1-C4脂族醇、乙酸乙酯、水或其混合物的组成的组中选出的溶剂提取而获得的微藻、盐生植物和好砂植物的提取物,其显示出作为人体皮脂腺代谢的调节剂的活性。明确描述了获得自属于绿球藻属(*Chlorococccum*)、海链藻属(*Thalassiosira*)、蒜头藻属(*Monodus*)和角毛藻属(*Chaetoceros*)的微藻的提取物的减少皮脂活性。并未公开来自扁藻的提取物。

[0049] FR 2894473 A1 (Daniel Jouvance)公开了从一些微藻物质糊剂或悬浮液(单鞭金藻属(*Chromulina*)、星杆藻(*Asterionella*)和扁藻)获得的制剂用于抑制参与脂肪酸和脂质代谢的酶,即在脂肪细胞或前脂肪细胞(pre-adipocyte)中的乙酰辅酶A羧化酶(ACC)、磷酸二酯酶(PDE)、甘油醛3-磷酸脱氢酶(Ga3PDH)、脂肪酸合酶(FAS)、脂蛋白脂肪酶(LPL)。但并没有给出生物学数据。

[0050] C.sansone等人(Scientific Reports (2017), 7, 41215CODEN:SRCEC3; ISSN:2045-2322)描述了肩突四扁藻的乙醇/水提取物,其含有高水平的类胡萝卜素——诸如叶黄素、紫黄质、新黄质、花药黄质和绿藻黄素酯(loroxanthin ester),以及其在被H₂O₂损伤的人肺癌细胞(A549)中减少活性的强抗氧化剂和前列腺素E2 (PGE2)水平。

[0051] US2010143267 A1 (Symrise)描述了从扁藻的某个种(*Tetraselmis* sp.)诸如此类获得的提取物在用于刺激角化包膜蛋白成分诸如丝聚蛋白和/或内披蛋白水平方面的用途。通过使用从由己烷、乙酸乙酯、乙醇、水、甲醇、异丙醇和两种或更多种这些提取剂的混合物组成的组中选出的液体提取剂在不超过50°C的温度下可持续长达24小时提取活的、冷冻干燥的或干燥细胞的扁藻某个种,优选肩突四扁藻来获得提取物。根据实施例33至40和41至48,以5 μ g/mL连续乙醇提取是用于增加体外人体皮肤中内披蛋白和丝聚蛋白的最有效提取。

[0052] W0 2017068424公开了用于治疗痤疮和易于产生痤疮的油性皮肤的化妆品或皮肤病组合物,其包括二氢杨梅素和锌盐,优选为葡萄糖酸锌,并且有利地包括鹰嘴豆芽素A或包括鹰嘴豆芽素A的植物提取物。组合物还能够含有多元醇,优选地选自木糖醇、山梨糖醇或甘露醇的组。在该组合物中没有给出多元醇的功能,并且没有表明多元醇本身具有减少皮脂活性。

[0053] EP 2583662也是如此,其公开了一种包括萜烯(meroterpen)的组合物来管控具有发展为易于痤疮的油性皮肤。

[0054] W0 2017120468描述了纳布啡用于治疗瘙痒病症的治疗用途,上述瘙痒病症包括

例如特应性皮炎、脂溢性皮炎、湿疹、寻常痤疮或并发有瘙痒的内脏疾病,使用甘露醇作为输送系统的一部分,用于持续释放包括约0.5%至约80%的刺槐豆胶、约5%至约80%的黄原胶、约20%至约80%的甘露醇和约0.5%至80%的脱水硫酸钙(calcium sulfate dehydrate)。并没有示出甘露醇的减少皮脂活性。

[0055] 微藻的生物多样性非常高,并且在很大程度上仍然是不确定的:迄今为止,已经描述了约35,000种的微藻,但是未知种的数目估计为200,000至800,000。这些生物体的适应性使它们能够合成稀有且具有生物活性的化合物,适合于维持特定和多样化的环境压力或与其他生物体成功竞争。通常已知不同的生物物种包括不同的物质。因此,通过使用一种微藻种可以获得的效果不能够用于预测通过使用不同微藻种可以获得的效果。

发明内容

[0056] 因此,本发明的问题是提供适于减少皮脂产生的新的药剂和获得该新的药剂的方法。

[0057] 本发明要解决的另一个问题是获得用于人体头发和/或皮肤功能障碍的治疗或预防的新的化妆品或皮肤病组合物和产品,以及这些组合物在化妆品和治疗应用的用途。

[0058] 与本发明相关的问题通过以下内容解决:

[0059] 一种肩突四扁藻提取物,其中肩突四扁藻提取物包括占总组合物 $\geq 10\text{wt.}\%$ 的总无机盐;

[0060] 其中肩突四扁藻提取物包括占总组合物 $\geq 5\text{wt.}\%$ 的甘露醇;

[0061] 其中肩突四扁藻提取物包括占总组合物 $\geq 3\text{wt.}\%$ 的总半乳糖,总半乳糖为游离的和结合的半乳糖的总和;

[0062] 其中肩突四扁藻提取物包括占总组合物 $\geq 2\text{wt.}\%$ 的总葡萄糖,总葡萄糖为游离的和结合的葡萄糖的总和;

[0063] 其中肩突四扁藻提取物包括占总组合物 $\geq 3\text{wt.}\%$ 的总氨基酸;

[0064] 其中肩突四扁藻提取物包括占总组合物 $\geq 2\text{wt.}\%$ 的总氮。成分比例基于干燥的提取物重量。

[0065] 一种获得扁藻提取物的方法以及所述方法的产品;获得扁藻提取物的方法包括:通过使用从由2-丙酮、乙醇、水、甲醇、异丙醇和两种或更多种这些提取剂的混合物组成的组中选出的液体提取剂提取(优选活的)、冷冻干燥的或干燥细胞的扁藻的步骤,并且其中提取包括:a)在高于 60°C 的温度下将细胞材料暴露于提取剂持续长达8小时,和b)去除细胞材料以获得提取物。优选地,提取物为干燥的肩突四扁藻提取物;在这种情况下,方法另外地包括步骤:c)去除提取用提取剂(extracting extractant)。优选地,提取步骤在扁藻的活的、冷冻干燥的或干燥细胞上进行。

[0066] 一种联合组合物,其包括扁藻提取物,并且进一步包括烟酰胺。

[0067] 一种扁藻提取浓缩物,其中扁藻提取浓缩物包括 $0.5\text{wt.}\%$ 至 $80\text{wt.}\%$ 的扁藻提取物或扁藻提取物与烟酰胺的联合组合物,其中扁藻提取浓缩物进一步包括 $0.5\text{wt.}\%$ 至 $90\text{wt.}\%$ 的水;其中扁藻提取浓缩物进一步包括 0.5 至 $90\text{wt.}\%$ 的载体;其中扁藻提取浓缩物进一步包括 0.1 至 $5\text{wt.}\%$ 的一种或多种防腐剂或防腐剂体系。

[0068] 肩突四扁藻藻类已经在意大利培养了一段时间,例如,由奥尔贝泰洛(Orbetello)

的一家意大利孵化场培养。此外,可以从CCAP (藻类和原生动物的培养物保藏所 (Culture Collection of Algae and Protozoa)) 获得不同来源的六株肩突四扁藻的菌株,例如CCAP 66/4、CCAP 66/22A、CCAP 66/22B、CCAP 66/22C、CCAP 66/22D和CCAP 66/38。然而,其他来源诸如肩突四扁藻藻类的培养物保藏所能够被认为是本发明的生物材料的潜在来源。

[0069] 扁藻生物质能够通过日光或人造光下,在光生物反应器或大型聚乙烯袋或罐中进行培养来获得。培养能够在室内或室外进行。当微藻生物质达到合适的细胞密度时,其能够通过离心、沉淀或絮凝或其他适合保持细胞材料完整性的技术来收获。然后将收获的生物物质以新鲜的(活的)或干燥的,例如通过冷冻干燥或喷雾干燥或通过其他合适的技术处理的,进行使用。作为提取的原材料,目前能够使用来自于先前使用有机溶剂——诸如例如乙酸乙酯、己烷、环己烷、丙酮、二氧化碳、甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、1-丁醇、2-丁醇、叔丁醇或有机溶剂的混合物——提取或处理的未提取的生物物质或残留的生物物质。

[0070] 特别地,本发明涉及获得扁藻提取物的新的方法。更具体地,该过程去除扁藻提取物中的有色成分。这具有增加提取物亮度的作用。

[0071] 令人惊讶地,目前发现微藻肩突四扁藻的提取物高效地减少皮脂产生。

[0072] 此外,令人惊讶地发现,扁藻提取物对涉及表皮连接,诸如桥粒(“机械”)、紧密、粘附和间隙连接的与细胞之间粘着和组织完整相关的许多基因强有力地上调表达,以及允许相邻细胞之间离子、第二信使和小的代谢物的交换。

[0073] 此外,扁藻提取物令人惊讶地调节与分化有关的基因和与诸如伤口愈合、组织再生和屏障形成的过程有关的表皮细胞再生。

[0074] 此外,扁藻提取物令人惊奇地增加了抗菌肽的基因表达。

[0075] 令人惊讶地,水通道蛋白3的表达对于皮肤中的水/甘油转运很重要,其也通过用扁藻提取物处理而被激发。

[0076] 此外,令人惊奇地发现,扁藻提取物强有力地下调COX-2基因表达以及抑制COX-2酶活性,这不仅会导致减少皮脂产生和抑制炎症过程和红斑,还能够预期对人体皮肤的PIH具有有益功效。

[0077] 因此,在第一方面,本发明涉及一种肩突四扁藻提取物,其包括:

[0078] a) 大于或等于总组合物的10wt.%的总无机盐,

[0079] b) 大于或等于总组合物的5wt.%的甘露醇,

[0080] c) 大于或等于总组合物的3wt.%的总半乳糖,总半乳糖是游离的和结合的半乳糖的总和,

[0081] d) 大于或等于总组合物的4wt.%的总葡萄糖,总葡萄糖为游离的和结合的葡萄糖的总和,

[0082] e) 大于或等于总组合物的3wt.%的总氨基酸,和

[0083] f) 大于或等于总组合物的2wt.%的总氮。

[0084] 成分比例基于干燥的提取物重量。

[0085] 因此,在其组成上,肩突四扁藻提取物区别于现有技术。特别地,在文献EP 2 193 785 A2中所进行的在低温下提取的结果与本发明的高温提取相比较示出于表2中。该比较示出了糖和氨基酸分布的显著差异。值得注意地,与现有技术中的仅3.5wt.%相比,高温提取的葡萄糖水平更高,从而使得葡萄糖量大于总组合物的4wt.%。

[0086] 优选通过在高于60°C的温度下用液体提取剂提取肩突四扁藻的细胞来获得肩突四扁藻提取物。优选使用新鲜的(活的)、干燥的,例如通过冷冻干燥或喷雾干燥或通过其他合适的技术处理的肩突四扁藻细胞。

[0087] 适合提取的液体提取剂是极性溶剂,即介电常数大于15的溶剂。优选地,使用从由2-丙酮、乙醇、水、甲醇、异丙醇和两种或更多种这些提取剂的混合物组成的组中选出的极性溶剂进行肩突四扁藻细胞的提取。

[0088] 在高于60°C的温度下将细胞材料暴露于提取剂持续长达8小时而进行提取。在肩突四扁藻细胞提取完成后,去除细胞材料以获得提取物。优选地,提取物是干燥的肩突四扁藻提取物。在此情况下,从提取的物质中去除提取用提取剂。

[0089] 因此,优选暴露时间为0.5至4小时,其提供能够显著减少皮肤的皮脂产生的扁藻提取物。甚至更优选的是,细胞材料对提取剂的暴露时间为1至3小时,这提供了具有增加的减少皮脂能力的提取物(参见操作实施例3和6)。

[0090] 获得的提取物并没有显示出浓郁的深绿色,而是米色,当将所得到的扁藻提取物应用于医药和/或化妆品和/或其他组合物中时,这是优选的(参见操作实施例1)。

[0091] 此外,大于或等于70°C的温度是优选的。发现该温度有利地影响获得的扁藻提取物的减少皮脂能力,并且还提供扁藻提取物的优选的着色。

[0092] 甚至更优选的是,在暴露期间的温度大于或等于75°C,最优选在75至95°C的范围内。该温度不仅提供上述着色和减少皮脂能力的益处,并且还提供具体的扁藻提取物,其令人惊奇地影响涉及在皮肤中的表皮连接、抗菌肽、水/甘油运输以及COX-2调节的基因的基因表达(参见操作实施例1、5、7、8、9)。

[0093] 优选地,基于提取物干重,肩突四扁藻提取物的总半乳糖含量为占总组合物的6至12wt.%,甚至更优选为占总组合物的8至11wt.%之间的游离半乳糖和结合半乳糖的总和。这也使得在基于肩突四扁藻提取物的化妆品和药物中的皮肤水合性质得到改善。

[0094] 优选地,基于提取物干重,肩突四扁藻提取物的总葡萄糖含量为游离的和结合的葡萄糖的总和,占总组合物的4至10wt.%,甚至更优选为占总组合物的6至9wt.%之间。这也使得尤其是在基于肩突四扁藻提取物的化妆品和药物中的皮肤水合性质得到改善。

[0095] 优选地,基于提取物干重,肩突四扁藻提取物的总精氨酸含量为游离的和结合的精氨酸的总和,占总组合物的0.2至1.5%wt.%,甚至更优选为占总组合物的0.6至1wt.%之间。

[0096] 优选地,基于提取物干重,肩突四扁藻提取物的总天冬酰胺含量为游离的和结合的天冬酰胺的总和,占总组合物的0.2至1.0wt.%,甚至更优选为占总组合物的0.3至0.5wt.%之间。

[0097] 优选地,基于提取物干重,肩突四扁藻提取物的总天冬氨酸含量为游离的和结合的天冬氨酸的总和,占总组合物的小于0.7wt.%,甚至更优选为占总组合物的0.2至0.3wt.%之间。

[0098] 优选地,基于提取物干重,肩突四扁藻提取物的总鸟氨酸含量为游离的和结合的鸟氨酸的总和,占总组合物的小于1.0%wt.%,甚至更优选为占总组合物的0.4至0.6%wt.%之间。

[0099] 在本申请中,如上文和整个申请中所指出的,肩突四扁藻提取物优选是干燥的肩

突四扁藻提取物,其通过部分或优选完全去除进行提取的提取剂而获得。如果提取剂被部分去除,则剩余的提取剂以0.5至10wt.%之间的量存在于提取物中。在某些情况下,优选采用液体天然形式的肩突四扁藻提取物,而无需干燥步骤。可选地,能够在部分干燥之前添加其他物质,诸如甘油。在这种情况下,通常可获得将有效成分溶解在其中的水性甘油溶剂体系。

[0100] 发现该提取物在减少皮脂产生方面非常高效。这对于包括10至14wt.%的甘露醇的提取物尤其有效。这由描述了这种提取物的减少皮脂作用的操作实施例3和6支持。优选地,提取物包括15至30wt.%的总无机盐。也是优选地,提取物包括7至20wt.%的总半乳糖。因此,优选范围内的半乳糖的量增加了提取物的保存期限。此外,优选地,提取物包括5至13wt.%的总葡萄糖,这也增加了提取物的保存期限。另外,提取物还优选包括至少6wt.%,但不超过16wt.%的总氨基酸。最后,优选提取物包括占总组合物的3至7wt.%的总氮。

[0101] 如上所述,提取物能够是干燥形式的,并且上述成分基于干燥的提取物计算,尽管这也能够是以液体形式来使用,诸如非干燥的天然提取物。

[0102] 在第一方面的优选的第一变体中,上述肩突四扁藻提取物包括:

[0103] a) 占总组合物的11至25wt.%的总无机盐,

[0104] b) 占总组合物的6至15wt.%的甘露醇,

[0105] c) 占总组合物的4至15wt.%的总半乳糖,该总半乳糖是游离的和结合的半乳糖的总和,

[0106] d) 占总组合物的4至10wt.%的总葡萄糖,该总葡萄糖为游离的和结合的葡萄糖的总和,

[0107] e) 占总组合物的4至10wt.%的总氨基酸,和

[0108] f) 占总组合物的3至5wt.%的总氮。

[0109] 再次,成分比例基于干燥的提取物。

[0110] 根据本发明的提取物,其特征不在于,具有高的半乳糖和葡萄糖含量。此外,与在室温下提取获得的肩突四扁藻提取物相比,氨基酸精氨酸和天冬酰胺被富集(参见表2)。尽管提取物具有减少皮脂作用,但认为增加的精氨酸和天冬酰胺的持水能力会增加表皮皮肤的水合作用。半乳糖和葡萄糖以及天冬酰胺也增加了提取物的保存期限。

