



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110612099 A

(43)申请公布日 2019.12.24

(21)申请号 201880017130.2

(74)专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

(22)申请日 2018.03.13

代理人 李栋修 庞东成

(30)优先权数据

102017000027628 2017.03.13 IT

(51)Int.Cl.

A61K 31/352(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 31/575(2006.01)

2019.09.10

A61K 9/06(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2018/051651 2018.03.13

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2018/167657 EN 2018.09.20

(71)申请人 内罗斯公司

地址 意大利那不勒斯省索伦托

(72)发明人 U·迪马伊奥

权利要求书2页 说明书15页 附图5页

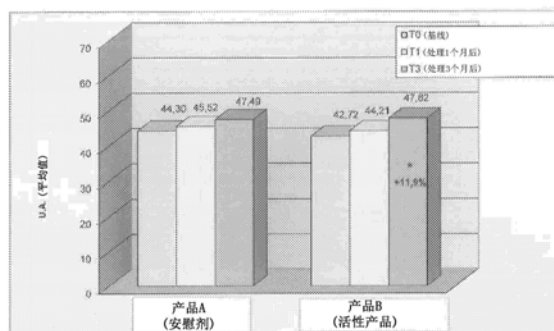
(54)发明名称

用于减少毛发生长的组合物

(57)摘要

本发明涉及一种用于减少毛发生长的速率和用于预防和/或治疗多毛症的药物或化妆品组合物。

皮肤表面电容量(表面水合)



统计分析: Holm-Sidak调整的t检验, \*p < 0.05, 相对于T0

1. 一种组合物,其包含至少一种药学上可接受的和/或化妆品级的和/或食品级的赋形剂和/或技术添加剂以及混合物,所述混合物包含至少下列组分,或由至少下列组分组成:

- (a) 至少一种异黄酮;
- (b) 至少一种甾醇;和
- (c) 芹菜素。

2. 如权利要求1所述的组合物,其中,所述至少一种异黄酮(a)提取自至少一种属于豆科的植物,优选属于大豆属(*Glycine*)、菜豆属(*Phaseolus*)、苜蓿属(*Medicago*)、豇豆属(*Vigna*)、葛根属(*Pueraria*)和/或三叶草属(*Trifolium*)中的一种,更优选属于物种大豆(*Glycine max*)或野大豆(*Glycine soja*)。

3. 如权利要求1或2所述的组合物,其中,所述异黄酮(a)是染料木黄酮、大豆黄酮、大豆黄素及其组合,和/或所述甾醇(b)是 $\beta$ -谷甾醇、环阿廷醇和/或豆甾醇及其组合。

4. 如权利要求1、2或3所述的组合物,其中,所述芹菜素(c)提取自母菊属(*Matricaria*)、果香菊属(*Chamaemelum*)、芹属(*Apium*)、香芹属(*Petroselinum*)、山茶属(*Camellia*)和/或柑橘属(*Citrus*)中的至少一种植物。

5. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,(a)以0.05-10%的量存在,和/或(b)以0.1-10%的量存在,和/或(c)以0.1-10%的量存在,其中所有的量是指相对于组合物总重量的组分重量。

6. 如前述权利要求中任一项所述的组合物,其形式为乳膏、软膏、凝胶、溶液、悬浮液、乳液、粉末、喷雾剂、纱布、贴剂或其它适合局部使用的递送形式。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的组合物,其包含以下组分:

a)

活性成分	浓度:重量/总重量
甾醇、或甾醇的混合物	2-3%
芹菜素	1.5-2.5%
异黄酮	0.25-0.75%

或者

b)

活性成分	日剂量
甾醇、或甾醇的混合物	2-3% (优选2.5%)
芹菜素	1-2% (优选1.5%)
异黄酮	0.25-0.75% (优选0.5%)

或者

c)

活性成分	日剂量
甾醇、或甾醇的混合物	2-3% (优选2.5%)
芹菜素	0.1-1% (优选0.5-0.8%)
异黄酮	0.25-0.75% (优选0.5-0.6%)

8. 前述权利要求中任一项所述的组合物在减少毛发生长中的非治疗性应用。

9. 如权利要求1-7中任一项所述的组合物,所述组合物应用于预防和/或治疗多毛症,其中所述应用包括局部施用所述组合物。

10. 一种包含权利要求1-7中任一项所述的组合物的药物或化妆品组合物或者医疗器械。

## 用于减少毛发生长的组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及用于降低毛发生长速率和用于预防和/或治疗多毛症的药物或化妆品组合物。

[0002] 描述

[0003] 毛囊是非常复杂的器官,由不同的细胞群组成,其特征在于细胞成分的不同位置 and 不同表达。因此,它代表了其种类的唯一系统,非常有动态性,并且其特征在于整个生命周期都在持续的生长周期。所述生长周期受不同激素和局部生长因子的控制,所述激素和局部生长因子可能由毛囊细胞和毛囊乳头细胞产生。

[0004] 多毛症是一种以身体毛发生长增加为特征的病症,这是由于毛囊对雄激素的敏感性增加或这些激素的合成增加。雄激素导致毛囊尺寸、轴直径和生长期的增加,以及皮脂腺分泌皮脂的增加。所有这些方面在多毛症中经常是持久的。在大多数情况下,多毛症源自良性原因,其可以是多囊卵巢综合征(PCSO)或特发性多毛症,尽管观察到血液中雄激素的基础水平低。多毛症的其它较少见的原因是先天性肾上腺皮质增生、Cushing综合征以及卵巢和肾上腺肿瘤,其可导致雄激素的产生增加。

[0005] 多毛症对于患有多毛症的女性来说是一种非常痛苦的状况,并且对患者的生活品质和心理社会发展具有非常负面的影响。

[0006] 多毛症的发病率可以取决于用于确定其存在的方法和所考虑的人群。应用于诊断这种病况的典型策略包括评估身体11个区域中的毛发生长并分配0-4的分数,这是Ferriman和Gallway在1960年代提出的方法(N. Sonino, G. A. Fava, E. Mani, P. Belluardo, and M. Boscaro, "Quality of life of hirsute women", Postgrad. Med. J., vol. 69, n. 809, pp. 186-9, 1993)。

[0007] 多毛症的总流行性是未知的,但据估计它在育龄女性中为5-10%。在确定这种疾病的确切患病率和发病率方面的困难取决于由于遗传和环境因素导致的群体中毛发数量存在很大变化的事实。事实上,一些人群可能表现出少量的体毛,而其它人群(地中海、中东和南洋人群)通常表现出更大量的毛发,但血浆雄激素水平是相等的。

[0008] 绝经后多毛症的发病率相当高,约50%的女性报告面部毛发生长增加。

[0009] 在大多数情况下,多毛症是激素失调,雄激素过多的征兆,其特征在于雄激素合成增加。但是,在一些情况下,毛发生长的增加与雄激素的增加无关,例如在“特发性多毛症”的情况下。

[0010] 雄激素过量的最常见原因是多囊卵巢综合征,但是其它非常重要的原因包括:特征在于缺乏21-羟化酶的肾上腺增生、黑棘皮病综合征、产生雄激素的肿瘤、和雄激素的摄取。在任何情况下,在过量血浆雄激素浓度和多毛症之间存在差异,因为这两个因素的比例不总是线性的。

[0011] 毛发基本上由角化黑素细胞组成,角化黑素细胞从毛囊鞘内的真皮乳头生长。有大约5000万个通常与皮脂腺相关的毛囊:其中20%位于头皮上。

[0012] 毛发生长周期的特征在于三个阶段:

