發明專利說明書 200400833

（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：91135664

※ 申請日期：91.12.10　　※IPC 分類：A61K7/48

壹、發明名稱：（中文/英文）

外用抗老化劑用賦予皮膚活力之組合物

SKIN VITALIZING COMPOSITION FOR EXTERNAL USE ANTI-AGING PREPARATION

貳、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

日商資生堂股份有限公司

SHISEIDO COMPANY, LTD.

代表人：（中文/英文）

池田 守男

MORIO IKEDA

住居所或營業所地址：（中文/英文）

日本國東京都中央區銀座 7 丁目 5 番 5 號

5-5, GINZA 7-CHOME, CHUO-KU, TOKYO 104-8010, JAPAN

國　籍：（中文/英文）

日本　　JAPAN

參、發明人：（共 6 人）

姓　名：（中文/英文）

1.天野 聰

SATOSHI AMANO

2.小倉 有紀

YUKI OGURA

3.松永 由紀子

YUKIKO MATSUNAGA

4.津田 孝也

TAKANARI TSUDA

5.青山 緣

YUKARI AOYAMA

6.古賀 信義

NOBUYOSHI KOGA

住居所地址：（中文/英文）

1.日本國神奈川縣橫濱市金澤區福浦 2-12-1 資生堂股份有限公司研究中心(金澤八景)內

C/O SHISEIDO RESEARCH CENTER (KANAZAWA HAKKEI), 12-1, FUKUURA 2-CHOME, KANAZAWA-KU, YOKOHAMA-SHI, KANAGAWA 236-0004, JAPAN

2.日本國神奈川縣橫濱市金澤區福浦 2-12-1 資生堂股份有限公司研究中心(金澤八景)內

C/O SHISEIDO RESEARCH CENTER (KANAZAWA HAKKEI), 12-1, FUKUURA 2-CHOME, KANAZAWA-KU, YOKOHAMA-SHI, KANAGAWA 236-0004, JAPAN

3.日本國神奈川縣橫濱市金澤區福浦 2-12-1 資生堂股份有限公司研究中心(金澤八景)內

C/O SHISEIDO RESEARCH CENTER (KANAZAWA HAKKEI), 12-1, FUKUURA 2-CHOME, KANAZAWA-KU, YOKOHAMA-SHI, KANAGAWA 236-0004, JAPAN

4.日本國神奈川縣橫濱市都筑區早淵 2-2-1 資生堂股份有限公司研究中心(新橫濱)內

C/O SHISEIDO RESEARCH CENTER (SHIN-YOKOHAMA), 2-1, HAYABUCHI 2-CHOME, TSUZUKI-KU YOKOHAMA-SHI, KANAGAWA 224-8558, JAPAN

5.日本國神奈川縣橫濱市都筑區早淵 2-2-1 資生堂股份有限公司研究中心(新橫濱)內

C/O SHISEIDO RESEARCH CENTER (SHIN-YOKOHAMA), 2-1, HAYABUCHI 2-CHOME, TSUZUKI-KU YOKOHAMA-SHI, KANAGAWA 224-8558, JAPAN

6.日本國神奈川縣橫濱市都筑區早淵 2-2-1 資生堂股份有限公司研究中心(新橫濱)內

C/O SHISEIDO RESEARCH CENTER (SHIN-YOKOHAMA),

2-1, HAYABUCHI 2-CHOME, TSUZUKI-KU YOKOHAMA-SHI, KANAGAWA 224-8558, JAPAN

國　籍：（中文/英文）
均日本　　JAPAN

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

☑ **本案申請前已向下列國家（地區）申請專利：**

1.日本; 2002 年 06 月 18 日; 特願 2002-177601

2.日本; 2002 年 11 月 06 日; 特願 2002-323030

3.

4.

5.

☑ **主張國際優先權(專利法第二十四條)：**

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1.日本; 2002 年 06 月 18 日; 特願 2002-177601

2.日本; 2002 年 11 月 06 日; 特願 2002-323030

3.

4.

5.

☐ **主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：**

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

☐ **主張專利法第二十六條微生物：**

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於皮膚基底膜保養產品，皮膚基底膜構造形成及加速修護製劑，以及皮膚外用製劑。本發明也關於加速人造皮膚構造形成製劑及人造皮膚生產方法。

【先前技術】

在化粧品及皮膚學領域內，曾提出多種方法試圖舒緩或治療外在環境影響，包括陽光及老化，導致的皮膚損傷。隨老化所致的皮膚的主要改變是，例如，皺紋的生成，硬化及失去彈性。

過去是把注意力集中於此等改變的原因，包括皮內膠原蛋白及由膠原蛋白，彈性蛋白及葡糖胺聚糖構成的彈性纖維的功能低下。現在是研究使用羥基羧酸(例如日本專利公告253339號)及使用溶血磷脂(例如日本專利尚未檢定的專利公告(KOKAI)8-67621號)作為預防及修護此類皮膚改變的手段。

前一公告建議角質化或皺紋生成可藉預防膠原蛋白纖維的失去抑制。另一方面，後一公告建議溶血磷脂經由人成纖維細胞內加速葡糖胺聚糖(特別是透明質酸)的產生對皮有濕潤效果。

於一般術語中，皮膚是由角質層，上皮，基底膜及真皮構成。IV型及VII型膠原蛋白是上皮基底膜的成分，負責將上皮結合於真皮上。IV型膠原蛋白是構成上皮基底膜架的緻密板構造的主要成分。VII型膠原蛋白是將基底膜結合於

真皮上的固著小纖維的主要成分。

現已觀察到，IV型膠原蛋白在上皮基底膜內的表達量隨老化而減少(Vazquez F. et al., Maturitas 1996, 25: 209-215)，而有些報告指出，與取自年輕人的皮膚成纖維細胞相比，取自老年人的皮膚成纖維細胞之VII型膠原蛋白之產生在蛋白質量及mRNA量上也降低(Chen et al., J. Invest. Dermatol., 102:205-209, 1994)。此外，由VII型膠原蛋白構成的固定小纖維的減少，據報告，出現於生理老化及正常皮膚之光老化(photoaging)(Tsuji, T., Nippi Kaishi 105:963-975, 1995)；Tidman et al., J. Invest. Dermatol., 83:448-453, 1984)。是以，加速構成基底膜架的，及構成將上皮結合於真皮的固定小纖維的IV型膠原蛋白的生成，以及構成固定小纖維主成分的VII型膠原蛋白的生成，被認作是維持皮膚健康及年輕的重要因素。

在外在環境中影響皮膚老化的最重要因子是日光中的紫外線，此已清楚地被確認是促使老化的因子，並知會導致皮膚改變，所謂光老化，其特徵是深皺紋(Scharffetter-Kochanek, Advance in Pharmacology, 1997, 58, 639-655)。紫外線對皮膚有各種影響，包括對遺傳DNA的損傷，活性氧的誘導產生及，如最近所顯示者，基質金屬蛋白酶的誘導產生(Fischer et al., Nature, 1996, 379, 335-339)。

由於紫外線的多種性質，有關紫外線誘導的光老化機制現尚未充分了解。以裸鼠作實驗，以不會引起紅斑的能量劑量的紫外線連續照射，會於鼠的背部皮膚生成深皺紋，

相當於人的光老化皮膚，此種鼠模型也用於評估可影響皺紋的物質(Moloney et al., Photochem. Photobiol., 1992, 56, 495- 504)。但是，現尚未充分了解皺紋生成的機制。

另一方面，Koivulkangas等曾報告，紫外線照射的皮膚內基底膜催化酶明膠酶的活性增加(Acta Derm. Venereol. 1994, 74, 279-282)。此外，Marschall等報告，於受紫外線照射的上皮細胞內，尿激酶(纖溶酶原激活酶(uPA))及其受體，uPA受體，之表達增加(J. Invext. Dermatol. 1999, 113, 69-76)，表示血漿衍生的纖溶酶原的增加活化角質細胞週圍的纖溶酶原，並於曝露於紫外線的位置增強纖溶酶的活性。也有人報告，於皮膚曝露於日光的位置，基底膜也展現構造上的改變，特別常見的是有強烈的多層化(multilayering)(Lavker, J. Invest. Dermat., 1979, 73, 59-66)。這表示日光中的紫外線藉於皮膚基底膜增加分解代謝酶的產生而影響基底膜構造。

上皮基底膜的損傷不僅加速皮膚老化，也妨礙上皮的每日代謝，又進一步引起皮膚損傷。所以上皮基底膜受損構造的快速修復不僅在預防皮膚老化上是重要的，也是皮膚常規保養的一部分。

過去層使用人造皮膚模型作為加速修復基底膜的特異手段。生產人造皮膚模型的舉例性方法包括於含類似真皮構造的人成纖維細胞的I型膠原蛋白凝膠上培養正常的人上皮角質細胞，使生成上皮層。於此法中，在模擬真皮膠原蛋白凝膠與模擬上皮層間生成有缺陷的基底膜，所以可用

以評估加速修復或使受損的皮膚基底膜構造再生。用此人造皮膚現已發現，皮膚基底膜構造的再生可藉使用基質金屬蛋白酶抑制劑，或基質金屬蛋白酶抑制劑及基質蛋白質生產促進劑二者完成(Japanese Unexamined Patent Publication (KOKAI) 2001-269398號)。但，問題是，與正常皮膚相比，再生的緻密板發育並不完全，VII型膠原蛋白的沉積也不足量。

作為以任何原因受損傷的生物學上的皮膚的代用品，或是作為試驗皮膚藥物及化粧品的實驗物質，或是藥物試驗，人造皮膚是重要的，而且，用於所有此類用途時，人造皮膚須是有與天然皮膚構造儘可能相似的構造。

本發明目的在提供一種新手段及皮膚外用製劑用於皮膚基底膜構造的加速修復與再生，以及提供一種新方法以達到人造皮膚構造基底膜的適宜生成。

【發明內容】

發明人等已對解決皮膚基底膜構造的加速修復與再生所引起的問題以及具有令人滿意的基底膜構造的人造皮膚的生產作了勤勉的研究，結果是發明人等發現基質金屬蛋白酶抑制劑的加速基底膜生成作用可被抑制絲胺酸蛋白酶的物質，以及增加IV型及VII型膠原蛋白或層黏連蛋白5，此皆為上皮基底膜的重要成分，的產生而明顯增進。

所以，本發明提供一種外用的，抗老化的皮膚活化組合物，具體地說，是一種加速上皮基底膜構造生成的製劑及皮膚外用製劑，其含一或多種絲胺酸蛋白酶抑制劑作為活

性成分。

本發明還提供上皮基底膜構造加速生成製劑及皮膚外用製劑，各是作為一或多種絲胺酸蛋白酶抑制劑混合物及一或多種增進細胞外基質成分產生的物質，例如IV型及VII型膠原蛋白或層黏連蛋白5，調配的。

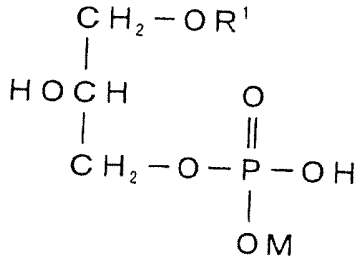
本發明還提供加速生成上皮基底膜構造的製劑，皮膚外用製劑，各是作為一或多種絲胺酸蛋白酶抑制劑混合物，一或多種增進細胞外基質成分產生的物質，例如IV型及VII型膠原蛋白或層黏連蛋白5，一或多種鞣金屬蛋白酶抑制劑，調配的。

本發明還提供一種生產具適宜生成的基底膜的人造皮膚，生成人造皮膚的基質，此基質含一或多種絲胺酸蛋白酶抑制劑，一或多種增進細胞外基質成分產生的物質，例如IV型及VII型膠原蛋白或層黏連蛋白5主要上皮基底膜成分，及/或一或多種基質金屬蛋白酶抑制劑，作為活性成分，此等成分可單獨或混合使用，以及生產此基質的方法。

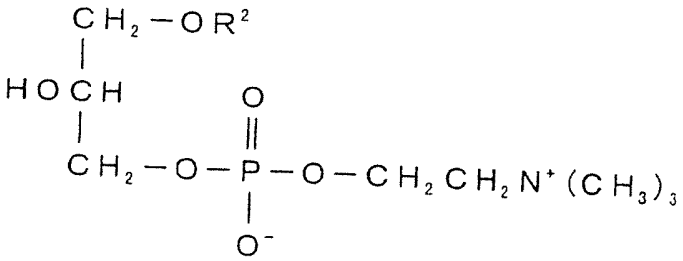
本發明已發現藉了將展現有促進生產IV型及VII型膠原蛋白活性的衍生自山毛櫸科水青岡屬(Fagaceae Fagus)植物的萃取物，作為生產層黏連蛋白5促進劑的1-醯基溶血磷脂，及作為絲胺酸蛋白酶抑制劑的衍生自屬於唇形花科薄荷屬(Labiatae Mentha)植物的萃取物合併，可製得皮膚外用製劑，其展現高促進基底膜修護效果，極佳的改善皮膚粗糙效果及極佳維護皮膚彈性效果，並抑制皺紋生成。

更特定地說，根據本發明較佳方法，提供一種皮膚外用

製劑，其特點是含有衍生自山毛櫸科水青岡屬(Fagaceae Fagus)植物的萃取物，以如下通式(1)或(2)代表的1-醯基溶血磷脂，及衍生自屬於唇形花科薄荷屬(Labiatae Mentha)植物的萃取物：



… (1)



… (2)

其中R^1代表有11-24個碳原子的飽和脂肪酸殘基或有18，20，22或24個碳原子的及有1-4個不飽和雙鍵的脂肪酸殘基，R^2代表有13-24個碳原子的飽和脂肪酸殘基或有18，20，22或24個碳原子的及有1-4個不飽和雙鍵的脂肪酸殘基，及M代表H或鹼金屬原子。

