(19)中華民國智慧財產局
(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201323005 A1
(43)公開日： 中華民國 102 (2013) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：101130160 (22)申請日： 中華民國 101 (2012) 年 08 月 20 日
(51)Int. Cl.： *A61K8/40 (2006.01)* *A61K8/49 (2006.01)*
A61K8/33 (2006.01) *A61Q19/00 (2006.01)*
(30)優先權：2011/12/13 美國 13/324,150
(71)申請人：愛芳製品公司 (美國) AVON PRODUCTS, INC. (US)
美國
(72)發明人：陳希明 CHEN, SIMING (US) ；鄭謙 ZHENG, QIAN (CN) ；派瑞穆 薩提希 PARIMOO, SATISH (US)
(74)代理人：陳長文
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：18 項 圖式數：0 共 36 頁

(54)名稱

皮膚之胸腺素β－４之調節

MODULATION OF THYMOSIN BETA-4 IN SKIN

(57)摘要

本發明提供用於預防、改善或減少皮膚老化跡象之方法，該方法使用類視色素以外可刺激皮膚之胸腺素β-4 表現之活性劑。本發明亦提供篩選刺激胸腺素β-4 表現程度之物質的方法，及使用該篩選方案所鑑別之活性劑用於皮膚治療之方法。

(19)中華民國智慧財產局
(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201323005 A1
(43)公開日： 中華民國 102 (2013) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：101130160 (22)申請日： 中華民國 101 (2012) 年 08 月 20 日
(51)Int. Cl.： *A61K8/40 (2006.01)* *A61K8/49 (2006.01)*
A61K8/33 (2006.01) *A61Q19/00 (2006.01)*
(30)優先權：2011/12/13 美國 13/324,150
(71)申請人：愛芳製品公司 (美國) AVON PRODUCTS, INC. (US)
美國
(72)發明人：陳希明 CHEN, SIMING (US) ；鄭謙 ZHENG, QIAN (CN) ；派瑞穆 薩提希 PARIMOO, SATISH (US)
(74)代理人：陳長文
申請實體審查：無 申請專利範圍項數：18 項 圖式數：0 共 36 頁

(54)名稱

皮膚之胸腺素β－４之調節

MODULATION OF THYMOSIN BETA-4 IN SKIN

(57)摘要

本發明提供用於預防、改善或減少皮膚老化跡象之方法，該方法使用類視色素以外可刺激皮膚之胸腺素β-4 表現之活性劑。本發明亦提供篩選刺激胸腺素β-4 表現程度之物質的方法，及使用該篩選方案所鑑別之活性劑用於皮膚治療之方法。

201323005

發明專利說明書

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※申請案號：101130160

※申請日：101.8.20　　※IPC分類：A61K 8/40 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01)
A61K 8/33
A61Q 19/00

一、發明名稱：（中文/英文）

皮膚之胸腺素β-4之調節

MODULATION OF THYMOSIN BETA-4 IN SKIN

二、中文發明摘要：

本發明提供用於預防、改善或減少皮膚老化跡象之方法，該方法使用類視色素以外可刺激皮膚之胸腺素β-4表現之活性劑。本發明亦提供篩選刺激胸腺素β-4表現程度之物質的方法，及使用該篩選方案所鑑別之活性劑用於皮膚治療之方法。

三、英文發明摘要：

Methods for preventing, ameliorating, or reducing dermatological signs of aging are provided which employ active agents, other than a retinoid, that stimulate thymosin beta-4 expression in the skin. Also provided are methods for screening for substances which stimulate thymosin beta-4 expression levels and the methods of using active agents identified by the screening protocol in the treatment of skin.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明概言之係關於改良人類皮膚之美學外觀及健康之方法亦及鑑別用於治療皮膚之化合物之方法。具體而言，本發明係關於除類視色素以外可刺激皮膚之胸腺素β-4表現的化合物。

【先前技術】

胸腺素係指生物化學及功能上相異之蛋白質家族，其現已知存於許多其他組織中，且其具有多種不同生理機能。不同物種中已鑑別出β-胸腺素之20種以上同型異構體，且在人類中，已鑑別出三種β-胸腺素，包括胸腺素β-4、胸腺素β-10及胸腺素β-15，其均共享大量胺基酸序列同源性。儘管此同源性，該等胸腺素β蛋白中之每一者均係具有不同機能之相異基因產物。

胸腺素β-4係最豐富之β-胸腺素，其係高度保守之水溶性胺基酸酸性多肽。編碼胸腺素β-4之哺乳動物基因局域化至X-染色體。X連接之人類胸腺素β-4具有44個胺基酸(msdkpdmaei ekfdksklkk tetqeknplp sketieqekq ages, SEQ ID NO:1)，且藉由去除甲硫胺醯基殘基而處理成分子量為4.9 kDa之43胺基酸肽逸出X滅活(Girardi, M.等人，*Immunology*, 2003, 109: 1-7)。胸腺素β-4局域化至細胞之細胞質及核。胸腺素β-4存於許多組織中，且具有多種生物機能。其有效地調節肌動蛋白聚合，刺激組織重塑、細胞分化、以及損傷後之細胞及組織癒合，且亦涉及多種發

炎趨化因子及細胞因子之表現。

本發明者已檢驗視黃醇於人類皮膚中之操作模式，且已發現視黃醇係胸腺素β-4之有效上調劑。此令人驚奇之結果導致搜尋其他試劑，其上調胸腺素β-4，可用作視黃醇之潛在替代物或代替物用於治療及改良人類皮膚之美學外觀及健康。

本發明之目的係提供用於治療、改善、抑制及/或預防皮膚老化跡象之組合物及方法。本發明之另一目的係提供藉由誘發胸腺素β-4於皮膚細胞中之表現以改良皮膚外觀來治療、改善、抑制及/或預防皮膚老化跡象的方法。本發明之又一目的係提供除類視色素以外可刺激胸腺素β-4表現之化合物達足以改良該人類皮膚之美學外觀的時間，及提供藉由投與刺激或上調胸腺素β-4於皮膚細胞中之表現之試劑來鑑別可用於治療、改善、抑制及/或預防皮膚老化跡象之化合物的方法。

前述論述僅提出用以更好地理解業內面臨之問題之性質且不應以任何方式理解為承認先前技術。

【發明內容】

根據前述目的及其他，本發明提供除類視色素以外胸腺素β-4之刺激劑用以改良一或多個皮膚老化跡象。刺激劑上調胸腺素β-4於皮膚中之含量。據信，真皮纖維母細胞及表皮角質細胞內之胸腺素β-4之上調劑導致細胞內之蛋白質產生增加，該等蛋白質包括(例如)纖維母細胞特異性蛋白、膠原、彈性蛋白及微纖維蛋白及角質細胞蛋白角蛋