[0013] 1. 生长期: 活性毛发生长阶段。毛发长度取决于该阶段的持续时间。

[0014] 2. 退行期: 毛发生长停止和毛球 (bulb) 经历退化的阶段。

[0015] 3. 休止期: 在此阶段, 观察到脱发。

[0016] 毛发生长受到不同激素的影响。生长激素可导致广义的毛发生长。与此相反, 甲状腺激素与毛发生长成负相关: 在这些激素功能障碍的情况下, 观察到毛发脱落。激素雌二醇和孕酮对毛发生长的影响最小。雄激素是毛发生长的主要调节剂。雄激素能够提高生长速度并将雄激素敏感区域的毫毛转化为终毛。

[0017] 睾酮是主要的循环雄激素, 通过酶5 $\alpha$ 还原酶转化为5 $\alpha$ -二氢睾酮 (DHT)。睾酮和DHT能够刺激真皮乳头形成终毛。可能由于雄激素和5 $\alpha$ -还原酶含量的变化, 皮肤的不同区域可能对雄激素的作用更敏感或更不敏感。

[0018] 有可能通过药理学手段治疗多毛症, 但是目前可用的治疗方法导致副作用, 这些副作用可能是特别显著的, 并且它们没有证明的有效性。

[0019] 药理治疗必须限于不打算怀孕的患者。对于多毛症的药理治疗的有效性几乎没有实验证据。在大多数情况下, 临床研究是对有限数量的患者进行的, 并且治疗的持续时间短暂; 另外, 临床研究常常不是盲的, 并且有效性的评估不是客观的。

[0020] 主要治疗方法如下:

[0021] 1. 依氟鸟氨酸的局部应用

[0022] 依氟鸟氨酸是抑制鸟氨酸脱羧酶的活性成分, 鸟氨酸脱羧酶参与腐胺的生物合成, 腐胺是能够调节毛囊细胞生长和分化的因子。最初被引入治疗非洲锥虫病的治疗中, 随后被批准以13.9%乳膏的形式局部治疗多毛症。它是一种相当有效的治疗方法; 但是, 它也不是没有问题。事实上, 它被批准仅用于面部毛发的减少, 并且不可能将其应用于皮肤的其它区域, 这是因为过度的全身吸收可能导致的副作用。另外, 它是一种高成本的活性成分。

[0023] 2. 口服避孕药。口服避孕药通过抑制垂体腺分泌促性腺激素和增加SHBG (性激素结合球蛋白) 的产生来抑制雄激素的合成, SHBG降低血浆中游离睾酮的浓度。口服避孕药应当长期施用, 但在任何情况下, 迄今为止进行的所有临床研究都没有得到关于其有效性的一致结果。另外, 它们的使用可与动脉压的增加和凝血因子的产生相关, 并增加心血管风险。

[0024] 3. 雄激素的抑制。主要药剂是雄激素受体拮抗剂, 包括螺内酯、氟他胺和醋酸环丙孕酮以及5 $\alpha$ -还原酶抑制剂, 如非那雄胺。所有这些药物都是致畸性的, 必须与安全、合适的避孕药一起使用。

[0025] 4. 胰岛素增敏剂。已经证实减重或使用二甲双胍或噻唑烷二酮可减少雄激素的产生并改善患有多囊卵巢综合征的女性的状况。但是, 这些治疗积极影响与多囊卵巢综合征相关的多毛症的能力仍然需要明确。

[0026] 目前, 对于多毛症或降低毛发生长速率还没有这样的有效治疗方法: 与目前使用的药理治疗方法相比, 这种治疗方法是大多数个体能够耐受的并且是有效的, 并且实际上没有副作用或副作用极小。

[0027] 为此目的, 本发明提供了如所附权利要求所述的组合物。在一个方面, 本发明涉及一种组合物, 其包含至少一种赋形剂和/或药学上可接受的和/或食品级技术添加剂以及混合物, 所述混合物包含至少下列组分, 或由至少下列组分组成:

[0028] (a) 至少一种异黄酮,优选染料木黄酮、大豆黄酮、大豆黄素及其组合;

[0029] (b) 至少一种甾醇,优选 $\beta$ -谷甾醇、环阿廷醇、豆甾醇及其组合;和

[0030] (c) 至少一种类黄酮,优选芹菜素。

[0031] 在优选方面,本发明涉及一种组合物,其包含至少一种赋形剂和/或药学上可接受的和/或食品级技术添加剂以及混合物,所述混合物包含至少下列组分,或由至少下列组分组成:

[0032] (a) 至少一种异黄酮,优选染料木黄酮、大豆黄酮、大豆黄素及其组合;

[0033] (b) 至少一种甾醇,优选 $\beta$ -谷甾醇、环阿廷醇、豆甾醇及其组合;和

[0034] (c) 至少一种黄酮,优选芹菜素。

[0035] 在更优选的方面,本发明涉及一种组合物,其包含至少一种赋形剂和/或药学上可接受的和/或食品级技术添加剂以及混合物,所述混合物包含至少下列组分,或由至少下列组分组成:

[0036] (a) 至少一种异黄酮,优选染料木黄酮、大豆黄酮、大豆黄素及其组合;

[0037] (b) 至少一种甾醇,优选 $\beta$ -谷甾醇、环阿廷醇、豆甾醇及其组合;和

[0038] (c) 芹菜素。

[0039] 本发明的主题涉及如上所述的本发明组合物,其用于治疗或预防多毛症,其中所述治疗或预防包括局部施用所述组合物。

[0040] 本发明的主题还涉及如上所述的组合物用于降低毛发生长速率的非治疗性应用。

[0041] 本发明还涉及包含如上所述的组合物的药物或化妆品组合物或医疗器械。

[0042] 除非另有说明,组合物中组分或物质的含量是指该组分或物质相对于组合物总重量的重量百分比。除非另有说明,提及组合物“包含”一种或多种组分或物质是指除了所具体提及的一种或多种组分或物质之外,还可以存在其它组分或物质。

[0043] 本发明还将参考下面的图:

[0044] 图1:2号志愿者的T0、T1、T3时刻的产品B的照相文档

[0045] 图2:10号志愿者的T0、T1、T3时刻的产品B的照相文档

[0046] 图3:产品A(安慰剂)和产品B(根据本发明的产品)的T0、T1、T3时刻的与毛发再生率有关的体内研究数据图;

[0047] 图4:产品A(安慰剂)和产品B(根据本发明的产品)的T0、T1、T3时刻的与毫毛密度有关的体内研究数据图;

[0048] 图5:产品A(安慰剂)和产品B(根据本发明的产品)的T0、T1、T3时刻的与终毛密度相关的体内研究数据图;

[0049] 图6:产品A(安慰剂)和产品B(根据本发明的产品)的T0、T1、T3时刻的与总毛发密度相关的体内研究数据图;

[0050] 图7:产品A(安慰剂)和产品B(根据本发明的产品)的T0、T1、T3时刻的与皮肤表面电容量(水合)相关的体内研究数据图。

[0051] 异黄酮是具有多种药理活性的化合物,包括作为雌激素受体激动剂的活性以及抗炎和抗氧化活性。它们几乎完全由豆科植物(也称为豆科,Leguminosae)合成,如大豆(*Glycine max*)、菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)、紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)、绿豆(*Vigna radiata* L.)、豇豆(*Vigna unguiculata* L.)、葛藤(*Pueraria lobata* L.)和红三

叶 (*Trifolium pratense* L)。

[0052] 大豆属是属于豆科 (*Fabaceae*) 的植物属,原产于亚洲。*Soja* 亚属包括两种植物物种,野大豆 (*Glycine soja*) 和大豆 (*Glycine max*),广泛用于人类和动物食物。

[0053] 野大豆甾醇 (*Glycine soja sterols*) 是 INCI 术语 (化妆品成分的欧洲命名法),其中鉴定了从大豆 (野大豆,豆科) 获得的植物甾醇。