【實施方式】

實施本發明最佳方式

絲胺酸蛋白酶抑制劑

本發明對所有絲胺酸蛋白酶抑制物質並無特別限制，只要其展現此種抑制效果即可。絲胺酸蛋白酶的例包括纖溶

酶，尿激酶等。是以絲胺酸抑制物質可選自抑制纖溶酶，尿激酶等的物質。

絲胺酸蛋白酶抑制物質的特定例，此處可提及的是抑酶肽，tranexamic acid及ε-胺基己酸等。

可用於本發明的絲胺酸蛋白酶抑制劑的特定例包括有絲胺酸蛋白酶抑制活性的各種植物萃取物及其純化產物。可提及的此類植物有胡桐淚(Calophyllum brasiliense Cambess.)、Myrcia sphaerocarpa DC、山香(Hyptis crenata Pohl ex Benth.)、香附子(C. rotundus L)、E. sylvestris var. ellipticus及E. decipiens Helmsl.；屬於薔薇科(Rosaceae)的植物，特別是屬於刺薔薇屬(Rosa)、茅莓屬(Rubus)、蚊子草(Filipendula)屬及山桂屬(Crataegus)；屬於山桂科(Paeoniaceae)的植物、山桂屬；屬於桑(Moraceae)科的植物、忽布(Humulus)屬；屬於地錢蘚(Compositae)科的植物、山金車(Arnica)屬及地錢蘚(Compositae)科的植物、黃春菊(Anthemis)屬、屬於鹿蹄草(Pyrolaceae)科的植物、屬於黃衣香(Hypericaceae)科的植物，如小連翹(Hypericium erectum T.)及貫葉金絲桃(Hypericium perforatum)、屬於唇形科(Labiatae)科的植物、薄荷(Mentha)屬於辣薄荷(Mentha piperata L.)及小葉留蘭香(Mentha viridis L.)；屬於紅花(Compositae Carthamus tinctorius L.)科的植物、童氏老鸛草(Geraniaceae Gernium thunbergii Siebold et Zuccarini)及山葡萄(Vitaceae Vitis)；屬於白樺(Betulaceae)科的植物如垂枝樺(Betula alba L.)、美加甜樺(Betula lutea L.)及垂枝樺(Betula

pendula Roth)；屬於薔薇(Rosaceae)科的植物、李(Prunus)屬，其為杏(P. armeniaca L., P. ansu Komar, P. mandshurica Koehne, P. sibirica L.)；以及生長於乾草原或草地上的植物，如黑木柿(zapote)、que shar、sano-sano、cora de cavallo等等。

此等植物萃取物可由草本植物的根，葉，莖，花等取得或由木本植物的根，芽，樹皮，果實，葉，花等取得。

衍生自此等植物的萃取物可藉將植物乾燥，如果需要再削成片或搗碎，然後用冷水，溫水或沸/熱水製成水萃取物，也可用有機溶劑甲醇，乙醇，1,3-丁二醇及醚在週邊溫度或加熱萃取。

細胞外基質蛋白質生產促進劑

本發明所用細胞外基質蛋白質生產促進劑是能促使此類蛋白質生產的物質。

可提及的用作本發明基質蛋白質是基底膜成分層黏連蛋白，VII型膠原蛋白，基底膜聚糖，巢蛋白等，及特別是層黏連蛋白5，IV型膠原蛋白及VII型膠原蛋白，這都是皮膚基底膜內不同的成分。

可提及的層黏連蛋白5生產促進劑的特別的例是轉形生長因子-α，轉形生長因子-β1，轉形生長因子-β2，轉形生長因子-β3，上皮生長因子，等等。

也可用各種植物萃取物及其純化形式。可述及的此類植物是甘草(glycyrrhiza)、黑莓百合(blackberry lily)、Alstonia scholaris、Tinospora crispa、葫蘆巴(fenugreek)、Papaveraceae

Bocconia palo amarillo、翼豆(Leguminosae Psophocarpus tetragonolobus)、Leguminosae Cassia retama、Gentianaceae Erythraea chilensis (canchalagua)、大豆、葛根(pueraria root)、cammock、黃香草木樨(melilot)、芽菜(sprouts)、紅豆，等等。此等植物萃取物可由草本植物的根、葉、莖、花等取得或由木本植物的根、芽、樹皮、果實、葉、花等取得。

此等植物的萃取物可藉將植物乾燥，如果需要再削成片或搗碎，然後用冷水，溫水或沸/熱水製成水萃取物，也可用有機溶劑甲醇，乙醇，1,3-丁二醇及醚在週邊溫度或加熱萃取。此類植物的純化萃取物包括大豆溶卵磷脂，大豆皂苷片，大豆卵磷脂片，等等。

IV型膠原蛋白生產促進劑的特定的例可提及的是腫瘤壞死因子-α、轉形生長因子-β1、轉形生長因子-β2、轉形生長因子-β3、上皮生長因子、白介素-1α(IL-1α)、白介素-1β(IL-1β)、衍生自血小板的生長因子等等。

也可用各種衍生自動物的物料。例如，可提及的是用牛奶酪蛋白製的溴奶(bromois milk)、水解雞蛋殼膜製備的EM蛋白質L、等等。

也可用衍生各種植物的萃取物及其純化產物。可提及的此類植物是屬於夾竹桃科(Apocynaceae)的植物如pule (Alstonia scholaris)、屬於殼斗科(Fagaceae)的樹如山毛櫸(Fagus sylvatica)、豆科(Leguminosae)的植物如Pueraria lobata Ohwi、屬於Araliaceae科的植物如歐洲常春藤(Hedera

helix)及如蘭花之類的植物等。此等植物萃取物可由草本植物的根、葉、莖、花等取得或由木本植物的根、芽、樹皮、果實、葉、花等取得。

此等植物的萃取物可藉將植物乾燥，如果需要再削成片或搗碎，然後用冷水，溫水或沸/熱水製成水萃取物，也可用有機溶劑甲醇，乙醇，1,3-丁二醇及醚在週邊溫度或加熱萃取。

VII型膠原蛋白生產促進劑的特定的例可提及的有腫瘤壞死因子-α、轉形生長因子-β1、轉形生長因子-β2、轉形生長因子-β3、上皮生長因子、白介素-1α(IL-1α)、白介素-1β(IL-1β)、衍生自血小板的生長因子等等。

也可用各種衍生自動物的物質。例如，可提及的是用牛奶酪蛋白製的溴奶(bromois milk)、水解雞蛋殼膜製備的EM蛋白質L、等等。

也可用衍生各種植物的萃取物及其純化產物。可提及的此類植物是屬於夾竹桃科(Apocynaceae)的植物如pule (黑板樹(Alstonia scholaris))、屬於殼斗科(Fagaceae)的樹如山毛櫸(Fagus sylvatica)、豆科(Leguminosae)的植物如Pueraria lobata Ohwi、屬於Araliaceae科的植物如歐洲常春藤(Hedera helix)及如蘭花之類的植物等。此等植物萃取物可由草本植物的根、葉、莖、花等取得或由木本植物的根、芽、樹皮、果實、葉、花等取得。

此等植物的萃取物可藉將植物乾燥，如果需要再削成片或搗碎，然後用冷水，溫水或沸/熱水製成水萃取物，也可

用有機溶劑甲醇，乙醇，1,3-丁二醇及醚在週邊溫度或加熱萃取。

基質金屬蛋白酶抑制劑

可用於本發明的基質金屬蛋白酶抑制劑並無特別限制，只要其展現抑制作用即可。此等基質金屬蛋白酶的例包括明膠酶、膠原蛋白酶、溶基質素、基質溶素(matrilysin)等等。所以基質金屬蛋白酶抑制劑可選自抑制明膠酶、膠原蛋白酶、溶基質素、基質溶素等的物質。

作為基質金屬蛋白酶抑制劑的例，可提及的有N-羥基-2-[[(4-甲氧基苯基)磺醯基]-3-皮考基]胺基)]-3-甲基丁烷醯胺鹽酸鹽(後稱作"化合物A")(J. Med. Chem. 1997, 40, 2525-2532頁)，MMP-抑制劑(P-NH_2-Bz-Gly-Pro-D-Leu-Ala-NHOH)(FN-437)(BBRC, 1994, 199, 1442-1446)等。

根據本發明，基質金屬蛋白酶抑制劑特定的例包括各種植物萃取物及其純化產物。此類植物可提及的有山胡椒(Thymus serpyllum L.)、吉草(Valeriana fauriei Briquet)及其他敗醬草科(Valerianaceae)的植物、朱柿(Diospyros Kaki Thunberg)(柿樹科(Ebenaceae))、紫雲英(Astragalus sinicus Linne)(豆科(Leguminosae))、Crataegus cuneata Siebold et Zuccarini(玫瑰科Rosaceae))、牡丹(Paeonia suffruticosa Andrews)(Poeonia montan Sims)(牡丹科(Paconiaceae))、茶及其變種(Thea sinensis Linne var. assamica Pierre)(茶科(Theaceae))、Eucalyptus globulus Labillardiere及其他桃金孃科(Myrtaceae)的植物、Potentilla tormentilla Schrank(薔薇科

(Rosaceae))、Tilia cordata Mill.、Tilia platyphyllus Scop.、歐洲椴(Tilia europaea Linne)(椴樹科(Tiliaceae))、樺樹(Betula alba Linne)(樺樹科(Betulaceae))、Origanum majorana L.、阿仙葉(Uncaria gambir Roxburgh)(茜草科(family Rubiaceae)、Juglans regia Linne var. sinensus De candolie或其他Juglandaceae科的植物、Sophora flavescens Aiton (Leguminosae科)、Sanguisorba officinalis Linne (Rosaceae科)、Hypericum perforatum Linne或Hypericum erectum Thunberg (Guttiferae科)、茶(Thea sinensis Linne)(茶科Theaceae))、Curcuma longa L(薑科Zingiberaceae))、萎黃純化的萃取物萎黃色素、山礬(Symplocos racemosa)、莎草(Cyperus rotundus)、茳芏(Cyperus scariosus)、Gaultheria fragrantissima、Acacia fornensia、Terminalia chebula、孟加拉榕(Ficus bengalensis) (榕樹)、波斯皂夾(Cassia fistula Linn.)、南燭(Lyonia ovalifolia)、瓊涯海棠(Calophyllum)、菩提樹(Ficus religiosa)等等。

此等植物萃取物可由草本植物的根、葉、莖、花等取得或由木本植物的根、芽、樹皮、果實、葉、花等取得。

此等植物的萃取物可藉將植物乾燥，如果需要再削成片或搗碎，然後用冷水，溫水或沸/熱水製成水萃取物，也可用有機溶劑甲醇、乙醇、1,3-丁二醇及醚在週邊溫度或加熱萃取。

人造皮膚

根據本發明生產人造皮膚的基礎培養基可以是習用的生

產人造皮膚的任何培養基，此種培養基包括Dulbecco氏修改的Eagle培養基(DMEM)，其含10%胎牛血清；含10%胎牛血清，5微克/毫升運鐵蛋白，5為克/毫升胰島素，2 nM三碘三甲腺原胺酸，0.1 nM霍亂毒素及0.4微克/毫升氫化可體松的DMEM-Ham's F12(3：1)；及1：1角質細胞生長培養基(KGM)與含10%胎牛血清的DMEM的混合物。加於此種基礎培養基內的絲胺酸蛋白酶抑制劑的量因型而不同，但一般是約1毫微克/公升至1克/公升。加於基礎培養基內的基質蛋白質產生促進劑的量約是1毫微克/公升至1克/公升，而基質金屬蛋白酶抑制劑的量是約1毫微莫耳/公升至10^{-2}莫耳/公升。

根據本發明生產人造皮膚時，先將含人成纖維細胞的收縮的I型膠原蛋白凝膠加於線網眼上。人成纖維細胞的收縮的I型膠原蛋白凝膠可以下法製備。製成懸浮的成纖維細胞膠原蛋白溶液，同時於冰上冷卻，然後與Petri碟內使膠原蛋白凝膠。然後將此凝膠由Petri碟壁上剝下，使膠原蛋白凝膠於CO_2培育箱內收縮。

然後將上皮細胞，如正常人上皮角質細胞，在膠原蛋白凝膠上培養生成上皮。此上皮層可藉如下方式培養皮膚細胞生成。將收縮的膠原蛋白凝膠置於線網眼(wire mesh)並於凝膠上置一玻璃環。將衍生自人包皮的上皮角質層懸浮液載入此玻璃環內，同時避免裂縫。任此角質細胞在CO_2培養箱內黏聯，並除去環。將培養基倒入至達上皮層邊緣處，繼續培養，同時使上皮層曝露於空氣下，生成角質層。

依此法可製得類似天然皮膚的人造皮膚，其於由含成纖

維細胞I型收縮膠原蛋白凝膠及上皮層間有足量的基底膜成分。

上皮基底膜構造生成加速或修復加速製備

從以大多數化粧品的目的物，面部皮膚，的基底膜構造的改變所作對老化與皮膚構造改變，即老化的特徵是基底膜的重心與破壞隨老化而改變(Lavker, J. Invest. Dermatol., 1979, 73, 59-66)的研究結果顯示，此種基底膜的改變於二十歲晚期即開始出現，並隨年齡而增加(Amano, S. et al., IFSCC Magazine, 4(4), 15-23, 2000)。此種基底膜的構造改變是皮膚老化的前趨改變，如生皺紋，硬化及失去彈性。所以相信，基底膜角質細胞結實地聯於基底膜上是表現正常皮膚功能所必需的，加速基底膜的修復也是重要的。用紫外線照射曝露於每日紫外線劑量的光老化的鼠模型，發現抑制皺紋的生成。所以，皮膚基底膜之再生與修復促進劑是有效的預防皮膚老化的劑。

根據本發明，提供一種新的皮膚活化組合物或基底膜生成促進人造皮膚培養溶液，其包括其濃度足以加速基底膜再生，修復或生成的一或多種前述絲胺酸蛋白酶抑制劑的混合物；與前述一或多種細胞外基質蛋白質生產加速劑的混合物混合的絲胺酸蛋白酶抑制劑；絲胺酸蛋白酶抑制劑與一或多種細胞外基質蛋白質生產加速劑的混合物及與一或多種前述基質金屬蛋白酶抑制劑的混合物。此處"皮膚活化"是指，例如，預防因老化而致的基底膜構造上的改變所導致的皮膚功能的失去，特別是彈性的失去，皺紋，硬化

