

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03818844.9

[51] Int. Cl.

A61K 31/567 (2006.01)

A61K 31/565 (2006.01)

A61K 8/63 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 12 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 100352445C

[22] 申请日 2003.6.11 [21] 申请号 03818844.9

[30] 优先权

[32] 2002.6.11 [33] EP [31] 02077273.7

[86] 国际申请 PCT/NL2003/000420 2003.6.11

[87] 国际公布 WO2003/103685 英 2003.12.18

[85] 进入国家阶段日期 2005.2.5

[73] 专利权人 潘塔希生物科学股份有限公司

地址 荷兰宰斯特

[72] 发明人 赫尔曼·扬·蒂杰门·科林格本宁克

埃弗特·约翰内斯·布恩舍密

克里斯琴·弗朗兹·霍林卡

[56] 参考文献

Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in levels. Gillian S. Ashcroft, Joanne Dodsworth 等等. Nature Medicine, Vol. 3 No. 11. 1997

Uterine estrogen receptor binding of catechol-estrogens andofestertril. Charles Martucci, Jack Fishman. Steroids, Vol. 27 No. 3. 1976

护肤的科学. 卢薇, 张微, 刘建华. 化工时刊, 第 11 卷第 12 期. 1997

审查员 黄海波

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

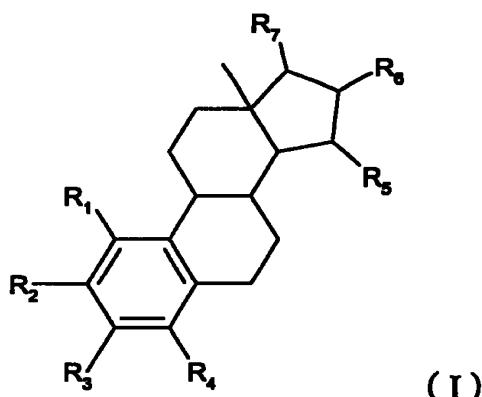
权利要求书 2 页 说明书 18 页

[54] 发明名称

一种皮肤护理组合物及其用途

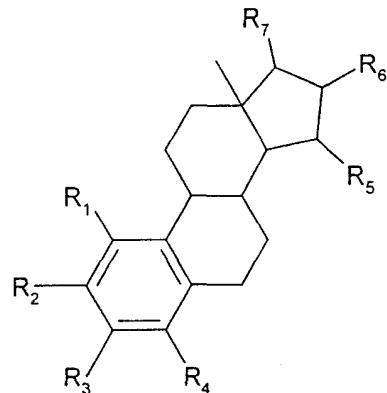
[57] 摘要

本发明一方面涉及一种通过将雌激素成分传递至所述皮肤而治疗人皮肤的美容方法，该方法包括将一种组合物施用于皮肤，该组合物包含：(i)至少 5 μg/g 雌激素成分，其选自如式 I 所示的物质其中，R₁、R₂、R₃、R₄相互独立，选自氢原子、羟基或含 1 – 5 个碳原子的烷氧基；R₅、R₆、R₇为羟基；R₁、R₂、R₃、R₄中不超过 3 个为氢原子；能够在用于本发明方法时释放出前式所示物质的前体以及一种或多种前述物质和/或前体的混合物；以及(ii)一种美容可接受载体。本发明另一方面涉及一种治疗或预防阴道干燥或痤疮的方法，以及一种促进伤口愈合的治疗方法。本发明另一方面涉及一种皮肤护理组合物，其包含上述雌激素成分和一种美容可接受载体。



1. 雌激素成分在制备组合物中的应用，该组合物用于治疗人类皮肤，所述治疗包括通过向皮肤局部施用一种组合物而向所述皮肤传递雌激素成分，该组合物中包含：

(i) 至少 $5\mu\text{g/g}$ 的雌激素成分，其选自如下式所示的物质：



其中， R_3 是羟基或含 1-5 个碳原子的烷氧基； R_1 、 R_2 、 R_4 分别为氢原子； R_5 、 R_6 、 R_7 为羟基；能够在用于本发明方法时释放出如前式所示的物质的前体，所述前体为其中至少一个羟基上的氢原子被含 1 至 25 个碳原子的烃基羧酸、磺酸或氨基磺酸中的酰基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、或每个残基含有 1-20 个糖苷单元的直链或支链的糖苷残基所取代的雌激素物质的衍生物；及一种或多种前述物质和/或前体的混合物；以及