[0054] 野大豆种子提取物是 INCI 术语,其中鉴定了从大豆 (野大豆,豆科) 获得的提取物的。

[0055] 大豆提取物的特征化合物是异黄酮和植物甾醇,其浓度根据用于提取的植物部分而变化。

[0056] 大豆中获得的主要异黄酮是染料木黄酮、大豆黄酮和大豆黄素。主要的甾醇为 $\beta$ -谷甾醇、环阿廷醇和豆甾醇。这些化合物具有不同的药理活性:异黄酮作为雌激素受体激动剂,在体外和体内显示出抗雄激素活性,而植物甾醇具有抗雌激素和抗雄激素活性。这些活性可用于限制在诸如多毛症等疾病中发生毛发生长速率。

[0057] 主要参与多毛症发病机制的激素是睾酮和5 $\alpha$ -二氢睾酮 (DHT)。

[0058] 睾酮是血浆中存在的最丰富的雄激素,其中只有3%是游离形式,而其余部分结合白蛋白和性激素结合球蛋白 (SHBG)。由于促黄体素 (LH),睾酮在位于睾丸中的睾丸间质细胞中合成。循环睾酮在细胞中内化,在细胞中由于5 $\alpha$ -还原酶的作用而转化为二氢睾酮 (DHT)。二氢睾酮是雄激素受体的优选配体,并且由于其与受体结合,复合物移入细胞核,在那里它诱导几种基因的转录,称为雄激素受体调节基因 (ARRG)。

[0059] 5 $\alpha$ -二氢睾酮在诸如良性前列腺增生和前列腺癌等不同病理中起着重要作用,还对痤疮、多毛症、雄激素性脱发也有重要作用。DHT对雄激素受体的亲和力是睾酮的2-5倍,作用效力是睾酮的10倍。这表明两种甾族激素具有不同但互补的效果。

[0060] 5 $\alpha$ -还原酶家族由3个亚家族和5个同工酶共同组成:

[0061] 1.1型和2型5 $\alpha$ -还原酶;

[0062] 2.3型5 $\alpha$ -还原酶;

[0063] 3. 蛋白质GPSN2 (突触糖蛋白2) 和GPSN2L (突触糖蛋白2-样)。

[0064] 所有酶都具有催化具有甾体结构的各种化合物的立体特异性还原反应的能力:这类酶的优选底物是3-氧代 (3-酮基) 甾族化合物、 $\Delta^{4,5}$ -C19 (睾酮) 和C21 (孕酮)。

[0065] 属于5 $\alpha$ -还原酶家族的酶的组织分布存在差异,其随年龄变化。从青春期到大约81岁,该酶的同工型1在皮肤和头皮中普遍表达。在成年生活中,这3种同工型 (5 $\alpha$ R1-3) 遍在表达,在肝脏、皮肤、前列腺、附睾、睾丸和卵巢组织及其它组织中的表达有一些差异。在表皮水平上,同工型1的表达仅见于皮脂腺中,而不在毛囊或表皮的其它区域中,而同工型2主要存在于毛囊中,但不见于真皮乳头或皮脂腺中。

[0066] 大豆异黄酮具有抑制参与雄激素合成的不同酶的能力。特别是,已经证实了这些化合物抑制3 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 (3 $\beta$ -HSD)、17 $\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 (17 $\beta$ -HSD) 和5 $\alpha$ -还原酶的能力。后一种酶的抑制导致DHT水平的降低,从而导致多毛症症状的减少。

[0067] 在优选实施方式中,在本发明的组合物中,至少一种异黄酮 (a) 提取自属于豆科的植物,优选属于大豆属 (*Glycine*)、菜豆属 (*Phaseolus*)、苜蓿属 (*Medicago*)、豇豆属 (*Vigna*)、葛根属 (*Pueraria*) 和/或三叶草属 (*Trifolium*) 中的一种,更优选属于物种大豆

(*Glycine max*) 或野大豆 (*Glycine soja*)。所述异黄酮 (a) 优选提取自从至少一种所述植物中提取的芽或种子或油。

[0068] 在本发明的组合中, 异黄酮 (a) 优选是染料木黄酮、大豆黄酮、大豆黄素及其组合。

[0069] 植物甾醇是这样的术语: 其包括植物来源的甾醇和甾烷醇, 两类化合物的特征在于结构类似于胆固醇。植物甾醇可提取自植物油, 如玉米油 (玉米 (*Zea mays* L.))、菜籽油 (油菜 *Brassica napus* L.)、大豆油 (大豆 (*Glycine max* (L.) Merr.))、向日葵籽油 (向日葵 (*Helianthus annuus* L.)) 或橄榄油 (橄榄 (*Olea europaea* L.))。它们还以较低含量存在于坚果、种子、果实和蔬菜中。最丰富的甾醇是谷甾醇、菜油甾醇和豆甾醇: 它们分别占饮食中植物甾醇消耗的约65%、30%和3%。

[0070] 植物甾醇是大豆油中含有的主要化合物。存在于大豆 (*Glycine max* (L.) Merr.) 不同部位的植物甾醇的定性和定量组成存在差异。具体地说, 谷甾醇是芽苗的主要甾醇化合物, 而种子中存在更大量的环阿廷醇。

[0071]  $\beta$ -谷甾醇是植物界中存在的最丰富的植物甾醇之一。最重要的活性之一在于抑制5 $\alpha$ -还原酶。在对接受性腺切除的大鼠进行的研究中, 在经皮施用睾酮后观察到前列腺体积增加。与此相反, 谷甾醇和睾酮的联合施用以剂量依赖性的方式减少了这种现象。在相同的研究中, 进行了两次体外试验, 以确定对前列腺体积增加的抑制是否通过抑制酶5 $\alpha$ -还原酶或通过对雄激素受体的拮抗作用来诱导。在该研究中, 观察到针对5 $\alpha$ -还原酶的良好抑制活性,  $IC_{50}$ 为2.7 $\mu$ M。同样的研究表明谷甾醇对雄激素受体具有低亲和力: 这表明抗雄激素活性依赖于对DHT合成的抑制。

[0072] 在根据本发明的组合中, 甾醇 (b) 可以是天然来源 (植物甾醇) 或合成来源。

[0073] 天然来源的甾醇 (b) 的非限制性实例是从大豆提取物 (大豆的种子、芽或其它部分的提取物), 例如野大豆或大豆或者它们的组合的提取物获得的甾醇。

[0074] 天然来源的甾醇 (b) 的非限制性实例是 $\beta$ -谷甾醇、环阿廷醇、豆甾醇。

[0075] 在根据本发明的组合中, 甾醇 (b) 优选为优选 $\beta$ -谷甾醇、环阿廷醇和/或豆甾醇及其组合。

[0076] 芹菜素 (4', 5, 7-三氢黄酮) 是属于类黄酮的化合物, 具体属于黄酮亚类, 在自然界中分布非常广泛, 它在自然界中可以以苷元形式和糖苷形式存在, 例如红景天苷 (rhoifolin) (或野漆树苷 (roifolina)) 和异牡荆苷 (isovitexin)。

[0077] 该化合物在各种植物物种中丰富存在, 包括洋甘菊 (母菊 (*Matricaria recutita* L.))、德甘菊 (*Matricaria chamomilla* L.)、同花母菊 (*Matricaria discoidea* L.)、果香菊 (*Chamaemelum nobile* (L.) All.)、欧芹 (皱叶欧芹 (*Petroselinum crispum*))、芹 (秋芹 (*Apium graveolens* L.), 根芹 (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*))、茶 (茶树 (*Camellia sinensis* L.)) 和柚 (葡萄柚 (*Citrus x paradisi* Macfad.))。