白。由於產生纖維母細胞之蛋白質對整個皮膚強度及健康之重要性，故胸腺素β-4之上調將具有減輕皮膚老化外觀之有利效應。

在本發明之一個態樣中，提供改良人類皮膚之美學外觀之方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之除類視色素以外可刺激胸腺素β-4表現之活性劑達足以改良該人類皮膚之美學外觀的時間。時間之足夠性將由個體反應決定，具體而言若治療皺紋及/或細紋，但涵蓋每日投與一次達一至四週。

在本發明之另一態樣中，提供篩選候選物質以鑑別用於改良皮膚之美學外觀之活性物的方法。該方法包含分析候選物質刺激真皮纖維母細胞或角質細胞中之胸腺素β-4表現的能力。該方法通常涉及將人類真皮纖維母細胞或角質細胞與候選物質一起培育且隨後藉由諸如定量聚合酶鏈反應(qPCR)等定量技術量測編碼胸腺素β-4之mRNA之含量。該分析中所用之細胞可為表現胸腺素β-4之任何動物細胞，但較佳係哺乳動物細胞，且更佳係人類或小鼠細胞。

亦提供改良人類皮膚之美學外觀之方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之刺激人類皮膚細胞(例如真皮纖維母細胞及表皮角質細胞)中之胸腺素β-4含量的物質。胸腺素β-4刺激劑在本文中稱作「活性物」或上調劑，且通常調配於化妝品上可接受之媒劑中且局部施用至人類外皮(例如面、頸、手、胸、腿等之皮膚)達足以增強其健康或美學外觀之時間。

在本發明之一個態樣中，提供改良人類皮膚之美學外觀之方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之刺激(例如上調)胸腺素β-4之細胞含量的活性劑，其中藉由量測與活性劑接觸之細胞中之胸腺素β-4之表現程度的分析測定活性劑刺激胸腺素β-4之能力。該分析中所用之細胞可為表現胸腺素β-4之任何動物細胞，但較佳係哺乳動物細胞，且更佳係人類或小鼠細胞。細胞可為皮膚細胞，例如纖維母細胞或角質細胞。該分析可量測胸腺素β-4之任何同源物、片段或標記的含量，但通常所量測者係由人類基因*TMSB4X*或哺乳動物基因*tmsb4x*表現之胸腺素β-4的表現程度。人類基因*TMSB4X*或小鼠基因*tmsb4x*之表現程度可藉由(例如)以任何適宜技術(例如定量聚合酶鏈反應(qPCR))量測相應mRNA之表現程度來測定。

本文所用術語「胸腺素β-4」係指蛋白質，例如人類中由*TMSB4X*基因編碼且哺乳動物(例如小鼠)中由*tmsb4x*基因編碼之蛋白質。如本發明中所述之胸腺素β-4蛋白質(及編碼胸腺素β-4之其相關RNA及/或DNA)可來自任何動物，但通常係人類或小鼠胸腺素β-4，且較佳係人類胸腺素β-4。本文用於闡述特定胸腺素β-4實例之命名法係National Center for Biotechnology Information(「NCBI」)，登錄號NP_066932 (人類，胸腺素β-4，蛋白質)、NM_021109 (人類，胸腺素β-4，mRNA)、NP_067253 (小鼠，胸腺素β-4，蛋白質)、NM_021278 (小鼠，胸腺素β-4，mRNA)，其以引用方式併入並概述於表1中。

亦提供治療皮膚病況之方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之上調胸腺素β-4的活性劑，其中藉由量測與該活性劑接觸之細胞中之胸腺素β-4之表現程度的分析測定該活性劑刺激胸腺素β-4之能力。

亦提供治療皺紋及/或細紋之方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之上調胸腺素β-4的活性劑，其中藉由量測與該活性劑接觸之細胞中之胸腺素β-4之表現程度的分析測定該活性劑上調胸腺素β-4之能力。分析步驟最通常包含將人類真皮纖維母細胞與候選物質一起培育且隨後量測編碼胸腺素β-4之mRNA之含量，其中部分基於候選物質上調胸腺素β-4表現之能力選擇候選物質用作活性劑。該分析中所用之細胞可為表現胸腺素β-4之任何動物細胞，但較佳係哺乳動物細胞，且更佳係人類或小鼠細胞。

在本發明之另一態樣中，提供用於改良人類皮膚之美學外觀的化妝品組合物，其包含呈油包水型或水包油型乳液形式之化妝品上可接受之媒劑及有效量之除類視色素以外可上調胸腺素β-4之活性劑。

在本發明之再一態樣中，提供組合物，其包含可有效上調真皮纖維母細胞或角質細胞中之胸腺素β-4之量的植物提取物及化妝品上可接受之媒劑，其中該植物提取物係提取自選自由以下組成之群之植物：*杜莖山(Maesa japonica)*、*青葙(Celosia argentea)*、*鐵包金(Berchemia lineata)*、*仙丹花(Ixora chinesis)*、*小酸漿(Physalis minima)*及其組合。

在閱讀本發明之實施方式後將更好地瞭解本發明之其他態樣、特徵及優點。

【實施方式】

除非另有規定，否則本文使用之所有術語均意欲具有其普通含義。「化妝品上可接受」意指通常將特定組份視為在所用量下安全且無毒。本文所用術語「預防」包括延遲皮膚老化之特定跡象之發作或進展。術語「薄皮膚」包括隨著年齡性老化變薄之皮膚、以及過早薄化皮膚，其可因(例如)光老化引起。片語「有需要之個體」係指可受益於改良之真皮外觀或健康之人類，包括雄性或雌性。術語「皮膚」包括(但不限於)唇；面、手、臂、頸及胸之皮膚。本文所用術語「基本上由...組成」意欲將本發明限於指定材料或步驟及彼等不會顯著影響所主張本發明之基本及新穎特徵者，如自閱讀本說明書所瞭解。

本文所用術語「胸腺素β-4」係指蛋白質，例如人類中由*TMSB4X*基因編碼且小鼠中由*tmsb4x*基因編碼之蛋白質。如本發明中所述之胸腺素β-4蛋白質(及編碼胸腺素β-4之其相關RNA及/或DNA)可來自任何動物，但通常係人類或小鼠胸腺素β-4，且較佳係人類胸腺素β-4。本文用於闡述特定胸腺素β-4實例之命名法係National Center for Biotechnology Information (「NCBI」)，登錄號NP_066932 (人類，胸腺素β-4，蛋白質)、NM_021109 (人類，胸腺素β-4，mRNA)、NP_067253 (小鼠，胸腺素β-4，蛋白質)、NM_021278 (小鼠，胸腺素β-4，mRNA)，其以

引用方式併入並概述於表1中(參見SEQ ID NO: 1-4)。

如本發明涵蓋之胸腺素β-4包括如自任何動物獲得之具有胸腺素β-4之生物機能之此蛋白質之任何全長、片段或衍生物、以及編碼胸腺素β-4之相應RNA及/或DNA序列。本文所用胸腺素β-4亦係指多肽屬，其另外涵蓋具有胺基酸序列SEQ ID NO:1及SEQ ID NO:3之蛋白質、以及彼等與該等胺基酸序列具有高相似程度(至少90%同源性)且蛋白質及多肽具有胸腺素β-4之生物機能之蛋白質及多肽。另外，用於本發明中之包含SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:4中所述核酸序列之一部分或整個序列之寡核苷酸包括(例如)包含與SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:4中所述核酸序列共享約70%或更大、較佳約80%或更大、更佳約90%或更大且進一步較佳約95%或更大同源性的鹼基序列之寡核苷酸，或包含序列表之SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:4中所述核酸序列之一部分或整個序列的寡核苷酸。

表1.