等。

"足以展現加速上皮基底膜再生，修復或生長效果的濃度"會視所用化合物型及其他此製備此組合物所用的成分，以及製劑形式與使用期而定。

如上所述，本發明提供，作為前述皮膚基底膜構造生成加速製劑，皮膚外用製劑，其特點是含衍生自屬山毛櫸科水青岡屬(Fagaceae Fagus)科植物的萃取物，以醯基溶血磷脂，前述通式(1)或(2)代表的1-醯基溶血磷脂，及由屬Labiatae Mentha科的植物萃取物製備。此皮膚外用製劑較佳是用作皮膚外用製劑以保護基底膜，作為皮膚外用製劑舒緩皮膚粗糙，或作為皮膚外用製劑預防老化。

屬於山毛櫸科(山毛櫸科水青岡屬(Fagaceae Fagus))的植物包括櫸(Fagus crenata Blume)、山毛櫸(Fagus japonika Maxim)、Fagus grandifolia、米心樹(Fagus sylvatica L.)、米心樹變種(Fagus sylvatica L. var. pendula)、米心樹變種(Fagus sylvatica L. var. purpurea或Fagus orientalis Lipsky)。可用此類植物的芽、花、莖、葉、果實、種子、根或整個此植物。此萃取方法並無特別限制，例如，一般用以製造化粧品的溶劑，像水或親水有機溶劑如乙醇、甲醇、丙醇、丁醇或1,3-丁二醇都可單獨使用或混合使用。

作為本發明市場上可購得Fagus植物萃取物，可述及的例是GATULINE™ RC及GATULINE™ R，二者都是由法國Gattfosse S.A.生產及銷售。

根據本發明上述方法，可選擇任一種或多種由此等Fagus

植物取得的萃取物用於皮膚外用製劑。其含量較佳是皮膚外用製劑總量的0.001-5.0%重量比，更佳是0.01-1.0%重量比。如果Fagus植物萃取物含量少於0.001%重量比，即不能取得舒緩皮膚粗糙效果，但是加5.0%重量比以上，則不經濟，因為得不到相對應的較大效果。

1-醯基溶血磷脂可以是由市場購得的，或是用市場上購得的磷脂以磷脂酶A2處理製得。或是用1,2-二醯基磷脂以磷脂酶A2處理，製得不變碳原子數的1-醯基溶血磷脂。不變的碳原子數也可用達1莫耳的脂肪酸酐或脂肪酸鹵素化物與1莫耳的甘油基磷膽鹼在有催化劑之存在下反應，製得溶血磷脂醯基膽鹼(日本未審查過得專利公告(KOKAI)63-225388號)。衍生自大豆的磷脂或類似磷脂也可用磷脂酶A2處理。

於1-醯基溶血磷脂中，在R^1是單一醯基，較佳是衍生自不飽和脂肪酸的醯基，在R^2是單一醯基時，較佳是衍生自不導和脂肪的醯基，而在R^2包括二或更多個不同的衍生自天然物醯基時，其較佳是衍生自大豆脂肪酸殘基。

此等1-醯基溶血磷脂可單獨使用或使用二或多種1-醯基溶血磷脂混合物。特佳的1-醯基溶血磷脂是這樣的通式(2)之1-醯基溶血磷脂，其中R^2有18個碳原子的及有3個不飽和雙鍵的脂肪酸殘基，以及這樣的通式(2)1-醯基溶血磷脂，其中R^2有18個碳原子的及有1-2個不飽和雙鍵的脂肪酸殘基。

商業上可購的1-醯基溶血磷脂的例，可提及的是Lipidure

(NOF Corp.產品，主要為通式(2)1-醯基溶血磷脂，其中R^2有18個碳原子的及有2個不飽和雙鍵)，San Lysolecithin (Taiyo Kagaku Co., Ltd.產品，主要為通式(2)1-醯基溶血磷脂，其中R^2有18個碳原子的及有2個不飽和雙鍵)，及Lysolecithin Kyowa(Iwase Cosfa Co., Ltd.產品，主要為通式(2)1-醯基溶血磷脂，其中R^2有18個碳原子的及有2個不飽和雙鍵)。

1-醯基溶血磷脂的含量較佳是皮膚外用製劑總量的0.001-1.0%重量比，更佳是0.001-0.1%重量比。如少於0.001%重量比，舒緩皮膚粗糙效果會降低，如大於1.0%重量比，會隨時間而發生退色，這在安定性上是不需要的。

前述由屬於唇形花科薄荷屬(Labiatae Mentha)植物取得萃取物可藉將此植物的葉、莖、花或根或其混合物浸入萃取溶液或加熱至回流，然後再過濾並濃縮製備。本發明所用萃取溶劑可以是一般萃取用的溶劑，典型的是有機溶劑，例如醇，如甲醇、乙醇或1,3-丁二醇或水性醇、丙酮、醋酸乙酯等，可單獨使用或以各種組合使用。根據本發明由唇形花科薄荷屬(Labiatae Mentha)科植物所得萃取物可以是商業上購得的產品，如Peppermint Extract (Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.產品)。

屬於唇形花科薄荷屬(Labiatae Mentha)科植物的萃取物的含量較佳是皮膚外用製劑總量的0.001-5.0%重量比，更佳是0.001-0.1%重量比。如少於0.001%重量比，舒緩皮膚粗糙效果會降低，如大於5.0%重量比，會隨時間而發生退色，這

在安定性上是不需要的。

本發明製劑可以是水溶液，油溶液或其他溶液的形式，如乳液、霜、凝膠、懸浮液、微膠囊、散、顆粒、膠囊、或固體形式。此等劑形可用已知方法製成其原來形式或製成洗液、乳液、霜、膏、膏藥、糊、噴霧劑、注射劑、口服劑形(錠、散、顆粒、丸、糖漿、含片等)、塞劑等等，以塗藥、黏土、噴霧、注射、飲或插入給予身體。於此類劑形中，皮膚外用製劑如洗液、乳液、霜、膏、膏藥、糊、噴霧劑被認作是最佳本發明製劑。此處所謂"皮膚外用製劑"一詞也包括藥物，類似藥物(quasi drugs)及化粧品。

本發明製劑也可含一般常用敵賦形劑及芳香劑，以及脂肪與油、界面活性劑、防腐劑、金屬離子螯合劑、水溶性聚合物、增稠劑、散成分、紫外線保護劑、濕潤劑、藥劑、抗氧化劑、pH調節劑、崩潰劑、乾燥劑、乳化劑等等。在此等製劑加於本發明製劑時，所加的量必須是在不傷害本發明原來的效果範圍內。

脂肪及油包括液體脂肪及油、固體脂肪及油、蠟、烴屬油、高脂肪酸、高醇、合成的酯油、矽油等等。

可特別提及的是，作為液體油，有鱷梨油、山楂油、櫻草油、甲魚油、昆士蘭果油、玉米油、貂油、橄欖油、葡萄油、蛋黃油、芝麻油、persic油、小麥芽油、sasanqua油、蓖麻油、亞麻油、葵花油、棉子油、perilla油、大豆油、花生油、茶子油、荳蔻油、米糠油、桐子油、kiri油、蘆薈油、胚芽油、三酸甘油、三辛酸甘油酯及三異棕櫚酸甘油酯；

作為固體油，有可可油、椰子油、馬脂肪、氫化椰子油、棕櫚油、牛肉脂肪、羊肉脂肪、氫化牛肉脂肪、棕櫚仁油、豬油、牛骨脂肪、日本脂仁油、氫化的油、牛足油、日本脂及氫化蓖麻油；作為蠟，有蜂蠟、蠟燭蠟、棉子蠟、蠟棕櫚蠟、月桂蠟、中國蠟、鯨蠟、montan蠟、麩皮油、羊毛脂、木棉蠟、醋酸羊毛脂、液體羊毛脂、甘蔗蠟、異丙醇羊毛脂脂肪酸、月桂酸己酯、還原羊毛脂、蘆薈蠟、硬羊毛脂、紫膠蠟、POE羊毛脂醇醚、POE羊毛脂醇醋酸鹽、POE膽固醇醚、羊毛脂脂肪酸聚乙二醇及氫化羊毛脂醇醚；作為烴屬油，有液體石蠟、地蠟、鯊烷、降植烷、石蠟、ceresin、凡士林及微結晶蠟。

此處可提及的高級脂肪酸有月桂酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、山萮酸、油酸、12-羥基硬脂酸、十一碳烯酸、異硬脂酸、亞油酸、罌酸、二十碳五烯酸(EPA)及二十二碳六烯酸(DHA)。

此處可提及的高級醇有線性醇如月桂基醇、鯨蠟醇、硬脂醯基醇、山萮醇、肉豆蔻醇、油醇、及鯨蠟硬脂醇或分支的醇如單硬脂基甘油醚(鯊肝醇)、2-癸基十四烯醇、羊毛脂醇、膽固醇、植物甾醇、己基十二碳醇及辛基十二碳醇。

此處可提及的合成脂油有異丙基肉豆蔻酸酯、鯨蠟基辛酸酯、辛基十二碳烷基肉豆蔻酸酯、異丙基棕櫚酸酯、丁基硬脂酸酯、己基月桂酸酯、肉豆蔻基肉豆蔻酸酯、癸基油酸酯、己基癸基二甲基辛酸酯、鯨蠟基乳酸酯、肉豆蔻基乳酸酯、羊毛脂醋酸酯、異鯨蠟基硬脂酸酯、異鯨蠟基

異硬脂酸酯、膽固醇基12-羥基硬脂酸酯、乙二醇二-2-乙基己酸酯、雙五赤蘚醇脂肪酸酯、N-烷基二醇單異硬脂酸酯、新戊基二醇二癸酸酯、二異硬脂基蘋果酸酯、甘油二-2-庚基十一碳烷酸酯、三甲基醇丙烷三-2-乙基己酸酯、三甲基醇丙烷三異硬脂酸酯、戊烷赤蘚醇四-2-乙基己酸酯、甘油三-2-乙基己酸酯、三甲基醇丙烷三異硬脂酸酯、鯨蠟基2-乙基己酸酯、2-乙基己基棕櫚酸酯、甘油三肉豆蔻酸酯、三-2-庚基十一碳烷酸甘油酯、蓖麻油脂肪酸甲基酯、油酸油、鯨蠟基硬脂醯基醇、乙醯基甘油酯、2-庚基十一碳烷基棕櫚酸酯、二異丙基己二酸酯、N-月桂醯基-L-穀胺酸-2-辛基十二碳烷基酯、二-2-庚基十一碳烷基己二酸酯、月桂酸乙酯、二-2-乙基己基癸二酸酯、2-己基癸基肉豆蔻酸酯、2-己基癸基棕櫚酸酯、2-己基癸基己二酸酯、二異丙基癸二酸酯、2-乙基己基丁二酸酯、醋酸乙酯、醋酸丁酯、醋酸戊酯及三乙基檸檬酸酯。

此處可提及的矽氧烷有線性聚矽氧烷如二甲基丙基矽氧烷、甲基苯基聚矽氧烷、及甲基氫聚矽氧烷、環形聚矽氧烷、如十甲基聚矽氧烷、十二甲基聚矽氧烷以及矽氧烷樹脂及矽氧烷橡膠構成的第三網狀構造。

本發明可含陰離子界面活性劑、陽離子界面活性劑、兩性離子界面活性劑、及非離子界面活性劑、此等界面活性劑可單獨使用或混合使用。

此處可提及的陰離子界面活性劑的例是脂肪酸肥皂、如皂坏、月桂酸鈉及棕櫚酸鈉、高烷基硫酸酯如月桂基硫酸

鈉及月桂基硫酸鉀、烷基醚硫酸酯如POE月桂基硫酸鈉、N-醯基肌胺酸酯如月桂醯基肌胺酸鈉及N-肉豆蔻醯基-N-甲基牛磺酸鈉、椰子油脂肪酸甲基牛磺酯等、高級脂肪酸醯胺磺酸酯如月桂基牛磺酸鈉、磷酸酯如POE油基醚磷酸酯鈉及POE硬脂基醚磷酸酯、磺基丁二酸鹽如二-2-乙基己基磺丁二酸鈉、單月桂醯基單乙醇醯胺聚氧乙烯磺丁二酸鈉及月桂基聚丙烯二醇磺丁二酸鈉、烷基苯磺酸酯如線性十二烷基苯磺酸鈉、三乙醇胺線性十二碳烷基苯磺酸鈉、及線性十二碳烷基苯磺酸、N-醯基穀胺酸鹽如N-月桂醯基穀胺酸單鈉、N-硬脂醯基穀胺酸二鈉及N-肉豆蔻醯基-L-穀胺酸單鈉、高基脂肪酸酯硫酸鹽如氫化椰子油脂肪甘油硫酸鈉、硫酸鹽化的油如土耳其紅油、及POE烷基醚羧酸酯、POE烷基烯丙基羧酸酯、α-烯磺酸酯、高級脂肪酯磺酸鹽、二級醇硫酸酯、高級脂肪酸烷基醇醯胺硫酸酯、月桂醯基單乙醇醯胺丁二酸鈉、二三乙醇胺N-棕櫚醯基天冬胺酸酯及酪蛋白鈉。

此處可提及的陽離子界面活性劑的例是烷基三甲基銨鹽如氯化硬脂基三甲基銨及氯化月桂三甲基銨、烷基吡啶鎓鹽如氯化二硬脂基二甲基銨二烷基二甲基銨、氯化聚(N,N'-二甲基-3,5-訐甲基六氫吡啶鎓)及氯化鯨蠟基吡啶鎓以及烷基四級銨鹽、烷基二甲基苄基銨鹽、烷基異喹啉鎓鹽、二烷基嗎福啉鹽、POE烷基胺、烷基胺鹽、聚胺脂肪酸衍生物、戊基醇脂肪酸衍生物、氯化苯殺克、氯化苯茲同(benzetonium)等等。

此處可提及的兩性離子界面活性劑的例是以咪唑啉為基礎的兩性離子界面活性劑如2-十一碳烷基-N,N,N-(羥基乙基羧甲基)-2-咪唑啉及1-羧基乙基氧二鈉2-椰油醯基-2-咪唑啉鎓氫氧化物，及以甜菜鹼為基礎的界面活性劑如2-十七碳烷基-N-羧甲基-N-羥基乙基咪唑啉鎓甜菜鹼、甜菜月桂基二甲基胺基醋酸鹽、烷基甜菜鹼、醯胺基甜菜鹼及磺甜菜鹼。