[0111] 因此,证明根据第一方面的第一变体的肩突四扁藻提取物具有特别明显的减少皮脂作用。

[0112] 在第二方面,本发明涉及的获得扁藻提取物的方法包括:通过使用从由2-丙酮、乙醇、水、甲醇、异丙醇和两种或更多种这些提取剂的混合物组成的组中选出的液体提取剂提取扁藻的活的、冷冻干燥的或干燥细胞的步骤,并且其中提取包括:a) 在高于60°C的温度下将细胞材料暴露于提取剂持续长达8小时,和b) 去除细胞材料以获得提取物。优选地,提取物为干燥的肩突四扁藻提取物;在这种情况下,该方法还包括步骤:c) 去除提取用提取剂。

[0113] 因此,优选暴露时间为0.5至4小时,由于该时间跨度不仅缩短了扁藻提取物的生产时间,因而降低了生产成本和工作量,而且提供了能够显著减少皮肤的皮脂产生的扁藻提取物。

[0114] 甚至更优选的是,细胞材料对提取剂的暴露时间为1至3小时。因此,在该范围内的暴露时间进一步减少了生产时间和生产成本,而且还提供了具有增加的减少皮脂能力的提

取物(参见操作实施例3和6),该提取物也没有显示出浓郁的深绿色,而是呈米色。当将所得到的扁藻提取物应用于医药和/或化妆品和/或其他组合物中时,米色是优选的。

[0115] 此外,大于或等于70°C的温度是优选的。发现该温度有利地影响获得的扁藻提取物的减少皮脂能力,并且还提供扁藻提取物的优选的着色。

[0116] 甚至更优选在暴露期间的温度大于或等于75°C,最优选在75至95°C的范围内。该温度不仅提供上述着色和减少皮脂能力的益处,并且还提供具体的扁藻提取物,其令人惊奇地影响了涉及在皮肤中的表皮连接、抗菌肽、水/甘油运输以及COX-2调节的基因的基因表达(参见操作实施例1、5、7、8、9)。

[0117] 提取剂与扁藻基质的比例优选在80:1和3:1之间。更优选地为20:1至8:1。具有较少提取剂的这个相对较低比例可改善脱色效果。

[0118] 特别优选的一般提取方法是浸渍、再浸渍、消化、搅拌浸渍、涡旋提取、超声提取、对流提取、渗滤、再渗滤、抽空过滤(evacuation)(减压下提取)、亚临界或超临界流体提取、渗萃和在连续回流下的固/液提取。甚至更优选的是渗滤,并且发现渗滤具有有利的放大性能。

[0119] 一种优选的减小尺寸的方法是冷冻研磨。

[0120] 用于提取方法的优选溶剂是水或例如甲醇、乙醇、异丙醇、丙酮的有机溶剂和水的混合物。优选地,使用高于60°C,并且更特别是高于70°C温度的热水。

[0121] 用于去除提取用提取剂的另一种优选方法是在去除扁藻生物质/细胞并去除部分水后,将甘油添加到提取物水溶液中。然后,进一步优选的是向提取物中添加防腐剂或防腐剂体系,诸如山梨酸钾、苯甲酸钠和乳酸。

[0122] 任选地,能够根据起始材料、提取方法、提取温度以及溶剂与原料的比例来改变提取时间。

[0123] 在提取过程后,能够将获得的粗提取物任选地进行其他典型步骤,诸如例如纯化和/或进一步脱色。

[0124] 在第三方面,通过根据如上所述的第二方法方面的本发明的方法及其优选的变体获得根据第一方面的扁藻提取物。

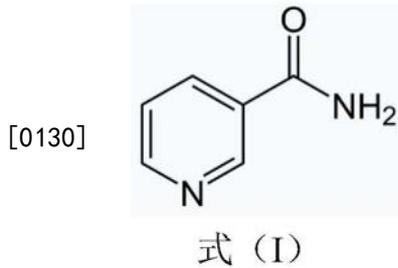
[0125] 通过在更高的提取温度下应用本发明的方法,可以获得具有有利性质,特别是有效地改善皮肤状况、疾病或疤痕的组分的扁藻提取物。

[0126] 此外,通过本发明的前述方面中描述的方法获得的组合物能够有益地影响紧密连接动态(操作实施例12),并且特别适合于影响涉及在皮肤中的表皮连接、抗菌肽、水/甘油运输以及COX-2调节的基因的基因表达(参见操作实施例1、5、7、8、9)。

[0127] 在如上所述的方法或产品中,特别优选的是,扁藻的类别是扁藻的某个种,更优选为肩突四扁藻。尽管一般的扁藻是合适的,但观察到肩突四扁藻提取物对皮肤治疗或保护优势特别明显。

[0128] 与烟酰胺的协同作用:

[0129] 烟酰胺(I)也称为烟碱(nicotinamide)是维生素B族中的一种水溶性维生素,特别是维生素B3复合物,以及存在于食品中,用作膳食补充剂,并且是皮肤和头发护理中的化妆品成分。



[0131] 已知烟酰胺是减少皮脂(Z.D.Draelos et al., J Cosmet Laser Ther. 2006, 8 (2), 96-101), 有效抗发炎和抗痤疮药剂(F.M.Walocko et al., Dermatol Ther. 2017, 30 (5). doi:10.1111/dth.12481)。烟酰胺还改善体内的表皮渗透性屏障(阻渗层, permeability barrier)。

[0132] 根据本发明, 本发明的进一步的第四方面是联合组合物, 其包括根据本文所述的本发明的扁藻提取物, 还包括烟酰胺。

[0133] 不可预见的是, 扁藻提取物与烟酰胺的组合表现出特别好的减少皮脂活性。令人惊讶地, 通过我们的实验发现, 扁藻提取物以及烟酰胺高度协同地降低了皮脂腺的总脂质含量, 即皮脂水平。这由本发明的操作实施例4支持。扁藻对烟酰胺的增强效果是出乎意料的。

[0134] 特别有效的是组合物中的组合, 其中扁藻提取物与烟酰胺的重量比范围为1:10000至1:1, 优选为1:2500至1:1, 更优选为从1:500至1:10, 最优选为1:400至1:300。再次, 重量比基于扁藻提取物干重来计算。

[0135] 优选是减少皮脂组合物, 其由扁藻提取物及烟酰胺组成或包括扁藻提取物及烟酰胺, 其中基于最终(皮肤护理)产品的总重量的扁藻提取物以0.01至0.05wt.%的量使用, 并且烟酰胺以0.5至5wt.%的量使用。

[0136] 发现以这种方式调节的制剂中扁藻提取物及烟酰胺的量具有协同的减少皮脂能力。

[0137] 此外, 扁藻提取物能够以提取浓缩物的形式使用。优选地, 根据第五发明方面, 所述扁藻提取浓缩物包括:

[0138] a) 0.5至80wt.%的根据第一方面的扁藻提取物或根据本发明的如上所述的联合组合物,

[0139] b) 0.5至90wt.%的水,

[0140] c) 0.5至90wt.%的载体。

[0141] 重量比基于扁藻提取物干重来计算。

[0142] 更优选的是, 如上所述的扁藻提取物或联合组合物的含量为0.5至30wt.%。此外, 更优选使用的水含量为10至80wt.%。另外, 载体的含量优选为15至70wt.%。

[0143] 优选地, 上述浓缩物进一步包括0.1至5wt.%的一种或多种防腐剂或防腐剂体系。在另一种优选形式中, 浓缩物还包括稳定剂。

[0144] 甚至更优选使用0.5至2wt.%的一种或多种防腐剂或防腐剂体系或稳定剂, 因为发现这个量的防腐剂或防腐剂体系或稳定剂能对如第五方面所述的提取浓缩物的保存期限有正面影响, 而对所制备的扁藻提取浓缩物的正面特征, 诸如皮脂去除能力没有负面影响。

[0145] 选择各个成分的量,使其符合化妆品指令76/768/EEC (Cosmetics Directive 76/768/EEC) 和欧盟指令95/17/EC (EU Directive 95/17/EC)。优选地,根据Cosmetics Directive 76/768/EEC的附录6的A和B部分中列出的类别和化合物使用防腐剂。更具体优选的防腐剂是苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、乳酸、山梨酸钾、苯氧乙醇或其组合。乳酸是优选的。最优选的是山梨酸。防腐剂加强剂优选是羟基苯乙酮、1,2-戊二醇、1,2-己二醇、1,2-辛二醇或其组合。但是,1,2-戊二醇也能够以更高的量用作第二液体载体。

[0146] 更优选地,上述浓缩物是液体或固体浓缩物。如果浓缩物是液体浓缩物,则有利地包括1至70wt.%的水,更优选地30至60wt.%的水。

[0147] 更优选地,扁藻提取浓缩物是液体扁藻提取浓缩物,其包括:

[0148] a) 0.5至10wt.%的根据本发明的扁藻提取物或联合组合物,

[0149] b) 1至70wt.%的水,

[0150] c) 0.5至85wt.%的液体载体,优选甘油,和

[0151] d) 任选地0.1至5wt.%的防腐剂或防腐剂体系。

[0152] 重量比基于扁藻提取物干重来计算。

[0153] 扁藻提取浓缩物优选包括2至3wt.%的扁藻提取物物质,优选2.5wt.%的扁藻提取物物质。

[0154] 甚至更优选的液体扁藻提取浓缩物是基于干重计算的包括以下物质的浓缩物:

[0155] a) 1至10wt.%的如本文所述的扁藻提取物或联合组合物,

[0156] b) 30至70wt.%的水,

[0157] c) 20至60wt.%的甘油,

[0158] d) 任选地,0.1至5wt.%的一种或多种防腐剂或防腐剂体系。

[0159] 特别优选的是,当扁藻提取浓缩物为液体扁藻提取浓缩物时,其包括:

[0160] a) 0.5至10wt.%的根据本发明的扁藻提取物或联合组合物,

[0161] b) 40至65wt.%的水,

[0162] c) 25至55wt.%的甘油,

[0163] d) 0.1至1wt.%的山梨酸钾,

[0164] e) 0.1至1wt.%的苯甲酸钠,和

[0165] f) 0.1至5wt.%的乳酸。

[0166] 重量比基于扁藻提取物干重来计算。

[0167] 液体扁藻提取浓缩物优选从提取物溶液中提取和分离生物物质后,并且通过部分或完全去除提取剂和任选添加液体载体,诸如例如甘油、丙二醇、丁二醇、1,3-丙二醇、1,2-戊二醇、1,2-己二醇,优选甘油或这些中的两种或多种的混合物,并且任选地添加防腐剂或防腐剂体系生产。这样的体系能够任选地包括0.1至5wt.%的防腐剂。

[0168] 液体载体1,2-戊二醇是特别优选的 (Hydrolite-5)。其能够起到防腐剂的作用,而且发现1,2-戊二醇与甘油的组合是一种优异的液体载体的组合。优选地,作为液体载体的甘油和1,2-戊二醇的组合与水一起形成提取浓缩物。

[0169] 一种液体扁藻提取浓缩物,其包括:

[0170] a) 0.5至10wt.%的基于干重计算的根据权利要求1、2、4~7中任一项的扁藻提取物或联合组合物,

- [0171] b) 30至70wt.%的水,
- [0172] c) 20至50wt.%的甘油,
- [0173] d) 5至20wt.%的1,2-戊二醇,
- [0174] e) 任选地0.1至5wt.%的一种或多种防腐剂或防腐剂体系。
- [0175] 优选地,甘油与水的比例为0.3:1至1.2:1,而1,2-戊二醇与水的比例为0.03:1至0.4:1。
- [0176] 用于本发明浓缩物的良好的防腐剂,以及特别地上述体系是苯甲酸钠或山梨酸钾,优选地与乳酸的组合。这些防腐剂化合物与扁藻提取浓缩物的组合效果很好。
- [0177] 优选的扁藻提取物溶液能够通过去除扁藻生物物质/细胞并进而去除部分水后,将甘油添加到提取水溶液中而获得。此后,对于添加诸如山梨酸钾、苯甲酸钠和/或乳酸的防腐剂或防腐剂体系,以获得能够用于治疗皮肤病的优选溶液是进一步有益的,但并非在所有情况下都是必要的。
- [0178] 因此,优选的扁藻提取物溶液包括2至3wt.%的肩突四扁藻提取物物质,优选为2.5wt.%的肩突四扁藻提取物物质、40至60wt.%的水、30至50wt.%的甘油、0.1至1wt.%的苯甲酸钠、0.1-0.5wt.%山梨酸钾,其中通过另外包括的乳酸将pH调节到4至5。
- [0179] 重量比基于扁藻提取物干重来计算。
- [0180] 还优选的是,扁藻提取浓缩物为固体扁藻提取浓缩物,其包括:
- [0181] a) 0.5至10wt.%根据本发明的扁藻或联合组合物,
- [0182] b) 0.5至8wt.%的水,和
- [0183] c) 50至98wt.%的固体载体,优选为麦芽糊精。
- [0184] 重量比基于扁藻提取物干重来计算。
- [0185] 在另一种优选的形式中,该固体扁藻提取浓缩物包括防腐剂或防腐剂体系。
- [0186] 从提取物溶液中提取和分离生物物质后,在没有或有事先部分去除提取剂的情况下,和任选添加固体载体后,通过使用合适的工艺诸如喷雾干燥、冷冻干燥或真空干燥进行干燥,有利益地生产固体扁藻提取浓缩物。固体载体为诸如例如改性淀粉如麦芽糊精、糊精或环糊精、乳糖、改性纤维素、树胶、二氧化硅,优选麦芽糊精,或这些中的两种或多种的混合物。上述树胶如黄原胶、结冷胶、瓜尔胶、阿拉伯胶、茄替胶、紫云英树胶或蝗虫豆树脂。
- [0187] 以上液体或固体扁藻提取浓缩物能够以占最终产品的0.0001至10wt.%,优选0.001至5wt.%,并且最优选0.005至3wt.%的量,用于化妆品和/或皮肤病和/或药物产品中,用于皮肤和头发护理和清洁。
- [0188] 已发现这些液体或固体扁藻提取浓缩物显示出良好的储存性质,易于处理、计量和配制。
- [0189] 在进一步的发明的第六方面,特别优选的是如本文所述的扁藻提取物或联合组合物或扁藻提取浓缩物,其用作用于治疗与皮肤有关的疾病和医学状况的药物。
- [0190] 特别优选的是本文所述的扁藻提取物,其作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、脂溢性皮炎(皮脂溢)、寻常痤疮、伤口愈合、组织再生、炎症后色素沉着、炎症相关疾病、头皮屑或花斑癣的药物。优选通过减少马拉色氏霉菌属来实现花斑癣的治疗。
- [0191] 据此,更优选地,如本申请第六方面所述的扁藻提取物,其作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、炎症相关疾病、痤疮和头皮屑的药物,其中根据前述方面,最

优选扁藻提取物是从肩突四扁藻获得的提取物。

[0192] 有趣的是,优选从肩突四扁藻获得的扁藻提取物,更优选根据本发明的第二发明方面制备的扁藻提取物,其被用作治疗或预防人体头发和/或皮肤功能障碍、炎症相关疾病、痤疮和头皮屑的药物时特别有效。

[0193] 此外,特别优选的是如本发明所述的联合组合物,作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、脂溢性皮炎(皮脂溢)、寻常痤疮、伤口愈合、组织再生、炎症后色素沉着、炎症相关疾病、头皮屑或花斑癣的药物。优选通过减少马拉色氏霉菌属来实现花斑癣的治疗。

[0194] 甚至更优选的是如本文所述的联合组合物,其作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、寻常痤疮或脂溢性皮炎的药物,其中根据前述方面,最优选扁藻提取物是从肩突四扁藻获得的提取物。

[0195] 令人惊讶地,烟酰胺和如先前的发明方面所述的扁藻提取物的组合,尤其当所包括的扁藻提取物是根据本发明的第二方面所制备的时,在作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、寻常痤疮或脂溢性皮炎的药物时特别有效。