[0078] 在本发明的组合中, 芹菜素 (c) 优选提取自从母菊属、果香菊属、芹属、香芹属、山茶属和/或柑橘属中的至少一种植物中。

[0079] 芹菜素显示出各种药理活性, 对于本发明的目的来说, 最令人感兴趣的是其抑制鸟氨酸脱羧酶的能力。

[0080] 多胺长期以来已知是重要的细胞生长因子, 不过它们的作用尚未完全阐明。多胺

的浓度通过其合成、运输和降解严格调节。其合成主要受鸟氨酸脱羧酶 (ODC1) 和腺苷甲硫氨酸脱羧酶的调控,而降解主要受亚精胺/精胺N1-乙酰转移酶 (SSAT) 的调控。

[0081] 鸟氨酸脱羧酶是催化限制多胺合成的步骤的酶,并且已经显示了其在不同组织,例如脑、牙齿、睾丸和胰腺的发育中的重要性。

[0082] 其作用在毛发生长中也是关键的,如Takigawa在1983年所证明的,他证明了 $\alpha$ -二氟甲基鸟氨酸对该酶的抑制导致毛发生长的抑制。许多其它的研究已经证实了二氟甲基鸟氨酸对该酶的抑制与毛发生长的显著降低之间的相关性。在一项研究中,该化合物导致大鼠和狗的脱发和皮炎的发作。在其它研究中,已经证实该酶在毛囊中的过表达与脱发、过度的皮肤皱褶和肿瘤形成有关。这些研究表明,毛囊可以对这种酶浓度的变化敏感。

[0083] 鸟氨酸脱羧酶水平在毛发生长的生长期增加,而在退行期显著降低。SSAT或ODC1的上调可导致大鼠脱发和皮肤囊肿。

[0084] 一项体内研究证实了芹菜素溶液局部应用对抑制小鼠表皮鸟氨酸脱羧酶的有效性。所述研究在 $4\text{cm}^2$ 面积的小鼠皮肤上施用 $0.2\text{ml}$ 不同浓度的芹菜素在DMSO中的溶液;在皮肤施用芹菜素溶液之后,施用在 $0.2\text{ml}$ 丙酮中的 $17\text{nmol}$ 的12-O-十四酰基佛波醇-13-乙酸酯 (TPA) 以诱导鸟氨酸脱羧酶的表达和活性。施用TPA的6小时后,处死小鼠并计算鸟氨酸脱羧酶的活性。当芹菜素在 $0.2\text{ml}$ 中的浓度为 $20\mu\text{mol}$ 时发现该酶的最大抑制百分数。

[0085] 经过长期的研究活动,发现本发明组合物的活性成分 (a)、(b) 和 (c) 具有协同作用。

[0086] 本发明可同时获得:

- [0087] • 抗雄激素作用;
- [0088] • 毛囊细胞增殖的减少。

[0089] 本发明组合物的最终效果在于降低身体毛发生长速率,以及降低轴直径和毛发色素沉着。

[0090] 本发明的组合物进一步降低毛发总密度,特别是终毛 (直径 $>0.04\text{mm}$ 的毛发),即处于再生活性阶段的毛发的密度,从而产生毛发更薄、更稀疏的条件。

[0091] 另外,本发明的组合物具有良好的耐受性,并且没有任何相关的副作用。

[0092] 本发明的组合物使皮肤表面光滑并水合。

[0093] 当用于化妆品目的时,本发明的组合物在涂抹性、质地、涂抹于皮肤后无残留、香味和颜色方面显示具有良好的化妆品可接受性。

[0094] 最终,本发明的组合物经济且易于生产。

[0095] 异黄酮和甾醇能够抑制参与以下甾体激素合成的各种酶:  $3\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 ( $3\beta$ -HSD)、 $17\beta$ -羟基类固醇脱氢酶 ( $17\beta$ -HSD) 和  $5\alpha$ -还原酶。具体地说,后一种酶的减少能够使毛囊中二氢睾酮的浓度降低,导致雄激素受体激活减少,从而导致毛发生长速率的降低。

[0096] 通过作用于鸟氨酸脱羧酶,芹菜素可以导致腐胺浓度的降低,腐胺是调节毛囊细胞增殖的重要生长因子。低浓度的腐胺应减缓毛囊细胞的增殖,从而降低毛发生长速率。

[0097] 本发明组合物的协同作用来源于药理活性化合物在不同分子靶标上相互作用的事实。

[0098] 在本发明中,异黄酮、甾醇和芹菜素之间发生协同作用。当异黄酮,优选从属于豆科的植物中提取的异黄酮,优选从提取自大豆或野大豆的种子、芽或油中提取的异黄酮的

存在浓度为0.05%-10%，天然或合成来源的甾醇的存在浓度为0.1%-20%，并且芹菜素，优选从母菊属、果香菊属、芹属、香芹属、山茶属和/或柑橘属的至少一种植物中提取的芹菜素存在浓度为0.1-20%时，协同以最佳方式发生。

[0099] 在根据本发明的组合物中，(a)的存在量优选为0.05%-10%，更优选0.1-5%，甚至更优选0.5-2%，和/或(b)的存在量为0.1-10%，更优选0.5-5%，甚至更优选1-3%，和/或(c)的存在量为0.1-10%，更优选0.5-10%，甚至更优选0.5-3%，其中所有的量是指该组分相对于组合物总重量的重量。

[0100] 本发明的组合物优选为乳膏、软膏、凝胶、溶液、悬浮液、乳液、粉末、喷雾剂、纱布、贴剂或其它适于局部使用的递送形式。

[0101] 根据本发明的组合物优选包含至少下列组分：

[0102] a)

活性成分	浓度(重量/总重量)
甾醇、或甾醇的混合物	2-3% (优选2.5%)
芹菜素	1.5-2.5% (优选2%)
异黄酮	0.25-0.75% (优选0.5%)

[0104] 或者

[0105] b)

活性成分	日剂量
甾醇、或甾醇的混合物	2-3% (优选 2.5%)
芹菜素	1-2% (优选 1.5%)
异黄酮	0.25-0.75% (优选 0.5%)

[0108] 或者

[0109] c)

活性成分	日剂量
甾醇、或甾醇的混合物	2-3% (优选2.5%)
芹菜素	0.1-1% (优选0.5-0.8%)
异黄酮	0.25-0.75% (优选0.5-0.6%)

[0111] 药学上可接受的和/或化妆品级和/或食品级赋形剂和/或技术添加剂指的是任何物质或物质的组合，其辅助生产以成品存在的药物、化妆品、食品或营养品形式，其不是活性成分，即使其可以改变其稳定性、释放或其它特性。

[0112] 这些成分的非限制性实例，如药物、营养或食品行业的制剂领域的技术人员所知，有稀释剂、吸收剂、吸附剂、润滑剂、助流剂、着色剂、表面活性剂、抗氧化剂、甜味剂、调味剂、粘合剂、崩解剂、塑化剂、粘度增强剂、乳化剂、保湿剂、润湿剂、防腐剂 and 螯合赋形剂等。

[0113] 在一个实施方式中，本发明涉及包含上述组合物的药物或化妆品组合物或医疗器械。

[0114] 在本发明的上下文中，术语“医疗器械”具有的含义如1997年2月24日的Italian

Legislative Decree no.46所用,即它表示一种物质或其他产品,无论是单独使用还是组合使用,制造商希望用于人类疾病的诊断、预防、监测、治疗或缓解的目的,并且不能在人体内或在人体上实现其通过药理学、免疫学或代谢手段预期而主要预期的作用,但其功能可以通过所述手段辅助。