(ii) 一种美容可接受载体。

2. 权利要求 1 的应用，其中所述组合物含有至少 $10 \mu\text{g/g}$ 的所述雌激素成分。

3. 如权利要求 2 的应用，其中所述组合物含有 $50 \mu\text{g/g}$ 至 50mg/g 的所述雌激素成分。

4. 如权利要求 1 所述的应用，其中所述组合物用于促进伤口愈合的方法，且该方法包括在受伤组织或伤口附近局部施用所述组合物。

5. 权利要求 1 所述的应用，其中所述组合物用于治疗或预防痤疮的方法，且该方法包括向患有痤疮或具有患痤疮危险的皮肤局部施用所述组合物。

6. 一种局部施用的皮肤护理组合物，其包含：

- (i) 至少 $5\mu\text{g/g}$ 如权利要求 1 所界定的雌激素成分；以及
- (ii) 一种美容可接受载体。

7. 权利要求 6 中的皮肤护理组合物，其中所述组合物为洗剂、软膏或霜剂。

一种皮肤护理组合物及其用途

技术领域

本发明涉及一种通过将雌激素成分传递至人皮肤而治疗所述皮肤的美容方法。更具体而言，本发明涉及这样一种方法，其中包括将含有雌激素成分和美容可接受载体的组合物施用于皮肤。

本发明另一方面涉及一种治疗或预防阴道干燥或痤疮的方法，以及一种促进伤口愈合的治疗方法，在这些方法中包括将雌激素成分传递至阴道或皮肤上皮。

本发明的再一方面还涉及一种含有雌激素成分和美容可接受载体的皮肤护理组合物。

背景技术

人皮肤主要由两层组成，即较厚的底层（真皮层）和较薄的顶层（表皮层）。真皮层使皮肤具有强度、弹性及一定的厚度。

真皮层中主要的细胞类型为成纤维细胞，其负责合成或分泌所有皮肤基质成分，如胶原蛋白、弹性蛋白和粘多糖。胶原蛋白提供强度，弹性蛋白提供弹性，粘多糖维持皮肤的润湿度及饱满度。随着衰老，真皮层厚度减少，据信这是衰老皮肤出现皱纹的部分原因。人皮肤的顶层或表皮提供弹性并赋予皮肤屏障性能，其由多种类型的细胞组成，包括角质细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞。角质细胞为表皮的主要细胞类型（占人表皮细胞总数的 75-80%），Richards 等人曾报道雌激素能够刺激人皮肤成纤维细胞分泌一种蛋白—促乳素，促乳素又能够刺激角质细胞的增殖(Richards 等, Human Dermal Fibroblasts Express Prolactin In Vitro., J.

Invest. Dermatol. (1996), 106: 1250)。

已知雌激素以及作用与雌激素类似的合成物质能够增加皮层的厚度并且减少衰老皮肤皱纹的形成。绝经期后的皮肤变化，如皮肤干燥、皮肤弹性和饱满度下降归因于雌激素生成的匮乏。雌激素治疗法可防止或延缓与皮肤衰老相关的多种变化(Creidi 等, “Effect of a conjugated estrogen cream on ageing facial skin”, Maturitas, (1994) 19, p.211)。雌激素对皮肤的一些作用包括：增加皮肤厚度、消除细小皱纹、增加表皮有丝分裂速度，减小皮脂腺尺寸及活性，减慢毛发生长速度，刺激胶原蛋白更新，增加成纤维细胞中透明质酸的生成和粘多糖合成(Pugliese, Menopausal skin, Skin Inc., March/April 1994: p 69-77)。

Schmidt 等人报道了采用 0.3% 雌三醇软膏或 0.01% 雌二醇软膏对围绝经期妇女脸部衰老皮肤治疗 6 个月的效果(Schmidt 等, “Treatment of skin ageing symptoms in perimenopausal females with estrogen compounds. A pilot study”, Maturitas (1994), 29(1), 25-30)。结果发现治疗结束后两个治疗组的多种皮肤衰老症状均得到改善。就治疗效果及起效的先后而言，结果认为局部施用雌三醇的治疗组略优。

Shah 等人(“Estrogen and skin. An overview”, Am J Clin Dermatol (2001); 2 (3): 143- 150)报道局部施用或全身施用雌激素能够增加皮肤胶原蛋白含量，从而使皮肤厚度得以维持。此外，该文献称雌激素增加了皮肤中酸性粘多糖和透明质酸，并且有可能维持了角质层的屏障功能，从而保持了皮肤水分。并且，如已经发现局部施用雌激素可以加速和改善年老男性和女性伤口的愈合，发现雌激素能通过调节细胞因子水平加快皮肤伤口愈合。

