



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104382980 A

(43) 申请公布日 2015. 03. 04

(21) 申请号 201410643321. 3

(22) 申请日 2014. 11. 14

(71) 申请人 中国科学院西双版纳热带植物园
地址 666303 云南省西双版纳傣族自治州勐
腊县勐仑镇中科院西双版纳热带植物
园

(72) 发明人 郑小玲 许又凯

(51) Int. Cl.

A61K 36/47(2006. 01)

A61K 8/97(2006. 01)

A61Q 19/08(2006. 01)

A61P 39/06(2006. 01)

A23L 1/30(2006. 01)

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物及其制备和应用

(57) 摘要

本发明提供了一种具有延缓衰老的星油藤 (*Plukenetia Volubilis* L.) 茎叶提取物, 制备方法及其在化妆品、保健食品等方面的应用。本发明还涉及化妆品组合物, 该组合物用于抗氧化、皮肤衰老防护和改善皱纹, 并且含有作为有效成分的星油藤茎叶提取物。本发明是基于该提取物对弹性蛋白酶、胶原蛋白酶、透明质酸酶的抑制活性和促胶原蛋白分泌实验中显示有意义的效果而得以确认。该提取物在保健食品或抗衰老化妆品中的使用量可占 0.01%~100% 重量比。

1. 一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物,其特征在于,它是通过以下方法制备得到:

(1) 取星油藤茎叶,净选,去除杂质,阴干,置提取容器内,加1至10倍量浓度为1%至100%的有机溶剂,提取1至10次,每次提取1至15日,合并提取液,过滤,得滤液,减压浓缩,蒸干,得星油藤茎叶粗提取物,备用;

(2) 取上步骤(1)制备得到的星油藤茎叶粗提取物,加适量水混悬后,用有机溶剂多次萃取,得到萃取液,浓缩,得星油藤茎叶的萃取物,备用;

(3) 取步骤(2)制备得到的萃取物进行层析,收集不同层析洗脱液,浓缩、干燥,得到星油藤精提取物。

2. 根据权利要求1所述的一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物,其特征在于,提取物包括步骤(1)所得的粗提取物,步骤(2)所得的萃取物和步骤(3)所得的精提取物。

3. 根据权利要求1所述的一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物,其特征在于,步骤(1)所用的提取方法为溶剂浸提法,所用的提取溶剂为各种有机溶剂及不同有机混合溶剂和水的混合溶剂,其浓度为1%-100%。

4. 一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物的制备方法,其特征在于,它是通过以下方法制备得到:

(1) 取星油藤茎叶,净选,去除杂质,阴干,置提取容器内,加1至10倍量浓度为1%至100%的有机溶剂,提取1至10次,每次提取1至15日,合并提取液,过滤,得滤液,减压浓缩,蒸干,得星油藤茎叶粗提取物,备用;

(2) 取上步骤(1)制备得到的星油藤茎叶粗提取物,加适量水混悬后,用有机溶剂多次萃取,得到萃取液,浓缩,得星油藤茎叶的萃取物,备用;

(3) 取步骤(2)制备得到的萃取物进行层析,收集不同层析洗脱液,浓缩、干燥,得到星油藤精提取物。

5. 根据权利要求4所述的一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物的制备方法,其特征在于,步骤(1)所用的提取方法为溶剂浸提法,所用的提取溶剂为各种有机溶剂及不同有机混合溶剂和水的混合溶剂,其浓度为1%-100%。

6. 根据权利要求4所述的一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物的制备方法,其特征在于,步骤(2)所用的萃取方法包括人工及仪器设备萃取,所用萃取溶剂包括水和有机溶剂如乙醚、乙酸乙酯、石油醚、三氯甲烷、正丁醇、正己烷等及各种不同溶剂的组合。

7. 根据权利要求4所述的一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物,其特征在于,步骤(3)所用的层析材料为各种层析材料包括硅胶、凝胶、反相C-8、C-18、MCI、各种树脂等,其洗脱液包括各种有机溶剂、水和它们酸、碱溶液及各种比例的组合;层析方法包括人工和各种设备如常压、中压、高压和超高压及高速逆流等多种层析方法。

8. 权利要求1至7任一项所述的具有延缓衰老作用的星油藤茎叶提取物作为活性成分在护肤、抗衰老美容化妆产品中的应用。

9. 权利要求1至7任一项所述的具有延缓衰老作用的星油藤茎叶提取物作为活性成分在延缓衰老健康和保健食品中的应用。

一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物及其制备和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种具有抗衰老的植物提取物(粗提物, 萃取物, 精提物), 及其制备方法和应用。具体涉及具有抗衰老活性的星油藤茎叶提取物, 以及涉及含有作为有效成分的该提取物的制备方法和健康、保健食品或护肤、抗衰老美容化妆品组合物, 该组合物可用于防护衰老和改善皮肤皱纹。