[0115] 本发明的组合物应理解为用于人或兽医用途,即作为用本领域技术人员已知的用途和方法施用于动物的制剂。

[0116] 在本发明的上下文中,“治疗”是指包括施用物质或物质混合物的干预,其目的是消除、减轻或预防病理及其症状。

[0117] 提供下面的实施例是为了阐释本发明的一些实施方式,而不是要限制其范围。

[0118] 组合物1

成分(INCI 命名法)	浓度
水	65.00-75.00%
二乙基己基己二酸酯(Diethylexyl adipate)	1.00-5.00%

	甘油	1.00-5.00%
	异十六烷	1.00-5.00%
	二辛基碳酸酯	1.50-3.50%
	野大豆甾醇	1.50-3.50%
	丙二醇	1.50-3.50%
	环戊硅氧烷	1.00-3.00%
	芹菜素	1.00-2.00%
	鲸蜡醇	0.78-1.78%
	硬脂酸甘油酯	0.77-1.77%
	苯氧乙醇	0.10-1.90%
	大豆甘油酯	0.10-1.90%
	野大豆种子提取物	0.10-1.60%
	红没药醇	0.05-1.00%
	聚二甲基硅氧烷	0.05-1.00%
	生育酚	0.05-1.00%
	PEG-75 硬脂酸酯	0.05-1.00%
	卡波姆	0.05-1.00%
	香精(香料)	0.05-1.00%
[0120]	乳木果(BUTYROSPERMUM PARKII)黄油非皂化物	0.01-0.60%
	乙酸生育酚	0.01-0.60%
	CETETH-20	0.01-0.50%
	STEARETH-20	0.01-0.50%
	氢氧化钠	0.01-0.50%
	乙基己基甘油	0.01-0.50%
	库拉索芦荟叶汁	0.01-0.50%
	PPG-15 十八烷基醚	0.01-0.50%
	EDTA 四钠	0.001-0.500%
	油酸甘油酯	0.001-0.500%
	BHT	0.001-0.500%
	己二醇	0.001-0.500%
	BHA	0.001-0.500%
	假交替单胞菌胞外多糖	0.001-0.500%
	柠檬酸	0.001-0.500%
	水杨酸钠	0.001-0.500%
	抗坏血酸棕榈酸酯	0.00001-0.05000%
	山梨酸钾	0.00001-0.05000%
	苯甲酸钠	0.00001-0.05000%
	亚硫酸钠	0.00001-0.05000%

[0121] 组合物2

[0122]	成分 (INCI 命名法)	浓度
	水	90.684129%

野大豆甾醇	2.500000%
丙二醇	2.275000%
芹菜素	0.807500%
PEG-40氢化蓖麻油	0.800000%
野大豆种子提取物	0.612500%
库拉索芦荟叶汁	0.518232%
甜杏仁油	0.500000%
生育酚	0.500000%
苯甲酸钠	0.300520%
香精(香料)	0.200000%
山梨酸钾	0.150520%
EDTA四钠	0.100000%
乳酸	0.050000%
柠檬酸	0.001100%
亚硫酸钠	0.000440%

## [0123] 组合物3

成分(INCI 命名法)	浓度
水	75.00-95.00%
甘油	1.00-5.00%
野大豆甾醇	1.00-5.00%
丙二醇	1.00-5.00%
STEARETH-20	1.00-5.00%
库拉索芦荟叶汁	0.50-3.00%
野大豆种子提取物	0.10-2.00%
芹菜素	0.10-2.00%
苯甲酸钠	0.10-2.00%

## [0124]

[0125]	月桂酸甘油酯	0.10-2.00%
	红没药醇	0.10-2.00%
	山梨酸钾	0.01-1.00%
	EDTA 二钠	0.01-1.00%
	香精(香料)	0.01-1.00%
	辣木种子提取物	0.01-1.00%
	柠檬酸	0.0001-0.0100%
	亚硫酸钠	0.0001-0.0100%

[0126] 实验部分

[0127] 对本发明组合物减少毛发生长速率以及预防和/或治疗多毛症进行的研究。

[0128] 评价本发明组合物及个体组分对降低毛发生长速率的效果(以便观察个体组分之间的协同作用)。

[0129] 1. 毛发再生率:动物体内研究

[0130] 为了能够评价组合物的协同作用,如此前所述(J.Y.Lee,K.R.Im,T.K.Jung,M.-H.Lee,和K.-S.Yoon,“Medicinal Herbal Complex Extract with Potential for Hair Growth-Promoting Activity”,J.Soc.Cosmet.Sci.Korea,vol.38,n.4,pp.277-287,2012; K.Shin,T.Kim,J.Kyung,D.Kim,D.Park,E.Choi,“Effectiveness of the combinational treatment of Laminaria japonica and Cistanche tubulosa extracts in hair growth”,Lab Anim Res,vol.31,n.1,pp.24-32,2015)评价小鼠模型中的毛发生长速率。

[0131] 对于该研究,使用C57BL/6小鼠,C57BL/6小鼠被放置在温度受控的房间中,温度为 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度为45-65%,光/暗周期为12小时。动物可以自由地获得水和食物,包括标准饮食。所有的实验都是在遵守1992年2月27日的第No.116号Legislative Decree并根据欧洲联盟委员会的指导原则(86/609/EEC和2010/63/EU)进行。

[0132] 存在于小鼠背部的毛发的生长期通过文献(S.Müller-Röver, B.Handjiski,C.Van Der Veen,S.Eichmüller,K.Foitzik,I.A.McKay,K.S.Stenn,和R.Paus,“A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages”,Journal of Investigative Dermatology,vol.117,no.1.pp.3-15, July 2001.)中描述的方法之一诱导。简言之,小鼠适应新环境一周后,通过剃掉背部的毛发来诱导生长期,从而使所有动物的生长期同步。从剃毛后的那一天开始,使用特定的载剂将制剂施用到每只动物的皮肤上,每天2次,持续28天。借助大鼠的照片和组织学检查评价毛发生长的促进。

[0133] 对于毛发再生率的客观比较,拍摄大鼠背部的照片,并通过特定软件计算毛发生长的百分比面积。

[0134] 从治疗开始14、21和28天后处死每组中的一只小鼠。将背部皮肤切成直径为5微米的切片,用福尔马林固定,用石蜡包埋,用苏木素/伊红染色,以用于组织学检查。

[0135] 2. 毛发再生延缓效果的评价:人体内研究

[0136] A. 研究的目的

[0137] 由知情且同意的患有腿部多毛症的女性受试者,使用非侵入性仪器研究(产品B对应于上述组合物2)临床评价根据本发明脱毛后化妆品的毛发再生延缓效果,每天两次(早晚各一次)用于腿部,连续3个月;所述研究包括与“安慰剂”制剂(产品A)(受试者内比较)相对比对所检测产品的活性的评价。

[0138] 此外,评估了由志愿者表示的所检测产品的化妆品接受程度,以及在试验结束时受试者对其有效性和耐受性所表达的意见进行评估。

[0139] B. 方法

[0140] 双盲、随机、安慰剂对照的临床研究,其提供了每天早晚两次所研究的产品的使用,持续3个月。

[0141] 特别是,每一个符合准入标准的志愿者用所研究的产品(产品B)和安慰剂(产品A)在腿上进行局部治疗(基于先前定义的随机化列表,一种产品在右腿上,另一种产品在左腿上)。在整个研究持续期间,每个产品的指定侧保持相同。

[0142] 在研究过程中进行三次检查:基线检查(T0),中间检查(T1:治疗一个月后)和试验结束时的最终检查(T3:治疗三个月后)。

[0143] 通过以下手段进行本发明产品(B)/安慰剂(A)的活性评价:

[0144] • 毛干显微照相(phototrichogram)(图1,2),用于测定实验方案提供的参数(毛发再生率、总毛发密度、终毛和毫毛密度)的图像分析(图3-6)。

[0145] • 通过水分测试仪CM825(Courage—Khazaka, Köln, Germany)测量皮肤表面电容量(水合)(图7)。

[0146] 在研究结束时,志愿者提供了对测试产品的有效性和耐受性的主观评估;另外,实验者考虑了他们对治疗的依从性以及可能干扰/影响试验结果的任何事件。

[0147] 使用数字视频皮肤镜在以脱毛条(冷或热打蜡)脱毛7天后,对每个实验期(T0、T1和T3)进行用于毛干显微照相的数字化图像的采集;限定为研究而选择的位点,是胫骨区域的非常局部的区域,尺寸约1cm<sup>2</sup>,通过使用适合于每个志愿者腿部的特殊罩在上述每个时间段确保其识别。

[0148] C. 研究群体

[0149] 对年龄为21-56岁(平均年龄=38)的24名知情并同意的女性志愿者进行试验,所述志愿者有腿部多毛症,其习惯性地使用脱毛条作为脱毛系统。

[0150] D. 结果

[0151] 所有结果详细地报告在表1-2和图1-7中。数据根据描述性和推断性统计方法进行处理。

[0152] 没有观察到可能影响测试结果的重要事件。

[0153] 两个受试者在测试过程中退出;事实上,由于个人问题,志愿者15和20过早地中断了研究。对与按照程序完成研究的22名受试者有关的数据进行统计分析。

[0154] 所研究产品的活性以相对于基线值的绝对值表示,并与安慰剂比较;具体考虑了以下因素:

[0155] • 通过参数测试(具有重复测量的ANOVA)对所研究的每个产品(产品A和B)的不同评估期相对于基线(T1和T3,相对于T0)之间的比较,当通过Shapiro-Wilks正态性测试(阈

值为5%)或非参数测试(Friedman测试)确认正态性假设时,当正态性假设被拒绝时,接着,在统计结果显著的情况下,进行Holm-Sidak测试。

[0156] • 在数据分布正常的情况下( $p < 0.05$ , Shapiro-Wilk检验),通过对配对数据的学生t检验(配对t检验)比较两个被测产品(产品A和B);否则( $p < 0.05$ , Shapiro-Wilk试验)通过Wilcoxon试验进行数据分析。

[0157] D.1.有效性评价

[0158] D.1.毛干显微照相图

[0159] 相关于本发明产品(产品B)所获得的结果已经在T1和更明显地在T3显示,毛发再生率相对于基线的统计和临床显著降低(Holm-Sidak Wilcoxon Sign-Rank测试,T1和T3,相对于T0)分别对应于15.7%和26.6%。与安慰剂相比,这些减少在统计学上是不同的(Wilcoxon Sign-Rank测试 $P < 0.01$  T1<sub>产品B</sub>相对于T1<sub>产品A</sub>;  $P < 0.001$  T3<sub>产品B</sub>相对于T3<sub>产品A</sub>);此外,在安慰剂的情况下,没有观察到所考虑的参数相对于T0的显著变化(图3)。

[0160] 关于相关于本发明产品(产品B)的所考虑的其它参数(总毛发密度、终毛和毫毛密度),重要的是注意到在毫毛(直径为0.04mm的毛发)密度(图4)中在T1显著增加(+66.7%)(Holm-Sidak Wilcoxon Sign-Rank, T1相对于T0),和终毛(直径 $> 0.04$ mm的毛发)减少(-11.4%)的趋势(图5),表明其“小型化”的初始过程与安慰剂相比有统计学差异(毫毛和终毛, Wilcoxon Sign-Rank/配对t检验,  $P < 0.05$ , T1<sub>产品B</sub>相对于T1<sub>产品A</sub>)。

[0161] 在T3时,该“削弱”终毛的过程转化为其密度的更显著降低(-13.5%)和总毛发密度的临床显著降低(-14.2%)(图5);因此,在施用期结束时,终毛较少且较稀疏。

[0162] 在安慰剂(产品A)的情况下,在T3时,没有观察到终毛密度(-3.0%)或总毛发密度(-5.6%)相对于T0的显著变化。

[0163] 在T3时通过本发明产品(产品B, -16.7%)观察到毫毛减少的趋势,完全可与安慰剂(产品A, -16,0%)获得的减少相比,证实了活性再生阶段的毛发最易受研究中处理的影响。

[0164] D.1.2.皮肤表面电容(水合)

[0165] 治疗3个月后(T3),观察到根据本发明的产品(产品B)的皮肤表面电容(水合)相对于基线(Holm-Sidak调整的t检验,  $P < 0.05$ , T3相对于T0)的显著增加,等于+11.9%(图7)。

[0166] 尽管在所比较的两种治疗之间没有观察到显著的差异,重要的是注意到施用安慰剂(产品A)没有对所考虑的参数引起任何临床/统计上显著的变化。

[0167] D.1.3.受试者的意见

[0168] D.1.3.1.关于有效性的意见

[0169] 91%的受试者注意到本发明产品(产品B)对脱毛后毛发再生率的有效性;另外,在研究结束时,91%的受试者声称她们的毛发更细,81.8%的受试者声称她们的毛发更稀疏(毛发数量减少)(表1)。

[0170] 与本发明产品(产品B)相比,安慰剂(产品A)对相同参数的有效性较低(再生率为73%,较细的毛发为73%,较稀疏的毛发为68%)(表2)。

[0171] 关于皮肤光滑度和水合性,两种产品A和B得到的百分比非常相似(表1和2)。

	%受试者				
	无	轻微	中度	显著	非常显著
[0172] 毛发再生率降低	9%	50%	14%	27%	0%
毛发厚度降低	9%	41%	32%	18%	0%
毛发数量降低	18.2%	36.4%	36.4%	9%	0%
皮肤水合度改善	5%	27%	36%	23%	9%
皮肤光滑性改善	4.5%	18%	41%	32%	4.5%
治疗的整体效果	0%	14%	41%	45%	0%

[0173] 表1产品B(本发明的产品)最终有效性的自我评估调查表

	%受试者				
	无	轻微	中度	显著	非常显著
[0174] 毛发再生率降低	27%	32%	27%	14%	0%
毛发厚度降低	27%	41%	32%	0%	0%
毛发数量降低	32%	36%	32%	0%	0%
皮肤水合度改善	9%	14%	45%	32%	0%
皮肤光滑性改善	9%	14%	54%	23%	0%
治疗的整体效果	5%	32%	54%	9%	0%

[0175] 表2产品A(安慰剂)最终有效性的自我评估调查表。

## [0176] D.1.3.2化妆品可接受性

[0177] 两种被测试产品A和B的化妆品可接受性大体上显示良好。特别是,更高百分比的受试者欣赏本发明产品B的该颜色(100%的受试者)、香味(施用前100%的受试者和施用后96%的受试者)、质地(100%的受试者)、涂抹性(100%的受试者)和吸收性(100%的受试者),以及其施用后在皮肤上无残留(100%的受试者)。