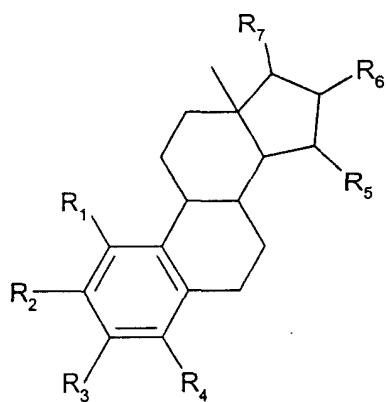
在 Sitruk-Ware 等人的一篇综述中(“Topical hormonal treatment and urogenital atrophy”, Schweiz Rundsch Med Prax (1997) Aug 13; 86 (33): 1245-1248)称，局部施用雌激素治疗被推荐用于外阴和阴道萎缩疾病的治

疗。在该综述中具体提到的雌激素包括雌酮、普鲁雌醚、雌二醇和雌三醇。

发明内容

本发明提供一种特别有效的方法，用于改善或预防皮肤皱纹、起褶、干燥、起皮、衰老或光损伤，以及改善皮肤的厚度、弹性、柔韧性和饱满度，该方法包括对皮肤施用一种含有雌激素成分和美容可接受载体的组合物。本发明包含一种美容方法，其通过对皮肤施用本发明组合物，使人皮肤中成纤维细胞和表皮细胞的增殖加快。本方法可用于已经出现干燥、起皮、起褶、皱纹、衰老或光损伤症状的皮肤，或用于健康皮肤以预防或减少这些不良的皮肤变化。本发明还涉及一种治疗或预防阴道干燥的治疗方法以及一种促进伤口愈合的方法，这些方法包括将上述组合物传递至阴道或皮肤上皮。

本发明的发明者意外地发现，就皮肤弹性和紧绷度 (firmness)、皱纹深度及毛孔大小和/或皮肤水分而言，局部施用某种特殊的雌激素可以获得出人意料的疗效。这类特殊的雌激素如下述结构式所示：



其中，R₁、R₂、R₃、R₄相互独立地是氢原子、羟基或含 1-5 个碳原子的烷氧基；R₅、R₆、R₇为羟基；R₁、R₂、R₃、R₄中不超过 3 个为氢原子。

该类雌激素物质已知的代表为 1, 3, 5 (10)-雌三烯-3,15 α ,16 α ,17 β -四醇，又被称为雌四醇 (estetrol、oestetrol) 和 15 α -羟基雌三醇。雌四醇是

人怀孕期间胎儿肝脏产生的一种雌激素。足月妊娠情况下，母体血浆中未结合雌四醇的峰值浓度约为 1.2ng/ml，胎儿血浆峰值浓度高于母体约 12 倍(Tulchinsky 等, 1975. J. Clin. Endocrinol. Metab. , 40,560-567)。未结合的雌四醇在母体血浆中的水平在足月妊娠中达到顶峰约 1.2 ng/ml，且在胎儿中的水平比在母体血浆中高约 12 倍(Tulchinsky 等, 1975. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40, 560-567)。

1970 年, Fishman 等人在“Fate of 15α -hydroxyestriol- 3 H in Adult Man”, J Clin Endocrinol Metab (1970) 31, 436-438 中报导了研究结果，其中将氚标记的 15α -羟基雌三醇(雌四醇)经静脉给药于两个成年妇女。发现雌四醇作为葡萄糖苷酸酯迅速、彻底地从尿中排出，并且事实上除了结合以外没有发生代谢。

在 1975 和 1985 年之间，几位研究人员研究了雌四醇的属性，并报导了其雌激素效力和亲子宫活性。在此期间公开的最相关文献如下：

- Levine 等, 1984. Uterine vascular effects of estetrol in nonpregnant ewes. Am. J. Obstet. Gynecol., 148: 73, 735-738: “当由静脉向未怀孕的母羊给药雌四醇时，其在子宫血管舒张中的效力比雌三醇和 17β -雌二醇低 15~30 倍”；
- Jozan 等, 1981. Different effects of oestradiol, oestriol, oestetrol and of oestrone on human breast cancer cells (MCF-7) in long term tissue culture. Acta Endocrinologica, 98, 73-80:“雌四醇在体外细胞增殖中的激动效力是 17β -雌二醇所观察到的大小的 2%”；
- Holinka 等, 1980. Comparison of effects of estetrol and tamoxifen with those of estriol and estradiol on the immature rat uterus. Biol. Reprod. 22, 913-926: “皮下给药雌四醇具有非常弱的亲子宫活性，且其效力被认为低于 17β -雌二醇和雌三醇”；
- Holinka 等, 1979. In vivo effects of estetrol on the immature rat uterus. Biol. Reprod. 20,242-246:“皮下给药雌四醇具有非常弱的