[0196] 此外,特别优选的是,本文所述的扁藻提取浓缩物作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、脂溢性皮炎(皮脂溢)、寻常痤疮、伤口愈合、组织再生、炎症后色素沉着、炎症相关疾病、头皮屑或花斑癣的药物。优选通过减少马拉色氏霉菌属来实现花斑癣的治疗。

[0197] 据此,更优选的是,扁藻提取浓缩物作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、炎症相关疾病或痤疮的药物,其中最优选扁藻提取物是从根据前述方面的从肩突四扁藻获得的提取物。

[0198] 发现包括如本发明前述发明方面所述的扁藻提取物或联合组合物的扁藻提取浓缩物当作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、炎症相关疾病或痤疮的药物时是有效的。据此,扁藻提取浓缩物优选包括通过本发明第二方面要求保护的方法获得的扁藻提取物,因为当扁藻提取浓缩物作为用于治疗或预防人体头发和/或皮肤的功能障碍、炎症相关疾病或痤疮的药物时特别有效。

[0199] 进一步优选的是,根据本发明的用于治疗皮肤疾病的皮肤病或治疗产品包括根据本发明的扁藻提取物或联合组合物或扁藻提取浓缩物、以及任选地辅助物质。

[0200] 制剂还能够含有溶剂,诸如初始提取剂或优选占基于制剂的总重量的高达99wt.%,优选5至80wt.%的水。据此,甚至更优选地,根据本发明的制剂是例如,W/O(油包水(water-in-oil))乳液、O/W(水包油(oil-in-water))乳液、W/O/W(水包油包水(water-in-oil-in-water))乳液、O/W/O(油包水包油(oil-in-water-in-oil))乳液。溶剂也能够是上述量的溶剂体系,并且能够含有部分甘油。

[0201] 能够包括基于制剂的总重量的0.1至99wt.%,优选1至90wt.%,优选60至80wt.%的量的辅助物质和添加剂。

[0202] 辅助物质和/或添加剂优选选自以下组中的一种或多种:冷却剂、成膜物质、抗氧化剂、维生素、2-羟基羧酸、皮肤着色剂、皮肤保湿性物质、脂肪/脂肪酸、蜡或其他化妆品或皮肤病制剂的常规成分,诸如醇、多元醇、聚合物、泡沫稳定剂、电解质、有机溶剂、硅衍生物或螯合剂、香料、防止起泡的物质、染料、具有着色作用的颜料、增稠剂、表面活性物质、乳化

剂、植物部分和植物提取物、动物提取物、蜂胶、蛋白质、水解蛋白和酵母提取物。

[0203] 据此,当所述化合物的组用作辅助物质和/或添加剂时,特别优选地,成膜物质选自例如聚乙烯吡咯烷酮或壳聚糖或其衍生物;

[0204] 维生素选自例如维生素C和衍生物、生育酚和衍生物、维生素A和衍生物;

[0205] 2-羟基羧酸选自例如柠檬酸、苹果酸、L-,D-或dl-乳酸;

[0206] 皮肤着色剂选自例如胡桃提取物或二羟基丙酮;

[0207] 皮肤保湿剂选自例如甘油或尿素;

[0208] 脂肪酸选自单不饱和或多不饱和脂肪酸或 α -羟基酸或多羟基脂肪酸或其衍生物,诸如例如亚油酸、 α -亚麻酸、 γ -亚麻酸或花生四烯酸和其天然或合成酯的亚组之一或组合;

[0209] 螯合剂选自例如乙二胺四乙酸和衍生物;

[0210] 增稠剂选自二氧化硅、硅酸铝,诸如例如膨润土、多糖或其衍生物,例如透明质酸(hyaluric acid)、瓜尔胶、黄原胶、羟丙基甲基纤维素或阿卢糖衍生物,特别有利地,聚丙烯酸酯,诸如例如,聚羧乙烯(carbopol)或聚氨酯;

[0211] 植物部分和植物提取物选自植物例如山金车花、芦荟、松萝、常春藤、刺荨麻(stinging nettle)、人参、指甲花、洋甘菊、万寿菊、迷迭香、鼠尾草、木贼、燕麦、姜、蛇麻(hop)、小麦或百里香中之一或组合。

[0212] 在本发明的进一步的第七方面,我们提供了一种化妆品产品。特别优选的是,化妆品产品包括根据本发明的扁藻提取物或联合组合物或扁藻提取浓缩物、以及任选的辅助物质和/或香料,其中化妆品产品是人体皮肤和/或头发护理产品。

[0213] 进一步优选的是,如前所述的皮肤病或治疗产品或根据本发明的化妆品产品,包括基于总产品重量在产品中的0.0001至10wt.%,优选0.005至3wt.%量的扁藻提取物或扁藻提取浓缩物。重量比根据扁藻提取物干重来计算。

[0214] 此外,优选的是根据本发明的第二方面制备如上所述的皮肤病或治疗产品中施用的扁藻提取物或扁藻提取浓缩物。此外,优选地,从肩突四扁藻制备所述扁藻提取物或所述扁藻提取浓缩物。

[0215] 在另一个优选的变体中,本发明涉及根据本发明的扁藻提取物或联合组合物或扁藻提取浓缩物用于施用、护理、清洁、防晒或保护皮肤和/或头发的非治疗或美容用途。

[0216] 根据本发明的优选的组合物选自用于治疗、保护、护理和清洁皮肤和/或头发的产品,或作为免洗型(leave-on)或冲洗型(rinse-off)产品的化妆产品的组,最优选作为免洗型产品。

[0217] 根据本发明的制剂优选为乳液形式。

[0218] 据此,甚至更优选地,根据本发明的制剂是例如,W/O(油包水)乳液、O/W(水包油)乳液、W/O/W(水包油包水)乳液、O/W/O(油包水包油)乳液、PIT乳液、皮克林乳液、低油含量的乳液、微或纳米乳液、例如在油(脂肪油或脂肪酸酯,特别是C₆-C₃₂脂肪酸、C₂-C₃₀酯或硅油)中的溶液、分散液、悬浮液、霜剂、乳液或乳状物(取决于生产的方法和成分)、凝胶(包括水凝胶、水分散凝胶(hydrodispersion gel)、油凝胶)、喷雾剂(例如泵喷雾剂或推进剂喷雾剂)或泡沫或用于化妆巾的浸渍液、洗涤剂例如肥皂、合成洗涤剂、洗液、淋浴和沐浴剂、沐浴产品(胶囊、油、片剂、盐、沐浴盐、肥皂等)、泡腾剂、皮肤护理产品(诸如例如乳液

(如上所述)、软膏、糊剂、凝胶(如上所述)、油、香脂、精华液、粉末(例如擦面粉、擦体粉)、滋补剂、面膜(mask)、笔、棒、走珠式、泵、喷雾剂(发泡、不发泡或后发泡)、除臭剂和/或止汗剂、漱口水和口腔清洗剂、足部护理产品(包括角质软化剂、除臭剂)、杀虫剂、防晒霜、晒后制剂、剃须产品、须后润肤霜、剃须前和须后乳液、脱毛剂、头发护理产品诸如例如洗发水(包括二合一洗发水、去屑洗发水、婴儿洗发水、头皮洗发水(shampoo for scalps)、浓缩洗发水、护发素、头发滋补剂、头发水(hair water)、染发液(hair rinse)、定型霜、润发油、烫发和定型乳液、发胶、定型助剂(例如凝胶或蜡)头发平滑剂(理顺剂(detangling agent)、松弛剂)、染发剂诸如例如临时直接染发剂、半永久染发剂、永久染发剂、护发乳、摩丝、眼部护理产品、化妆、卸妆产品或婴儿产品。

[0219] 根据本发明的制剂特别优选为乳液形式,特别是W/O、O/W、W/O/W、O/W/O乳液、PIT乳液、皮克林乳液、低油含量的乳液、微或纳米乳液、凝胶(包括水凝胶、水分散凝胶、油凝胶)、洗涤剂(例如肥皂、合成洗涤剂、洗液)、溶液(例如滋补剂、面部爽肤水或作为湿纸中的浸渍液)、喷雾剂(例如泵喷雾剂或推进剂喷雾剂)、洗发水(包括二合一洗发水、去屑洗发水、婴儿洗发水、敏感头皮洗发水、浓缩洗发水)、护发素、头发滋补剂、发膜、头发水。

[0220] 在另一个优选的第八方面,我们描述了用于减少皮脂的根据本发明的扁藻提取物或组合组合物或扁藻提取浓缩物的化妆品用途。

[0221] 本发明进一步优选的第九方面是根据本发明的扁藻提取物或组合或扁藻提取浓缩物在以下方面的用途:

[0222] a) 刺激(stimulation)皮肤的连接,

[0223] b) 刺激皮肤的抗菌肽,

[0224] c) 减少COX-2基因表达和前列腺素介导的效应,

[0225] d) 减少炎症后色素沉着,

[0226] e) 刺激丝聚蛋白。

[0227] 优选地,根据本发明的扁藻提取物或联合组合物或扁藻提取浓缩物从美容方面:

[0228] a) 用于改善皮肤的表皮完整性,

[0229] b) 用于预防外界刺激,诸如空气污染或颗粒物诱导效应,

[0230] c) 用于预防皮肤屏障功能障碍。

[0231] 可选的优选变体是根据本发明的治疗或化妆品产品,其进一步包括以下一种或多种:其它减少皮脂药剂、抗痤疮药剂、去头皮屑药剂、其它抗发炎药剂、TRPV1拮抗剂、抗瘙痒药剂、抗菌药剂、尤其抗痤疮丙酸杆菌药剂、抗马拉色氏霉菌属药剂。

[0232] 我们目前还公开了根据前述变体的治疗产品作为药物用于治疗根据本发明的本文所述的任何疾病,特别是用于皮肤病。

[0233] 我们目前还公开了如上所述的化妆品产品,其用于根据本发明的本文所述的非治疗施用,特别是用于皮肤保护。

[0234] 在制剂中,扁藻提取物能够与其他皮脂减少剂和/或抗痤疮药剂组合,尤其是如果这些药物通过不同的途径起作用,那么可以预期会有更明显的活性。由于皮肤的脂溢性的条件是细菌和真菌生长,并从而对于例如不纯净皮肤或痤疮的发展的理想营养培养基,所以用于预防和/或治疗油性皮肤的组合物同样也是用于预防和/或治疗不纯净的皮肤或痤疮的优选组合物。合适的药剂是例如类视黄醇如13-顺式-维生素A酸(异维A酸)、全反式维甲

酸、阿达帕林、其盐或衍生物,雄激素抑制剂,如螺内酯和环丙孕酮、抗生素,优选氯林可霉素、红霉素和四环素、锌或锌盐,及抗雄激素,5- α -还原酶抑制剂、D-泛酰醇、 α -羟基酸,诸如例如水杨酸和乳酸、丙酮酸(α -酮酸),脂肪族二羧酸,诸如例如壬二酸、L-肉毒碱、补骨脂酚、1,2-癸二醇、洋川芎内酯-A、包括洋川芎内酯-A的芹菜籽油、皂皮树提取物、绿花恩南蕃茄茎皮提取物、榆绣线菊提取物、鳄梨油酸丁酯(butyl avocadate)、维生素B6(也称为吡哆醇)或其盐或衍生物、维生素B3(也称为烟碱酸或烟酸)或其盐或衍生物、过氧化苯甲酰、根皮素、茶树提取物和含有的多酚,诸如例如表没食子儿茶素没食子酸酯、红车轴草(假三叶草)提取物、大豆(野生大豆)种子提取物、异黄酮或含有异黄酮提取物,优选鸡豆黄素A、金雀异黄素、大豆黄素、染料木苷和黄豆苷元(daizin)。

[0235] 上述产品组,优选地与优选的辅助物质、添加剂和/或用于减少皮肤的皮脂浓度的制剂的活性化合物组合,也优选作为预防和/或治疗油性皮肤、不纯净皮肤或痤疮的制剂。

[0236] 一种用于局部施用优选的化妆品或治疗皮肤病制剂,包括以下成分或由以下组成:一定量的扁藻,特别是肩突四扁藻,其足以降低皮肤的皮脂浓度,以及一种或多种活性化合物。更优选地,所述制剂包括两种、三种或四种活性化合物的组合。

[0237] 优选地,活性化合物选自以下组中的一种或多种化合物种类:抗雄激素、含有异黄酮提取物、类视黄醇、维生素、有机过氧化物、有机醚、有机酸或醇。

[0238] 更优选地,活性成分选自:1,2-癸二醇、补骨脂酚、水杨酸;乳酸;壬二酸;类视黄醇,优选13-顺式-维生素A酸(异维A酸)、全反式维甲酸、阿达帕林、其盐或衍生物;过氧化苯甲酰;D-泛酰醇、维生素B6(也称为吡哆醇)或其盐,例如盐酸吡哆醇或衍生物、维生素B3(也称为烟碱酸或烟酸)或其盐或衍生物、鳄梨油酸丁酯、法尼醇;苯氧乙醇;红车轴草(假三叶草)提取物、异黄酮或含有异黄酮提取物,优选鸡豆黄素A、金雀异黄素、大豆黄素、染料木苷和黄豆苷元,及抗雄激素,优选5- α -还原酶抑制剂。

[0239] 甚至更优选地,一种或多种活性化合物选自由以下构成的组中:1,2-癸二醇、水杨酸、乳酸、壬二酸、过氧化苯甲酰、D-泛酰醇、13-顺式-维生素A酸(异维A酸)、全反式维甲酸、阿达帕林、其盐或衍生物、补骨脂酚、红霉素、硫磺、鳄梨油酸丁酯、法尼醇、苯氧乙醇、盐酸吡哆醇、红车轴草(假三叶草)提取物、鸡豆黄素A、金雀异黄素、大豆黄素、染料木苷、黄豆苷元和5- α -还原酶抑制剂。

[0240] 甚至更优选地,一种或多种活性化合物选自由以下构成的组中:1,2-癸二醇、水杨酸、壬二酸、过氧化苯甲酰、D-泛酰醇、13-顺式-维生素A酸(异维A酸)、全反式维甲酸、阿达帕林、其盐或衍生物、补骨脂酚、红霉素、鳄梨油酸丁酯、苯氧乙醇、盐酸吡哆醇、红车轴草(假三叶草)提取物、鸡豆黄素A、金雀异黄素、大豆黄素和5- α -还原酶抑制剂。

[0241] 最优选地,一种或多种活性化合物选自由以下构成的组中:1,2-癸二醇、水杨酸、壬二酸、过氧化苯甲酰、D-泛酰醇、阿达帕林、补骨脂酚、红霉素、鳄梨油酸丁酯、盐酸吡哆醇和鸡豆黄素A。

[0242] 此外,高度优选包括烟酰胺作为活性化合物。

[0243] 优选地将一种或多种活性化合物与去头皮屑活性药剂组合。发现特别是如果这些经由不同的生物途径起作用,则整体效果更为明显。去头皮屑药剂能够是选自由以下构成的组中的一种材料或混合物:唑(azole),诸如氯咪巴唑、酮康唑、伊康唑、益康唑和新康唑(elubiol);羟基吡啶酮,诸如羟甲辛吡酮(octopirox、piroctone olamine)、环吡酮、利洛

吡司和MEA-羟基辛氧基吡啶酮(MEA-hydroxyoctyloxypyridinone);溶解剂(kerolytic agent),诸如水杨酸和其它的羟基酸;丙烯酸酯类(strobilurin)诸如噻菌酯(azoxystrobin)和金属螯合剂,诸如1,10-菲啰啉。

[0244] 在一个实施方式中,唑类抗菌剂是选自由以下构成的组中的咪唑:苯并咪唑、苯并噻唑、联苯苄唑、布他康唑硝酸盐(butaconazole nitrate)、氯咪巴唑、克霉唑、氯康唑、依柏康唑、益康唑、新康唑、芬替康唑、氟康唑、氟西咪唑(flutimazole)、异康唑、酮康唑、拉诺康唑、甲硝哒唑、咪康唑、奈康唑、奥莫康唑、奥昔康唑硝酸盐(硝酸奥昔康唑)、舍他康唑、硫康唑硝酸盐(硝酸硫康唑)、噻康唑、噻唑,及其混合物、或唑类抗菌剂是选自由以下构成的组中的三唑:特康唑、伊康唑、及其混合物。

[0245] 在一个实施方式中,优选的去头皮屑药剂能够以0.1wt.%至10wt.%的量存在,在另一个实施方式中,以0.25wt.%至8wt.%的量存在,在又一个实施方式中,以0.5wt.%至6wt.%的量存在。