此處可提及的親脂非離子界面活性劑的例是山梨糖醇脂肪酸酯，如單油酸山梨糖醇、單異硬脂酸山梨糖醇、單月桂酸山梨糖醇、單棕櫚酸山梨糖醇、單硬脂酸山梨糖醇、倍半油酸山梨糖醇、三油酸山梨糖醇、五-2-乙基己酸二甘油山梨糖醇、及四-2-乙基己酸二甘油山梨糖醇、甘油聚甘油脂肪酸如單棉子油脂肪酸甘油、單芥酸甘油、倍半油酸甘油、單硬脂酸甘油、α,α'-油酸甘油膠穀胺酸鹽、及蘋果酸鹽、丙二醇脂肪酸酯如丙二醇單硬脂酸酯、以及氫化蓖麻油衍生物、甘油烷基醚、聚氧乙烯甲基聚矽氧烷共聚物，等等。

此處可提及的親水非離子界面活性劑的例是POE脫水山梨醇脂肪酸酯如POE脫水山梨醇單油酸酯、POE-脫水山梨醇單硬脂酸酯、POE-脫水山梨晨單油酸酯及POE-脫水山梨醇四油酸酯、POE-山梨糖醇脂肪酸酯如POE-山梨糖醇單月桂酸酯、POE-山梨糖醇單油酸酯、POE-山梨糖醇五油酸酯及POE-山梨糖醇單硬脂酸酯、POE甘油脂肪酸酯如POE-甘油單硬脂酸酯、POE-甘油單異硬脂酸酯及POE-甘油三異硬

脂酸酯、POE脂肪酸酯如POE單油酸酯、POE二油酸酯及乙二醇二硬脂酸酯、POE烷基醚如POE月桂基醚、POE油基醚、POE硬脂基醚、POE山萮基醚、POE 2-辛基十二碳烷基醚及POE膽甾烷醇醚、POE烷基苯基醚如POE辛基苯基醚、POE壬基苯基醚及POE二壬基苯基醚、普魯蘭類如普魯蘭酸、POE•POP烷基醚如POE•POP鯨蠟基醚、POE•POP 2-癸基四癸基醚、POE•POP單丁基醚、POE•POP氫化羊毛脂及POE•POP甘油醚、四POE•四POP伸乙基二胺縮合物如特窗類(tetronics)、蓖麻油及氫化蓖麻油衍生物無POE蓖麻油、POE氫化蓖麻油、POE氫化蓖麻油單異硬脂酸酯、POE氫化蓖麻油三異硬脂酸酯、POE氫化蓖麻油單焦穀胺酸酯單異硬脂酸二酯及POE氫化蓖麻油馬來酸、POE蜂蠟/羊毛脂衍生物如POE山梨糖醇蜂蠟、烷醇醯胺如椰子油脂肪酸二乙醇醯胺、月桂單乙醇醯胺及脂肪酸異丙醇醯胺，以及POE丙二醇脂肪酸酯、POE烷基胺、POE脂肪酸醯胺、蔗糖脂肪酸酯、POE壬基苯基甲醛縮合物、烷基乙氧基二甲基胺氧化物及三油基磷酸。

至於前述防腐劑，可提及的是甲基對氧苯甲酸酯、乙基對氧苯甲酸酯、丁基對氧苯甲酸酯，等等。

至於前述金屬離子螯合劑，可提及的是乙二酸四乙酸鹽，EDTA，等。

至於前述水溶性聚合物，可提及的是天然聚合物、半合成聚合物、合成聚合物及無機聚合物。

天然的水溶性聚合物可提及的是阿拉伯膠、黃蓍膠、半

乳聚糖、瓜耳膠、角豆樹膠、刺梧桐樹膠、角叉菜膠、枸子膠、黃原膠、果膠、瓜耳膠、瓊脂、槐櫨子、膠樣藻(海草萃取物)、澱粉(米、玉米、馬鈴薯、小麥)、植物聚合物如甘草酸、微有機聚合物如黃原膠、糊精、琥珀醯聚糖及普魯蘭、及動物聚合物如膠原蛋白、乳酪、白蛋白及明膠。

至於半合成水溶性聚合物，可提及的是以澱粉為基礎的聚合物如糊精、羧甲基澱粉及甲基羥基丙基澱粉，以纖維素為基礎的聚合物，如甲基纖維素、硝基纖維素、乙基纖維素、甲基羥基丙基纖維素、羥基乙基纖維素、硫酸二甲基二烷基(12-20)銨纖維素、羥基丙基纖維素、羧甲基纖維素鈉CMC)、結晶纖維素及纖維素粉、及以藻酸為基礎的大分子如藻酸鈉及丙二醇藻酸鹽。

至於合成水溶性聚合物，可提及的是以乙烯基為基礎的聚合物如聚乙烯基醇、聚乙烯基甲基醚、聚乙烯基吡咯酮、羧基乙烯基聚合物及烷基經修改的羧基乙烯基聚合物、聚氧乙烯為基礎的聚合物如聚乙二醇2000，4000，及6000，聚氧乙烯聚氧丙烯共聚合物為基礎的聚合物，以丙烯為基礎的聚合物如聚丙烯酸鈉，聚乙烯丙烯酸酯及聚丙烯基醯胺，以及聚乙烯亞胺，陽離子聚合物，等等。

至於無機水溶性聚合物，可提及的是膨潤土、矽酸鋁鎂、合成鋰皂石、水輝石、矽酸酐、等等。

至於前述粉狀成分，可提及的是無機粉如滑石粉、高嶺土、雲母、絲雲母、白雲母、青銅雲母、合成雲母、鱗雲母、黑雲母、鋰雲母、蛭石、碳酸鎂、碳酸鈣、矽酸鋁、

矽酸鋇、矽酸鈣、矽酸鎂、沸石、硫酸鋇、鍛燒過的硫酸鈣(鍛燒過的石膏)、磷酸鈣、氟磷灰石、羥基磷灰石、陶瓷粉、金屬皂豆蔻酸鋅、棕櫚酸鈣、硬脂酸鋁)及氮化硼、有機粉如聚醯胺樹脂粉(尼隆粉)、聚乙烯粉、聚甲基甲基丙烯酸酯粉、聚苯乙烯粉、苯乙烯/丙烯酸共聚合物樹脂粉、苯并胍胺樹脂粉、聚四氟乙烯粉及纖維素粉、無機白色色素如二氧化鈦及氧化鋅、無機紅色色素如氧化鐵(bengala)及鈦酸鐵、無機的已知色素如γ-氧化鐵、無機黃色色素如黃色氧化鐵及黃土、無機黑色色素如黑色氧化鐵、碳黑及低氧化鈦、無機紫色色素如芒果紫及鈷紫、無機綠色色素如氧化鉻、氫氧化鉻及鈦酸鉻、無機藍色色素如海軍藍及普魯士藍、珍珠色色如覆有氧化鈦的雲母、覆有氧化鈦的氯氧化鉍及珍珠香精、金屬粉色素如鋁粉及銅粉、鋯、鋇及鋁的有機色素如紅色#201、紅色#202、紅色#204、紅色#205、紅色#220、紅色#226、紅色#228、紅色#405、橘色#203、橘色#204、黃色#205、黃色#401、黃色#404、紅色#3、紅色#104、紅色#106、紅色#227、紅色#230、紅色#401、紅色#505、橘色#205、黃色#4、黃色#5、黃色#202、黃色#203、綠色#3及藍色#1，天然色素如葉綠素及β-葫蘿蔔素、或鈦黃、紅花素、紅花紅、等等。

前述紫外線保護劑包括化學上吸收紫外線的物質，即"紫外線吸收劑"，及以物理作用分散或反紫外線的物質，即"紫外線阻斷劑"。

可提及的長波紫外線(UVA)吸收劑包括以胺茴酸為基礎

的紫外線吸收劑如甲基胺茴酸酯及高甲基-N-乙醯基胺茴酸酯，以二苯基酮為基礎的紫外線吸收劑如2,4-二羥基二苯基酮、2,2-二羥基-4-甲氧基二苯基酮、2,2'-二羥基-4,4'-二甲氧基二苯基酮、2,2',4,4'-四羥基二苯基酮、2-羥基-4-甲氧基二苯基酮及2-羥基-4-甲氧基-4'-甲基二苯基酮、2-羥基-4-甲氧基二苯基酮-5-碸鹽酸鹽、4-苯基二苯基酮、2-乙基己基-4'-苯基二苯基酮-2-羧酸酯、2-羥基-4-n-辛氧基二苯基酮及4-羥基-3-羧基二苯基酮、以苯并三唑為基礎的紫外線吸收劑如2,2'-羥基-5-甲基苯基苯并三唑，2-(2'-羥基-5'-t-辛基苯基)苯并三唑及2-(2'-羥基-5'-甲基苯基)苯并三唑、以及茴香醯基甲烷、4-甲氧基-4'-t-丁基二苯甲醯基甲烷、等等。

在此等長波紫外線吸收劑中以4-甲氧基-4'-第三-丁基二苯甲醯基甲烷、2-羥基-4-甲氧基二苯基酮及2-羥基-4-甲氧基二苯基酮衍生物(如2-羥基-4-甲氧基二苯基酮-5-碸鹽酸鹽)較易製備，也較安全有效。

至於中波長紫外線(UVB)吸收劑可提及的是苯甲酸為基礎的紫外線吸收劑如對-胺基苯甲酸(後稱PABA)、PABA單甘油酯、N,N-二丙氧基PABA乙基酯、N,N-二乙氧基PABA乙基酯、N,N-二甲基PABA乙基酯、N,N-二甲基PABA丁基酯及N,N-二甲基PABA戊基酯、以水楊酸為基礎的紫外線吸收劑如二丙二醇水楊酸酯、乙二醇水楊酸酯、豆蔻基水楊酸酯、甲基水楊酸酯、戊基水楊酸酯、蓋基水楊酸酯、高蓋基水楊酸酯、辛基水楊酸酯、苯基水楊酸酯、苄基水楊

酸酯、及對-異丙醯基苯基水楊酸酯、以肉桂酸為基礎的紫外線吸收劑如辛基肉桂酸酯、乙基-4-異丙基肉桂酸酯、甲基-2,5-二異丙基肉桂酸酯、乙基-2,4-二異丙基肉桂酸酯、甲基-2,4-二異丙基肉桂酸酯、丙基-p-甲氧基肉桂酸酯、異丙基-p-甲氧基肉桂酸酯、異戊基-p-甲氧基肉桂酸酯、辛基-p-甲氧基肉桂酸酯(2-乙基己基-p-甲氧基肉桂酸酯)、2-乙氧基乙基-p-甲氧基肉桂酸酯、環己基-p-甲氧基肉桂酸酯、乙基-α-氰基-β-苯基肉桂酸酯、2-乙基己基-α-氰基-β-苯基肉桂酸酯及甘油基單-2-乙基己醯基-二對甲氧基肉桂酸酯、辛基甲氧基肉桂酸酯、3-甲基-4-[甲基雙(三甲基甲矽烷氧基)甲矽烷基]丁基3,4,5-三甲氧基肉桂酸酯及單乙基-對-二甲氧基肉桂酸酯、樟腦衍生物如3-(4'-甲基亞苄基)-d,l-樟腦，3-亞苄基-d,l-樟腦及5-(3,3-二甲基-2-亞降冰片基)-3-戊炔-2-酮，以及尿刊酸、乙基尿刊酸酯、2-苯基-5-甲基苯并噁唑、二苄聯氮、等等。

至於紫外線阻斷劑可提及的是氧化鈦(TiO_2)、滑石粉($MgSiO_2$)、胭脂紅(FeO_2)、膨潤土、高嶺土、氧化鋅(ZnO)，等等。

至於濕潤劑的例可提及的是聚乙二醇、聚丙二醇、甘油、1,3-丁二醇、己二醇、木糖醇、山梨糖醇、甘露糖醇、軟骨素硫酸鹽、玻璃醛酸、黏多糖硫酸鹽、卡隆酸(charonin acid)、非端著膠原蛋白(atelocollagen)、膽骨醇基-12-羥基硬脂酸鹽、乳酸鈉、膽鹽、dl-吡咯酮羧酸、短鏈溶解膠原蛋白、二甘油(EO)PO加成產物、栗玫瑰萃取物、蓍草萃取

物、melilot萃取物、等等。

至於藥劑，可提及的是熊果苷、維生素C及其衍生物、曲酸、胎盤萃取物、穀胱甘肽、增白劑如老獾草萃取物、甘草酸衍生物、甘草亭酸衍生物、水楊酸衍生物、4-異丙基環庚二烯酚酮、氧化鋅、抗炎劑如尿囊素、蜂皇漿、光敏感元素、膽固醇衍生物、活化劑如小牛溶血的血液萃取物、壬酸香草基醯胺、苄基菸鹼酸酯、β-丁氧基乙基菸鹼酸酯、辣椒鹼、姜油酮、斑蝥酊、魚石脂、咔啡因、丹寧酸、α-冰片、生育酚菸鹼酸酯、肌醇己烷菸鹼酸酯、環扁桃酯、桂利嗪、苯甲唑啉(tolazoline)、乙醯膽鹼、血液循環促進劑如戊脈安、cepharanthin及γ-orizanol或抗皮脂劑如硫及thiantol；及用於其他目的的軟木槲樹皮萃取物成分、coptis萃取物成分、硬質種子萃取物成分、芍藥萃取物成分、日當(swertia)草藥萃取物成分、白楊萃取物成分、鼠尾草萃取物成分、枇杷萃取物成分、胡蘿蔔萃取物成分、蘆薈萃取物成分、錦葵萃取物成分、雁尾草萃取物成分、葡萄萃取物成分、薏苡種子萃取物成分、絲瓜萃取物成分、百合萃取物成分、番紅花萃取物成分、cnidium根萃取物成分、姜萃取物成分、St. John's wort萃取物成分、cammock萃取物成分、rosemary萃取物成分、大蒜萃取物成分、蕃椒萃取物成分、橘子皮萃取物成分、angelic根、等等，A群維生素如視黃醇及視黃醇醋酸鹽、B_2群維生素如核黃素、核黃素丁酸鹽及黃素腺嘌呤核苷酸、B_6群維生素如吡哆素鹽酸鹽及吡哆素二辛酸鹽、C群維生素如L-抗壞血酸、L-抗壞血酸基