背景技术

[0002] 我国是世界上老龄化发展速度最快的国家之一, 也是老龄人口最多的国家之一。衰老是一种复杂的生命现象, 是指随着时间的推移所有个体都将发生的功能性和器质性衰退的渐进过程。皮肤作为人体最大的器官覆盖人体全身, 在起到保护作用的同时, 也最易受到外界的伤害。其衰老可分为自然衰老和光老化两种形式, 所谓自然衰老系指由于机体内在因素的作用(主要为遗传因素)引起, 见于暴露部位和非暴露部位, 明显特征为皱纹的出现和皮肤的松弛。而光老化则指皮肤衰老过程紫外线损害的积累, 是自然老化和紫外线辐射共同作用的结果。皮肤包括表皮, 真皮和皮下组织。表皮衰老过程中由于自由基及过氧化作用使胶原表面形成 AGE (终末糖化产物) 而过度交联, 使皮肤半桥粒结构失去弹性, 表皮与真皮连接变平, 皮肤变得松弛、失去弹力。真皮衰老表现为真皮对外来化学物清除力下降, 真皮厚度变薄、胶原蛋白和弹性蛋白合成减少、分解增加, 分解酶活性增强。真皮厚度变薄, 胶原含量减少, 特别是可溶性胶原含量下降明显, 弹性蛋白含量上升; 胞外基质中透明质酸和硫酸皮肤素含量明显下降, 糖胺多糖总含量下降。此外, 胶原纤维和弹性纤维排列也渐趋紊乱。其生理结局使皮肤失去增殖能力, 其抗剪切力减弱。而细胞外基质提供皮肤正确定向所需的三维支架的基本组成主要是胶原蛋白和弹性蛋白。皱纹的产生, 部分是由于基质内纤维状蛋白质(例如胶原蛋白或弹性蛋白)结构完整性的破坏。故抑制弹性蛋白和胶原蛋白的破坏和增加胶原蛋白的分泌对延缓皱纹生成是有利的。

[0003] 星油藤(*Plukenetia volubilis* L.), 又称印加果、印加花生、美藤果、南美油藤, 印加语称 Sacha Inchi, 为大戟科(Euphorbiaceae) 多年生木质藤本植物, 原生长在海拔 80-1700m 的南美洲安第斯山脉地区。2006 年引入中国, 在云南省如中国科学院西双版纳热带植物园和广东省如中国科学院华南植物园等地试种, 2008 年试种成功。目前, 国内外对于星油藤的研究主要是油脂的开发利用, 星油藤油具有护养肌肤、延缓衰老、调节血脂等功效; 而对茎叶的研究甚少, 仅有一篇报道称其叶的提取物有抗氧化和促进成纤维细胞增殖作用(Nascimento, Melo-Silveira et al. 2013)。星油藤作为刚引种成功的木本油料植物, 2013 年卫生部已批准为新食品原料, 其副产物茎叶抗氧化、延缓衰老的特点, 使其在保健食品和化妆品方面具有很大的开发价值。

[0004] 目前对星油藤叶抗氧化作用已有报道, 但对其抗衰老作用未见报道。

发明内容

[0005] 发明目的: 针对国内外对于星油藤茎叶研究的空白, 本发明的目的是提供了一种

具有延缓衰老作用的星油藤茎叶提取物,本发明的另一目的是提供该提取物的制备和应用。

[0006] 技术方案:为实现以上目的,本发明提供的具有延缓衰老作用的星油藤茎叶提取物,是通过以下方法制备得到。

[0007] (1)取星油藤茎叶,净选,去除杂质,阴干,置提取容器内,加1至10倍量浓度为1%至100%的有机溶剂,提取1至10次,每次提取1至15日,合并提取液,过滤,得滤液,减压浓缩,蒸干,得星油藤茎叶粗提取物,备用。

[0008] (2)取上步骤(1)制备得到的星油藤茎叶粗提取物,加适量水混悬后,用有机溶剂多次萃取,得到萃取液,浓缩,得星油藤茎叶的萃取物,备用。

[0009] (3)取步骤(2)制备得到的萃取物进行层析,收集不同层析洗脱液,浓缩、干燥,得到星油藤精提物。

[0010] 作为优选方案,以上所述的具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物,其步骤(1)所述的提取方法为溶剂浸提法。

[0011] 本发明提供的一种具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物的制备方法,其包括以下步骤。