基因符號	序列	登錄號	序列ID號
TMSB4X(人類)-蛋白質	msdkpdmaei ekfdksklkk tetqeknplp sketieqekq ages	NP_066932	SEQ ID NO: 1
TMSB4X(人類)-mRNA	gacaactcgg tggtggccac tgcgcagacc agacttcgct cgtactcgtg cgcctcgctt cgcttttcct ccgcaaccat gtctgacaaa cccgatatgg ctgagatcga gaaattcgat aagtcgaaac tgaagaagac agagacgcaa gagaaaaatc cactgccttc caaagaaacg attgaacagg agaagcaagc aggcgaatcg taatgaggcg tgcgccgcca atatgcactg tacattccac aagcattgcc ttcttatttt acttctttta gctgtttaac tttgtaagat gcaaagaggt tggatcaagt ttaaatgact gtgctgcccc tttcacatca aagaactact gacaacgaag gccgcgcctg cctttcccat ctgtctatct atctggctgg cagggaagga aagaacttgc atgttggtga aggaagaagt ggggtggaag aagtggggtg ggacgacagt gaaatctaga gtaaaaccaa gctggcccaa ggtgtcctgc aggctgtaat gcagtttaat cagagtgcca ttttttttt tgttcaaatg attttaatta ttggaatgca caatttttt aatatgcaaa taaaaagttt aaaaacttaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa	NM_021109	SEQ ID NO: 2
tmsb4x(小鼠)-蛋白質	msdkpdmaei ekfdksklkk tetqeknplp sketieqekq ages	NP_067253	SEQ ID NO: 3

tmsb4x (小鼠)-mRNA	atcacctcat ttgcatagaa gcacacataa agcggcgttc gccgcgcccc tcccgacaat ccgcagcggc ttctgagcag atcagactct cctcgttcgc gcagctcgct cggctccttc cagcaaccat gtctgacaaa cccgatatgg ctgagatcga gaaattcgat aagtcgaagt tgaagaaaac agaaacgcaa gagaaaaatc ctctgccttc aaaagaaaca attgaacaag agaagcaagc tggcgaatcg taatgaggcg agcgccgcca atatgcactg tacattccac gagcattgcc ttcttatttt acttctttta gctgtttaac tttgtaagat gcaaagaggt tggatcaagt ttaaatgact gtgctgcccc tttcacatca aagaatcaga actactgagc aggaaggcct cccctgcctc tcccacccat ctgatggtct ggctagcaga gagggaaaag aacttgcatg ttggtgaagg aaaaagctgg gtgggagatg atgaaataga gaggaaaatt caagatggtc aaagatgtcc tgcaggatgt aaaatgcagt ttaatcagag tgccattttt ttttgttcaa acaattttaa ttattggaat gcacaatttt tttaatatgc aaataaagtt ttaaaacctg	NM_021278	SEQ ID NO: 4

術語「刺激劑」涵蓋任何物質，包括(但不限於)有機分子；生物分子(例如肽、蛋白質、抗體、核酸寡聚物等)；及物質組合，例如植物提取物。刺激劑可刺激細胞之胸腺素β-4含量，此意指活性劑增加細胞之胸腺素β-4蛋白質含量。術語「刺激」可指上調、誘發、刺激、及/或增強，或解除抑制。刺激劑亦可為(但不限於)活化劑或激動劑，其係例如結合、刺激、增加、打開、活化、促進、增強活化、敏化或上調基因或胸腺素β-4蛋白質或肽之表現程度的化合物。調節蛋白質含量之機制並不重要。

本文所用術語「表現程度」係指在細胞中表現之基因及/或蛋白質之量。本文所用「基因」包括含有至少一個能夠編碼特定多肽之開放閱讀框的多核苷酸。本文所用術語「多核苷酸」與「寡核苷酸」同義且包括任何長度之核苷酸之聚合形式，去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸或其類似物，包括(但不限於)mRNA、DNA、cDNA、引物、探針及諸如此類。

胸腺素β-4之表現程度與皮膚老化間之相關性之發現已產生一種用於鑑別潛在胸腺素β-4刺激劑之篩選方法。在

一個實施例中，提供一種分析，用於測定細胞經候選物質處理、培育或接觸後胸腺素β-4之表現程度。術語「候選物質」係指除類視色素以外任何經測試作為胸腺素β-4刺激劑之活性之物質，不管是否懷疑該物質具有該活性。細胞可為來自任何動物之任何細胞，其中該細胞表現胸腺素β-4。在一個實施例中，該細胞係哺乳動物纖維母細胞。在另一實施例中，該細胞係哺乳動物角質細胞。較佳地，該細胞係人類或小鼠細胞。在該細胞與候選物質一起培育足以提供可測量表現程度變化之時間長度(其通常為至少1小時，更通常為約12小時至約72小時)後，溶解該細胞以釋放細胞組份，例如胸腺素β-4及編碼胸腺素β-4之mRNA。隨後可藉由任何適於檢測並定量肽及蛋白質及/或多核苷酸(例如mRNA)之技術測量胸腺素β-4蛋白質或mRNA之量。

測量胸腺素β-4之表現程度之較佳方法涉及定量mRNA表現。適於測定mRNA表現之方法包括定量PCR (QPCR)、即時QPCR、逆轉錄PCR (RT-PCR)及定量逆轉錄酶PCR (QRT-PCR)，為業內所熟知。如美國專利第7,101,663號及第7,662,561號(其揭示內容以引用方式併入本文中)中詳細闡述，用於檢測mRNA之定量逆轉錄聚合酶鏈反應(QRT-PCR)可包括以下步驟：(a)將來自細胞溶解物之RNA試樣與逆轉錄酶及高濃度靶標序列特異性逆轉錄酶引物在適於產生cDNA之條件下一起培育；(b)隨後向逆轉錄酶反應中添加適宜聚合酶鏈反應(PCR)試劑，包括高濃度對cDNA具