二棕櫚酸鹽、L-抗壞血酸基2-硫酸鈉、L-抗壞血酸基磷酸鹽及二鉀DL-α-生育酚-L-抗壞血酸基磷酸鹽二酯、泛酸衍生物如泛酸鈣、D-泛醯基醇、泛醯基乙基醚及乙醯基泛醯基乙基醚、D群維生素如麥角鈣化醇及膽鈣化醇、菸鹼酸衍生物如菸鹼酸、菸鹼醯胺及苄基菸鹼酸酯、E群維生素如α-生育酚、生育酚醋酸鹽、DL-α-生育酚菸鹼酸鹽及DL-α-生育酚丁二酸鹽，及其他維生素如維生素P、生物素等。

此等藥劑可以大範圍劑量加入，只要不損及本發明效果即可。

以此方式製成的本發明製劑可預防基底膜構造改變時其功能的失去並促進皮膚活化。

實例

現進一步以下述實例對本發明作詳細解釋。

實例1

用基質金屬蛋白酶抑制劑、細胞外基質產生抑制劑(細胞因子)及絲胺酸蛋白酶抑制劑生產人造皮膚

將10毫升人真皮成纖維素胞(0.3-1 x 10^5細胞/毫升)懸浮於冰上的膠原蛋白溶液(使用I-AC膠原蛋白，Koken Co., Ltd製)製得膠原蛋白凝膠，然後將此膠原蛋白於60毫米Petri碟內於37℃將膠原蛋白凝膠化。然後由碟底剝離凝膠，將此膠原蛋白凝膠置於金屬上，凝膠上置一玻璃環(12毫米內直徑)。將0.4毫升份的衍生自人包皮的上皮角質細胞(1x10毫升)懸浮液(KGM-DMEM)(1：1)混合有5%胎牛血清培養基)倒入玻璃環內，同時避免破裂。任此角質細胞於CO_2培育箱

內黏合過夜，第二天取下環。添加培養基至達生皮層邊沿，繼續培養，同時將上皮層曝露於空氣，製成複層皮膚模型，其上皮有角質層。

從種籽上皮細胞後第四天開，以含(1)無化合物(-化合物(A)，(2)10 μM化合物A(+化合物A)，(3)10 μM化合物A及10微克/毫升抑酶肽(+化合物A+抑酶肽)，(4)10 μM化合物A及1毫微克/毫升介白素-1β(+化合物A+IL-1)，(5)10 μM化合物A，1毫微克/毫升介白素-1β及10微克/毫升抑酶肽(+化合物A +IL-1+抑酶肽)，(6)10 μM化合物A，1毫微克/毫升TGF-α(+化合物A+TGF α)，(7)10 μM化合物A，1毫微克/毫升TFG-α及10微克/毫升抑酶肽(+化合物A+TFG α+抑酶肽)，(8)10 μM化合物A及100毫微克/毫升PDGF(+化合物A+PDGF)，(9)10 μM化合物A，100毫微克/毫升PDGF及10微克/毫升抑酶肽(+化合物A+PDGF+抑酶肽)的培養基代替，之後每2-3天以相同及型式及含相同濃度基質金屬蛋白酶，細胞外基質生產促進抑制劑(細胞因子)及絲胺酸蛋白酶抑制劑的培養基代替，此後再培養2星期。

生成的人造皮膚用蘇木精及伊紅(H&E)染色及免疫染色(用抗-IV型膠原蛋白抗體及抗-VII型膠原蛋白抗體)。所得結果如圖1至4所示。

雖則於對照(1)中幾乎觀察不到基底角質細胞下有VII型膠原蛋白染色，但在加基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A(2)後卻可見到弱但確定的VII型膠原蛋白染色。加基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A後如再加絲蛋白抑制劑抑酶肽(3)，VII

型膠原蛋白蛋白染色又增加。當化合物A與基質蛋白質生產增進化合物介白素1(IL-1)(4)，轉形生長因子-α(TGF-α)(6)及衍生自血小板的生長因子(PDGF)(8)同時存在時，VII型膠原蛋白染色特別顯明。在基質蛋白質生產增進化合物介白素1(IL-1)(5)，轉形生長因子-α(TGF-α)(7)及衍生自血小板的生長因子(PDGF)(9)與抑酶肽及化合物A合併時，IV型及VII型膠原蛋白染色清楚地集中於基底角質細胞下，這表示每一此類分子可能構成適宜的三相量構造。

以如下植物萃取物代替前述基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A作相同的上述培養過程。

山胡椒(Thymus serpyllum L.)、吉草(Valeriana fauriei Briquet)及吉草科(Valerianaceae)其他植物、裨柿(Diospyros kaki Thunberg)(艾培尼科(Ebenaceae))、紫雲英(Astragalus sinicus Linne)(Leguminosae科)、野山楂(Crataegus cuneata Siebold et Zuccarini)(薔薇科(Rosaceae))、一品朱衣(Paeonia suffruticosa Andrews)(Poeonia montan Sims)(芍藥科(Paconiaceae))、呆蘆(Thea sinensis Linne var. assamica Pierre)(茶科)(Theaceae))、灰楊柳(Eucalyptus globulus Labillardiere)及其他桃金孃科(Myrtaceae)、托門提委陵菜科(Potentilla tormentilla Schrank(薔薇科Rosaceae)、可達椴(Tilia cordata Mill.)、普拉椴(Tilia platyphyllus Scop.)、歐洲椴(Tilia europaea Linne)(椴科(Tiliaceae))、白樺(Betula alba Linne)(樺樹科(Betulaceae))、牛至(Origanum majorana L.)、兒茶鉤藤(Uncaria gambir Roxburgh)(Rubiaceae科)、胡桃變

種(Juglans regia Linne var. sinensis De Candolie)或Juglandaceae科其他植物、古參(Sophora flavescens Aiton)(Leguminosae科)，地榆(Sanguisorba officinalis Linne)(薔薇科(Rosaceae))、孔金絲(Hypericum perforatum Linne)或小連翹(Hypericum erectum Thunberg)(藤黃科(Guttiferae))、察(Thea sinensis Linne)(茶科Theaceae)、薑黃(Curcuma longa L)(薑科(Zingiberaceae))、萎黃純化的萃取物萎黃色素、山礬(Symplocos racemosa)、莎草(Cyperus rotundus)、三稜子草(Cyperus scariosus)、片株樹(Gaultheria fragrantissima)、莿毬花(Acacia fornensia)、犲子(Terminalia chebula)、孟加拉榕(Ficus bengalensis)(榕樹)、波斯皂夾(Cassia fistula Linn.)、南燭(Lyonia ovalifolia)、瓊涯海棠(Calophyllum inophyllum)、菩提樹(Ficus religiosa)。

在以化合物A用作基質金屬蛋白酶時得相似結果。

以如下植物萃取物代替前述絲胺酸蛋白酶抑制劑抑酶肽作相同上述培養過程。

瓊涯海棠(Calophyllum brasiliense Cambess.)、楊梅(Myrcia sphaerocarpa DC)、Hyptis crenata Pohl ex Benth.、C. rotundus L、E. sylvestris var. ellipticus、E. decipiens Helmsl.、屬於玫瑰(Rose)屬的植物、莓(Rubus)、大草珍珠梅(Filipendula)及薔薇科(Rosaceae)的Crataegus；屬於牡丹(Paeoniaceae)科的植物、牡丹屬(Paeonia)；屬於桑科(Moraceae)的植物、Humulus屬、屬於地錢癬科(Compositae)的植物、金車菊屬(Arnica)及地錢癬科(Compositae)、屬兔

茸菌(Anthemis)、屬於鹿蹄草科(Pyrolaceae)的植物、屬於金絲桃科(Hypericaceae)的植物；屬於黑薄荷(Mentha piperata L.)及綠薄荷(Mentha viridis L.)的植物；屬於Compositae Carthamus tinctorius L., Geraniaceae Geranium thunbergii Siebold et Zuccarini及Vitaceae Vitis的植物；屬於樺科(Betulaceae)如白樺(Betula alba L.)，光皮樺(Betula lutea L.)及大翅樺(Betula pendula Roth.)的植物；屬薔薇科(Rosaceae)、桃屬(Prunus)的植物、此為杏(P. armeniaca L., P ansu Komar, P. mandshurica Koehne, P. Sibirica L.)；及zapote, que shar, sano-sano, cora de cavallo。

以抑酶肽代替前述絲胺酸蛋白酶抑制劑抑酶肽作相同的上述培養過程。

以下述層黏連蛋白5代替基質蛋白生產促進劑IL-1，TGF-α及PDGF作相同的上述培養過程：大豆溶血卵磷脂、甘草、黑莓百合、jitanoki、Tinospora crispa、fenugreek、Papaveraceae Bocconia palo amarillo、Leguminosae Psophocarpus tetragonolobus、Leguminosae Cassia retama、Gentianaceae Erythraea chilensis (canchalagua)、大豆、葛根、cammock、melilot、sprouts及紅豆的萃取物。也以IV型膠原蛋白或VII型膠原蛋白生產促進劑作相同培養pule (Alstonia scholaris)、山毛櫸(Fagus sylvatica)、kudzu葡萄(Pueraria lobata Ohwi)，及英國常春藤(Hedera helix)萃取物、及VII型膠原蛋白生產促進劑、蘭花萃取物。所得結果與用IL-1。TGF-α及PDGF所得者相似。

在加入基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A(2)或加入絲胺酸蛋白酶抑制劑抑酶肽(3)及基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A後，使用傳導電子顯微鏡觀察上皮的直下基底膜構造，所見如圖5，化合物A誘導的基底膜生成，而又加抑酶肽後則增加電子密度及明顯的基底膜連續性。

實例2

用細胞外基質生產促進劑及絲胺酸蛋白酶抑制劑產生人造皮膚

重複實例1，但以如下試驗物質實行培養過程。

(1)不加(對照)；

(2)只加30微克/毫升層黏連素5生產促進劑"大豆溶血卵磷脂"(大豆LPC)；

(3)只加0.5%絲胺酸蛋白酶抑制劑"薄荷萃取物"；

(4)只加0.3% IV型及VII型膠原蛋白生產促進劑"山毛櫸萃取物"；

(5)30微克/毫升層黏連素5生產促進劑"大豆溶血卵磷脂"，0.5%絲胺酸蛋白酶抑制劑"薄荷萃取物"及0.3% IV型及VII型膠原蛋白生產促進劑"山毛櫸萃取物"混合物。

生成的人造皮膚用蘇木精及伊紅(H&E)染色及免疫染色(用抗-IV型膠原蛋白抗體及抗VII型膠原蛋白抗體)。所得結果如圖6至7所示。

於對照(1)中，觀察到IV型膠原蛋白只有輕度染色，但VII型膠原蛋白幾乎無染色。相反，層黏連素5生產促進劑，大豆溶血卵磷脂(2)使IV型膠原蛋白染色增加。薄荷萃取物(3)

使VII型膠原蛋白染色增加。山毛櫸萃取物(4)使IV型及VII型膠原蛋白生產增加。合併使用(5)時，由VII型膠原蛋白染色證實有明顯增加。

實例3

將含山毛櫸芽萃取物，薄合萃取物及大豆溶血卵蛋白(Lipidure)的製劑使用於三個至少30歲的健康男人的皮膚評估其護膚效果。用Corneometer CM 825C(Courage and Khazaka Electric GmbH)根據製造廠所供給的說明測定角質層濕度作為此效果的指標。試驗製劑係藉合併當量的山毛櫸芽萃取物及薄荷萃取物，再加Lipidure至0.001%重量比製成。用離子交換水作對照。每一受試者的前臂內側3平方公分使用18微升製劑。使用一至二小時後，測定角質層濕度。結果如下表所示。

表1

角質層濕度增加效果

增加比	對照部位	使用製劑部位
1小時後	-2.5%	44.4%($p<0.01$)
2小時後	1.0%	12.1%($p<0.01$)

表1結果顯示的角質層濕度增加效果表示，使用試驗製劑的結果使角質層濕度增加，從而展現皮膚改善效果。

實例4

霜

A. 油相

尼隆粉	10.0重量%
Cyclomethicone	20.0
角鯊烷	2.0
鯨蠟基辛酸酯	5.0
Dimethicon	1.0
對羥基苯甲酸酯	適量
香料	適量
異硬脂酸	1.0
二甲基二硬脂基銨水揮石	2.0

B. 水相

聚氧乙烯修改的有機聚矽氧烷	2.0
離子交換水	其餘
丁二醇	7.0
二丙二醇	7.0
乙二胺四乙酸鹽	適量
聚乙二醇	1.0
苯氧基乙醇	適量
珍珠萃取物	適量
山毛櫸萃取物	1.0
大豆溶血卵磷脂(Lipidure)	0.1
薄荷萃取物	1.0

(製備方法)將A相與B相各於70℃加熱至完全溶解。將A相加於B相內，用乳化劑乳化。將此乳液用熱交換器冷卻至成為霜。

預防皮膚粗糙及改善皮膚粗糙效果

以28歲及65歲女性用上述實例3調配的霜作預防皮膚粗糙及改善皮膚粗糙效果試驗。具體地說，將實例3之霜每天用於健康女人的面部，連續用4星期。以下述方法觀察皮膚情況。用Tewameter TM210(Courage and Khazaka Electric GmbH)根據製造廠商說明測定經皮水分去去，用Corneometer CM 825C(Courage and Khazaka Electric GmbH)根據製造廠所供給的說明測定角質層濕度。用氰基丙烯酸鹽膠水(Cyanolit, Eleco產品)塗抹的玻片採取皮膚表面複製品作皮膚表面複製品分析，使用光學顯微鏡(OLYMPUS SZ 4045 TR)觀察由皮脊(ridges)及皮溝(grooves)構成的皮膚表面情況。

表2

使用4星期水經皮失去的改善(減少)

改善率	對照部位*	用霜部位
	15%	27%($p<0.002$)

*對照部位未使用霜

表3

使用4星期角質層濕度之改善(增加)

改善率	對照部位*	用霜部位
	-1%	22%($p<0.001$)

*對照部位未使用霜

表4

使用4星期皮膚表面複製品之改善	
使用霜之改善率	43%(p<0.002)