亲子宫活性，且其效力被认为低于 17β -雌二醇和雌三醇”；

- Tseng 等, 1978. Heterogeneity of saturable estradiol binding sites in nuclei of human endometrium. Estetrol studies. J. Steroid Biochem. 9, 1145-1148: “雌四醇向人子宫内膜中的雌激素受体的相对结合是 17β -雌二醇的 1.5 %”；
- Martucci 等, 1977. Direction of estradiol metabolism as a control of its hormonal action-uterotrophic activity of estradiol metabolites. Endocrin. 101, 1709-1715: “雌四醇从皮下储库型制剂连续给药显示出非常弱的亲子宫活性，且其效力被认为低于 17β -雌二醇和雌三醇”；
- Tseng 等, 1976. Competition of estetrol and ethynodiol-17 β with estradiol for nuclear binding in human endometrium. J. Steroid Biochem. 7, 817-822: “雌四醇的人子宫内膜雌激素受体相对结合常数是 17β -雌二醇(100%)的 6.25%”；
- Martucci 等, 1976. Uterine estrogen receptor binding of catechol estrogens and of estetrol (1,3,5(10)-estratriene-3, 15 α , 16 α , 17 β -tetrol). Steroids, 27, 325-333: “雌四醇大鼠子宫胞液雌激素受体相对结合亲和力是 17β -雌二醇(100%)的 0.5%。而且，雌四醇大鼠子宫细胞核雌激素受体相对结合亲和力是 17β -雌二醇(100%)的 0.3%”。

所有的上述文献的共同点是，作者们已经研究了雌四醇的雌激素效力。没有例外，它们都表明雌四醇是弱雌激素。在一些引用的文献中，已经发现雌四醇的雌激素效力比广泛应用且相对较弱的雌激素 17β -雌二醇的效力低许多。考虑到这些发现，就不会对这一情形感到奇怪了：自上世纪八十年代早期以来人们对雌四醇的兴趣已经减少，并且此后再没有发表关于雌四醇的性质的文献。

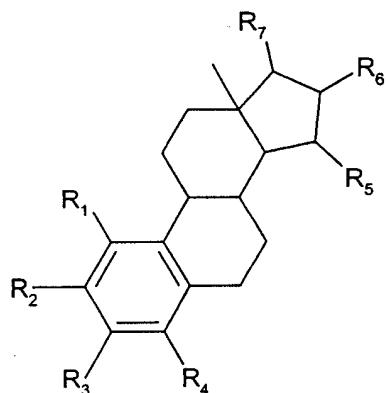
考虑到用于本发明方法中雌四醇类物质的弱雌激素活性，令人感到

意外的是这些物质可有效地用于人皮肤的治疗。尽管发明人不想受理论的约束，但仍确信这些疗效与这些物质透过皮肤的能力及较 17 β -雌二醇和雌三醇长的体内半衰期有关。

具体实施方式

本发明的一个方面涉及一种通过将雌激素成分传递至所述皮肤而治疗人皮肤的美容方法，该方法中将一种组合物施用于皮肤，该组合物包含：

- (i) 至少 5 $\mu\text{g/g}$ 的雌激素成分，其选自如下式所示的物质：



其中，R₁、R₂、R₃、R₄相互独立地是氢原子、羟基或含 1-5 个碳原子的烷氧基；R₅、R₆、R₇为羟基；R₁、R₂、R₃、R₄中不超过 3 个为氢原子；能够在用于本发明方法时释放出如前式所示的物质的前体；及一种或多种前述物质和/或前体的混合物；

- (ii) 一种美容可接受载体。

本发明全文所采用的术语“雌激素成分”包括体内可引发雌激素反应的物质，以及用于本发明时能够释放这种雌激素成分的前体。为了使这些雌激素成分引发这样的反应，通常它们需要与雌激素受体结合，这些受体分布于哺乳动物体内多个组织中。值得注意的是本发明不仅涵盖了本申请具体提及的刺激素物质的应用，而且也包括了其体内功能与这些激素相当的代谢产物。在此方面，例如发现 17 β -雌二醇的代谢产物为