有特異性之PCR引物組及對逆轉錄酶反應熱穩定之DNA聚合酶；及(c)在適於產生對cDNA具有特異性之PCR產物(「擴增子」)的條件下使PCR反應循環期望循環數量。可在固定數量之PCR循環後比較QRT-PCR製程之產物，以測定RNA物質與給定參考基因(例如GAPDH (甘油醛-3-磷酸脫氫酶))相比之相對量。更通常地，藉由分析每一PCR引物組之擴增子產生之相對速率、例如藉由以下來監測PCR反應過程：(1) 插入任何雙鏈DNA之非特異性螢光染料，及/或(2) 由經螢光報告基因標記之寡核苷酸組成的序列特異性DNA探針，該螢光報告基因僅允許在探針與其互補DNA靶標雜交後檢測。

mRNA可為任何與任何動物之胸腺素β-4相關之mRNA，包括編碼胸腺素β-4之mRNA (例如彼等表1中所鑑別者)或任何多核苷酸或其片段或衍生物。在一個實施例中，mRNA尤其編碼胸腺素β-4。在一較佳實施例中，mRNA編碼人類胸腺素β-4。

可將mRNA表現程度與未經候選物質處理之對照比較以測定相對刺激程度。在一些實施例中，候選物質將mRNA表現上調至少約10%、更適宜地至少約20%、至少約30%、至少約40%或至少約50%。較佳地，候選物質將mRNA表現上調至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%或至少約100%。可選擇除類視色素以外可滿足該等標準之候選物質用於其他評價。類視色素(例如視黃醇A及視黃酸)係用於抗皺紋乳霜中之最常見活性劑。然而，

類視色素在皮膚上之用途與多種副作用(例如皮膚刺激、發紅及搔癢、脫皮、皮膚乾燥及對日光敏感)相關。

本發明之胸腺素β-4刺激劑(例如彼等藉由前述篩選方案鑑別者)可用作化妝品製劑中之活性劑且可與其他化妝品上可接受之組份(例如媒劑)一起調配成局部施用至皮膚之組合物。與使用類視色素相比，使用三種胸腺素β-4刺激劑導致較少皮膚刺激、發紅及搔癢、脫皮、皮膚乾燥及對日光敏感。將組合物以有效量局部施用至皮膚，該有效量意指足以達成可量測之皮膚健康改良或一或多個皮膚老化跡象減輕的量。該等皮膚老化跡象包括(但不限於)以下：

(a) 治療、減少及/或預防細紋或皺紋；

(b) 減小皮膚毛孔大小；

(c) 改良皮膚厚度、豐滿度及/或緊實度；

(d) 改良皮膚平滑度、柔順度及/或柔軟度；

(e) 改良皮膚色調、光彩度(radiance)及/或透明度；

(f) 改良原膠原及/或膠原產生；

(g) 改良彈性蛋白之保持及重塑；

(h) 改良膚質及/或促進煥膚；

(i) 改良皮膚障壁修復及/或機能；

(j) 改良皮膚輪廓之外觀；

(k) 恢復皮膚光澤及/或亮度；

(l) 補充皮膚之必需營養素及/或成份；

(m) 改良因老化及/或更年期而衰減之皮膚外觀；

(n) 改良皮膚濕潤性；

(o) 增強皮膚彈性及/或回彈性；

(p) 治療、減少及/或預防皮膚下垂；

(q) 改良皮膚堅實度；及/或

(r) 減少色素斑及/或斑點之皮膚。

實際上，將本發明之組合物(僅包括刺激胸腺素β-4表現程度之試劑或存於化妝品上可接受之媒劑中)施用至需要治療之皮膚。亦即，對患有任何上述屬性之缺失或喪失或否則將受益於任何上述皮膚屬性之改良的皮膚使用本發明之組合物。通常將皮膚每日治療一次或兩次。治療可繼續1週、2週、4週、8週、6個月或更長時間。較佳地，每日一次投與治療達至少四週之時段。治療長度由反應、具體而言由細紋及/或皺紋之有效治療決定。

在一個實施例中，將活性劑於化妝品上可接受之媒劑中局部施用至具有細紋及/或皺紋之皮膚，以預防、治療及/或改善皮膚中之細紋及/或皺紋之外觀。在此情形下，將組合物施用至需要治療之皮膚，其意指已經具有皺紋及/或細紋之皮膚或處於形成細紋及/或皺紋之風險之皮膚。較佳地，將組合物直接施用至面、頸、胸、及/或手皮膚上之細紋及/或皺紋。此實施例之較佳試劑係胸腺素β-4表現之上調劑。在一較佳實施例中，胸腺素β-4表現之上調劑導致真皮纖維母細胞中之膠原、彈性蛋白及/或微纖維蛋白產生增強。

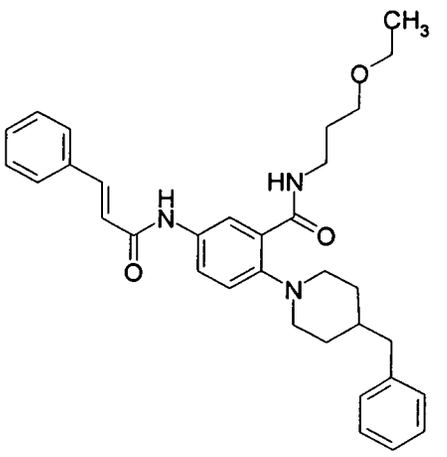
在一個實施例中，本發明係關於藉由增加皮膚中膠原、彈性蛋白及/或微纖維蛋白之產生來改良皮膚之美學外觀

的方法，該方法包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之上調胸腺素β-4表現之試劑，其中藉由測定物質刺激胸腺素β-4之表現程度之分析(包括本文所述分析)鑑別該活性劑進行使用。較佳地，該分析量測真皮纖維母細胞中之胸腺素β-4 mRNA表現程度。

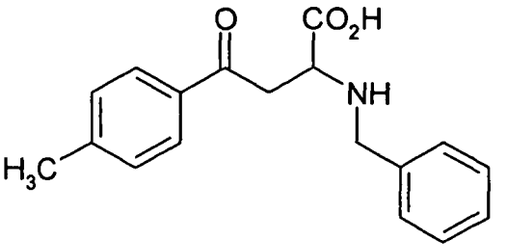
在一個實施例中，胸腺素β-4刺激劑包含天然植入材料，例如植物提取物。在上調胸腺素β-4之天然植物材料及植物提取物中，適宜提取物係來自選自以下物種及/或其部分之植物的提取物：*杜莖山*(枝及葉子)、*青葙*(花)、*鐵包金*(整株植物)、*仙丹花*(花)、*小酸漿*(整株植物)及其組合。

在一較佳實施例中，活性劑可為植物提取物，其上調真皮纖維母細胞或表皮角質細胞中之胸腺素β-4，其來自*杜莖山*且與局部可接受之媒劑組合。視情況，將*杜莖山*活性劑及局部可接受之媒劑與上調真皮纖維母細胞或表皮角質細胞中之胸腺素β-4的第二活性劑組合。