表2結果顯示之經皮水份失去改善效果顯示連續使用霜4星期皮膚之改善，恢復上皮之障礙效果及減少出汗失去水分。

表3結果顯示之角質層濕度改善效果顯示連續使用霜4星期對皮膚之改善，增加角質層內水分並改良皮膚情況。

此外，表4結果顯示皮膚質理之改善，顯示連續使用霜4星期對皮膚之改善，改善由脊及溝所構成的皮膚表面織地，一般是增進皮膚情況。

現說明本發明各種形式的皮膚外用製劑之調配物實例。

實例5

霜

A. 油相

硬脂酸	10.0重量%
硬脂基醇	5.0
硬脂酸丁酯	10.0
單甘油硬脂酸酯	2.0
維生素E醋酸鹽	0.5
維生素A棕櫚酸鹽	0.1
Macadamia椰子油	1.0
香料	適量
防腐劑	適量

B. 水相

甘油	5.0
1,2-戊烷二醇	3.0
乙醯化透明質酸	2.0
氫氧化鉀	0.5
磷酸鉀抗壞血酸鹽	0.5
Tranexamic酸	0.1
乙二胺四乙酸三鈉	適量
山毛櫸萃取物	1.0
大豆溶血卵磷脂(Lipidure)	0.1
薄荷萃取物	1.0
純化水	適量

(製備方法)將A相與B相各於70℃加熱至完全溶解。將A相加於B相內，用乳化劑乳化。將此乳液用熱交換器冷卻至成為霜。

實例6

霜

A. 油相

鯨蠟醇	4.0重量%
凡士林	7.0
異丙基肉豆蔻酸酯	8.0
角鯊烯	15.0
單甘油硬脂酸酯	2.2
POE(20)脫水山梨糖醇單硬脂酸酯	2.8

維生素E菸鹼酸鹽	2.0
香料	0.3
抗氧化劑	適量
防腐劑	適量

B. 水相

甘油	10.0
二丙二醇	4.0
吡咯酮羧酸鈉	1.0
山毛櫸萃取物	1.0
大豆溶血卵磷脂(Lipidure)	0.1
薄荷萃取物	1.0
乙二胺四乙酸二鈉	適量
純化水	其餘

(製備方法)此霜之製備方法與實例4相同。

實例7

乳液

A. 油相

角鯊烷	5.0重量%
油醯基油酸酯	3.0
倍半油酸脫水山梨糖醇	1.0
凡士林	2.0
聚氧乙烯油醯基醚(20 EO)	1.5
報春花油	0.5
香料	0.5

防腐劑	適量

B. 水相

1,3-丁二醇	5.0
蜂花萃取物	2.0
乙醇	3.0
羧乙烯基聚合物	0.5
氫氧化鉀	0.5
山毛櫸萃取物	1.0
大豆溶血卵磷脂(Lipidure)	0.1
薄荷萃取物	1.0
六偏磷酸鈉	0.05
純化水	其餘

(製備方法)此乳液係根據實例5方法製得。

實例8

基礎

A. 油相

鯨蠟醇	3.0%
去臭羊毛脂	4.0
蘆薈油	5.0
凡士林	5.0
角鯊烷	6.0
單甘油硬脂酸酯	3.0
POE(60)氫化蓖麻油	2.0
POE(20)鯨蠟基醚	1.0

吡哆素三棕櫚酸鹽	0.1
防腐劑	適量
香料	0.5

B. 水相

丙二醇	10.0
山毛櫸萃取物	1.0
大豆溶血卵磷脂(Lipidure)	0.1
薄荷萃取物	1.0
乙二胺四乙酸三鈉	適量
純化水	其餘

(製備方法)此基礎係根據實例5方法製得。

實例9

化粧水

A. 油相

乙醇	5.0重量%
POE油醯基醇醚	2.0
2-乙基己基-p-二甲基胺基苯甲酸酯	0.2
防腐劑	適量
香料	適量

B. 水相

1,3-丁二醇	9.5
吡咯酮羧酸鈉	0.5
菸鹼醯胺	0.5
甘油	5.0

羥基丙基β-環糊精	1.0
檸檬酸	0.1
檸酸酸鈉	0.1
山毛欅芽萃取物	1.0
大豆溶血卵磷脂(Lipidure)	0.1
薄荷萃取物	1.0
純化水	其餘

(製備方法)將醇相A加於水相B內，使溶解，得化粧水。

實例10

包

(1)聚乙烯基醇	10.0重量%
(2)聚乙二醇(分子量:400)	0.4
(3)甘油	3.0
(4)乙醇(95%)	8.0
(5)山毛欅芽萃取物	1.0
(6)大豆溶血卵磷脂(Lipidure)	0.1
(7)薄荷萃取物	1.0
(8)防腐劑	適量
(9)香料	適量
(10)純化水	其餘

(製備方法)將成分(4)，(8)及(9)混合，將此混合物於80℃加於合併的(1)，(2)，(3)及(5)，(6)，(7)及(10)之混合物內，同時攪拌，代此混合物冷至室溫後即得包。

如上所述，本發明皮膚外用製劑有極佳基底膜改善效

果，及極佳改進及預防各種皮膚病及皮膚粗糙的效果，同時經有改善皮膚也展現預防皮膚老化的效果。

實例11

人造皮膚移植

如實例1相同方式製成人造皮膚。在載荷上皮細胞後，將人造皮膚在無任何添加物下，即對照人造皮膚，或在有基底膜改善劑，基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A(10微升)及絲胺酸蛋白酶抑制劑抑酶肽(10微克/毫升)之存在下由培養三天至培養一星期，然後再將各人造皮膚移植於裸鼠背部皮膚切除部位。於每一移植位上置以矽氧烷紗布，再用Tegaterm彈性美容黏貼帶(Sumitomo 3M)覆蓋。移植7天後，作外部觀察，然後收集各組織。收集的組織用冷丙酮固定，以習用方法製成石蠟切片。移植皮膚用蘇木精及伊紅染色(H&E)或用抗層黏連蛋白5抗體(層黏素5)作免疫染色。結果如圖8及9所示。

請參考圖8，藉由較移植的人造皮膚，可看出在對照組中，有些在上皮下的層黏連蛋白5區仍未被染色，而在有基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A及抑酶肽存在下培養的組中，得到較佳的及最均勻的層黏連蛋白5染色。於移植7天後組織學分析發現，人造皮膚之真皮上皮結合區可看到溝，並且也發現染色的層黏連蛋白5區變寬，這表示基底膜有受損傷可能。此外，上皮的厚度及構形也較差。相反的，在添加物組，真皮-上皮結合區構形良好，層黏連蛋白5有連續染色。尚有，上皮的狀況也較好。

此外，在觀察人造皮膚及真皮膚間的界限時可看到有明顯不同。特定地說，在移植有令人滿意的基底膜的人造皮膚時，與對照組相較，可以看出移植的人造皮膚有良好黏合性，且衍生自人層黏連蛋白5的染色及β-微球蛋白，其有特異性地認知人細胞，極接近觀察到的邊界，此令人滿意的皮膚防止衍生自口的上皮的穿透。此外，也促進了源自邊界部分的血管生成。所以，如果移植因加了基質金屬蛋白酶抑制劑及抑酶肽而有令人滿意的基底膜的人造皮膚，可以看出後移植狀態會有明顯改進。

比較外部照相(圖9)，觀察移植後第18天的狀態，於人造皮膚組有令人滿意的基底膜，這是因為加了基質金屬蛋白酶抑制劑及抑酶肽的關係，與無添加物的那一組相比，由週圍鼠皮膚導致的收縮被抑制，表面角質層的生成也有明顯改善。

所以，這證實了，有令人滿意的基底膜的皮膚模型移植形成移植組織的良好黏連，並因為有更令人滿意的上皮及真皮情況，移植位也更吸引人。

絲胺酸蛋白酶抑制劑及主要構成上皮基底膜的IV型及/或VII型膠原蛋白及層黏連蛋白5的生產促進劑，很明顯地增強基質金屬蛋白酶抑制劑的基底膜生成促進效果。

精於此技藝者會了解到，雖則本發明已以前特定具體實施例及實例作了說明，但本發明並不必須只限於此，在此等具體實施例，實例及用途外還可作多種其他具體實施例，實例及用途上的修改而仍不離本發明申請範圍。

【圖式簡單說明】

圖1為人造皮膚橫斷面觀，比較培養基內不加(1)及加(2)基質金屬蛋白酶化合物A培養出的人造皮膚。

圖2為人造皮膚橫斷面觀，比較培養基內加10 μM化合物A及10微克/毫升抑酶肽(3)，加10 μM化合物A及1毫微克/毫升介白素-1β(4)，及加10 μM化合物A及1毫微克/毫升介白素-1β及10微克/毫升抑酶肽(5)所培養出的人造皮膚。

圖3為人造皮膚橫斷面觀，比較培養基內加10 μM化合物A及1毫微克/毫升TGF-α(6)，加10 μM化合物A及1毫微克/毫升TGF-α及10微克/毫升抑酶肽(7)所培養出的人造皮膚。

圖4為人造皮膚橫斷面觀，比較培養基內加10 μM化合物A及100毫微克/毫升PDGF(8)及加10 μM化合物A，100毫微克/毫升PDGF及10微克/毫升抑酶肽(9)所培養出的人造皮膚。

圖5為人造皮膚之透射電子顯微鏡圖，比較培養基內只加基質金屬蛋白酶抑制劑(1)及又加絲胺酸蛋白酶抑制劑抑酶肽(2)所培養出的人造皮膚。

圖6為以蘇木精及伊紅染色的人造皮膚橫斷面觀，比較(1)不加(對照)，及加(2)大豆溶血卵磷脂，(3)薄荷萃取物，(4)山毛櫸芽萃取物或(5)大豆溶血卵磷脂+薄荷萃取物+山毛櫸芽萃取物之培養基所培養出的人造皮膚。

圖7為免疫染色的人造皮膚橫斷面觀，比較(1)不加(對照)，及加(2)大豆溶血卵磷脂，(3)薄荷萃取物，(4)山毛櫸芽萃取物或(5)大豆溶血卵磷脂+薄荷萃取物+山毛櫸芽萃

取物之培養基所培養出的人造皮膚。

圖8為移植入裸鼠並於移植後第7天收取之人造皮膚橫斷面組織像，其中人造皮膚是以不加添加物或在有基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A(10 μM)及絲胺酸蛋白酶抑制劑抑酶肽(10微克/毫升)之存在下培養。顯示移植前的人造皮膚(層黏連蛋白5染色)及已黏連的人造皮膚(蘇木精及伊紅染色，層黏連蛋白染色，以及β-2微球蛋白染色)之組織像。

圖9為移植入裸鼠並於移植後第7及18天收取之人造皮膚外觀照相，其中人造皮膚是以不加添加物或在有基質金屬蛋白酶抑制劑化合物A(10 μM)及絲胺酸蛋白酶抑制劑抑酶肽(10微克/毫升)之存在下培養。

伍、中文發明摘要：

本發明提供加速上皮基底膜構造形成的製成及皮膚外用製劑，其含絲胺酸蛋白酶抑制劑，及視需要使用的上皮基底膜細胞外基質蛋白質成分產生促進劑。本發明還提供作為產生有適宜基底膜的人造皮膚的手段，形成人造皮膚的基質，其含有絲胺酸蛋白酶抑制劑，及視需要使用的上皮基底膜細胞外基質蛋白質成分產生促進劑及基質金屬蛋白酶抑制劑，以及其生產方法。

陸、英文發明摘要：

The invention provides an epidermal basement membrane structure formation accelerating preparation and a skin external preparation comprising a serine protease inhibitor, and optionally an accelerator of production of extracellular matrix protein components of the epidermal basement membrane. It also provides, as a means for producing artificial skin having an adequately formed basement membrane, an artificial skin-forming medium which comprises a serine protease inhibitor, and optionally an accelerator of production of extracellular matrix protein components of the epidermal basement membrane and a matrix metalloprotease inhibitor, as well as a method for producing the same.

拾、申請專利範圍：

1. 一種皮膚基底膜構造生成促進製劑，其含一或多種絲胺酸蛋白酶抑制劑作為活性成分。
2. 根據申請專利範圍第1項之皮膚基底膜構造生成促進製劑，其尚含一或多種細胞外基質蛋白質產生促進劑作為活性成分。
3. 根據申請專利範圍第2項之皮膚基底膜構造生成促進製劑，其中該細胞外基質蛋白質係選自由IV型膠原蛋白，VII型膠原蛋白及層黏連蛋白5所構成的群中的一或多種。
4. 根據申請專利範圍第1至3項任一項之皮膚基底膜構造生成促進製劑，其尚含一或多種基質金屬蛋白酶抑制劑作為活性成分。
5. 根據申請專利範圍第1至3項任一項之皮膚基底膜構造生成促進製劑，其中該絲胺酸蛋白酶抑制劑為抑酶肽(aprotinin)。
6. 根據申請專利範圍第1至3項任一項之皮膚基底膜構造生成促進製劑，其中該細胞外基質蛋白質產生促進劑為介白素-1(IL-1)，轉形生長因子α(TGF-α)或衍生自血小板的生長因子(PDGF)。
7. 根據申請專利範圍第1至3項任一項之皮膚基底膜構造生成促進製劑，其為皮膚外用製劑。
8. 一種皮膚基底膜構造生成促進製劑，其係包含一或多種細胞外基質蛋白質產生促進劑及一或多種基質金屬蛋白酶抑制劑作為活性成分。

9. 根據申請專利範圍第8項之皮膚基底膜構造生成促進製劑，其中該細胞外基質蛋白質產生促進劑為介白素-1(IL-1)，轉形生長因子α(TGF-α)或衍生自血小板的生長因子(PDGF)。

10. 一種生產人造皮膚的方法，其包括培養生成人造皮膚的培養基的步驟，其係將一或多種絲胺酸蛋白酶抑制劑加於該生成人造皮膚的培養基中。

11. 根據申請專利範圍第10項之方法，其尚加一或多種細胞外基質蛋白質產生促進劑於該生成人造皮膚的培養基中。

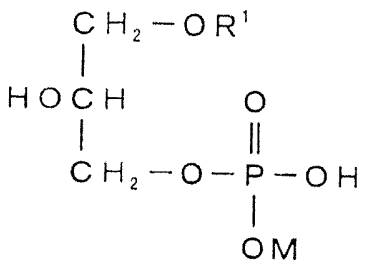
12. 根據申請專利範圍第11項之方法，其中該細胞外基質蛋白質為一或多種選自由IV型膠原蛋白，VII型膠原蛋白及層黏連蛋白5所構成的群。