雌三醇。

术语“将雌激素成分传递至该皮肤”指将所述雌激素成分施于皮肤表面，特别是局部施用或透皮施用。适用的局部施用包括皮肤表面施用如软膏剂、洗剂和霜剂。透皮施用包括将含有本发明组合物的透皮贴片固定于皮肤的表皮。

本发明方法一个重要好处在于本发明雌激素成分能够改善成纤维细胞和/或表皮细胞的增殖。因此，在一个优选实施方案中以有效量施用本发明组合物以改善成纤维细胞和/或表皮细胞的增殖。如由皮肤弹性和紧绷度的提高、皱纹深度和毛孔尺寸的降低和/或皮肤水分的增加所证明，增殖的改善将诱导皮肤的“返老还童”。

只要使用有效量的组合物，本发明方法的宏观优点表现于皮肤厚度和/或皮肤弹性的改善。本发明特别优选的实施方案涉及一种美容方法，其中使用有效量的本发明组合物，用于改善或预防皮肤皱纹、起褶、干燥、起皮、衰老或光损伤等症状。

虽然本发明特别适用于治疗雌激素缺乏的患者，如（围）绝经期和绝经后妇女，但优选不将足够量的本发明雌激素成分施用于皮肤以充分压制如骨质疏松和更年期症状（如热潮、心悸和情绪波动）的雌激素缺乏症。这些症状通过例如口服或皮下给药治疗更为有效。

本发明的雌激素物质与常用于药剂剂型中的雌激素（如 17 α -乙炔基雌二醇和 17 β -雌二醇）的不同点在于其含有至少 4 个羟基。本发明物质独特的特征在于其甾体骨架中 5 元环上含有 3 个而不是 0-2 个羟基取代基。

已知的至少含有 4 个羟基的雌激素及其衍生物为：

1,3,5(10)-雌三烯-2,3,15 α ,16 α ,17 β -五醇-2-甲醚

1,3,5(10)-雌三烯-2,3,15 β ,16 α ,17 β -五醇-2-甲醚

1,3,5(10)-雌三烯-2,3,16 α ,17 β -四醇

1,3,5(10)-雌三烯-3,4,16 α ,17 β -四醇-4-甲醚

1,3,5(10)-雌三烯-3,15 α ,16 α ,17 β -四醇

1,3,5(10)-雌三烯-3,15 α ,16 α ,17 β -四醇四乙酸酯

1,3,5(10)-雌三烯-3,15 β ,16 β ,17 β -四醇四乙酸酯

优选地，作为本发明活性成分的雌激素物质为所谓的生物生成的雌激素、即人体天然存在的雌激素或其前体。由于生物生成的雌激素天然存在于胎儿和女性体内，因此预计不存在副作用的问题，特别是外源性给药这些雌激素所致的血清浓度不超过天然存在的浓度时。由于胎儿体内雌四醇血清浓度高于孕妇数倍，且已知胎儿特别脆弱，所以可以认为雌四醇是一种特别安全的生物生成的雌激素。

在本发明的一个优选实施方案中，雌激素物质含有 4 个羟基。同样，在上述式中，R₁ 优选为氢原子。在所述式中，优选地，基团 R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 中至少 2 个，优选至少 3 个基团为氢原子。

由于带有羟基取代基 R₅、R₆ 和 R₇ 的碳原子具有光学活性，该式所示的雌激素物质包括各种对映异构体。在一个优选实施方案中，本发明雌激素物质为 15 α -羟基取代的。在另一个优选实施方案中，本发明雌激素物质为 16 α -羟基取代的。在另一个优选实施方案中，本发明雌激素物质为 17 β -羟基取代的。最优选地，雌激素物质为 15 α , 16 α , 17 β -三羟基取代的。

在本发明另一个优选实施方案中，R₃ 为羟基或烷氧基。在另一个优选实施方案中，基团 R₁、R₂ 和 R₄ 为氢原子，此时如果 R₃、R₅、R₆ 和 R₇ 为羟基，则该物质为 1, 3, 5(10)-雌三烯-3, 15, 16, 17-四醇。该物质优选的异构体为 1, 3, 5(10)-雌三烯-3, 15 α , 16 α , 17 β -四醇(雌四醇)。

本发明还包括作为本发明方法活性成分的雌激素物质的前体的应用。用于本发明方法时，如作为代谢转化的结果，这些前体能够释放出上述雌激素物质。优选地，这些前体选自雄激素前体以及本发明雌激素