[0246] 根据本发明衍生或基于扁藻提取物的产品和浓缩物能够与防晒因子组合,防晒因子例如,在室温下是液体或晶体并且能够吸收紫外线辐射并且能够以更长波辐射的形式例如,热释放所吸收的能量的有机物质(滤光剂(light filter)),或无机UV滤光剂,诸如二氧化钛(TiO₂)或氧化锌(ZnO)。

[0247] 根据本发明的优选的化妆品组合物和产品、优选地局部制剂包括一种、两种、三种或更多种防晒因子,该防晒因子选自由4-氨基苯甲酸及其衍生物、水杨酸衍生物、二苯甲酮衍生物、二苯甲酰甲烷衍生物、双酚单丙烯酸酯、3-咪唑-4-基丙烯酸及其酯、苯并咪唑衍生物、亚苄基丙二酸酯衍生物、含有一种或多种有机硅基团的聚合UV吸收剂、肉桂酸衍生物、樟脑衍生物、三苯胺基-s-三吡嗪衍生物、2-羟苯基苯并三唑衍生物、苯基苯并咪唑磺酸衍生物及其盐、邻氨基苯甲酸薄荷酯、苯并三唑衍生物和吡啶衍生物组成的组中。

[0248] 根据本发明的制剂和产品有利地包括至少一种UV-A滤光剂和/或至少一种UV-B滤光剂和/或宽带滤光剂(broadband filter)和/或至少一种无机颜料。根据本发明的制剂优选包括至少一种UV-B滤光剂或宽带滤光剂,更特别优选至少一种UV-A滤光剂和至少一种UV-B滤光剂。

[0249] 在根据本发明的制剂和产品中,扁藻提取物还能够与抗发炎或抗刺激药剂组合,优选地如果这些药剂的作用途径不同于对痤疮相关的疮疱丙酸杆菌(*P. acnes*)和/或头皮屑相关的马拉色氏霉菌属的某个种(*Malassezia* sp.)作用的COX-2/PGE2和/或抗痤疮药剂和/或抗菌药剂。如果该制剂旨在用于不纯净、容易产生痤疮或痤疮油性皮肤或敏感的油性皮肤或敏感的油性头皮或头皮屑,则这些组合物特别有益。

[0250] 本发明的组合物和产品能够包括抗发炎和/或发红和/或止痒的成分,特别是选自由氢化可的松、地塞米松、地塞米松磷酸盐(磷酸地塞米松)、甲基强的松龙或可的松的皮质类固醇类型的甾族物质组成的组中,其有利地用作抗发炎活性成分或减轻发红和瘙痒的活性成分,可通过添加其他甾族抗炎药来扩展其种类。也可以使用非甾族类抗炎药。在此可以列举的实例有:昔康类(oxicam)诸如吡罗昔康或替诺昔康;水杨酸盐诸如阿司匹林、双水杨(disalcid)、索尔普林(solprin)或芬度柳(fendosal);乙酸衍生物诸如双氯芬酸、芬氟酸、吡啶美辛、舒林酸、托美丁或克林达纳克(clindanac);灭酸酯类(fenamate)诸如甲芬那、甲氯芬那(meclofenamic)、氟芬那(flufenamic)或尼氟;丙酸衍生物诸如布洛芬、萘普生、苯

恶洛芬或吡唑类诸如苯基丁氮酮 (phenylbutazone)、羟基保泰松 (oxyphenylbutazone)、非普拉宗 (febrazone) 或阿扎丙宗。在根据本发明的组合物中, 邻氨基苯甲酸衍生物, 特别是 WO 2004 047833 A 中所述的燕麦蒽酰胺 (avenanthramide) 是优选的抗瘙痒成分。

[0251] 天然或天然存在的抗发炎/抗刺激物质的混合物, 或减轻炎症和/或变红和/或瘙痒的物质混合物, 尤其是下列的提取物或馏分也是有用的: 洋甘菊、芦荟、没药属某些种 (Commiphora species)、茜草属某些种 (Rubia species)、柳树、柳叶菜 (willow-herb)、燕麦、金盏草、山金车花、圣约翰草 (St John's wort)、金银花、迷迭香、粉色西番莲 (Passiflora incarnata)、北美金缕梅、姜或松果菊属; 优选自由以下组成的组中的提取物或馏分: 洋甘菊、芦荟、燕麦、金盏草、山金车花、金银花、迷迭香、北美金缕梅、姜或松果菊属, 和/或纯物质、天然 α -红没药醇 (alpha-bisabolol)、合成红没药醇、芹菜素、芹菜甙元-7-葡萄糖甙、姜辣素、姜烯酚、姜二醇、脱氢姜二酮 (Dehydrogingerdione)、姜酮酚 (paradol), 尤其天然或合成6-姜酮酚、天然存在的燕麦蒽酰胺, 优选燕麦蒽酰胺A、燕麦蒽酰胺B、燕麦蒽酰胺C、燕麦蒽酰胺D、燕麦蒽酰胺E、非天然或非天然存在的燕麦蒽酰胺, 优选二氢燕麦蒽酰胺D、二氢燕麦蒽酰胺E、曲尼司特、乳香酸、植物甾醇、甘草皂苷、甘草黄酮、香紫苏内酯 (sclareolide) 和甘草查尔酮A (licochalcone A); 优选自由以下组成的组中: 天然 α -红没药醇、合成红没药醇、天然燕麦蒽酰胺、非天然燕麦蒽酰胺, 优选二氢燕麦蒽酰胺D (如在WO 2004 047833 A1中描述)、姜提取物、姜辣素、姜烯酚、姜二醇、脱氢姜二酮、姜酮酚, 尤其天然或合成6-姜酮酚、乳香酸、植物甾醇、甘草皂苷, 和甘草查尔酮A、和/或尿囊素 (allantoin)、香紫苏内酯、泛酰醇、(伪)神经酰胺 ((pseudo-) ceramide) [优选神经酰胺2、羟丙基双棕榈酰胺M EA (hydroxypropyl bispalmitamide M EA)、十六氧丙基甘油基甲氧丙基肉豆蔻酰胺 (cetyloxypropyl glyceryl methoxypropyl myristamide)、N-(1-十六酰基)-4-羟基-L-脯氨酸 (1-十六烷基) 酯 (N-(1-hexadecanoyl)-4-hydroxy-L-proline (1-hexadecyl) ester)、羟乙基棕榈基羟丙氧基棕榈酰胺 (hydroxyethyl palmityl oxyhydroxypropyl palmitamide)]、植物甾醇、壳聚糖和 β -葡聚糖, 尤其来自燕麦的1,3-1,4-葡聚糖。

[0252] 根据本发明的制剂或产品中的抗刺激剂或抗发炎物质的总量, 分别基于制剂或产品的总重量, 优选为0.0001至20wt.%, 优选0.0001至10wt.%, 特别是0.001至5wt.%的范围。

[0253] 瞬时受体电位阳离子通道亚族V成员1 (TRPV1) 拮抗剂

[0254] 能够与本发明产品组合的合适的化合物是这样的化合物, 其基于它们作为TRPV1拮抗剂的作用而减少皮肤神经的超敏反应, 这些化合物包括优选地例如在WO 2009 087242 A1中所述的反式-4-叔丁基环己醇, 或通过激活 μ -受体例如乙酰四肽-15 (acetyl tetrapeptide-15) 的TRPV1间接调节剂。

[0255] 本发明制剂中的扁藻提取物也能够与去头皮屑药剂组合。合适的去头皮屑药剂为: 吡罗克酮乙醇胺盐 (1-羟基-4-甲基-6-(2,4,4-三甲基戊基)-2-(1H)-吡啶酮单乙醇胺盐) (Pirocton Olamin (1-hydroxy-4-methyl-6-(2,4,4-trimethylpentyl)-2-(1H)-pyridinonemonoethanolamine salt))、甘宝素 (氯咪巴唑) (Baypival (Climbazole))、**Ketoconazol®** (2RS,4SR)-1-(4-{4-[-2-(2,4-二氯苯基)-2-(咪唑-1-基甲基)-1,3-二氧戊环]-4-基甲氧基]苯基}哌嗪-1-基)乙酮 ((2RS,4SR)-1-(4-{4-[-2-(2,4-

Dichlorophenyl)-2-(imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxo lan-4-ylmethoxy]phenyl} piperazin-1-yl) ethanon)、酮康唑、新康唑、二硫化硒、胶体硫、硫聚乙二醇山梨醇单油酸酯(sulfur polyethylene glycol sorbitan monooleate)、蓖麻油醇聚乙氧基硫酸酯(sulfur ricinol polyethoxylate, 硫蓖麻醇聚乙氧基化物)、硫焦油馏分(sulfur tar distillate)、水杨酸(或与六氯酚的组合)、十一烯酸、单乙醇酰胺磺基琥珀酸钠盐、雷米邦 S(蛋白质/十一烯酸缩合物)、锌羟基吡啶硫酮(zinc pyrithione)、铝羟基吡啶硫酮和镁羟基吡啶硫酮/双硫氧吡啶硫酸镁(dipyrithione magnesium sulfate)。

[0256] 用于局部施用的进一步优选的化妆品制剂包括以下成分或由以下成分组成:

[0257] 足以降低皮肤的皮脂浓度的量的扁藻提取物;

[0258] 一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多, 优选二或更多, 更优选三或更多的清洁辅助物质;

[0259] 任选地一种或多种其他辅助物质和/或添加剂。

[0260] 这种化妆品制剂特别适用于清洁油腻和/或不纯净的皮肤。

[0261] 在制剂中, 本发明扁藻提取物和产品也能够与成膜剂组合, 尤其当这些提供附加的局部的物理屏障来保护皮肤。它们将增加扁藻提取物的表皮完整性改善效果, 当已表明外界刺激诸如例如PM可增加皮脂产生并导致屏障功能障碍, 这尤其有益。

[0262] 典型的成膜剂是, 例如, 壳聚糖、微晶壳聚糖、季铵化(quaternized)壳聚糖、聚乙烯吡咯烷酮、乙烯基四氯化吡咯/乙酸乙烯酯共聚合物、丙烯酸系列聚合物、季铵型纤维素(quaternary cellulose)衍生物、胶原、质酸及其盐、 β -葡聚糖如来自燕麦的1,3-1,4-葡聚糖或来自酵母或蘑菇的1,3-1,6-葡聚糖和类似化合物。

具体实施方式

[0263] 实验部分

[0264] 实施例1: 肩突四扁藻提取物的制备

[0265] 将3g冷冻干燥的肩突四扁藻生物质和30g水混合, 并在80°C下搅拌2小时。从生物质中分离出液体提取物, 将30g水加入到提取的生物质中, 并将混合物在80°C下再搅拌2小时。通过离心将液体与生物质分离, 将两次提取溶液合并, 并通过冷冻干燥除去水。用3个不同的生物质批次进行提取。

[0266] 为了比较, 根据US2010143267 A1的说明书从相同的3个生物质批次中制备含水提取物, 并通过冷冻干燥除去水。

[0267] 表1: 在室温和80°C下通过提取获得的肩突四扁藻提取物

提取条件	平均产率	外观
[0268] 80°C	38.4 ± 0.2 %	黄绿色 (Beige greenish) 固体
室温 (18 至 23°C)	40.0 ± 0.9 %	暗绿色固体

[0269] 与在室温下的提取相比, 加热同时提取可得到相当的、略微降低的、高的提取率, 但令人惊讶的是其提供了浅得多的有色提取物, 这对于用作化妆品成分特别有利, 因为消费者更喜欢浅色产品。另外, 热处理还具有附加的益处是生物质中的酶被灭活, 这在使用活

的或非灭活的生物质时尤其有利。此外,尤其对于使用水的提取或水含量高的提取剂体系具有挑战性的细菌、真菌或酵母的微生物污染,可通过在高温(>50℃)下的提取被阻止。

[0270] 表2:通过在80℃下提取而获得的肩突四扁藻提取物的组分

[0271]	物质种类	平均含量 [wt.-%] (在 80℃下获 得的提取物)	平均含量 [wt.-%] (在室温 (18 至 23℃) 下获得的提
			取物)
	无机盐的总和	20.3 ± 0.6	21,4 ± 0.8
	包括但不限于:		
	钠 Na ⁺	5.7 ± 0.2	5.7 ± 0.3
	钾 K ⁺	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.2
	镁 Mg ²⁺	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.0
	钙 Ca ²⁺	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.0
	氯化物 Cl ⁻	6.9 ± 0.2	7.1 ± 0.2
	硫酸盐 SO ₄ ²⁻	2.1 ± 0.1	2.6 ± 0.1
	磷酸盐 PO ₄ ³⁻	0.4 ± 0.2	0.9 ± 0.4
	甘露醇	11.8 ± 0.9	11.6 ± 0.7
	总半乳糖 (游离的和结合的) *	9.7 ± 0.7	7.8 ± 0.4
	总葡萄糖 (游离的和结合的) *	7.0 ± 0.8	3.5 ± 0.0
[0272]	氨基酸的总和	8.4 ± 0.8	9.2 ± 0.7
	包括但不限于:		
	谷氨酸	2.88 ± 0.30	2.77 ± 0.27
	丙氨酸	1.11 ± 0.08	1.10 ± 0.10
	精氨酸	0.80 ± 0.30	0.17 ± 0.02
	鸟氨酸	0.54 ± 0.28	1.26 ± 0.17
	瓜氨酸	0.53 ± 0.23	0.74 ± 0.03
	天冬酰胺	0.39 ± 0.04	0.19 ± 0.02
	牛磺酸	0.39 ± 0.04	0.35 ± 0.04
	赖氨酸	0.37 ± 0.04	0.49 ± 0.02
	天冬氨酸	0.27 ± 0.10	0.76 ± 0.03
	脯氨酸	0.14 ± 0.02	0.18 ± 0.02
	谷氨酰胺	0.12 ± 0.06	0.07 ± 0.02
	总氮 **	4.22 ± 0.17	4,91 ± 0.16

[0273] *经水解和衍生化后通过GC测定

[0274] **由氮分析仪(nitrogen analyzer)确定

[0275] 比较在室温(RT)和80℃下提取物的值,显而易见的是,相应于较低温度提取时某些组分被保留(conserved),而其他组分变化(shifted)。特别地,半乳糖和葡萄糖的含量显著不同(分别从7.8至9.7wt-%和从3.5至7.0wt-%增加)。同样,某些氨基酸的含量显著提高,诸如精氨酸和天冬酰胺(分别为从0.17至0.8wt-%和从0.19至0.39wt-%)。一些其他氨基酸选择性地减少,诸如天冬氨酸从0.76wt-%下降至0.27wt-%以及鸟氨酸从1.26wt-%下降至0.54wt-%。总体而言,除磷酸盐外,大多数无机化合物都被保留。

[0276] 实施例2:液体形式(version)的肩突四扁藻提取物的制备

[0277] 将97g水、79g甘油(99.5%)、0.5%的苯甲酸钠和0.2%的山梨酸钾(两者基于液体混合物的总重量)加入至根据实施例1在80℃下提取获得的4.6g肩突四扁藻提取物干物质,并借助于乳酸将混合物的pH调节至4.5,得到米色至浅棕色溶液,折射率($n_{20/D}$):1.396,甘露醇含量:0.29%。

[0278] 对于另一种液体形式,将根据实施例1在80-90℃下提取而获得的25g肩突四扁藻提取物干物质溶于483g水中,并加入392g甘油(99.5%)和100g 1,2-戊二醇(Hydrolite-5)。获得浅黄绿色,澄清至轻微混浊的溶液;根据L*a*b*颜色系统的颜色:L*88.4、a*-13.6、b*47.5,pH 7.6、甘露醇含量:0.28%。

[0279] 实施例3:肩突四扁藻提取物(干燥的)对离体人体皮脂腺的总脂质含量的影响

[0280] 进行从人体皮肤外植体显微解剖的人体皮脂腺的器官培养,以评价根据实施例1中所述制备的肩突四扁藻提取物对皮脂水平的调节活性。提取物以干燥形式施用。

[0281] 去除全厚皮肤样品的表皮后,使用显微(微型)手术剪和解剖刀小心地移出皮脂腺。然后将显微解剖皮脂腺以8个分为一组,在浸入500μL改良Williams' E培养基的24孔板(well plate)中培养至第6天。适应24小时后,更换培养基并用含有待测试的提取物的培养基代替。在培养的第3天和第5天更新培养基。在第6天,收集腺体,并用于定量脂质和蛋白质。为了使生物质可变的腺体的估计生产率具有可比性,对其总皮脂含量进行估算并除以从腺体组织中的提取的蛋白质,获得生成的皮脂与组织蛋白质之间的比例(即脂质mg/蛋白质mg)。