13. 根據申請專利範圍第10至12項任一項之方法，其中尚加有一或多種基質金屬蛋白酶抑制劑。

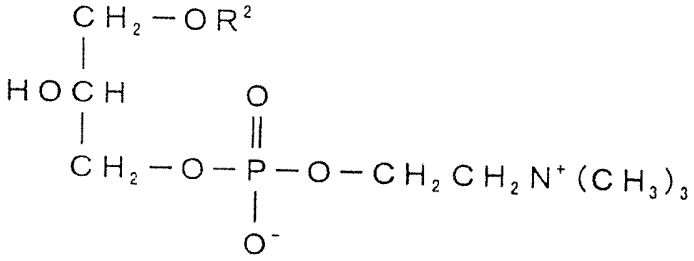
14. 根據申請專利範圍第10至12項任一項之方法，其中該絲胺酸蛋白酶抑制劑是抑酶肽。

15. 根據申請專利範圍第10至12項任一項之方法，其中該細胞外基質蛋白質產生促進劑是介白素-1，轉形生長因子-α或衍生自血小板的生長因子。

16. 一種皮膚外用製劑，其特點是含由屬於山毛櫸科水青岡屬(Fagaceae Fagus)的植物萃取物，由如下通式(1)或(2)代表的1-醯基溶血磷脂及屬於唇形花科薄荷屬(Labiatae Mentha)的植物萃取物，



… (1)



… (2)

其中R^1代表有11-24個碳原子的飽和脂肪酸殘基或有18，20，22或24個碳原子並具有1-4個不飽和雙鍵的脂肪酸殘基，R^2代表有13-24個碳原子的飽和脂肪酸殘基或有18，20，22或24個碳原子並具有1-4個不飽和雙鍵的脂肪酸殘基，M代表H或鹼金屬原子。

17. 根據申請專利範圍第16項之皮膚外用製劑，其為用於改善皮膚粗糙的皮膚外用製劑。

18. 根據申請專利範圍第16項之皮膚外用製劑，其為用於防止皮膚老化的皮膚外用製劑。

19. 根據申請專利範圍第16至18項任一項之皮膚外用製劑，其含0.001-5.0重量%的屬於山毛櫸科水青岡屬(Fagaceae Fagus)植物的萃取物、0.001-1.0重量%的1-醯基溶血磷脂及0.001-5.0重量%之屬於唇形花科薄荷屬(Labiatae Mentha)植物的萃取物。

拾壹、圖式：

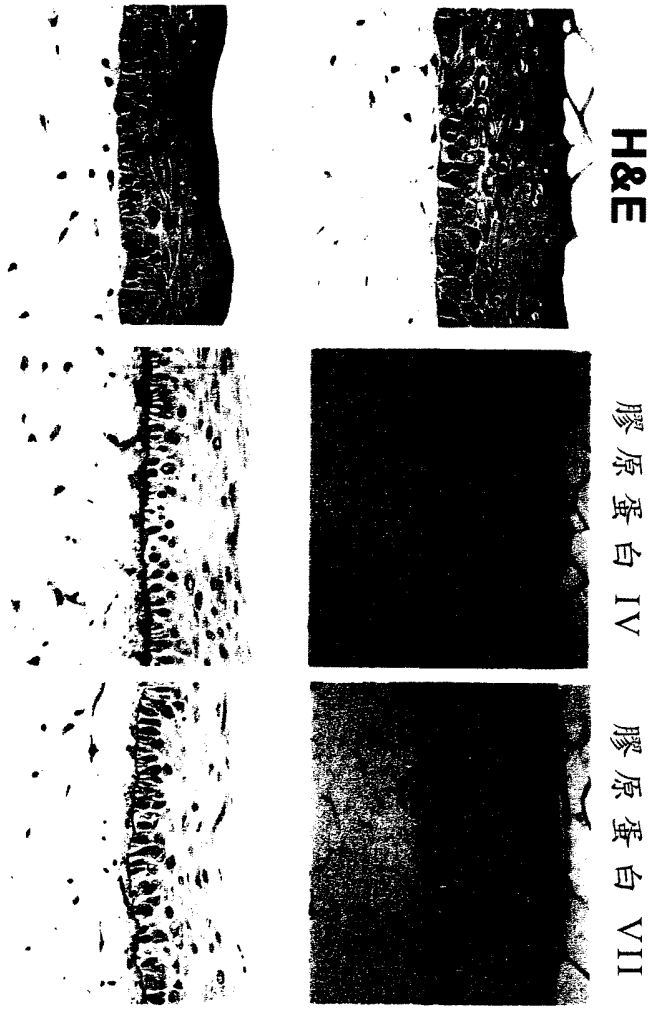


圖 1

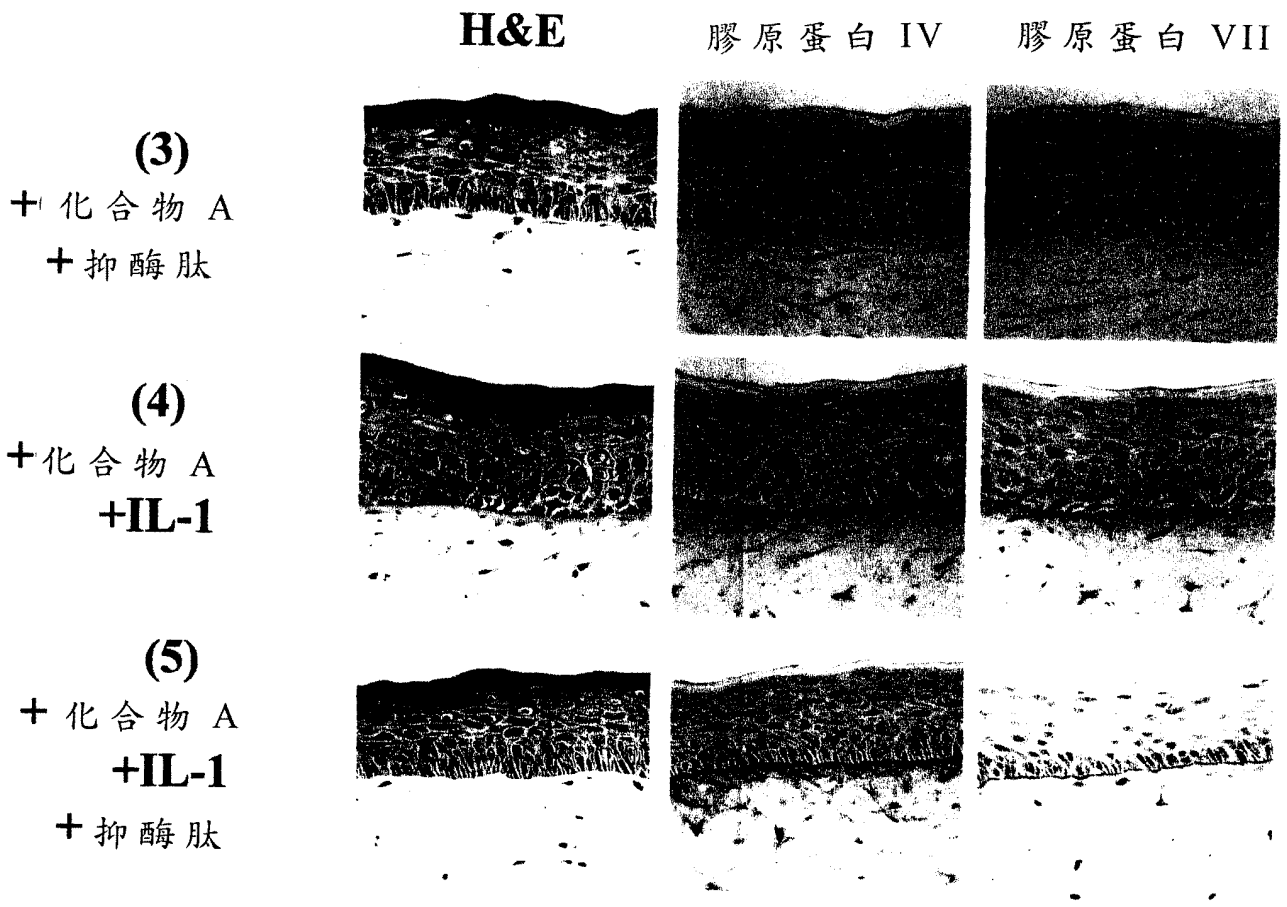


圖 2

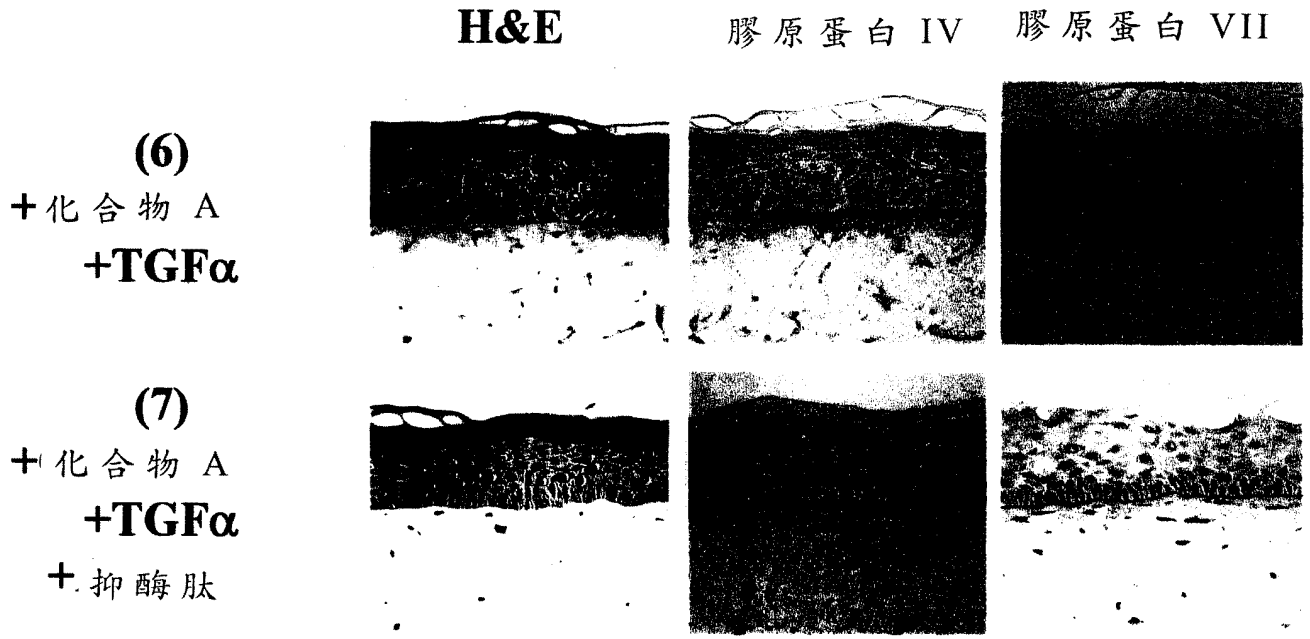


圖 3

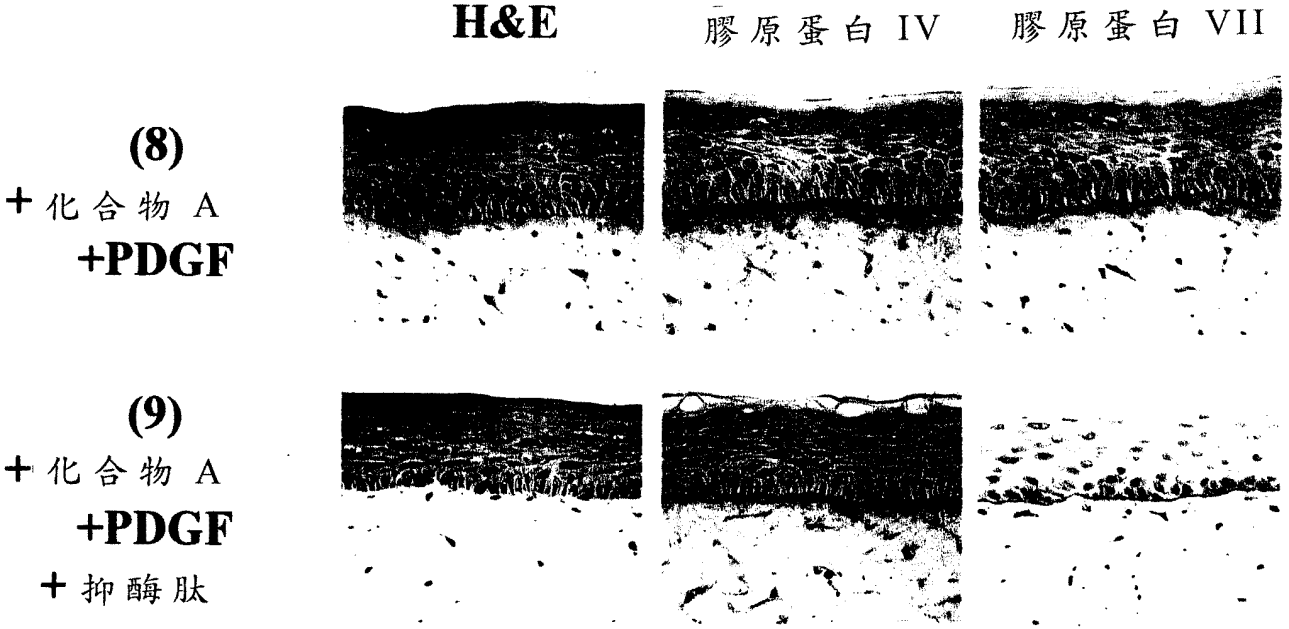
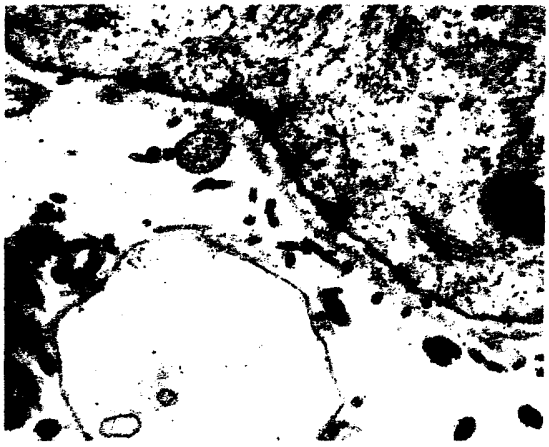