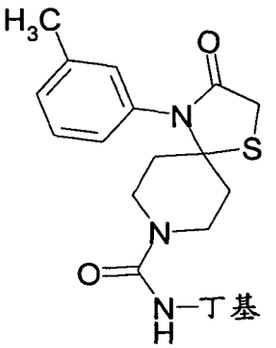
上調胸腺素β-4之其他活性劑包括以下化合物：



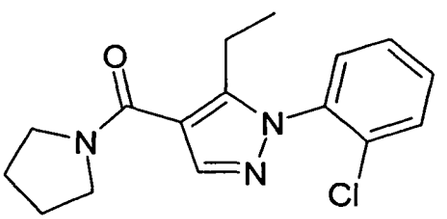
化合物1



化合物2



化合物3



化合物4

在一個實施例中，本發明係關於包含有效量之化合物1及至少一種局部可接受之媒劑的化妝品組合物。本發明之另一實施例係關於改良人類皮膚之美學外觀之方法，其包含對有需要之皮膚局部施用有效量之化合物1達足以改良該人類皮膚之美學外觀之時間。

在一個實施例中，本發明係關於改良人類皮膚之美學外

觀及/或改良老化及/或光損害皮膚之外觀的方法，其包含局部施用有效量之組合物，該組合物包含選自由*杜蕘山*、*青葙*、*鐵包金*、*仙丹花*、*小酸漿*或其組合組成之群之植物之天然植物提取物及化妝品上可接受之媒劑。

植物材料可呈包括(但不限於)以下之任何形式：整株植物、乾燥植物、磨碎的植物、或其部分(包括但不限於種子、針葉、葉子、根、樹皮、球花、莖、根莖、愈傷組織細胞、原生質體、花及分生組織)、或於天然植物材料及/或該植物之部分中發現的或自其分離出的組份及/或成份或其任何組合。在一個實施例中，天然植物材料呈源自整株植物或植物之選擇部分(例如植物之葉子)之提取物形式。應瞭解，「天然植物材料」亦包括源自天然植物材料之成份(ingredient)、組份、成份(constituent)或提取物。在另一實施例中，如本文所用植物提取物亦包括「合成」提取物，即已知植物組份及/或成份之各種組合，其經組合以實質上模擬天然來源之植物提取物之組成及/或活性。該等合成提取物包括於術語「植物提取物」內。合成提取物將與植物共有兩種或更多種、三種或更多種或四種或更多種活性成份。最佳地，合成提取物將具有與天然提取物實質上相同數目之活性成份。合成提取物與植物或天然提取物間之以數值表示之活性成的一致性亦可在「共同性百分比」方面加以描述。較佳地，合成提取物與植物或天然提取物之化學組成具有約50%或更大共同性。換言之，合成提取物具有植物或天然提取物中發現之活性成份

的約50%或更多。更佳地，合成提取物之化學組成與植物或天然提取物之化學組成具有約70%或更大共同性。最佳地，合成提取物與植物或天然提取物之化學組成具有約90%或更大共同性。

對於本揭示內容之組合物中之使用而言，植物提取物或組份及/或活性成份較佳直接源自植物。該等組份可呈純形式、半純形式或未經純化形式。在一個實施例中，該等組份呈藉由水性或有機溶劑提取獲得之提取物形式。有機溶劑之非限制性實例包括乙酸、二乙醚、乙酸乙酯、低碳數醇(例如甲醇、乙醇、異丙醇或丁醇)、二氯甲烷、氯仿、己烷、苯、甲苯、二甲苯、石油醚及其組合。溶劑可為極性或非極性、質子或非質子、水可混溶性或水不可混溶性溶劑。pH可為酸性、中性或鹼性。可使用業內眾所周知之方法進行水性或有機溶劑提取。於介於約30℃至約90℃之間之溫度下介於約1至8小時之間之提取時間通常適宜。隨後精細過濾所收集提取物以去除殘渣，並可直接使用，或(例如)藉由蒸餾溶劑或藉由其他習用處理法對其實施濃縮，且提取物亦可以粉末形式提供。

本發明之化妝品組合物可以多種形式調配用於局部施用且包含有效量之調節或上調胸腺素β-4之活性劑，其中活性劑包含組合物之約0.00001重量%至約90重量%，較佳包含約0.001重量%至約25重量%，更佳約0.01重量%至約10重量%。亦可存在約0.5重量%至約5重量%之活性劑。

該組合物可包括化妝品上可接受之媒劑。該等媒劑可採

取業內已知適於施用至皮膚之任何形式，可包括(但不限於)水；植物油；礦物油；酯，例如棕櫚酸辛酯、肉豆蔻酸異丙酯及棕櫚酸異丙酯；醚，例如二辛醚及二甲基異山梨糖醇；醇，例如乙醇及異丙醇；脂肪醇，例如十六烷醇、鯨蠟硬脂醇、硬脂醇及聯苯醇；異鏈烷烴，例如異辛烷、異十二烷及異十六烷；聚矽氧油，例如環甲基聚矽氧(cyclomethicone)；烴油，例如礦物油、礦脂、異二十烷及聚異丁烯；多元醇，例如丙二醇、丙三醇、丁二醇、戊二醇及己二醇；脂質體；蠟；或上述之任何組合或混合物。

媒劑可包含水相、油相、醇、聚矽氧相或其混合物，且可呈乳液形式。適宜乳液之非限制性實例包括油包水型乳液、水包油型乳液、水包聚矽氧型乳液、聚矽氧包水型乳液、油包丙三醇型乳液、水包蠟型乳液、水-油-水三重乳液或諸如此類。乳液可包括乳化劑(例如非離子型、陰離子型或兩性表面活性劑)或膠凝劑。

局部用組合物之pH範圍通常為1至8，其中2至7範圍內之pH較佳。在一些實施例中，組合物之pH在3.5至5.5範圍內。可添加適宜pH調節劑(例如檸檬酸及三乙醇胺)以使pH在期望範圍內。

在本發明之一個實施例中，組合物可包括其他皮膚活性物，包括(但不限於)植物藥、去角質劑、脫皮劑、角質細胞增殖增強劑、膠原酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、脫色劑、抗發炎劑、類固醇、祛痘劑、抗氧化劑及晚期糖化(advanced glycation)終產物(AGE)抑制劑。

該組合物可包含具有抗老化益處之其他活性成份，預計用該等組合可獲得協同改良。例示性抗老化組份包括(但不限於，僅舉幾個例子)植物藥(例如紫鉚(*Butea frondosa*)提取物)；植醇；硫二丙酸(TDPA)及其酯；類視色素(例如9-順式視黃酸、13-順式視黃酸、全反式視黃酸及其衍生物，植烷酸，視黃醇(維生素A)及其酯，例如視黃醇棕櫚酸酯、視黃醇乙酸酯及視黃醇丙酸酯，及其鹽及其他)；羥酸(包括α-羥酸及β-羥酸)、水楊酸及水楊酸烷基酯；表皮脫落劑(例如乙醇酸、3,6,9-三氧雜十一碳二酸等)、刺激化合物之雌激素合成酶(例如咖啡因(caffeine)及衍生物)；能夠抑制5α-還原酶活性之化合物(例如亞麻酸、亞麻油酸、非那雄胺(finasteride)及其混合物)；及障壁機能增強劑(例如神經醯胺、甘油酯、膽固醇及其酯、α-羥基及ω-羥基脂肪酸及其酯等)。例示性類視色素包括(但不限於)：視黃酸(例如全反式-或13順式)及其衍生物、視黃醇(維生素A)及其酯(例如視黃醇棕櫚酸酯、視黃醇乙酸酯及視黃醇丙酸酯)及其鹽。