## [0178] D.2.耐受性

[0179] 两种产品A和产品B大体上都有良好的耐受性;事实上,没有观察到与所测试的制

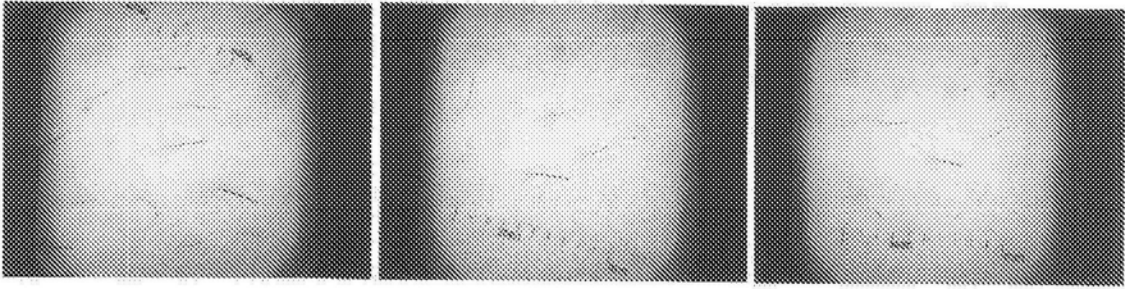
剂相关的不良事件。只有2号受试者报道了在施用两种产品后偶有轻度实体瘙痒,持续几秒钟。但是,没有观察到由于使用所测试的产品而引起的明显的临床症状;因此,该反应代表了对于测试产品类型预期的现象,并可归因于受试者的“非特异性皮肤反应性”,而对化妆品没有已知的过敏性和/或不耐受性。

[0180] 优异的耐受性进一步由受试者的意见证实:就本发明的产品(产品B)而言,36%优异,59%良好;关于安慰剂(产品A),45%良好,50%优异。

[0181] E. 结论

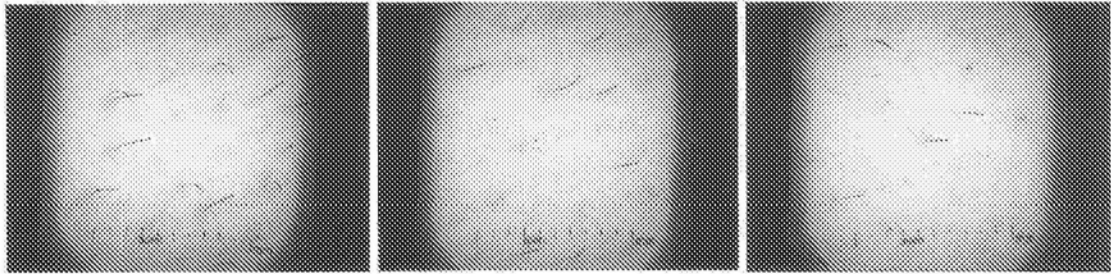
[0182] 本研究的结果表明,根据本发明的产品B,已经在施用一个月后,在脱毛后的毛发再生率方面带来了统计学上和临床上显著的降低。在施用3个月结束时,在再生的活性阶段中的毛发表现为更少且更稀疏。所研究的产品还证明具有良好的水合活性。大多数参与试验的受试者也证实了产品的有效性。