圖 4

104 82341

200400833

(1) 化合物 A



(2) 化合物 A+抑酶肽



圖 5

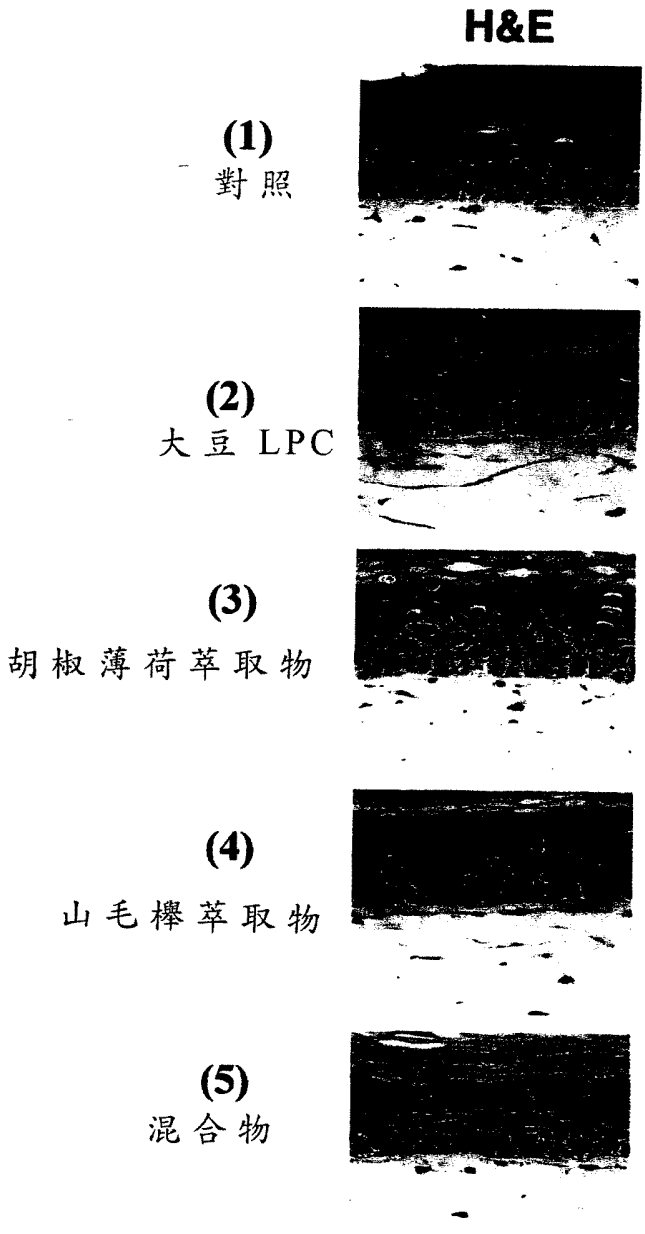


圖 6

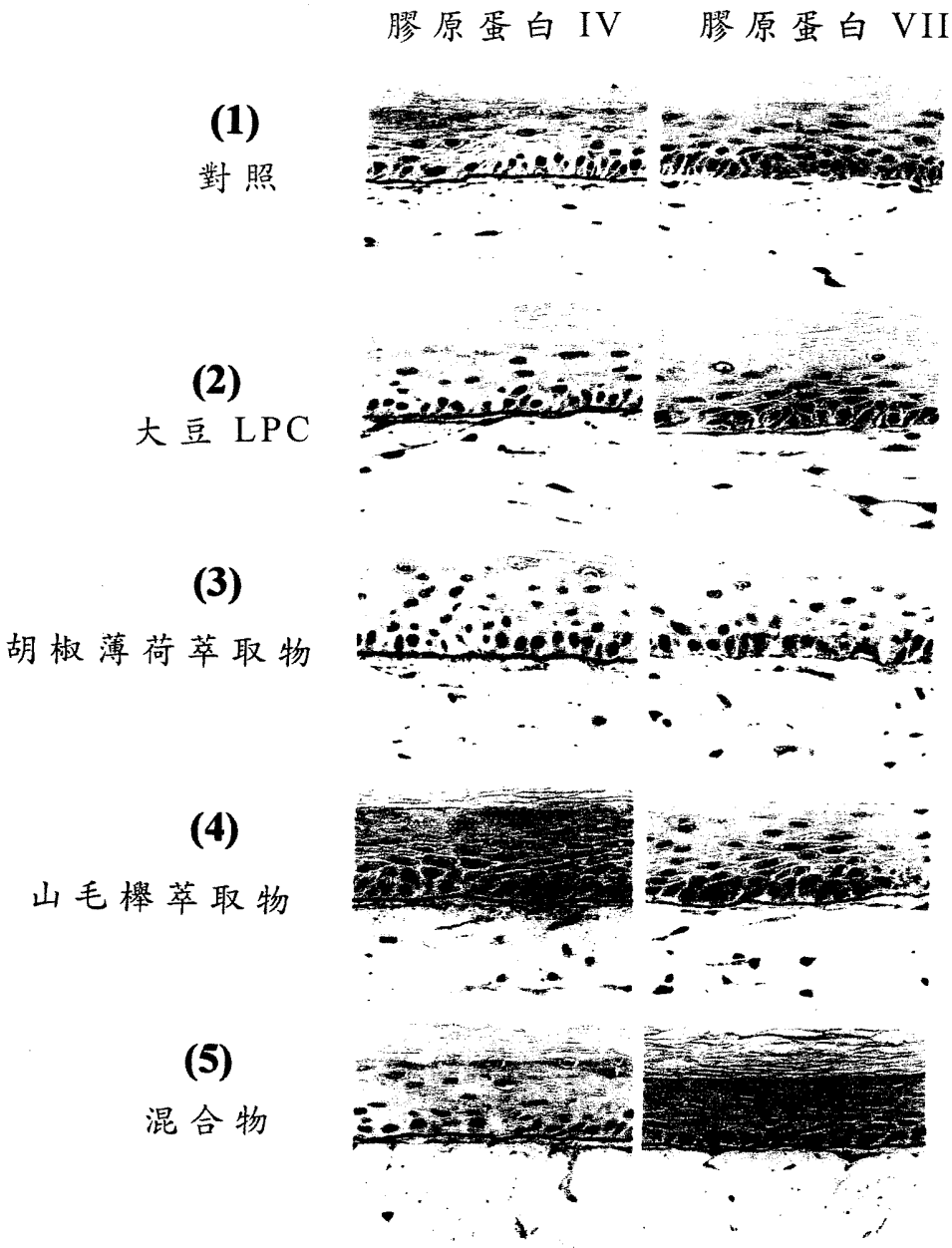


圖 7

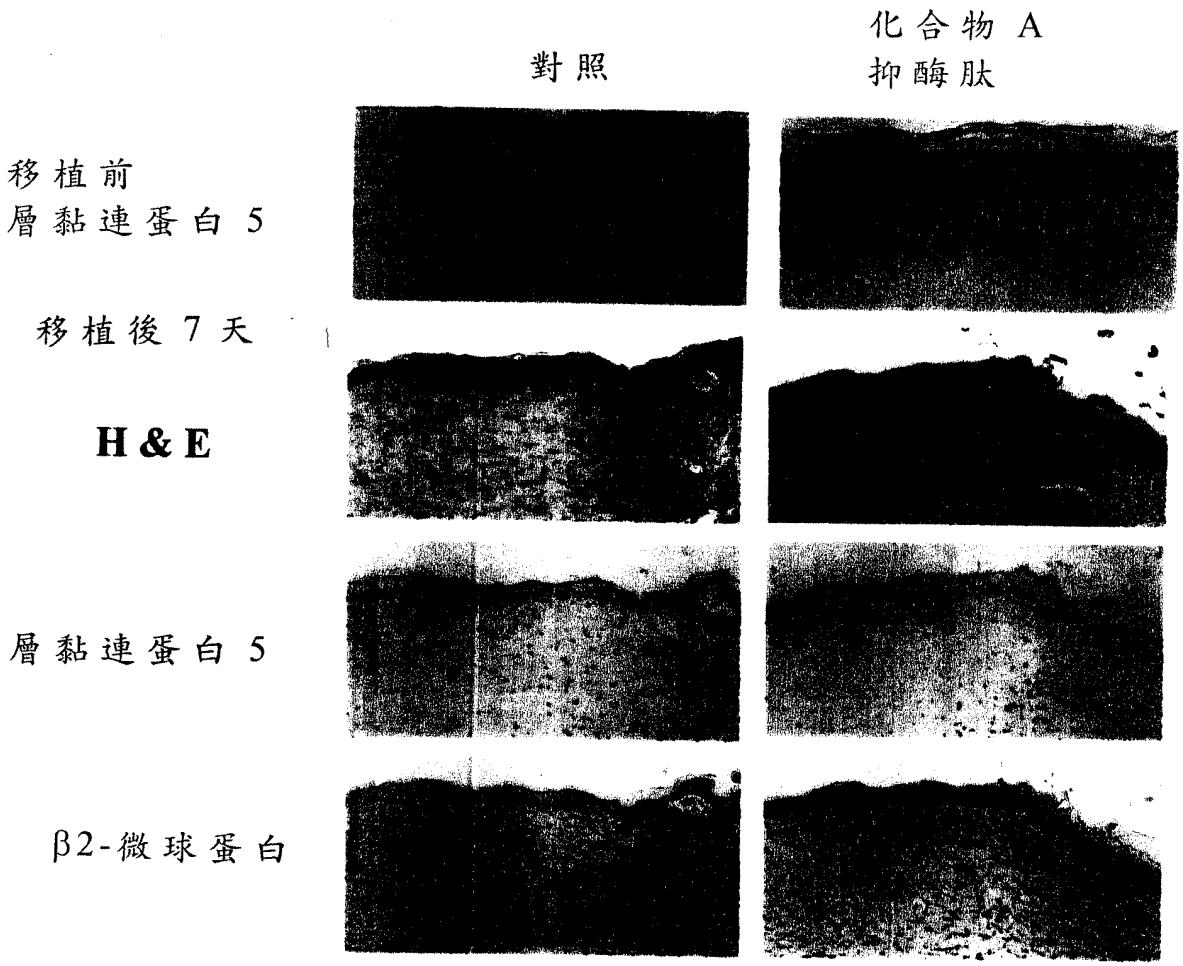


圖 8

200400833
10082341

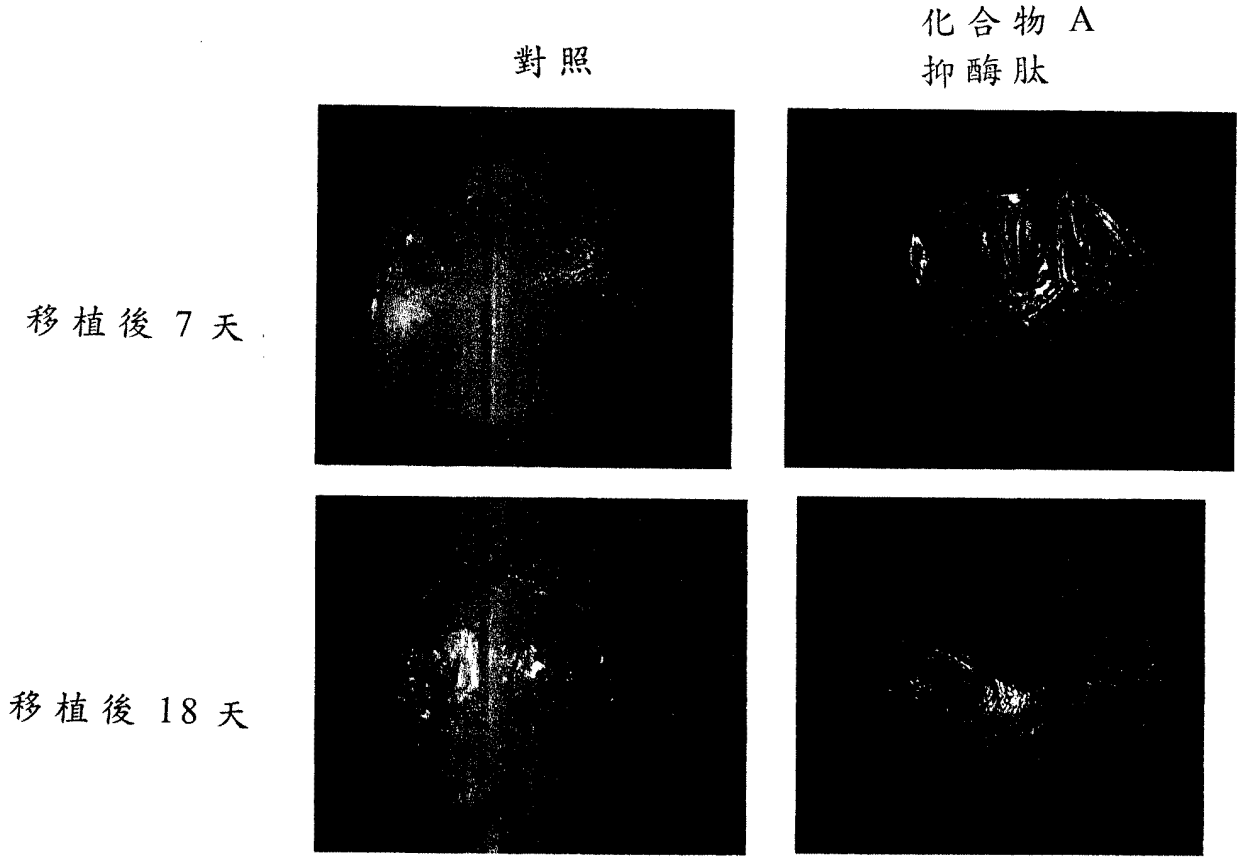


圖 9

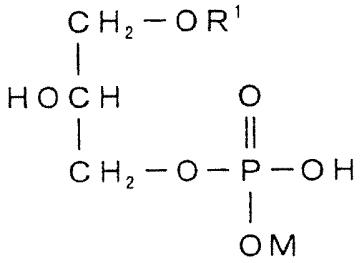
200400833
10082341

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（　　）圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



…（1）