在另一實施例中，本發明之局部組合物亦可包括以下中之一或多者：皮膚滲透增強劑；潤膚劑，例如豆蔻酸異丙酯、礦脂、聚矽氧(例如甲基聚矽氧、二甲基聚矽氧)、油、礦物油及脂肪酸酯；潤濕劑，例如丙三醇或辛二醇；皮膚豐滿劑，例如棕櫚醯基寡肽、膠原、或膠原及/或葡萄糖胺聚糖(GAG)增強劑；防曬劑，例如阿伏苯宗(avobenzone)；表皮脫落劑；及抗氧化劑。

適宜表皮脫落劑包括(例如) α-羥酸、β-羥酸、含氧酸、含氧二酸及其衍生物(例如酯、酐及其鹽)。適宜羥酸包括(例如)乙醇酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、2-羥基鏈烷酸、扁桃酸、水楊酸及其衍生物。較佳表皮脫落劑係乙醇酸。表皮脫落劑(若存在)可佔組合物之約0.1重量%至約80重量%。

可用於本發明組合物中之抗氧化劑之實例包括含有酚類羥基官能基之化合物，例如抗壞血酸及其衍生物/酯類；β-胡蘿蔔素；兒茶酚；薑黃素；阿魏酸衍生物(例如阿魏酸乙酯、阿魏酸鈉)；沒食子酸衍生物(例如沒食子酸丙酯)；番茄紅素；還原酸；迷迭香酸；丹寧酸；四氫薑黃色素；生育酚及其衍生物；尿酸；或任何其混合物。其他適宜抗氧化劑係彼等具有一或多個硫醇官能基(-SH)者(呈還原形式或非還原形式)，例如麩胱甘肽、硫辛酸、硫代乙醇酸及其他巰基化合物。抗氧化劑可係無機抗氧化劑，例如亞硫酸氫鹽、偏亞硫酸氫鹽、亞硫酸鹽或其他含硫無機鹽及酸。本發明組合物可包含佔組合物總重量較佳約0.001 wt%至約10 wt%、且更佳約0.01 wt%至約5 wt%之抗氧化劑。

其他習用添加劑包括：維生素，例如生育酚及抗壞血酸；維生素衍生物，例如單棕櫚酸抗壞血酯；增稠劑，例如羥基烷基纖維素；膠凝劑；結構化劑；金屬螯合劑，例如EDTA；顏料；著色劑；及pH調節劑。組合物可視情況包含彼等熟習此項技術者已知之其他組份，包括但不限於

膜形成劑、保濕劑、礦物質、黏度及/或流變性調節劑、祛痘劑、防蟲劑、皮膚冷卻化合物、皮膚保護劑、潤滑劑、芳香劑、防腐劑、穩定劑及其混合物。除上述外，本發明之化妝品組合物亦可含有用於治療皮膚病症之任何其他化合物。

組合物可調配成各種產品形式，例如乳液、洗液、乳霜、精華液、噴霧、氣溶膠、餅狀物、栓劑、香精、凝膠、膏糊、貼劑、筆狀物、小毛巾、面膜、棒狀物、發泡體、酏劑、濃縮物及諸如此類，其尤其用於局部投與。較佳地，將組合物調配為乳液、洗液、乳霜、栓劑精華液或凝膠。

本發明提供治療老化皮膚之方法，其係藉由以下方式達成：在受影響區域上局部施用包含刺激胸腺素β-4之活性劑且較佳存於化妝品上可接受之媒劑中之組合物達足以減輕、改善、逆轉或預防皮膚老化跡象的時間段。

通常，病況/美學外觀之改良選自由以下組成之群：減輕年齡性老化、光老化、激素性老化及/或光化性皮膚老化跡象；預防及/或減少細紋及/或皺紋之外觀；減輕面部細紋及皺紋、面頰、前額上之面部皺紋、介於眼睛之間的垂直皺紋、眼睛上面的水平皺紋、及圍繞口部之木偶紋、及尤其較深皺紋或皺褶之顯著性；改良眶下細紋及/或眼眶周圍細紋之外觀；減輕眼角皺紋之外觀；復原及/或複新皮膚，尤其老化的皮膚；減輕皮膚脆性；預防及/或逆轉葡萄糖胺聚糖及/或膠原之損失；改善雌激素失調之效

應；預防皮膚萎縮；預防、減輕、及/或治療色素沉著過度或色素沉著不足；最小化皮膚變色；改良皮膚色調、光澤、透明度及/或緊實度；預防、減輕、及/或改善皮膚下垂；改良皮膚堅實度、豐滿度、柔順度及/或柔軟度；改良原膠原及/或膠原產生；改良膚質及/或促進煥膚；改良皮膚障壁修復及/或機能；改良皮膚輪廓之外觀；恢復皮膚光澤及/或亮度；最小化疲勞及/或緊張狀態之皮膚跡象；抵抗環境應激；補充皮膚中因老化及/或更年期而減少的成份；改良皮膚細胞間之流通；增強細胞增殖及/或倍增；增強因老化及/或更年期而減小的皮膚細胞新陳代謝；延緩細胞老化；改良皮膚濕潤性；增強皮膚密度；減緩或中斷皮膚薄化；增大皮膚彈性及/或回彈性；增強表皮脫落；改良微循環；減少及/或預防橘皮組織形成；及其任何組合。

在一個實施例中，組合物包含約0.00001重量%至約90重量%、更通常約0.001重量%至約25重量% (包括約0.01重量%至約10重量%)之胸腺素β-4刺激劑。較佳地，刺激劑可為纖維母細胞中之胸腺素β-4之上調劑。亦較佳地，刺激劑可為角質細胞中之胸腺素β-4之上調劑。在一個實施例中，刺激劑係纖維母細胞及角質細胞中之胸腺素β-4之上調劑。亦涵蓋刺激劑之組合。在一個實施例中，刺激劑係兩種或更多種作為纖維母細胞及/或角質細胞中之胸腺素β-4之上調劑的物質。

通常每日一次、兩次或三次將組合物施用至皮膚，只要

達成期望結果需要即可。治療方案可包含每日一次施用達至少一週、至少兩週、至少四週、至少八週或至少十二週或更長時間。亦涵蓋慢性治療方案。可分別藉由(例如)目視檢查或藉由(例如)顯微鏡或電腦輔助量測皺紋形貌(例如，每單位皮膚面積之皺紋的數量、深度、長度、面積、體積及/或寬度)定性或定量評價組合物對細紋及皺紋之形成或外觀之效應。在一個實施例中，本發明之組合物以約0.001 mg/cm^{2}至約100 mg/cm^2、更通常約0.01 mg/cm^{2}至約20 mg/cm^{2}且較佳約0.1 mg/cm^{2}至約10 mg/cm^{2}之量施用至皮膚。