[0183] 没有报道与使用该治疗相关的不良反应。



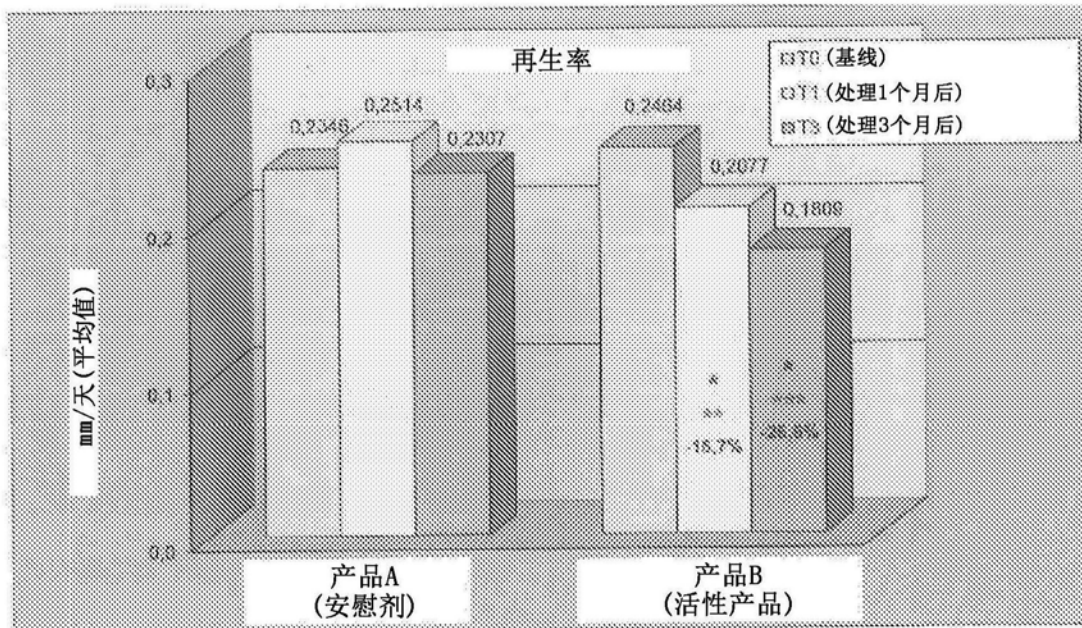
2号志愿者的T0、T1、T3时刻的产品B的照相文档

图1



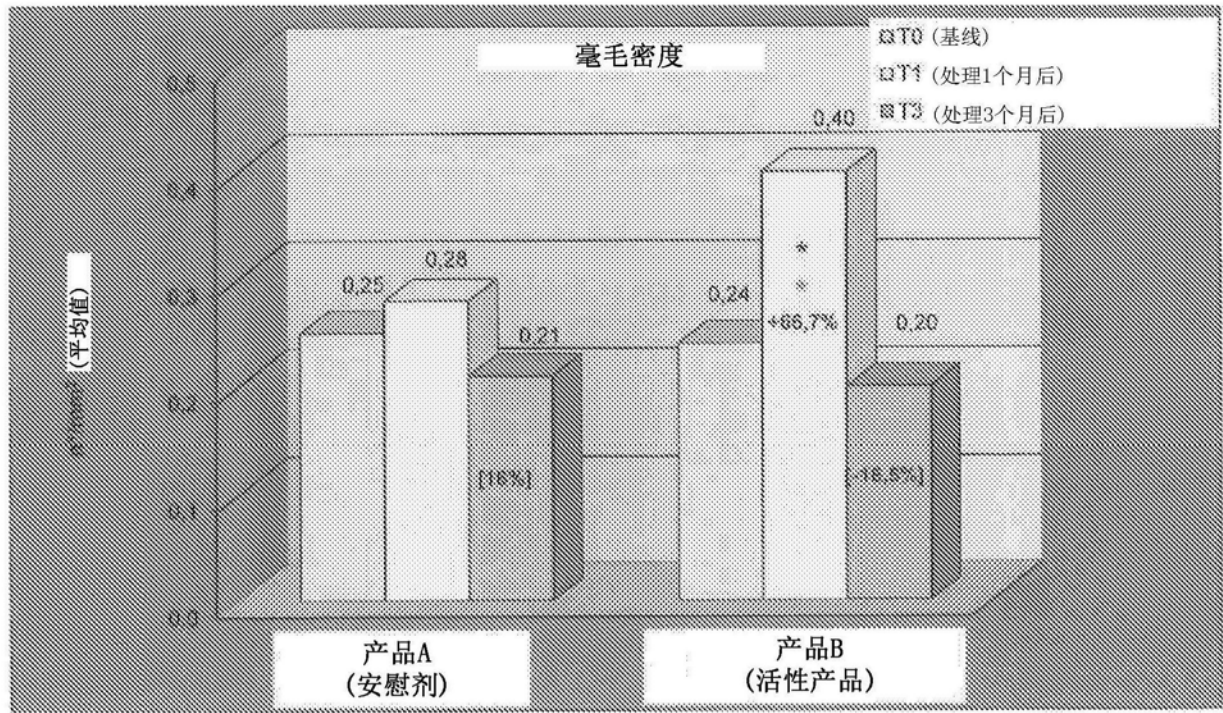
10号志愿者的T0、T1、T3时刻的产品B的照相文档

图2



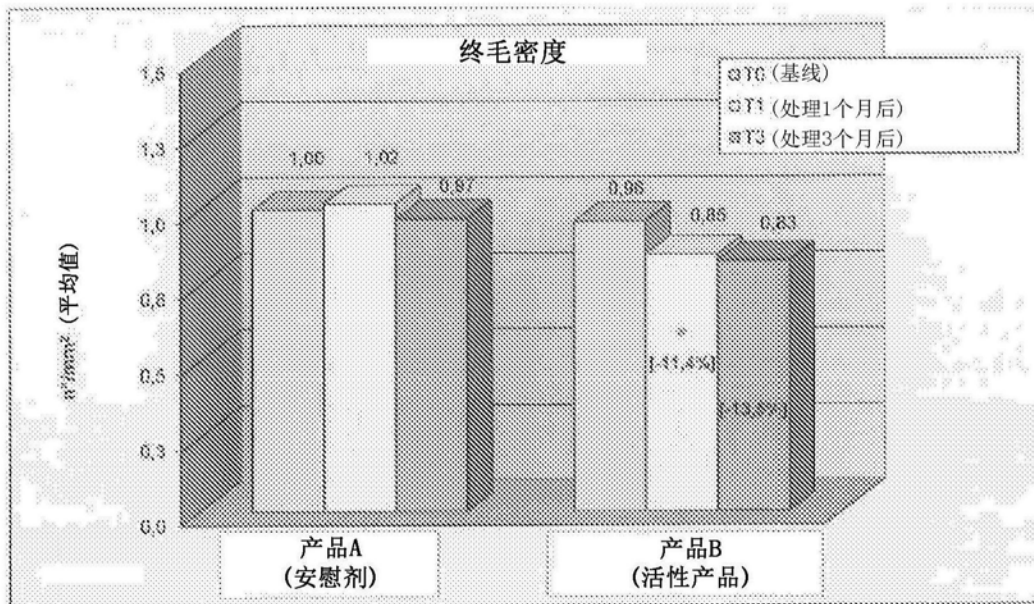
统计分析: Holm-Sidak调整的Wilcoxon signed-rank 检验, \*p < 0.05, 相对于T0 Wilcoxon signed-rank检验, \*\* p < 0.01 \*\*\* p < 0.01, 相对于产品A (安慰剂)

图3



统计分析: Holm-Sidak调整的Wilcoxon signed-rank 检验, \*p < 0.05, 相对于T0  
Wilcoxon signed-rank/配对t检验, \*p < 0.05, 相对于产品A (安慰剂)

图4



统计分析: Wilcoxon signed-rank/配对t检验, \*p < 0.05, 相对于产品A (安慰剂)

图5

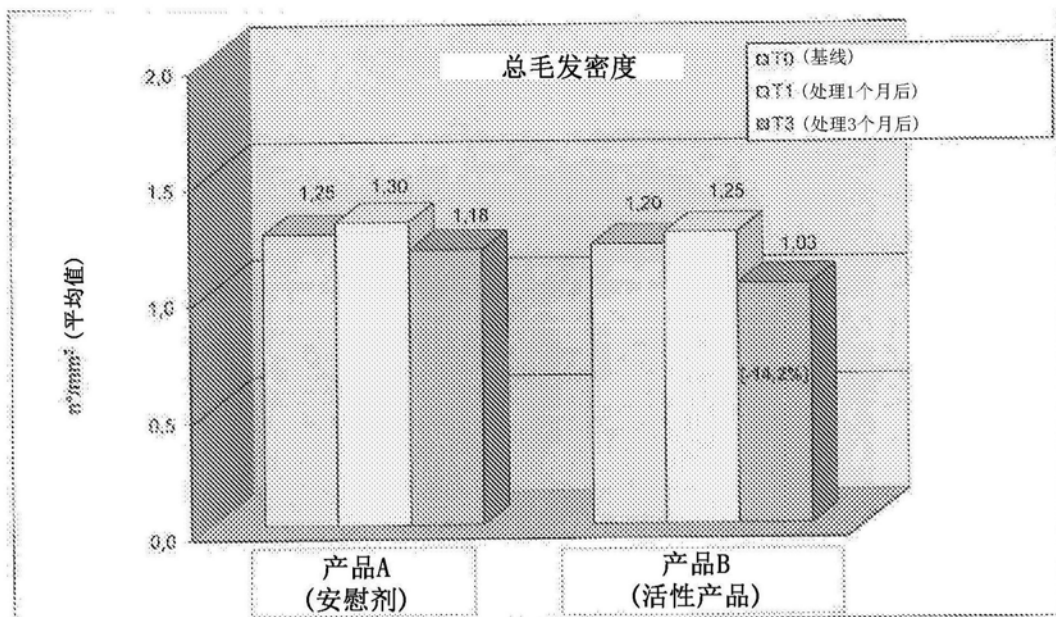
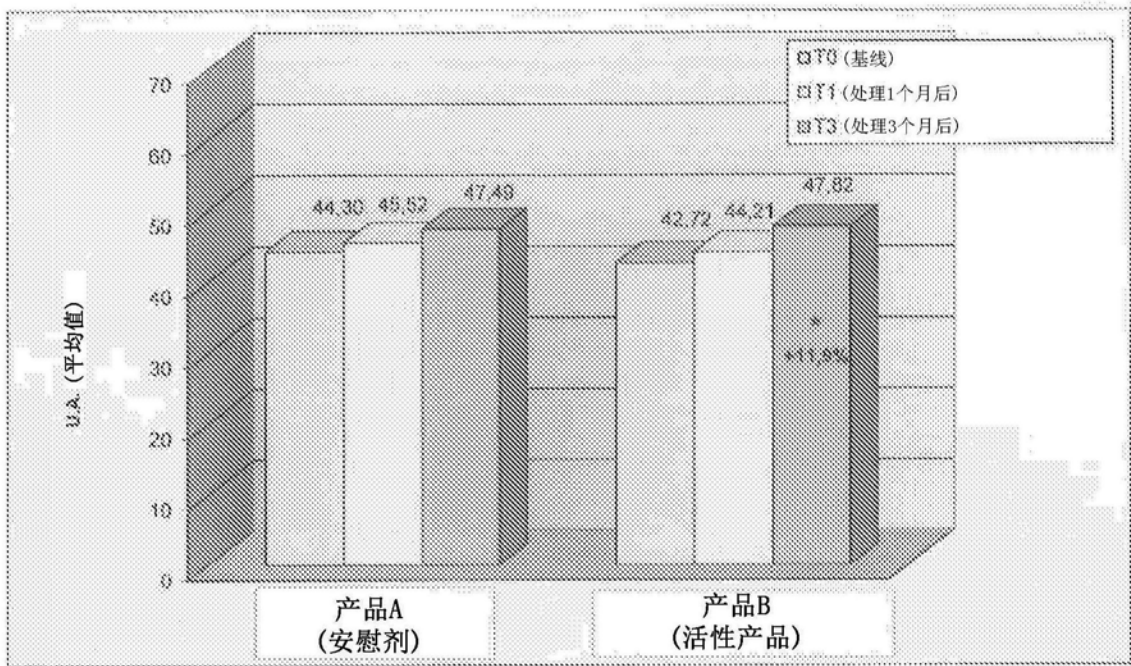


图6

皮肤表面电容量(表面水合)



统计分析: Holm-Sidak调整的t检验, \*p < 0.05, 相对于T0

图7