物质的衍生物。适用的雄激素前体包括可以通过体内芳构化转化成本发明雌激素物质的雄激素。适于用作前体的本发明雌激素物质衍生物的实例包括以下物质，其中至少一个羟基上的氢原子被含 1 至 25 个碳原子的烃基羧酸、磺酸或氨基磺酸中的酰基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、或每个残基含有 1-20 个糖昔单元的直链或支链的糖昔残基所取代。

适用于本发明方法的前体的典型实例为酯，其可通过将雌激素物质中的羟基和含有一个或多个羧基的物质 (M^+-OOC-) 反应制得，其中 M^+ 代表氢或(碱)金属阳离子。由此，在特别优选的实施方案中，前体是雌激素物质的衍生物，其中所述式中的至少一个羟基的氢原子被-CO-R 取代，其中 R 是包含 1-25 个碳原子的烃基。优选地，R 是氢或包含 1-20 个碳原子的烷基、链烯基或芳基。

本发明施用于皮肤的组合物适宜含有至少 10 $\mu\text{g/g}$ 雌激素成分。如果组合物含有至少 30 $\mu\text{g/g}$ ，更优选为至少 50 $\mu\text{g/g}$ ，最优选为至少 100 $\mu\text{g/g}$ 雌激素成分，可以获得特别满意的结果。从实际应用的角度考虑，通常本发明组合物中所含雌激素成分不超过 50 mg/g。优选地，所述组合物中所含雌激素成分不超过 20 mg/g，更优选为不超过 10 mg/g 的雌激素成分。

如所发现，本发明的好处可以在人体不同部位的皮肤上得以体现。将组合物施用于面部、颈部、肩部、乳房、臀部(蜂窝织炎)等皮肤之上可以获得特别有利的效果。在本发明方法的一个优选实施方案中，将皮肤护理组合物施用于面部或颈部皮肤之上。

为获得快速和持久的效果，特别是在局部使用的情况下，建议在至少 3 天的时间内每天至少使用 1 次。由于透皮施用可以在相对较长的时间内相对较慢地释放本发明雌激素成分，透皮给药的频度优选为每周至少一次。局部使用雌激素成分为优选的给药方式，因为其简单、有效并且基本不产生不良副作用。

本发明组合物优选采用以下方式进行局部使用，即允许基本上所有

施用于皮肤之上的组合物渗透至所述皮肤中。局部施用时，将少量，如 0.1 至 100 g 本发明组合物任选地从适用容器或涂药器中直接施用于皮肤，如果需要，此后可利用手或手指或适用的装置将其铺展于皮肤之上和/或摩擦入皮肤之中。

较长期地施用本发明组合物可以使本发明的好处得到最好地体现。因此，优选地，本发明方法包括给药雌激素成分至少 1 周，优选为至少 3 周。通常本发明方法采用在至少 10 天、优选为至少 20 天期间不间断地给药雌激素成分。此处采用术语“不间断地”指以相对规律的间隔给药雌激素成分，而无明显（治疗上）显著的中断。当然，可能出现的小的中断不会影响到本发明的总体效果，实际上这种偏差包括在本发明方法中。在一个优选实施方案中，更大程度由数学角度讲，如果相邻两次给药最大间隔不大于平均间隔的 3.5 倍，则认为给药方案是不间断的。更优选地，所述最大间隔不大于平均间隔的 2.5 倍，最优选为不大于平均间隔的 1.5 倍。

本发明另一方面涉及一种治疗或预防阴道干燥的方法，其中包括向阴道上皮施用一种组合物，该组合物包含：

- (i) 至少 5 μ g/g 的本发明雌激素成分；以及
- (ii) 一种美容可接受的载体。

本发明另一方面涉及一种促进伤口愈合的方法，其中包括向受伤组织或伤口附近的组织施用一种组合物，该组合物包含：

- (i) 至少 5 μ g/g 的所述雌激素成分；以及
- (ii) 一种美容可接受的载体。

本发明另一方面涉及一种治疗或预防痤疮的方法，其中该方法包括向患有痤疮或有患上痤疮危险的皮肤施用一种组合物，该组合物包含：

- (i) 至少 5 μ g/g 的所述雌激素成分；以及
- (ii) 一种美容可接受的载体。

以上所讨论的涉及治疗皮肤的优选实施方案同样可用于本发明治疗或预防阴道干燥的方法以及促进伤口愈合的方法。在后两种方法中，较长时间内连续给药本发明组合物是没有必要的，在促进伤口愈合的方法中尤其不必要。实际上，本发明促进伤口愈合的方法以及治疗或预防阴道干燥的方法（较少程度上）适于按需给药。