亦預計本發明組合物可藉由將組合物局部施用至有需要之個體之皮膚用於治療薄皮膚。「薄皮膚」意欲包括因年齡性老化、更年期或光損害而薄化之皮膚及過早薄化之皮膚。在一些實施例中，治療係針對男性之薄皮膚，而其他實施例治療絕經前或絕經後女性之薄皮膚，據信皮膚隨男性及女性之年齡、且具體而言不同生命階段之女性而不同地薄化。

可以預防方式採用本發明方法以對抗包括尚未表現皮膚老化跡象之個體、最常見年齡小於25歲個體中的老化。該方法亦可逆轉或治療如年齡超過25歲個體中常見表現之老化跡象或減緩該等個體中之皮膚老化之進展。

實例

以下實例闡述本發明之具體態樣以闡釋本發明，但不應理解為限制本發明，此乃因該等實例僅提供可用於理解及

實踐本發明及其多個態樣之具體方法。

實例1

胸腺素β-4刺激分析.

將正常人類真皮纖維母細胞在含有適當培養基之96孔組織培養基處理板中培養。使活性物之儲備溶液溶於適當媒劑(水或DMSO)中。在具有10% CO_2之加濕37℃培育箱中將細胞用稀釋於生長培養基中之測試材料或各別媒劑對照處理24小時。在培育後，自每一板去除生長培養基並向各孔中添加100 μL裂解緩衝液並將其放置於具有10% CO_2之37℃培育箱中達30分鐘。在培育結束時，將細胞裂解物收集於冷凍機板中並放置於-80℃冷凍機中直至分析。使用根據製造商說明書(Affymetrix, CA)採用分枝DNA信號擴增技術之Affymetrix's QUANTIGENE®多重分析來分析處理後胸腺素β-4 (TMSB4X)之mRNA變化。藉由比較測試結果與對照計算胸腺素β-4 (TMSB4X)之mRNA增加百分比。上調百分比轉化為如下表2中所示之分級評分。

表2.

上調%	上調評分
0-20	0
21-40	+
41-60	++
61-80	+++
>81	++++

實例2

胸腺素β-4之上調.

根據實例1之方法測試各種植物提取物上調胸腺素β-4之能力。該等活性劑之結果提供於表3中。基於給定植物提取物之乾重提供每一提取物之濃度，其意指去除揮發性提取溶劑後之提取物之重量。所測試細胞係原代人類真皮纖維母細胞。

表3.

植物提取物	濃度(%)	胸腺素β-4 (TMSB4X) 上調程度
杜莖山	0.1	++++
杜莖山	0.01	++
青葙	0.01	+++
仙丹花	0.01	+
小酸漿	0.1	+
小酸漿	0.01	+

亦根據實例1之方法測試合成化合物1-4作為活性劑上調胸腺素β-4之能力。結果提供於表4中。

表4.

化合物	濃度(%)	胸腺素β-4 (TMSB4X)上調程度
1	0.001	++
2	0.0001	+
3	0.0001	+
4	0.00001	+

包括專利申請案及公開案在內之本文所引用之所有參考

文獻的全部內容出於所有目的皆以引用方式併入本文中，其併入程度就如同每一個別公開案或專利或專利申請案皆特別地且個別地指出其全部內容出於所有目的以引用方式併入本文中一般。彼等熟習此項技術者應瞭解，可在不背離本發明精神及範圍下對本發明實施多種修改及改變。本文所述之具體實施例僅以實例方式提供，且本發明僅受限於各項隨附申請專利範圍以及該等申請專利範圍所授權之等效物之全部範圍。

序　列　表

<110> 美商愛芳製品公司

<120> 皮膚之胸腺素 β-4 之調節

<130> SC132U-US

<140> 101130160

<141> 2012-08-20

<150> 13/324,150

<151> 2011-12-13

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 44
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1
Met Ser Asp Lys Pro Asp Met Ala Glu Ile Glu Lys Phe Asp Lys Ser
1 5 10 15

Lys Leu Lys Lys Thr Glu Thr Gln Glu Lys Asn Pro Leu Pro Ser Lys
20 25 30

Glu Thr Ile Glu Gln Glu Lys Gln Ala Gly Glu Ser
35 40

<210> 2
<211> 657
<212> DNA
<213> 智人

<400> 2
gacaactcgg tggtggccac tgcgcagacc agacttcgct cgtactcgtg cgcctcgctt 60

cgcttttcct ccgcaaccat gtctgacaaa cccgatatgg ctgagatcga gaaattcgat 120

aagtcgaaac tgaagaagac agagacgcaa gagaaaaatc cactgccttc caaagaaacg 180

attgaacagg agaagcaagc aggcgaatcg taatgaggcg tgcgccgcca atatgcactg 240

tacattccac aagcattgcc ttcttatttt acttctttta gctgtttaac tttgtaagat 300

gcaaagaggt tggatcaagt ttaaatgact gtgctgcccc tttcacatca aagaactact 360

gacaacgaag gccgcgcctg cctttcccat ctgtctatct atctggctgg cagggaagga 420

aagaacttgc atgttggtga aggaagaagt ggggtggaag aagtggggtg ggacgacagt 480

gaaatctaga gtaaaaccaa gctggcccaa ggtgtcctgc aggctgtaat gcagtttaat 540

cagagtgcca ttttttttt tgttcaaatg attttaatta ttggaatgca caatttttt 600

aatatgcaaa taaaaagttt aaaaacttaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 657

<210> 3
<211> 44
<212> PRT
<213> 家鼷鼠

<400> 3
Met Ser Asp Lys Pro Asp Met Ala Glu Ile Glu Lys Phe Asp Lys Ser
1 5 10 15

Lys Leu Lys Lys Thr Glu Thr Gln Glu Lys Asn Pro Leu Pro Ser Lys

20 25 30

Glu Thr Ile Glu Gln Glu Lys Gln Ala Gly Glu Ser
35 40

<210> 4
<211> 670
<212> DNA
<213> 家鼷鼠

<400> 4
atcacctcat ttgcatagaa gcacacataa agcggcgttc gccgcgcccc tcccgacaat 60
ccgcagcggc ttctgagcag atcagactct cctcgttcgc gcagctcgct cggctccttc 120
cagcaaccat gtctgacaaa cccgatatgg ctgagatcga gaaattcgat aagtcgaagt 180
tgaagaaaac agaaacgcaa gagaaaaatc ctctgccttc aaaagaaaca attgaacaag 240
agaagcaagc tggcgaatcg taatgaggcg agcgccgcca atatgcactg tacattccac 300
gagcattgcc ttcttatttt acttctttta gctgtttaac tttgtaagat gcaaagaggt 360
tggatcaagt ttaaatgact gtgctgcccc tttcacatca aagaatcaga actactgagc 420
aggaaggcct cccctgcctc tcccacccat ctgatggtct ggctagcaga gagggaaaag 480
aacttgcatg ttggtgaagg aaaaagctgg gtgggagatg atgaaataga gaggaaaatt 540
caagatggtc aaagatgtcc tgcaggatgt aaaatgcagt ttaatcagag tgccattttt 600
ttttgttcaa acaattttaa ttattggaat gcacaatttt tttaatatgc aaataaagtt 660
ttaaaacctg 670