[0012] (1)取星油藤茎叶,净选,去除杂质,阴干,置提取容器内,加1至10倍量浓度为1%至100%的有机溶剂,提取1至10次,每次提取1至15日,合并提取液,过滤,得滤液,减压浓缩,蒸干,得星油藤茎叶粗提取物,备用。

[0013] (2)取上步骤(1)制备得到的星油藤茎叶粗提取物,加适量水混悬后,用有机溶剂多次萃取,得到萃取液,浓缩,得星油藤茎叶的萃取物,备用。

[0014] (3)取步骤(2)制备得到的萃取物进行层析,收集不同层析洗脱液,浓缩、干燥,得到星油藤精提物。

[0015] 作为优选方案,以上所述的具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物,其步骤(2)所用的萃取溶剂为水和有机溶剂如石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、三氯甲烷等按不同比例的组合。

[0016] 作为优选方案,以上所述的具有延缓衰老的星油藤茎叶提取物,步骤(3)所述的洗脱以梯度洗脱为主。

[0017] 本发明还提供了一种抗衰老的保健食品或化妆品组合物,它是由有效量的星油藤茎叶提取物为活性成分,加入食品上或化妆品上可接受的辅料或辅助性成分制备而成。

具体实施方式

[0018] 下面结合具体实施例对本发明做进一步说明,以下实施例是为了更好地阐述本发明,而不是用来限制本发明的保护范围。

[0019] 实施例1。

[0020] 一种具有延缓衰老作用的星油藤茎叶提取物,它通过以下方法制备得到。

[0021] (1)取星油藤茎叶,净选,去除杂质,阴干,置提取容器内,加10倍量浓度为50%的甲醇溶剂,提取10次,每次提取1日,合并提取液,过滤,得滤液,减压浓缩,蒸干,得星油藤茎叶粗提取物,备用。

[0022] (2)取上步骤(1)制备得到的星油藤茎叶粗提取物,加适量水混悬后,用石油醚多次萃取,得到萃取液,浓缩,得星油藤茎叶的萃取物,备用。

[0023] (3) 取步骤(2) 制备得到的萃取物进行层析, 收集不同层析洗脱液, 浓缩、干燥, 得到星油藤精提物。

[0024] 实施例 2。

[0025] 一种具有延缓衰老作用的星油藤茎叶提取物, 它通过以下方法制备得到。

[0026] (1) 取星油藤茎叶, 净选, 去除杂质, 阴干, 置提取容器内, 加 3 倍量浓度为 70% 的乙醇溶剂, 提取 4 次, 每次提取 2 日, 合并提取液, 过滤, 得滤液, 减压浓缩, 蒸干, 得星油藤茎叶粗取物, 备用。

[0027] (2) 取上步骤(1) 制备得到的星油藤茎叶粗取物, 加适量水混悬后, 用石油醚溶剂多次萃取, 得到萃取液, 浓缩, 得星油藤茎叶的萃取物, 备用。

[0028] (3) 取步骤(2) 制备得到的萃取物进行层析, 收集不同层析洗脱液, 浓缩、干燥, 得到星油藤精提物。

[0029] 实施例 3。

[0030] 人体白细胞弹性蛋白酶抑制实验。

[0031] 在人体白细胞弹性蛋白酶抑制实验测试实施例 2 的星油藤茎叶的提取物。测试中的阳性活性证实提取物的抗衰老活性。

[0032] 实验方法: 96 孔板中, 实验组分别加入 25 μ l 的 0.1 M HEPES 缓冲液, 样品 (2 mg/ml) 和弹性蛋白酶 (1un/ml); 空白组加入 75 μ l HEPES 缓冲液, 阴性对照组加入 25 μ l 弹性蛋白酶和 50 μ l 的 HEPES 缓冲液; 阳性对照组分别加入 25 μ l 的弹性蛋白酶、HEPES 缓冲液和弹力素 (10 μ g/ml); 溶剂对照组分别加入 25 μ l 的弹性蛋白酶, HEPES 缓冲液和溶解样品的溶剂; 样品颜色对照组包含 150 μ l HEPES 缓冲液和 25 μ l 样品。96 孔板在室温下培养 20 分钟后, 分别加入 100 μ l 的底物, 再在 25° 下培养 40 分钟。多功能荧光酶标仪测吸光度 A, 检测波长为 405nm。一式三份。计算得到弹性蛋白酶抑制率。