[0282] 为此,将每个皮脂腺组在100μL异丙醇中均质化,以提取脂质,并使蛋白质不溶解。离心后,收集并分析含有提取的脂质的上清液。使用真空干式蒸发器(vacuum dry evaporator)干燥剩余的沉淀(pellet),而后在50μL蛋白质裂解缓冲液的存在下切碎(mince)。在适当的培养时间之后,将该提取混合物离心,并且对上清液进行收集和分析。使用直接检测红外光谱仪(Direct Detect IR Spectrometer,Millipore),通过红外光谱对溶解在异丙醇中的脂质和溶解在裂解缓冲液中的蛋白质进行定量。通过量化的脂质相对量化的蛋白质的归一化(即脂质mg/蛋白质mg)以获得总脂质量。将从被处理组获得的归一化脂质的量与未处理的对照组的量相比较,并以百分比计算调节活性,该归一化脂质即每组皮脂腺产生的皮脂。作为阳性对照,在实验设计中加入5μM辣椒素(Capsaicin)处理。辣椒素是辣椒的有效成分,适用于抑制皮脂生成(sebogenesis) [Tóth et al., J. Invest. Derm. (2009), 129:329-339]。为了进行统计分析,组间差异通过单因素方差分析(one-way anova)和排列检验(permutation test)进行评估,随后进行Dunnnett排列测试(Dunnnett's

permutation test)。

[0283] 为了更好地理解对提取物的反应,在器官培养的第1天和第6天并行进行了生存力(viability)测试。将刃天青(resazurin)加入孔中(1:11),并培养2小时。在培养结束时,用荧光计(激发:560nm,发射:590nm)读取培养基的等量样本。然后将培养基替换为普通培养基持续2小时,以除去残留的刃天青。之后,将培养基再次替换为包括测试样品的培养基。以第6天与第1天之间的百分比差值来衡量每个孔中的生存力。

[0284] 为了评估供者反应率(responsiveness)和个体间差异,对从三个不同供者的皮肤样本中获得的皮脂腺进行了提取物测试。

[0285] 表3:肩突四扁藻水提取物(干燥的)对显微解剖人体皮脂腺的脂质和生存力的影响

[0286] 在目前的离体和体外细胞测试中,并通常用于生物学测试,使用干燥形式的扁藻提取物以避免溶剂、甘油或防腐剂体系引起的副作用。

参数	测试样品	供者 1	供者 2	供者 3
与未处理相比,第6天的脂质减少[%]*	5 μ M (=1.5 ppm) 辣椒素	11	28	14
	0.3 ppm 提取物(在 80°C 下提取)	19	33	18
生存力[%]	未处理	93	100	81
	5 μ M (1.5 ppm) 辣椒素	92	99	85
	0.3 ppm 提取物(在 80°C 下提取)	108	101	83

[0287] *与未处理相比,所有结果均具有统计学意义, $p < 0.01$

[0288] 结果表明,在80°C下提取获得的肩突四扁藻水提取物(干燥的)出人意料地是一种归一化总脂质的高效的减少剂,而不影响他们的生存力,该归一化总脂质即人体皮脂腺的皮脂含量。其比阳性对照辣椒素更有效,并且即使浓度低5倍也是如此。此外,从所有三个供者获得的皮脂腺对提取物有反应(供者反应率:100%)。

[0289] 实施例4:肩突四扁藻提取物(干燥的)和烟酰胺对离体人体皮脂腺的总脂质含量的协同效应

[0290] 使用与实施例3中所述相同的实验布置(set-up)来评价肩突四扁藻提取物和烟酰胺的组的协同活性。

[0291] 使用Kull方程(Kull's equation)计算协同指数SI:

$$[0292] \quad SI = C \times D / A + C \times E / B$$

[0293] 其中

[0294] A=通过浓度为x的肩突四扁藻提取物的脂质减少

[0295] B=通过浓度为y的烟酰胺的脂质减少

[0296] C=通过浓度为x/2的肩突四扁藻提取物和浓度为y/2的烟酰胺的组的脂质减少

[0297] D=肩突四扁藻提取物的系数= >0.5 (由于组合中测试了一半浓度)

[0298] E=烟酰胺的系数= >0.5 (由于组合中测试了一半浓度)

[0300] 对于两个组合的成分的加和活性,获得SI=1,而SI<1证明具有拮抗活性(观察到的功效低于加和),并且SI>1证明具有协同活性(观察到的功效高于加和)。实验结果总结于表4。

[0301] 表4:肩突四扁藻提取物和烟酰胺对离体人体皮脂腺的总脂质含量的影响

参数	测试样品	供者 1
与未处理相比,第6天的脂质减少[%]*	0.3 ppm 提取物	11
	100 ppm 烟酰胺	6
	0.15 ppm 提取物+ 50 ppm 烟酰胺	13
生存力[%]	未处理	81
	0.3 ppm 提取物	79
	100 ppm 烟酰胺	78
	0.15 ppm 提取物+ 50 ppm 烟酰胺	81

[0303] *与未处理相比,所有结果均具有统计学意义, $p < 0.01$

[0304] $SI = 13 \times 0.5 / 11 + 13 \times 0.5 / 6 = 1.674$

[0305] 所获得的SI为1.674清楚地证明肩突四扁藻水提取物和烟酰胺的组合令人惊讶地协同降低了总脂质含量,即人体皮脂腺的皮脂水平。

[0306] 实施例5:肩突四扁藻提取物(干燥的)对人体皮脂腺细胞的基因表达的影响

[0307] 根据供应商的说明,将真皮原代人体皮脂腺细胞(来自面部(T区)局部,白种人供者,购自Zen-bio)在37°C下在5%的CO₂脂质基础培养基中进行培养。使用0.01%和0.1%的根据实施例1通过在80°C下提取获得的肩突四扁藻水提取物或DMSO作为媒介物对照(vehicle control),处理皮脂腺细胞24小时。每个实验进行三次。与DMSO处理相比,通过RT-qPCR测量提取物处理过的细胞中的基因组靶标表达水平。

[0308] 按照制造商的说明,使用Qiaquick RNA分离试剂盒(来自Quiagen)提取并纯化来自经提取物刺激超过24小时的皮脂腺细胞的带有miRNA的总RNA。对于mRNA靶标定量,根据制造商的说明,用Superscript VILO cDNA合成试剂盒(ThermoFisher)对总RNA进行逆转录。分离的RNA的纯度通过分光光度法确定:比率260/280光度法确至2(RNA提取物无蛋白质污染)。计算RQ值并将结果相对于内源性对照GAPDH表达归一化。使用双尾非配对T检验(two-tailed unpaired T-test)进行统计分析(*p值<0.05)。该实验的结果被总结在表5中。

[0309] 表5:用肩突四扁藻水干燥提取物(Tetraselmis suecica water dry extract)处理后的原代人体皮脂腺细胞的基因表达的调节

每次处理的基因/RQ 值	未处理 (DMSO 对照)	0.01% 提取物 (p 值)	0.1%提取物(p 值)
SREBF1 (SREBP-1) [固醇调节 元件结合转录因子 1]	1.00 ± 0.04	0.81 ± 0.03 (p < 0.05)	0.59 ± 0.03 (p < 0.001)
DGAT1[甘油二酯 O-酰基转移 酶]	1.01 ± 0.08	0.81 ± 0.04 (n.s.)	0.69 ± 0.03 (p < 0.05)
MGAT1[甘露糖(α-1, 3)糖蛋白 β-1, 2-N-乙酰葡萄糖氨基转移酶]	1.00 ± 0.05	0.76 ± 0.01 (p < 0.05)	0.52 ± 0.04 (p < 0.01)
SCD[硬脂酰辅酶 A 去饱和酶]	1.01 ± 0.09	0.92 ± 0.06 (n.s.)	0.59 ± 0.02 (p < 0.05)
[0310] PTGS2 (COX-2) [前列腺素内过 氧化物合酶 2]	1.01 ± 0.09	0.44 ± 0.02 (p < 0.01)	0.20 ± 0.01 (p < 0.001)
NR1H3 (LXRα) [核受体亚家族 1, H 组]	1.01 ± 0.10	0.81 ± 0.07 (n.s.)	0.64 ± 0.03 (p < 0.05)
APOC1 [载脂蛋白 C1]	1.01 ± 0.07	0.73 ± 0.05 (p < 0.05)	0.76 ± 0.07 (p=0.067)
ACAT1 [乙酰辅酶 A 乙酰转移酶 1]	1.01 ± 0.09	0.66 ± 0.05 (p < 0.05)	0.73 ± 0.06 (p = 0.064)
APPL1[含衔接因子蛋白磷酸酪 氨酸相互作用 PH 域亮氨酸拉链 蛋白 1]	1.00 ± 0.04	0.63 ± 0.05 (p < 0.01)	0.73 ± 0.07 (p < 0.05)
ADIPOR1 [脂联素受体 1]	1.00 ± 0.07	0.72 ± 0.02 (p < 0.05)	0.72 ± 0.06 (p < 0.05)

[0311] 结果清楚地表明：肩突四扁藻水提取物抑制参与脂肪酸、甘油三酯和胆固醇产生的大部分基因，从而减少脂质，即皮脂腺细胞的皮脂产生。涉及分析和了解调节脂质合成和储存以及皮脂腺大小的主要途径。

[0312] 肩突四扁藻水干燥提取物能够调节参与脂质产生和储存的基因，并且能够调节专用途径。该脂质诸如：脂肪酸 (SREBF1、SCD、APOC1)、甘油三酯 (DGAT1) 和胆固醇 (ACAT1)。该专用途径包括：脂联素 (ADIPOR1、APPL1)、LXR/RXR/PPARA (SREBPF1、NR1H3 (LXRα)、ACAT1 和前列腺素 (PTSG2 (COX2))。

[0313] 用 0.01% 的肩突四扁藻水提取物进行处理，在统计学下调了 7 种基因 (APOC1、SREBPF1、APPL1、ADIPOR1、MGAT1、ACAT1、PTSG2 (COX-2))。

[0314] 用 0.1% 的肩突四扁藻水干燥提取物进行处理，在统计学下调了 8 种基因 (SREBF1、NR1H3 (LXRα)、APPL1、ADIPOR1、DGAT1、MGAT1、SCD、PTSG2 (COX-2))。

[0315] 提取物能够通过抑制参与脂肪酸产生 (SREBF1、SCD、APOC1)、甘油二酯 (MGAT1)、甘油三酯 (DGAT1) 和胆固醇 (ACAT1) 的基因来减少脂质产生。

[0316] IGF-I 在诱导人体皮脂腺细胞中的脂质合成中起关键作用。在 SEB-1 皮脂腺细胞中，IGF-1 通过诱导 SREBF1 增加脂肪生成，SREBF1 优先调节脂肪酸合成的基因。

[0317] SCD在皮脂腺中高表达;SCD是一种 $\Delta 9$ -脂肪酸去饱和酶,其分别主要催化饱和脂肪酸棕榈酸(16:0)和硬脂酸(18:0)转化为顺式-单不饱和脂肪酸(MUFA)棕榈油酸(16:1n7)和油酸(18:1n9)。MUFA在皮脂的成分甘油三酯、胆固醇酯和蜡酯的形成中是重要的酯化底物。

[0318] 过表达的APOC1的转基因小鼠患有发育不良的皮脂腺和高甘油三酯血症。

[0319] 在甘油三酯合成中,DGAT1催化最终和限速步骤。

[0320] MGAT1参与蛋白质结合的和脂质结合的寡糖的合成。脂酰辅酶A:单酰基甘油酰基转移酶(MGAT)基因因其在肠道内的脂肪吸收的作用而为人们所熟知。已显示MGAT1在哺乳动物细胞系中表现出MGAT活性,通过将脂肪脂酰辅酶A掺入二酰基甘油来特异性地催化二酰基甘油合成。

[0321] ACAT1是催化由游离胆固醇形成胆固醇酯的酶,并在皮脂腺中高表达,其允许胆固醇酯掺入细胞质脂滴中。

[0322] 诱导脂质产生和储存的主要途径是LXR/RXR/PPARA和脂联素。的确,其示出了用LXR配体处理SZ95皮脂腺细胞增强了脂滴在细胞中的累积,并且在用脂联素处理的皮脂腺细胞中脂质合成显著增强。因此,提取物抑制编码负责LXR/RXR/PPARA途径激活的核受体的NR1H3(LXRa)。

[0323] 脂联素受体ADIPOR1及其配体APPL1负责脂联素途径的活化,并且脂联素受体ADIPOR1及其配体APPL1减少。在皮脂腺细胞的3D培养中,通过脂联素处理的皮脂腺细胞中脂质合成显著增强。

[0324] 令人惊讶的是,在PTGS2(COX-2)的基因表达水平上观察到了明显的效果。PTGS2(COX-2)在皮脂腺细胞功能中起主要作用。由于皮脂腺增生,过度表达环氧合酶-2(COX-2)的转基因小鼠表现出皮脂水平增加。因此,期待PTGS2(COX-2)减少以使得皮脂腺大小和皮脂产生的减少。

[0325] 实施例6:肩突四扁藻提取物(干燥的)减少体内皮脂

[0326] 进行两组每组十五名白种人志愿者的随机半脸(split-face)研究。志愿者在家中每天两次(早上和晚上)在两个半额(semi-forehead)上使用测试产品,持续四周。测试产品是具有和不具有通过根据实施例1在80°C下提取而制备的0.05%的肩突四扁藻提取物的水分散凝胶。作为阳性对照/参考,使用在水分散凝胶中配制2%烟酰胺和1%D-泛醇的组合(Z.D.Draelos et al.J.Cosmet.Laser Ther.2006,8:2,96-101)。读数为日常皮脂水平(Casual sebum level)(皮脂计)、皮脂表面百分比(Sebum surface percentage)和活性孔(active pores)的数量(均装有Sebufix®箔的Visioscan®)并且在基线(t_0)和4周后(t_1)进行读取。

[0327] 表6:日常皮脂水平、皮脂表面百分比和活性孔的数量的平均调节

	测试产品/水分散凝胶	T0 (基线)	T1 (4周)	以 % 表示 t_1 相对于 t_0 的调节	显著性
[0328]	日常皮脂水平				
	无活性 (安慰剂)	176.1 ± 40.4	166.5 ± 42.5	-5.5	n.s.
	(Placebo)				
	0.05 % 肩突四扁藻提取物	186.4 ± 36.5	166.2 ± 40.4	-10.8	p < 0.05
	2 % 烟酰胺和 1 % D-泛醇	180.4 ± 40.0	152.4 ± 48.1	-15.6	p < 0.05
	皮脂表面百分比				
	无活性 (安慰剂)	10.3 ± 6.3	10.3 ± 7.3	-0.4	n.s.
[0329]	0.05 % 肩突四扁藻提取物	12.2 ± 8.6	8.4 ± 6.6	-31.3	p < 0.05
	2 % 烟酰胺和 1 % D-泛醇	10.1 ± 8.2	9.0 ± 5.8	-11.7	n.s.
	活性孔的数量				
	无活性 (安慰剂)	175.3 ± 47.0	149.5 ± 52.4	-14.7	n.s.
	0.05 % 肩突四扁藻提取物	174.8 ± 61.9	129.8 ± 64.8	-25.7	p < 0.05
	2 % 烟酰胺和 1 % D-泛醇	154.4 ± 50.9	136.6 ± 65.7	-11.6	n.s.