七、申請專利範圍：

1. 一種改良人類皮膚美觀的方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之類視色素以外可刺激人類胸腺素β-4表現之活性劑足以改良該人類皮膚美觀的時間。

2. 如請求項1之方法，其中該人類皮膚之美觀改良係選自由以下組成之群：

(a) 治療、減少及/或預防細紋或皺紋；

(b) 減小皮膚毛孔大小；

(c) 改良皮膚厚度、豐滿度及/或緊實度；

(d) 改良皮膚平滑度、柔順度及/或柔軟度；

(e) 改良皮膚色調、光彩度(radiance)及/或透明度；

(f) 改良原膠原及/或膠原產生；

(g) 改良彈性蛋白之保持及重塑；

(h) 改良膚質及/或促進煥膚(retexturization)；

(i) 改良皮膚障壁修復及/或機能；

(j) 改良皮膚輪廓之外觀；

(k) 恢復皮膚光澤及/或亮度；

(l) 補充皮膚之必需營養素及/或成份；

(m) 改良老化及/或更年期而衰減之皮膚外觀；

(n) 改良皮膚濕潤性；

(o) 增強皮膚彈性及/或回彈性；

(p) 治療、減少及/或預防皮膚下垂；

(q) 改良皮膚堅實度；及

(r) 減少色素斑及/或斑點之皮膚。

3. 如請求項1之方法，其中該活性劑刺激胸腺素β-4表現之能力已藉由測量與該活性劑接觸之細胞中胸腺素β-4表現程度的分析測定。

4. 如請求項3之方法，其中該分析測量編碼胸腺素β-4之人類基因*TMSB4X*的表現程度。

5. 如請求項4之方法，其中藉由測量相應mRNA之表現程度測定該表現程度。

6. 如請求項3之方法，其中該細胞係真皮纖維母細胞或表皮角質細胞。

7. 一種鑑別至少一種可用於改良皮膚美觀之活性劑的方法，其包含分析至少一種候選物質刺激真皮纖維母細胞或表皮角質細胞中之至少一者之胸腺素β-4表現的能力，藉由人類真皮纖維母細胞或人類表皮角質細胞與該候選物質一起培育及隨後測量編碼胸腺素β-4之mRNA之量。

8. 一種治療皺紋及/或細紋之方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之上調胸腺素β-4的活性劑，其中該活性劑刺激胸腺素β-4之能力已藉由如請求項7之方法測定。

9. 如請求項8之方法，其中至少每日一次對該皮膚施用該活性劑至少四週之時段。

10. 一種用於改良人類皮膚美觀之化妝品組合物，其包含化妝品上可接受之媒劑及有效量之類視色素以外上調胸腺素β-4之活性劑，其中該有效量之活性劑包含總組合物之約0.00001重量%至約90重量%。

11. 如請求項10之化妝品組合物，其中該活性劑係選自由以下組成之群之植物的植物提取物：杜蘅山(*Maesa japonica*)、青葙(*Celosia argentea*)、鐵包金(*Berchemia lineata*)、仙丹花(*Ixora chinesis*)、小酸漿(*Physalis minima*)及其組合。

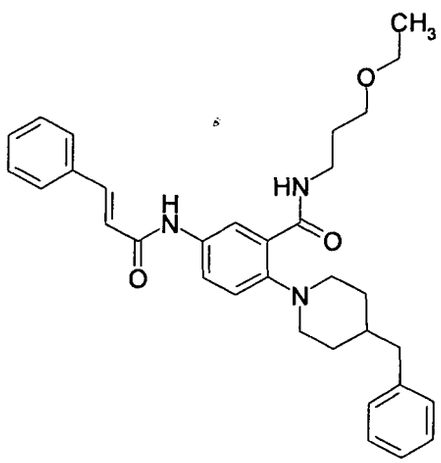
12. 如請求項10之化妝品組合物，其中該活性劑之有效量為總組合物之約0.01重量%至約10重量%之間。

13. 如請求項10之化妝品組合物，其中該植物提取物係選自由以下組成之群：杜蘅山、青葙、鐵包金、仙丹花、小酸漿及其組合。

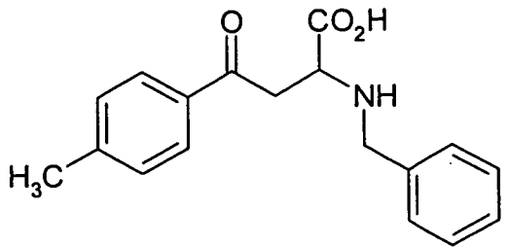
14. 一種改良人類皮膚美觀之方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之如請求項13之組合物，其中該皮膚具有細紋及/或皺紋。

15. 如請求項13之組合物，其中該活性劑係杜蘅山之提取物。

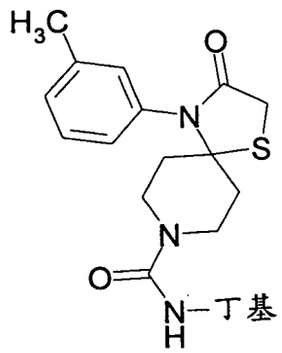
16. 如請求項10之組合物，其中該活性劑係選自由以下組成之群：



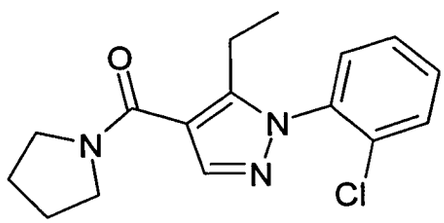
化合物1



化合物2



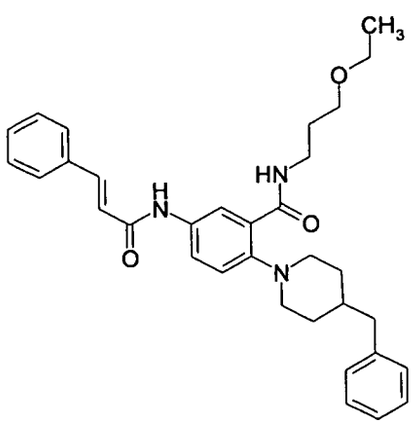
化合物3



化合物4

及其組合。

17. 如請求項16之組合物，其中該劑係：



18. 一種改良人類皮膚美觀之方法，其包含對有需要之皮膚區域局部施用有效量之如請求項16之組合物，其中該皮膚具有細紋及/或皺紋。