本发明另一方面涉及一种用于局部施用的皮肤护理组合物，与上述方法一致，所述组合物包含：

- (i) 至少 $5\mu\text{g/g}$ 的该雌激素成分；以及
- (ii) 一种美容可接受载体。

本发明组合物中包含美容可接受载体作为雌激素成分的稀释剂、分散剂或载体，从而利于组合物施于皮肤之上时雌激素成分的分散。不是水或除水以外的载体包括液体或固体润肤剂、溶剂、保湿剂、增稠剂和粉末。特别适合的非水载体包括聚二甲基硅氧烷和/或聚二甲基苯基硅氧烷。特别理想的是低粘度和高粘度硅氧烷混合物。这些硅氧烷可以从General Electric公司得到，商品名为Vicasil、SE和SF，以及从Dow Corning公司得到200和550系列的产品。以组合物重量计，本发明组合物中硅氧烷的用量为5%至95%、优选为25%至90%之间的任意比例。通常美容可接受载体的用量占组合物重量的5%至99.9%，优选为25%至95%，并且可以在不使用其他美容辅料时，构成组合物的余额。优选地，以组合物重量计，载体为至少80重量%的水。优选地，以组合物重量计，水占本发明组合物的至少50重量%，最优选为60-80重量%。

本发明皮肤护理组合物可包含油或脂质材料，以及乳化剂，用于构成油包水或水包油型乳液，具体情况主要视所采用乳化剂的平均亲水亲油平衡值(HLB)而定。本发明组合物中包含遮光剂。遮光剂包括常用于遮蔽紫外线的材料。示例性化合物有PABA、肉桂酸酯和水杨酸酯的衍生物。例如，可使用甲氧基肉桂酸辛酯和2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮（也称

为羟苯甲酮)。甲氧基肉桂酸辛酯和 2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮可分别以下列商品名购得：Parsol MCX 和 Benzophenone-3。乳液中遮光剂的具体用量依据所需对太阳 UV 射线的防护程度而定。

可有利地将润肤剂加入本发明组合物中。以组合物总重计，该润肤剂的用量为 0.5% 至 50%，优选为 5% 至 30%。可根据以下通用化学分类将润肤剂分为酯、脂肪酸和醇、多元醇和烃。酯可以为单酯或双酯。可接受的脂肪酸双酯的实例包括己二酸二丁酯、癸二酸二乙酯、diisopropyl dimerate 以及琥珀酸二辛酯。可接受的支链脂肪酸酯的实例包括肉豆蔻酸 2-乙基-己基酯、硬脂酸异丙酯和棕榈酸异十八烷基酯。可接受的三元酸酯的实例包括三亚油酸三异丙酯和柠檬酸三月桂酯。可接受的直链脂肪酸酯的实例包括棕榈酸月桂酯、乳酸肉豆蔻酯和油酸硬脂基酯。优选的酯包括辛酸/癸酸可可酯（一种辛酸可可酯和癸酸可可酯的混合物）、丙二醇肉豆蔻酰乙酸酯、己二酸二异丙酯和辛酸十六烷基酯。适用的脂肪醇和酸包括那些含有 10 至 20 个碳原子的。特别优选为如十六烷基、肉豆蔻基、棕榈基和硬脂基醇或酸的化合物。

可作为润肤剂的多元醇为直链或支链烷基多羟基化合物。例如优选为丙二醇、山梨醇和甘油。也可以采用聚合多元醇如聚丙二醇和聚乙二醇。丁二醇和丙二醇还特别优选作为渗透促进剂。可作为润肤剂的烃的实例为含任意 12 至 30 个碳原子烃链的烃。具体实例包括矿物油、凡士林、角鲨烯和异链烷烃。

可用于本发明美容组合物中的另一类功能性成分为增稠剂。以组合物重量计，通常增稠剂的用量为 0.1 至 20%、优选为 0.5% 至 10%。增稠剂的实例为 B. F. Goodrich 公司生产的，商品名为 Carbopol 的交联聚丙烯酸盐材料。也可采用树胶如黄原胶、角叉胶、明胶、刺梧桐树胶、果胶和刺槐豆胶。在某些情况下，硅氧烷或润肤剂材料也可以实现增稠作用。例如，粘度大于 10 厘泡的硅橡胶纯胶料和酯如硬脂酸甘油酯均具有双重

功能。

粉末也可以加到本发明组合物中。这些粉末包括白垩粉、滑石粉、高岭土、淀粉、绿土、化学修饰的硅酸铝镁、有机物修饰的蒙脱石、水合硅酸铝、煅制二氧化硅、辛烯基琥珀酸铝淀粉及其混合物。