[0330] n.s. = 无显著性

[0331] 结果清楚地证明, 肩突四扁藻水提取物还具有在体内强有力的减少皮脂活性。提取物是能够显著降低所有三种读数(日常皮脂水平为-10.8%, 皮脂表面百分比为-31.3%, 活性孔的数量为-25.7%)的唯一活性物质。对于阳性对照/参照, 2%烟酰胺和1%D-泛醇的组合显著减少日常皮脂水平-16.5%, 但并未能够使皮脂表面百分比和活性孔的数量显著减少。安慰剂对三个读数中的任何一个均无显著影响。

[0332] 实施例7: 肩突四扁藻提取物(干燥的)对人体角质形成细胞基因表达的影响

[0333] 根据供应商的说明, 将新生的人体表皮角质形成细胞(nHEK)在包括HKGS-Kit (Gibco)的EpiLife培养基(Gibco)中在5%CO₂、37°C条件下进行培养。

[0334] 将根据实施例1通过在80°C下提取获得的肩突四扁藻水提取物以0.025%或培养基作为媒介物对照处理细胞24小时。相较于培养基处理, 通过RT-qPCR测量提取物处理过的

细胞中的基因组靶标表达水平。

[0335] 使用RNeasy®Mini Kit (Qiagen) 进行RNA分离。使用μCuvetteG 1.0和生物分光光度计 (Eppendorf) 通过测量260nm处的吸光度来测定总RNA浓度。同时计算纯度对照值 (purity control values), 如E260/280和E260/230。根据供应商的说明, 使用大容量 Applied Biosystems的RNA-to-cDNA试剂盒) 进行逆转录。在PCR热循环仪 (PCR Thermocycler, Biometra) 中处理样品。对于快速实时PCR, 用无核糖核酸酶 (RNase) 的水和 TaqMan™ Fast Universal PCR Master Mix (Applied biosystems) 稀释cDNA。使用 StepOnePlus快速实时荧光定量PCR仪 (StepOne Plus Fast Real Time PCR Instrument) (Applied biosystems) 进行实时PCR定量。使用StepOne-软件 (StepOne-Software) 和2-Δ CT方法 (相对内源性对照HTRP1的表达进行归一化) 进行分析。

[0336] 认为对于上调RQ值 ≥ 2 和对于下调RQ值 < 0.5 是相关的。

[0337] 表7a: 用0.025wt.%的肩突四扁藻水提取物 (通过再次溶解干燥的提取物来制备) 处理后的人体表皮角质形成细胞的基因表达调节

基因	表明相关性但不限于	RQ 值
AQP3[水通道蛋白 3]	水/甘油转运蛋白	4.3
KRT1[角蛋白 1]	分化	12.8
KRT10[角蛋白 10]	分化	14.2
FLG[丝 聚 蛋 白 原 (Pro)Filaggrin]	分化	2.3
[0338] FLG2[丝聚蛋白家族成员 2]	分化	4.3
SBSN[上池蛋白 (suprabasin)]	分化	7.3
CSP14[半胱氨酸蛋白酶-14]	分化	10.9
DMKN[德莫克 (Dermokine)]	分化	10.6
LIPN[脂肪酶家族成员 N]	分化	14.3
TGM5[转谷氨酰胺酶 5]	分化	5.0

[0339]

基因	表明相关性但不限于	RQ 值
S100A10[S100 钙结合蛋白 A10]	分化	3.2
S100A11[S100 钙结合蛋白 A11]	分化	3.2
S100A7[S100 钙结合蛋白 A7]	分化/抗菌肽	6.5
S100A8[S100 钙结合蛋白 A8]	分化/抗菌肽	5.7
S100A9[S100 钙结合蛋白 A9]	分化/抗菌肽	8.2
SPRR1A[小富脯氨酸蛋白 1A (Small Proline Rich Protein 1A)]	晚期分化	6.5
SPRR1B[小富脯氨酸蛋白 1B]	晚期分化	8.5
SPRR2C[小富脯氨酸蛋白 2C]	晚期分化	2.6
SPRR4[小富脯氨酸蛋白 4]	晚期分化	2.9
DSG1[桥粒芯胶粘蛋白-1]	桥粒	13.4
DSG3[桥粒芯胶粘蛋白-3]	桥粒	5.1
DSC1[桥粒芯糖蛋白 1]	桥粒	10.8
DSP[桥粒斑蛋白]	桥粒	3.8
EVPL[包斑蛋白 (Envoplakin)]	桥粒	4.5
PKP1[血小板亲和蛋白 1]	桥粒	4.2
CDH1[钙粘蛋白 1]	粘附连接	3.0
CTNNB1[连环蛋白 β 1]	粘附连接	2.5
CSTA[细胞染色蛋白 (Cytostain A)]	桥粒稳定性	2.9
CLDN1[闭合蛋白 1]	紧密连接	7.6
CLDN7[闭合蛋白 7]	紧密连接	6.2
OCLN[密封蛋白]	紧密连接	7.5
CGN[扣带蛋白]	紧密连接	8.5
TJP1[紧密连接蛋白 ZO-1]	紧密连接	3.0
F11R[F11 受体]	紧密连接	3.1

基因	表明相关性但不限于	RQ 值
F11R[F11 受体]	紧密连接	3.1
GJA1[间隙连接蛋白 α 1]	间隙连接	2.9
[0340] CXCR1[C-X-C 趋化因子受体 1 (C-X-C Motif Chemokine Receptor 1)]	再上皮化	6.9
人纤溶酶原激活物抑制剂 1 蛋 白 (Serpine 1)	再上皮化	3.2

[0341] 结果清楚地表明,扁藻提取物令人惊奇地对涉及表皮连接,诸如桥粒(“机械”)、紧密、粘附和间隙连接的与细胞之间粘着相关的许多基因有效地上调表达,并且允许在皮肤细胞中相邻细胞之间离子、第二信使和小的代谢物的交换。这些粘着结构不仅对于维持细胞结构和完整性是必要的,而且对于组织发育和形态建立也是必要的。桥粒内的突变是例如许多皮肤脆弱疾病的根本原因。

[0342] 此外,通过用扁藻提取物处理来调节与分化、再上皮化和水/甘油转运相关的基因。

[0343] 在另一个实验中,将根据实施例1通过在80°C或在室温(18-23°C)下提取获得的来自不同的微藻生物质批次的肩突四扁藻水干燥提取物以0.025%或培养基作为媒介物对照处理细胞24小时。相较于上述培养基处理,通过RT-qPCR测量在提取物处理过的细胞中所选基因的基因组靶标表达水平。

[0344] 表7b:用0.025%肩突四扁藻水提取物(通过重新溶解干燥的提取物制备的)处理后的人体表皮角质形成细胞的基因表达调节

基因	RQ 值	
	80°C 提取物	室温提取物
[0345] KRT1[角蛋白 1]	8.0	1.0
KRT10[角蛋白 10]	7.9	1.0
CSP14[半胱氨酸蛋白酶-14]	4.0	1.0

[0346]	SPRR1A[小富脯氨酸蛋白 1A]	4.0	2.0
	SPRR1B[小富脯氨酸蛋白 1B]	4.0	4.0
	DSG1[桥粒芯胶粘蛋白-1]	8.0	2.0
	DSC1[桥粒芯糖蛋白 1]	4.0	1.0
	DSP[桥粒斑蛋白]	2.0	1.0
	CTNNB1[连环蛋白 β 1]	2.0	1.0
	CLDN1[闭合蛋白 1]	4.0	2.0
	OCLN[封闭蛋白]	4.0	4.1
	CGN[扣带蛋白]	4.0	4.0

[0347] 结果显示,通过在80℃制备的提取物使六种基因(KRT1、KRT10、CSP14、DCS1、DSP、CTNNB1)上调表达,而在室温下制备的提取物没有影响。六种所选基因(SPRA1、SPRR1B、DSG1、CLDN1、OCLN、CGN)均被以上两种提取物上调表达。

[0348] 实施例8:肩突四扁藻提取物(干燥的)对AMPs的基因表达的影响

[0349] HaCaT角质形成细胞在EpiLife培养基(Gibco)中在5%CO₂,37℃条件下培养。

[0350] 将根据实施例1通过在80℃下提取获得的肩突四扁藻水干燥提取物以0.05%或培养基作为媒介物对照处理细胞24小时。相较于培养基处理,通过RT-qPCR测量提取物处理过的细胞中的基因组靶标表达水平。

[0351] 使用RNeasy®Mini试剂盒(Qiagen)进行RNA分离。使用 μ CuvetteG 1.0和生物分光光度计(Eppendorf)测量在260nm处的吸光度来测定总RNA浓度。同时计算纯度对照值,如E260/280和E260/230。根据供应商的说明,使用Applied Biosystems的RNA-to-cDNA试剂盒进行逆转录。在PCR热循环仪(PCR Thermocycler,Biometra)中处理样品。

[0352] 对于快速实时PCR,用无核糖核酸酶(RNase)的水和TaqMan™ Fast Universal PCR Master Mix(Applied biosystems)稀释cDNA。使用StepOnePlus快速实时荧光定量PCR仪(Applied biosystems)进行实时PCR定量。使用StepOne-Software和2- Δ CT方法(相对内源性对照HTRP1的表达进行归一化)进行分析。

[0353] 认为对于上调RQ值 ≥ 2.5 对于和下调RQ值 < 0.5 是相关的。

[0354] 表8:用0.05%的肩突四扁藻水干燥提取物处理后的HaCaT角质形成细胞中AMPs的基因表达的调节

[0355]	基因	RQ值
	DEFB1[β -防卫素1]	20.8
	DEFB103A;DEFB103B[β -防卫素103A/103B]	3.1
	ADM[肾上腺髓质素]	3.1
	S100A7[牛皮癣素、S100钙结合蛋白A7]	7.4

[0356] 结果清楚地表明:令人惊奇地,扁藻提取物还上调了皮肤细胞中如诸如 β -防卫素、肾上腺髓质素和牛皮癣素的抗菌肽的基因表达。

[0357] 实施例9:环氧合酶(COX)-2抑制试验

[0358] COX-2是前列腺素例如PGE₂,的合成的可诱导的限速酶。COX-2/PGE₂由角质形成细胞和皮脂腺细胞表达。将测试物质肩突四扁藻水干燥提取物溶解在试验缓冲液(Tris-HCl pH 8.0,100mM)中,并放入96孔半面积微孔板(96-well half area microplate)中。加入辅酶HEME、荧光底物10-乙酰基-3,7-二羟基吩嗪(ADHP)和COX-2。将半面积微孔板在微孔板振荡器上以600rpm的速度培养两分钟。然后加入底物花生四烯酸。COX-2将花生四烯酸转化为前列腺素内过氧化物G₂(PGG₂),PGG₂还原为相应的醇PGH₂。在此反应期间,ADHP产生荧光试卤灵。试卤灵在535nm的激发波长和590nm的发射波长下进行定量。

[0359] 根据以下公式计算在测试物质存在下对COX-2活性的抑制作用:

$$[0360] \text{ COX-2的抑制}[\%]=100-\left(\frac{\text{试卤灵测试物质}-\text{试卤灵无COX-2对照}}{\text{试卤灵对照}-\text{试卤灵无COX-2对照}}\times 100\right)$$

[0361] 缩写含义如下:

[0362] • 试卤灵测试物质:

[0363] 含测试物质和COX-2的孔的试卤灵浓度

[0364] • 试卤灵对照:

[0365] 无测试物质但有COX-2的孔的试卤灵浓度

[0366] • 试卤灵无COX-2对照:

[0367] 没有测试物质并且没有COX-2的孔的试卤灵浓度

[0368] 结果是至少两个独立实验的平均值。

[0369] 表9: 肩突四扁藻水提取物(干燥的)对COX-2的抑制

[0370] 测试浓度	相比于对照的COX-2抑制
0.025%	34±5%

[0371] 结果示出了扁藻提取物也抑制COX-2酶活性。

[0372] 实施例10: 离体人体皮肤-丝聚蛋白

[0373] 在与培养基(改良的Williams'E培养基)接触的不锈钢穿孔环的气-液界面中培养约8×3mm(Ø×厚)的皮肤样品长达六天。在适应24后,将根据实施例1通过在80℃下提取获得的的肩突四扁藻水干燥提取物以0.3ppm或培养基作为媒介物对照局部施用于人体皮肤外植体(每次处理六个外植体)。在培养的第六天,将皮肤样品包埋在适当的培养基中并在液氮中冷冻。在接受特定免疫荧光染色的恒冷箱切片上进行丝聚蛋白的定量分析。用所选择的抗体(丝聚蛋白:兔多克隆(rabbit polyclonal),圣克鲁斯(SantaCruz))对每次处理的十二个皮肤切片进行免疫染色。通过使用荧光显微镜拍摄每个切片,并分析所得图像。通过评估表皮(无角质层)内染色剂的强度和分布,评估每个玻片中存在的抗原量。然后将获得的数据根据基底层(basal lamina)的长度归一化。

[0374] 表10: 离体人体皮肤丝聚蛋白调节

[0375] 丝聚蛋白质价	对照/媒介物	扁藻提取物	刺激 vs 对照
平均值	40	107	163%
SEM	7	15	

[0376] 结果清楚地表明：肩突四扁藻提取物在局部施用后提高了离体人体皮肤的表皮丝聚蛋白水平。

[0377] 实施例11:颗粒物 (PM) 引起的离体人体皮肤的屏障破坏

[0378] 为了评估肩突四扁藻水提取物(干燥的)对柴油颗粒物引起的皮肤屏障破坏的保护作用,使用了离体人体皮肤外植体。Standard Reference **Material**®1650b是从美国国家标准与技术研究院(US National Institute of Standards and Technology, NIST)获得的,旨在用于评估测定在柴油颗粒物和类似基质中选定的多环芳烃(PAHs)和硝基取代的PAHs(nitro-PAHs)的分析方法。在200发动小时的颗粒积累后,从热交换器的稀释管设备中将其收集。使用几种在各种条件下运行的直喷式四冲程柴油发动机(direct injection four-cycle diesel engines)来产生这种颗粒物,并且其应该代表重型柴油发动机(heavy-duty diesel engine)颗粒物的排放。在与培养基(改良的Williams'E培养基)接触的不锈钢穿孔环中,在环境湿度下,培养约8×3mm(Ø×厚)的皮肤样品长达三天。将1650b悬浮在PBS中。配制不含(安慰剂)并且含有0.01和0.05%的肩突四扁藻水干燥提取物的水分散凝胶(表12)。在适应24小时后,将制剂局部施用于皮肤外植体上,然后将颗粒物1650b施用于培养箱外90分钟以使其干燥。然后,将柴油颗粒以10µg/cm²局部施用于处理过的和未处理的皮肤上。制剂的施用和用1650b的处理是每天重复(renewed)的。

[0379] 在第三天,收获皮肤外植体以评估皮肤屏障性质。罗丹明B不能穿透完整的皮肤,因此在表皮内部检测到的罗丹明B越多,皮肤屏障的破坏就越大。因此,将皮肤外植体用罗丹明B染色、低温固定(cryo-fixed)并在低温恒温器上切割,以进行随后的图像采集和分析。罗丹明B荧光的分析在表皮区域进行。对于每个皮肤外植体,取两个切片并获取荧光图像。对于每个图像,通过Image-J应用程序(Image-J application, NIH, USA)评估荧光来分析上真皮(upper dermis)。然后将获得的值根据所选区域的尺寸进行归一化。

[0380] 表11:制剂

[0381]	原料	INCI	安慰剂	0.01 %扁	0.05 %扁
--------	----	------	-----	---------	---------

			藻提取物	藻提取物
	水 (水剂)	Ad 100	Ad 100	Ad 100
	Hydrolite-5 戊二醇	2	2	2
	PCL 液体 100 (PCL liquid 100) 鲸蜡硬脂醇辛酸酯 (Cetearyl Octanoate)	3	3	3
	兰内特 O (Lanette O) 鲸蜡硬脂醇 (Cetearyl Alcohol)	2	2	2
	矿物油 5°E (Mineral Oil 5°E) 矿物油	3	3	3
[0382]	Eutanol G 辛基十二醇	4	4	4
	阿维尔 350 (Abil 350) 二甲硅油	0.5	0.5	0.5
	路博润TR1 (Pemulen TR1) 丙烯酸酯类/C10-30 丙烯 酸烷基酯交联共聚物	0.2	0.2	0.2
	Ultrez-21 丙烯酸酯类/C10-30 丙烯 酸烷基酯交联共聚物	0.05	0.05	0.05
	10%氢氧化钠溶液 氢氧化钠	0.50	0.5	0.5
	肩突四扁藻提取物 肩突四扁藻提取物	--	0.01	0.05
	pH 值	5.5		

[0383] 表12: 罗丹明B渗透的离体人体皮肤结果

罗丹明 B 渗透[L*/像 素]	未处理	1650 b	安慰剂 + 1650 b	0.01 %扁 藻提取物 +1650 b	0.05 %扁 藻提取物 +1650 b
平均值	0.244	0.934	0.798	0.650	0.516
SEM	0.034	0.151	0.149	0.069	0.074
[0384] 相对于未处理[%] 刺激	--	283			
相对于 1650 b[%]减 少	--	--	15	30	45
相对于安慰剂[%] 减少	--	--	--	19	35

[0385] 如所期望的,用颗粒物1650b对人体皮肤外植体进行局部处理,显著增加了罗丹明B向皮肤的渗透,从而增加了皮肤屏障的破坏。

[0386] 与单独的1650b处理相比,安慰剂使罗丹明B的渗透降低了15%。肩突四扁藻提取物使得罗丹明B渗透的剂量依赖性与单独的1650b处理相比,降低了30%和45%,并且与安

慰剂+1650b处理相比,降低了19%和35%。

[0387] 实施例12:TEER试验

[0388] 跨膜电阻 (TEER) 是广泛接受的用于测量上皮单层的细胞培养物模型中紧密连接动态的完整性的定量技术。TEER值是细胞屏障完整性或强度的强指标。组织的阻力增加是更高密度的结果。因此,增加的阻力涉及改善的皮肤屏障。

[0389] 将新生的人体表皮角质形成细胞 (nHEKs) 以 1.5×10^5 细胞/植入物 (cells per inserts) 的浓度接种在 0.47cm^2 细胞培养植入物 (cell culture insert) 中。在细胞培养基中培养四天后,将根据实施例1中给出的描述制备的肩突四扁藻提取物在细胞培养基中以如下所示的最终体积系统地施用八天。在物质处理后,测定TEER。细胞培养基用作对照。

[0390] 表13:TEER试验结果

读数	空白*	培养基对照 开始	培养基对照 结束	0.025 % 肩突 四扁藻提取物
读取	31	42	36	66
		45	37	69
		42	37	75
平均值	31	43	36.67	70
标准偏差		1.73	0.58	4.58
TEER [Ωcm^2]	14.57	20.21	17.23	32.90

[0391] *不植入细胞

[0392] 结果清楚地表明:与未处理 (培养基对照) 相比,肩突四扁藻提取物提高了TEER值。

[0393] 实施例13:制剂实施例

[0394] 在制剂1至22中,以下两种芳香油PF0 1和PF0 2分别用作香精 (DPG=二丙二醇)。

[0395] 表14:具有玫瑰气味的芳香油PF0 1(分量b.w.) (amounts in parts b.w.)