[0033] 弹性蛋白酶抑制率 (%) = $(A_c - A_t / A_c) \times 100\%$ 。

[0034] 此处 A_c 为溶剂对照组的吸光值, A_t 为阳性对照或实验组的吸光值。实验结果取平均值, 如表 1. 所显示。

表 1. 星油藤茎叶提取物的弹性蛋白酶抑制活性

	星油藤茎叶粗提物 (285 μ g/ml)	弹力素 (1.43ug/ml)
抑制率 (%)	44.89%	95.84%

[0035] 实施例 4。

[0036] 胶原蛋白酶抑制实验。

[0037] 在胶原蛋白酶抑制实验测试实施例 2 的星油藤茎叶的提取物。测试中的阳性活性证实提取物的抗衰老活性。

[0038] 实验方法: 于 2ml 试管中, 实验组分别加入 25 μ l 的胶原蛋白酶 (1 mg/ml)、50 mM 的 TES 缓冲液和样品 (2 mg/ml); 空白组包含 75 μ l TES 缓冲液, 阴性对照组包含 25 μ l 的蛋白酶和 50 μ l TES 缓冲液; 阳性对照组分别包含 25 μ l 的蛋白酶, TES 缓冲液和 EDTA (1 mg/ml); 溶剂对照组 T 分别包含 25 μ l 的蛋白酶, TES 缓冲液和溶解样品的溶剂。在 37°C 培养箱中培养 20 分钟后, 各加入 100 μ l 的 FALGPA 并在 37° C 下继续培养 1 小时。然后, 各试管中加入 100 μ l 的 200 mM 柠檬酸盐缓冲液和 100 μ l 的茚三酮

溶液。所有的试管在 100℃ 的水浴锅中浴 5 分钟,冷却到室温,各加入 200 μl 的 50% 的异丙醇溶液。混合均匀后,将试管中的溶液各取 200 μl 转移到 96 孔板中,用多功能荧光酶标仪在 540nm 处测吸光度 A。一式三份。计算得到弹性蛋白酶抑制率。

[0039] 胶原蛋白酶抑制率(%)=(Ac - At/ Ac) × 100%。

[0040] 此处 Ac 为溶剂对照组的吸光值,At 为阳性对照或实验组的吸光值。实验结果取平均值,如表 2. 所显示。

表 2. 星油藤茎叶提取物的胶原蛋白酶抑制活性

	星油藤茎叶粗提物 (285 μg/ml)	EDTA (143 μg/ml)
抑制率 (%)	50.98%	47.01%

[0041] 实施例 5。

[0042] 促胶原蛋白分泌实验。

[0043] 12 孔细胞培养板上,将 HDFa 细胞与不同浓度的待测药物溶液混合,设置不含药物的空白对照和 TGF-β 阳性对照。37 °C,5% CO₂ 培养 3 天,收取细胞培养上清,存于 -80°C;加入 MTS,采用 MTS 比色法检测 490 nm 的 OD 值;按胶原蛋白 ELISA 试剂盒中提供的方法检测胶原蛋白的分泌,上清以 1:200 倍稀释,酶标仪测定 OD 值,检测波长为 450 nm。计算得到胶原蛋白分泌增加率。

[0044] 胶原蛋白分泌增加率(%)=(实验孔 OD_{450 nm} / 细胞存活率 / 空白孔 OD_{450 nm} - 1) × 100%。

[0045] 实验结果取平均值,如表 3. 所显示。

表 3. 星油藤茎叶提取物对 HDFa 细胞胶原蛋白分泌的促进作用

	星油藤茎叶粗提物 (10 μg/ml)	TGF-β (10ng/ml)
胶原蛋白分泌增加率 (%)	50.82%	82.21%

[0046] 实施例 6。

[0047] 化妆品组合物。

[0048] 该实例列举了根据本发明的抗衰老水包油型乳膏,如表 4. 所示。

表 4. 抗衰老水包油型乳膏

成分	%W/W
G57 乳化剂	2
鲸蜡醇棕榈酸酯	4
抗坏血酸棕榈酸酯	0.5
甘油	2
Euxyl K350	0.9
透明质酸	0.5
乳木果油	3
星油藤油	10
大豆异黄酮	1
星油藤叶提取物	3
芦荟提取液	5
甘油	2
海藻酸钠	0.2
香料	0.01
水	加至 100

[0049] EuxylK350 为德国舒美公司产防腐剂, G57 为法国仙婷公司的冷配水包油型乳化剂。

[0050] 应该理解, 本文中例举和描述的发明的特定实施方案仅意在示范, 可以修饰和以不同但等价的方式实践本发明, 具有本文教导的益处, 这对本领域技术人员是显而易见的。因此很明显, 上文公开的特定实施方案是可以改变或修饰的, 所有此类变体都认为在本发明的范围和精神内。