成分	量
在 DPG 中 10%的苯乙酮	10.00
正十一醛	5.00
C14 醛, 所谓的 (桃醛)	15.00
在 DPG 中 10%的羟乙酸烯丙基戊酯 (Allylamyl glycolate, 异戊氧基乙酸烯丙酯)	20.00
水杨酸戊酯	25.00
醋酸苜酯	60.00
香茅醇	80.00
香芹烯 (d-Limonene, 右旋柠檬烯)	50.00
9-反式癸烯醇 (Decenol trans-9)	15.00
二氢月桂烯醇	50.00
乙酸二甲基苜基原酯 (Dimethyl benzyl carbinyl acetate)	30.00
二苯醚 (Diphenyloxide)	5.00
桉油精 (Eucalyptol, 桉油醇)	10.00
香叶醇	40.00
橙花醇	20.00
香叶油	15.00
在 DPG 中 10%的 3-顺式己烯醇 (Hexenol cis-3)	5.00
3-顺式己烯基水杨酸苜酯 (Hexenyl salicylate cis-3)	20.00
在 DPG 中 10%的吲哚	10.00
α -苜香酮	15.00
β -苜香酮	5.00
Lilial® (2-甲基-3-(4-叔丁基苜基) 丙醛)	60.00

成分	量
芳樟醇	40.00
乙酸甲基苜酯 (Methylphenyl acetate)	10.00
苜乙醇	275.00
乙酸苜乙烯基酯 (Styrolyl acetate)	20.00
萜品醇	30.00
四氢沉香醇	50.00
苜丙烯醇	10.00
总量:	1,000.00

[0399] 表15:具有白花和麝香气味的芳香油PF0 2(成分量b.w.)

成分	量
醋酸苄酯 (Benzyl acetate)	60.00
乙酸香茅酯	60.00
兔耳草醛 (2-甲基-3-(4-异丙基苯基) 丙醛)	20.00
二丙二醇 (DPG)	60.00
乙基沈香醇 (Ethyllinalool, 乙基芳樟醇)	40.00
拂柔撒 (Florol) (2-异丁基-4-甲基四氢-2H-吡喃-4-醇)	30.00
Globanone® [(E/Z) -8- 环 十 六 烯 -1- 酮] ([E/Z]-8-cyclohexadecen-1-one)	180.00
Hedione® (二氢茉莉酮酸甲酯 (methyldihydrojasmonate))	140.00
[0400] 3-顺式水杨酸己烯酯 (Hexenyl salicylate, cis-3)	10.00
女贞醛 (2,4-二甲基-3-环己烯甲醛) (Vertocitral (2,4-dimethyl-3-cyclohexenecarboxaldehyde))	5.00
在 DPG 中 10% 的 2-苯基丙醛 (Hydratropaaldehyde)	5.00
在 DPG 中 10% 的异二氢突厥酮 (异豆蔻酮) (1-(2,4,4-三甲 基-2-环己烯-1-基)-2-丁烯-1-酮 (Isodamascone (1-(2,4,4-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-2-buten-1-one))	5.00
异麝香酮 (环十六烷酮) (Isomuscone (cyclohexadecanone))	40.00
正茉莉风信子 (Jacinthaflor) (2-甲基-4-苯基-1,3-二氧戊环)	10.00
在 DPG 中 10% 的顺式茉莉酮 (Cis-jasmone)	20.00
芳樟醇	50.00
成分	量
乙酸里哪酯	30.00
在 DPG 中 10% 的苯甲酸甲酯	25.00
在 DPG 中 10% 的对甲基甲酚 (para-Methyl cresol)	10.00
[0401] 橙花醇	20.00
苯基丙醛	5.00
2-苯基乙醇	82.00
四氢香叶醇	13.00
2,2-二甲基-3-环己基-1-丙醇	80.00
总量:	1,000.00

[0402] 表16:化妆品制剂(成分量b.w.)

[0403] 1=敏感油性皮肤的皮肤镇静香膏(calming balm)

[0404] 2=着色面香膏SPF 15(Tinted Face Balm,SPF 15)

- [0405] 3=适合油性皮肤的冲洗型净化面膜 (Rinse-off purifying mask)
- [0406] 4=晚霜W/O
- [0407] 5=面部清洁凝胶
- [0408] 6=油性皮肤的面部滋补剂
- [0409] 7=用于油腻的头发的去头皮屑洗发露
- [0410] 8=用于易于痤疮皮肤的防晒液SPF 30
- [0411] 9=用于不纯净油性皮肤的亮肤日间护理液O/W
- [0412] 10=抗痤疮皮肤霜
- [0413] 11=三合一皮肤净化洗净+磨砂+面膜

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
[0414] 2.5%肩突四扁藻提取物的甘油/水溶液 (Tetraselmis suecica extract 2.5% in glycerin/water) 水、甘油、肩突四扁藻提取物	2	1			5	1			0.4	1.5	3
含 95%麦芽糊精、5%提取物的喷雾干燥的肩突四扁藻提取物			1	0.5			1	0.2			

[0415]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
(Spray-dried Tetraselmis suecica extract containing 95% maltodextrin, 5% extract matter) 麦芽糊精、肩突四扁藻提取物											
活性 α-果浆 (Actipone Alpha-Pulp) 水、丁二醇、苹果酸、猕猴桃水果提取物、柑橘 (Citrus Aurantium Dulcis) 汁、葡萄柚 (Citrus Paradisi) 汁、西洋梨 (Pyrus Malus, 苹果) 汁、十三烷醇聚醚-9 (Trideceth-9)、甜扁桃 (Prunus Amygdalus Dulcis) 种子提取物	0.1									1	
尿囊素 (Allantoin) 尿囊素	0.1										
芦荟凝胶浓缩液 10:1 (Aloe Vera Gel Conc.10:1) 巴巴多芦荟 (芦荟) 叶汁						0.2					
硬酯酸铝 (Aluminium Stearate) 硬酯酸铝				1.2							
控油因子 (Asebiol) 水、盐酸吡哆醇、烟酰胺、甘油、泛酰醇、水解酵母蛋白 (Hydrolyzed Yeast Protein)、苏氨酸、尿囊素、生物素							3				
β-熊果苷 (Beta-Arbutin) 熊果苷									1		
Arlypon® F 月桂醇聚醚 (Laureth-2)							2				

[0416]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Asensa® SC 220 聚乙烯											2
壬二酸 (Azelaic acid) 壬二酸								0.5			
生物活性 L-精胺酸 (Biotive L-Arginine) 精胺酸		0. 6									
生物活性曲克芦丁 (Biotive Troxerutin) 曲克芦丁		0. 5									
(-)-α- 红 没 药 醇 ((-)-alpha-Bisabolol) 红没药醇				0.1							
卡波姆水溶液 SF-1 聚合物 (Carbopol Aqua SF-1 Polymer) 丙烯酸酯共聚物 (Acrylates Copolymer)					5						
Carbopol® Ultrez-10 卡波姆		0. 2	0.2						0. 2	0.3	
10%柠檬酸水溶液 (Citric acid 10% in water) 柠檬酸, 水					0. 2		0. 5				
颜料 (Colour)			0.0 4								
Crinipan® AD 氯咪巴唑							0. 3				
Cutina® AGS 乙二醇二硬脂酸酯											1.5
Cutina® PES 季戊四醇二硬脂酸酯 (Pentaerythrityl Distearate)		2									
D-泛酰醇 (D-Panthenol) 泛酰醇							0. 5				

[0417]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
月桂基两性醋酸钾(Dehyton K) 椰油酰胺丙基甜菜碱 (Cocamidopropyl Betaine)					8		8				
道康宁 200(100cs) (Dow Corning 200(100cs)) 硅酮油二甲硅油 (Silicone Fluid Dimethicone)	2	2							0.5		
Dracorin® CE 柠檬酸硬脂酸甘油酯 (Glyceryl Stearate Citrate, 甘油硬脂酸酯柠檬酸酯)			5							2.5	
Dracorin GOC 柠檬酸油酸甘油酯 (Glyceryl Oleate Citrate)、辛酸/癸酸甘油三酯								2,5			
Dragocalm® 水(水剂)、甘油、燕麦属(燕麦)核提取物 (Avena Sativa (Oat) Kernel Extract)	1										
Dragoderm® 甘油、普通小麦 (Triticum Vulgare、Wheat 小麦) 谷蛋白, 水(水剂)							0.5				
Dragosan®W/O P 山梨聚糖异硬脂酸酯 (Sorbitan Isostearate)、氢化蓖麻油、地蜡、蜂蜡 (白蜂蜡)				8							
Dragosantol® 100 红没药醇					0.2						
Dragosine® 肌肤		0.2	0.2								
Dragoxat®89 乙基己基异壬酸酯		5		7				1		5	
EDTA 二钠 (Disodium EDTA) EDTA 二钠	0.1	0.1	0.1					0,1	0.1	0.05	0.05
Emulsiphos®		2							1.		

[0418]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
鲸蜡醇磷酸酯钾(十六烷基磷酸钾)、氢化棕榈油甘油酯									5		
硬脂精 L2SM GS (Esterina L2SM GS) 硬脂酸、棕榈酸											2
乙醇 (Ethanol) 乙醇						2					
Extrapone® Aloe vera 水(水剂)、库拉索芦荟(巴巴多芦荟)、丙二醇、乙醇				1							
桉树提取物 (Extrapone Eucalyptus) 水剂、丙二醇、蓝桉叶提取物											1
鸢尾提取物 B (Extrapone Iris B) 水剂、丙二醇、PEG-40 氢化(Hydrogeanted) 蓖麻油、十三烷醇聚醚-9、红没药醇、德鸢尾根提取物						0.5					
Extrapone® Witch Hazel 丙二醇, 北美金缕梅(Hamamelis Virginiana、Witch Hazel) 水、水(水剂)、北美金缕梅提取物	1										
棕色食用色素 E172+E171 粉末 (Food Color Brown E172+E171 Powder) 二氧化钛(CI77891)、氧化铁(CI77492)、氧化铁(CI77491)、氧化铁(CI77499)		2						1.5			
食用色素二氧化钛粉末 E171 (Food Color Titanium Dioxide Powder E171) 二氧化钛(CI77891)											3
Frescolat® MGA 薄荷酮甘油缩醛											0.5

[0419]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Frescolat® ML 乳酸薄荷酯						0. 3	0. 2			0.3	
Frescolat Plus 薄荷醇、乳酸薄荷酯			0.2								
Frescolat® X-Cool 薄荷基乙基氨基草酸酯 (Menthyl Ethylamido Oxalate)					0. 2						
Genapol® LRO Liquid 月桂醇醚硫酸钠 (Sodium Laureth Sulfate)							37				
甘油 (Glycerin) 甘油			3	3				4.5	3	1.5	3
Hydrolite® 5 戊二醇	3				2						
Hydroviten-24® 水 (水剂)、戊二醇、甘油、乳 酸、乳酸钠、丝氨酸、尿素、山 梨醇、氯化钠, 尿囊素				1							
Hydroviten® Plus 2290 水 (水剂)、戊二醇、甘油、果 糖、尿素、柠檬酸、氢氧化钠、 麦芽糖、PCA 钠 (吡咯烷酮羧 酸钠)、氯化钠、乳酸钠、海藻 糖、尿囊素、透明质酸钠、葡萄 糖			2								
异己二酸酯 (Isoadipate) 己二酸二异丙酯			2						2		
Isodragol® 三异壬精 (Triisononoin)	1										
荷荷巴油 (Jojoba Oil) 霍霍巴 (simmonondsia chinensis) (荷荷巴) 籽油				0.3							
白陶土 (Kaolin) 白陶土											10
Keltrol® CG-RD 黄原胶		0.	0.1					0.3	0.	0.3	1.2

[0420]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
		2							2		
曲酸 (Kojic acid) 曲酸									0.5		
KP-545 环戊硅氧烷丙烯酸酯/二甲聚硅氧烷共聚物								1			
Lanette® 16 十六烷醇									1.5	2	
Lanette® 22 二十二醇										3	
Lanette® O 鲸蜡硬脂醇 (Cetearyl Alcohol)			5							2	
硫酸镁 (Magnesium Sulfate) 硫酸镁				0.7							
矿物油 (Mineral Oil) 石蜡油				5							
Neo Heliopan® 303 氰双苯丙烯酸辛酯 (Octocrylene)		4						10			
Neo Heliopan® 357 丁基甲氧基二苯甲酰甲烷 (Butylmethoxydibenzoyl-methane)		2						4	2		
NeoHeliopan® AP 15%溶液 (Lösung)、中和 L-精胺酸水剂 (neutralisiert mit L-Arginin Aqua) 水剂、苯基二苯并咪唑四磺酸二钠 (Disodium Phenyl DibenzimidazoleTetrasulfonate)、精氨酸 (Arginin)		6.7									
Neo Heliopan® AV 甲氧基肉桂酸乙基己酯 (Ethylhexyl Methoxycinnamate)									7.5		
Neo Heliopan® BB 苯甲酮-3 (Benzophenone-3)									3		

[0421]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Neo Heliopan® E 1000 对甲氧基肉桂酸异戊酯 (Isoamyl p.Methoxycinnamate)		1									
Neo Heliopan® HMS 胡莫柳酯								7	10		
Neo Heliopan® OS 水杨酸乙基己酯 (Ethylhexyl Salicylate)		3						5	5		
NeoHeliopan® Hydro 20%溶液 (Lösung)、中和生物 胶质精胺酸水剂 (neutralisiert mit Biotive Arginine Aqua)、苯 基苯并咪唑、磺酸、精胺酸 (Arginin)		10						3.5			
新 PCL 水溶液 N (Neo-PCL Water Soluble N) 十三烷醇聚醚-9、PEG-5 己酸乙 酯 (Ethylhexanoate)、水 (水 剂)							1. 5				2
中性油 (Neutral oil) 辛酸/癸酸甘油三酯			2								
烟酰胺 (Niacinamide) 烟酰胺				0.5	3	0. 3					0.7 5
地蜡 2389 (Ozokerite Wax 2389) 地蜡				2							
芳香油 PFO1 或 PFO2 (Parfume oil PFO1 or PFO2) 香料 (Parfum)	0.0 5	0. 3	1	0.3		0. 3	0. 5		0. 3	0.1	0.5
西番莲果油 (Passion Fruit Oil) 精制西番莲籽油 (Refined Passiflora Edulis seed oil)			1								
PCL-液体 100 (PCL-Liquid 100) 鲸蜡硬脂基乙基己酸酯 (Cetearyl Ethylhexanoate)	3	2		5							

[0422]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
PCL 固体 (PCL-Solid) 硬脂醇庚酸酯 (Stearyl Heptanoate)、硬脂醇辛酸酯 (Stearyl Caprylate)	1									2	
Pemulen® TR-2 丙烯酸酯/C10-30 烷基丙烯酸酯交联聚合物	0.6							0.1 5			
苯乙醇 (Phenethyl Alcohol) 苯乙醇					0. 2						
Phytoconcentrole® 乳木果 (Shea Butter)、野生大豆 (大豆) 油、牛油果 (乳木果)	1										
Plantacare PS 10 月桂醇醚硫酸钠、月桂基葡萄糖苷											5
聚合物 JR 400 (Polymer JR 400) 月桂醇醚硫酸钠、月桂基葡萄糖苷							0. 4				
视黄醇 (Retinol) 视黄醇				0.1							
水杨酸 (Salicylic acid) 水杨酸										0.5	0.3
抗坏血酸基磷酸酯钠 (Sodium Ascorbyl Phosphate) 抗坏血酸基磷酸酯钠									1		
氯化钠 (Sodium Chloride) 氯化钠							0. 1				
10% 氢氧化钠溶液 (Sodium Hydroxide 10% Solution) 10% 氢氧化钠溶液	1		0.5		2				0. 2	1.9	1.1
Softisan 100 氢化椰油甘油酯类 (hydrogenated Coco-Glycerides)			6								
增溶剂 (Solubilizer) PEG-40 氢化蓖麻油、十三烷醇						3					

[0423]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
聚醚-9、丙二醇、水（水剂）											
Sulfetal LA 月桂醇硫酸酯铵（Ammonium Lauryl Sulfate）					12						
SymCalmin® 丁二醇、戊二醇、羟苯基丙酰胺苯甲酸	1						0.1				0.5
SymClariol® 癸二醇			0.1		1				0.2	0.3	0.8
SymDecanox HA 辛酸/癸酸甘油三酯、羟基甲氧基苯基癸酮			1	2							
Symdiol® 68 1,2-己二醇、辛甘醇（Caprylyl Glycol）	1	0.5	0.5					0.5		0.8	
SymFinity® 1298 紫锥菊（Echinacea Purpurea）提取物				0.05							
SymGlucan® 水（水剂）、甘油、β-葡聚糖	1							2			
SymHair® Force 1631 戊二醇、球等鞭金藻（Isochrysis galbana）提取物							2				
SymHelios® 1031 亚苄基二甲氧基二甲基茛酮（Benzylidene Dimethoxydimethylindanone）		0.3									
SymLift 水、海藻糖、甘油、戊二醇、β-葡聚糖、大麦种子提取物、透明质酸钠、1,2-己二醇、辛二醇、苯甲酸钠、麦芽糊精		2									
SymMatrix 麦芽糊精、树莓（Rubus Fruticosus）（黑莓）叶提取物		0.2									
SymMollient S 鲸蜡硬脂基壬酸酯（Cetearyl Nonanoate）			1								

[0424]

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SymMollient® W/S 十三烷醇聚醚-9、PEG-5 异壬酸酯、水（水剂）			1		2	1.5	2				
SymOcide® C o-伞花基-5-醇（o-Cymen-5-ol）						0.1					
SymOcide® PC 苯氧乙醇、辛甘醇									1		
SymOcide® PH 苯氧乙醇、羟基苯乙酮、辛甘醇、水（水剂）							1				
SymOcide® PS 苯氧乙醇、癸二醇 1、1,2-己二醇						0.8					0.8
SymOcide® PT 苯氧乙醇、托酚酮				0.8							
SymPeptide® 225 甘油、水（水剂）、十四酰五肽-11（Myristoyl Pentapeptide-11）				1							
SymRelief® 100 红没药醇、姜（生姜）根提取物						0.1					
SymRelief® S 红没药醇、羟基甲氧基苯基癸酮										0.1	
SymRepair® 100 己基癸醇、红没药醇、十六烷基羟基脯氨酸棕榈酰胺（Cetylhydroxyproline Palmitamide）、硬脂酸、油菜（菜油）甾醇		1									
SymSave® H 羟基苯乙酮		0.5	0.5			0.5		0.5			
SymSitive® 1609 戊二醇、4-t-丁基环己醇	1								0.5		
SymVital® AgeRepair 3040 姜（生姜）根提取物		0.1									
SymWhite® 377 苯乙基间苯二酚									0.5		

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Vitacel CS 20 FC 纤维素								3			
维生素 A 棕榈酸酯 (Vitamin A Palmitate) 棕榈酸视黄酯				0.1							
维生素 E 醋酸酯 (Vitamin E Acetate) 醋酸生育酚		0.5		0.2				0.5		0.25	
柳树皮提取物 (Willow bark extract) 白柳提取物											0.1
贝科拉 PMX-345 (Xiameter PMX-345) 环戊硅氧烷、环己硅氧烷										6	
Zetesol LA-2 月桂醇聚醚硫酸铵					26						
水	加至 100										

[0425] 表17:化妆品制剂12至22 (成分量b.w.)

[0426] 12=毛孔收缩液

[0427] 13=用于不纯净皮肤的卸妆液

[0428] 14=抗痤疮清洁摩斯

[0429] 15=用于油性皮肤的三相清除卸妆乳液 (洗液)

[0430] 16=溶液胶束 (Eau micellaire)

[0431] 17=净化/抗瑕疵混合物 (Purifying/Anti-Imperfections Cocktail)

[0432] 18=用于年轻肌肤的紧致精华液

[0433] 19=遮瑕棒

[0434] 20=发膜

[0435] 21=水性基头发和头皮精华液

[0436] 22=护发素

[0438]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
2.5%肩突四扁藻提取物的甘油/水溶液 (Tetraselmis suecica extract 2.5% in glycerin/water) 水、甘油、肩突四扁藻提取物	1.2	3			0.2	2		0.4	1		3
含 95%麦芽糊精、5%提取物的喷雾干燥的肩突四扁藻提取物 (Spray-dried Tetraselmis suecica extract containing 95% maltodextrin, 5% extract matter) 麦芽糊精、肩突四扁藻提取物			2	0.8			0.3			1	
Actipone® White Tea (白茶) GW 水剂、甘油、茶叶提取物	1										
Actipone® Witch Hazel (金缕梅) 北美金缕梅树皮/叶/枝提取物、乙醇、北美金缕梅水							3		1		
Actipone® Black Currant (红醋栗) GW 水剂、甘油、欧洲黑茶藨子 (Ribes Nigrum) 汁						1					
Amisoft® CS-11/CS-11(F) 椰油酰基谷氨酸钠 (Sodium Cocoyl Glutamate)					0.5						
精炼安第罗巴果油 (Andiroba Oil, refined) 苦油树(圭亚那栋树, Carapa Guaianensis) 籽油											0.3

[0439]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Aristoflex® AVC 丙烯腈二甲基牛磺酸铵/ VP 共 聚 物 (Ammonium Acryloyl dimethyltaurate/VP Copolymer)									0.5		
5-Alpha-Avocuta 鳄梨油酸丁酯								1			
蜂蜡 (Beeswax) 白蜂蜡								5			
丁二醇 (Butylene Glycol) 丁二醇		0.5					5				
小烛树蜡 (Candelilla Wax) 大戟科蜡 (小烛树蜡) (Euphorbia Cera (Candelilla) Wax)								15			
棕榈蜡 (Carnauba Wax) 巴西棕榈蜡 (Cera Carnaubae depurata)								5			
Carbopol® Aqua SF-1 Polymer 丙烯酸酯共聚物					10						
神经酰胺 (CeramideBio) 十六烷基羟基脯氨酸棕榈 酰胺									0.5		
10% 柠檬酸水溶液 (Citric acid 10% in water) 柠檬酸、水			0.5						0.2		
Crinipan® AD 氯咪巴唑										0.2	
EDTA 二 钠 (Disodium EDTA) EDTA 二钠	0.1	0.05			0.1						0.1
道康宁 345 液体 (Dow Corning 345 Fluid) 环甲硅油 (Cyclomethicone)								5			

[0440]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
道康宁 556 液体 (Dow Corning 556 Fluid) 苯基三甲基聚硅氧烷 (Phenyl Trimethicone)								4			
道康宁 2502 液体 (Dow Corning 2502 Fluid) 鲸蜡基聚二甲基硅氧烷 (Cetyl Dimethicone)								5			
D-泛酰醇 75 L (D-Panthenol 75 L) 泛酰醇										0.3	
Dracorin GOC 柠檬酸油酸甘油酯、辛酸/ 癸酸甘油三酯	2.5										
Dragoxat® 89 乙基己基异壬酸酯	5			20					2		
Emulsiphos® 十六烷基磷酸钾、氢化棕榈 油甘油酯									2		
乙醇 (Ethanol) 乙醇、水剂						5	5			10	
Evermat 绿花恩南蕃茄茎皮提取物			3								
Extrapone® Strawberry (草莓) B 水剂、丙二醇、柠檬酸、十 三烷醇聚醚-9、红没药醇、 草莓果实提取物						1					
Extrapone® Tiger Grass (粽叶芦) 水剂、甘油、PEG-40 氢化 蓖麻油、十三烷醇聚醚-9、 积雪草提取物							5		1		
Flowerconcentrole® 鸡蛋花(Frangipani)戊二醇、 红没药醇、鸡蛋花(Plumeria									2		

[0441]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Acutifolia Flower) 提取物 L											
Frescolat® ML 乳酸薄荷酯					0.3	0.3	0.3			0.5	
甘油 (Glycerin) 甘油	3	3	3			5					1
绿颜料 (Green Pigment) CI77288、三乙氧基辛基硅烷 (Triethoxycaprylylsilane)								0.85			
己二醇 (Hexylene Glycol) 己二醇				25							
Hispagel® 200 甘油、聚丙烯酸甘油酯						1	1				
Hydrolite® 5 戊二醇	1.5			3	1	4	5			7	
Hydrolite® 6 1,2-己二醇					0.5						
Hydromoiſt® L 水剂、水解羽扇豆种子提取物											1
Hydroviton® Plus 2290 水 (水剂)、戊二醇、甘油、果糖、尿素、柠檬酸、氢氧化钠、麦芽糖、PCA 钠 (吡咯烷酮酸钠)、氯化钠、乳酸钠、海藻糖、尿囊素、透明质酸钠、葡萄糖			1			1					
Icroquat Behenyl TMS-50 山嵛基三甲基铵硫酸甲酯 (Behentrimonium Methosulfate)、鲸蜡醇、丁二醇											2
异己二酸酯 (Isoadipate) 己二酸二异丙酯								12.7			
Isodragol® 三异壬精 (Triisononoin)								8			
肉豆蔻酸异丙酯 (Isopropyl Myristate)											2

[0442]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
肉豆蔻酸异丙酯											
Jaguar® Excel 瓜尔氯化羟丙基三甲铵 (Guar Hydroxypropyltrimonium Chloride)									0.1		
荷荷巴油(Jojoba Oil) 霍霍巴(荷荷巴) 籽油								8			0.5
Keltrol® CG-T 黄原胶						0.1	0.2			0.3	
乳酸 (Lactic acid) 乳酸				0.2							
Lanette® 16 鲸蜡醇	1	1									3
Lanette® 18 硬脂醇									4		
Lanette® 22 二十二醇									2		
Lanette® O 鲸蜡硬脂醇									1		4.5
Medialan® LD 月桂酰肌氨酸钠			10								
矿物油 (Mineral Oil) 石蜡油											1
Miniporyl® 异戊二醇、红车轴草(三叶草)花提取物	1										
新 PCL 水溶液 N (Neo-PCL Water Soluble N) 十三烷醇聚醚-9、PEG-5 己酸乙酯、水剂							1.5				
烟酰胺 (Niacinamide) 烟酰胺		3		1	2						
芳香油 PFO1 或 PFO2	0.5		0.3	1		0.5		0.3		0.1	0.5

[0443]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
(Parfume oil PFO1 or PFO2) 香料 (Parfum)											
PCL-液体 100(PCL-Liquid 100) 鲸蜡硬脂醇乙基己酸酯				5					2		
PCL-固体 (PCL-Solid) 硬脂醇庚酸酯、硬脂醇辛酸酯								3			
佩慕伦 TR-2 聚合物乳液剂 (Pemulen TR-2 Polymeric Emulsifier) 丙烯酸酯/C10-30 烷基丙烯酸酯交联聚合物	0.3										
Plantacare® 2000 UP 癸葡萄糖苷 (Decyl Glucoside)			15								
山梨酸钾 (Potassium Sorbate) 山梨酸钾				0.2							
丙二醇 (Propylene Glycol) 丙二醇		2								5	
视黄肽 189 (Retinopeptide 189) 甘油、戊二醇、水剂、肉豆蔻酰九肽-3 (Myristoyl Nonapeptide-3)	1										
水杨酸 (Salicylic Acid) 水杨酸	0.3					0.1	0.3	0.2			
牛油树脂 (非洲酪脂树黄油) (有机的) (Shea Butter (Organic)) 牛油果 (非洲酪脂树) 黄油 (Butyrospermum Parkii (Shea) Butter)								20			

[0444]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
苯甲酸钠 (Sodium Benzoate) 苯甲酸钠				0.2							
氯化钠 (Sodium Chloride) 氯化钠				6							
10 % 氢氧化钠水溶液 (Sodium Hydroxide 10% solution) 氢氧化钠、水	2.43				2	0.58	0.46				
Softigen® 767 PEG-6、辛酸/癸酸甘油酯			3								
增溶剂 (Solubilizer) PEG-40 氢化蓖麻油、十三烷醇聚醚-9、丙二醇、水(水剂)							1.2			2	
SymCalmin® 丁二醇、戊二醇、羟苯基丙酰胺苯甲酸										0.5	
SymClariol® 癸二醇		0.3	0.5					0.3			
SymDecanox HA 辛酸/癸酸甘油三酯、羟基甲氧基苯基癸酮								2			0.5
Symdiol® 68 1,2-己二醇、辛甘醇		0.5	0.8				0.5		0.5	0.5	
SymHair® Restore 甘油、普通小麦蛋白 (Triticum Vulgare Protein)、水剂										0.5	1
SymHair® Shield 戊二醇、水、甘油、普通小麦麸皮 (Triticum Vulgare Bran) 提取物、1,2-己二醇、辛甘醇											0.5
SymMatrix 麦芽糊精、树莓 (Rubus Fruticosus) (黑莓) 叶提							0.3				

[0445]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
取物											
SymMollient® S 鲸蜡硬脂基壬酸酯(Cetearyl Nonanoate)									2		2
SymMollient® W/S 十三烷醇聚醚-9、PEG-5 异壬酸酯、水(水剂)		2	1.5			2				3	
SymOcide® PS 苯氧乙醇、癸二醇、1,2-己二醇						1					0.8
SymRelief® S 红没药醇、羟基甲氧基苯基癸酮								0.1			
SymSave® H 羟基苯乙酮	0.5	0.5			0.5				0.5		
SymSitive® 1609 戊二醇、4-t-丁基环己醇					1						
SymSol® PF-3 水剂、戊二醇、月桂醇磺乙酸钠(Sodium Lauryl Sulfoacetate)、油酰肌氨酸钠(Sodium Oleoyl Sarcosinate)、氯化钠、油酸钠		1.5			3	1.2					
SymVital® AgeRepair 3040 姜(生姜)根提取物					0.2						
白颜料(White Pigment) CI77891、蓖麻(Ricinus、Castor)籽油								7			
北美金缕梅蒸馏物(Witch Hazel-Distillate) 北美金缕梅水、水(水剂)、醇										1	
Xiameter® PMX-200 Silicone Fluid 100 cs 二甲硅油	1								0.5		
Xiameter® XM OFX-0193						1	1				

[0446]

成分	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Fluid PEG-12 二甲硅油											
黄颜料 (Yellow Pigment) CI77492、三乙氧基辛酰基 硅 烷 (Triethoxycaprylylsilane)								0.15			
水 (Water) 水剂	加至 100										