本发明组合物中也含有其他辅助性次要成分。这些成分包括着色剂、遮光剂和香料。以组合物重量计，这些其他辅助性次要成分的用量为0.001%至20%。

本发明局部皮肤护理组合物可制成如洗剂、霜剂或软膏（如凝胶）。组合物可以被包装至适用的容器中，以适应组合物的粘度和预计的用途。例如，洗剂或霜剂可包装至瓶或滚球式涂药器，或抛射剂驱动的气雾剂装置，或装有适于手指操作的泵的容器。当组合物为霜剂或软膏时，其可以简单地储存在不能变形的瓶中或挤压容器，如管或带盖的广口瓶中。该组合物也可包含在美国专利5,063,507所描述的胶囊中，本文引用该专利作为参考。因此，本发明也提供一种密闭容器，其中含有本发明所界定的美容可接受组合物。

以下采用不应被认为起限制作用的实施例进一步描述本发明。在前面的说明书中、在下文的实施例中和在权利要求书中，无论是分开地还是以其任意结合的方式所公开的特征，对以各种形式实现本发明都是重要的。

实施例

实施例1

利用确定的竞争性甾体结合实验测定雌四醇(E4)与17 α -乙炔基雌二醇(EE)和17 β -雌二醇(E2)相比同 α -和 β -形式的人雌激素受体(ER)结合时的相对结合亲和力。

使用的方法修改自科技文献，由Osbourn等人详细地记载(1993,

Biochemistry, 32, 6229-6236)。从转染的 Sf9-细胞纯化重组人 ER α 和 ER β 蛋白。体外试验包括使用 ER α 或 ER β 蛋白和作为被标记配体的浓度固定为 0.5nM 的 [3 H]E2。将重组人 ER α 或 ER β 蛋白溶解到结合缓冲液(10 mM Tris-HCL、pH 7.5、10% glycerol、1 mM DTT、1 mg/ml BSA) 中，然后将其双等份与终浓度为 0.5nM 的 [3 H]E2 孵育，同时还有载体对照 (0.4% DMSO) 或相同量的含有递增浓度的未标记的作为竞争剂的甾体配体的载体。在 25°C 孵育 2 小时后，除去未结合的配体，检测结合到 ER α 或 ER β 蛋白上的 [3 H]E2 的量。在每一种竞争剂浓度下结合到 ER α 或 ER β 蛋白上的 [3 H]E2 的平均量用于制作抑制曲线。随后通过非线性最小二乘回归分析确定 IC50 值。应用 Cheng-Prusoff 方程(Cheng 等, 1973, Biochem. Pharmacol., 22, 3099-3108)，以测得的实验化合物的 IC50、实验中使用的放射性配体的浓度、和放射性配体的对于 Er α 和 Er β 分别为 0.2nM 和 0.13nMKd 的计算值来计算抑制常数(Ki)。

E4 的生化试验结果表述为三个独立实验中的特异性结合的抑制百分比 (表 1)。将在实验中得到的 Ki 值列在表 2 中用于比较 E4、EE 和 E2 与人 ER α 和 ER β 蛋白的结合。与 EE 和 E2 相比，E4 与 Er α 和 Er β 结合的亲和力大大减弱 (表 2)。

表 1：使用 E4 作为未标记的甾体配体和 0.5nM [³H]作为标记的竞争剂，特异性结合 ER α 和 ER β 蛋白的抑制百分比。显示了三个独立的实验的结果。

E4 终浓度	特异性结合的抑制百分比					
	ER α 甾体结合实验			ER β 甾体结合实验		
	实验 1	实验 2	实验 3	实验 1	实验 2	实验 3
1 μ M	98	nd	nd	87	90	95
0.3 μ M	92	94	101	74	74	77
0.1 μ M	83	85	86	56	54	50
0.03 μ M	64	66	63	19	25	30
10nM	43	32	28	nd	nd	nd
3nM	26	17	11	nd	nd	nd

nd=未检测到

表 2：实验测定的雌四醇 (E4)、17 α -乙炔基雌二醇(EE)和 17 β -雌二醇(E2)结合到人 ER α 和 ER β 蛋白的抑制常数(Ki)。还显示了结合到 ER α 蛋白的相对优势。

甾体配体	Ki ER α (nM)	Ki ER β (nM)
EE	0.23	0.025
E2	0.21	0.015
E4	4.9	19

实施例 2

为确定雌四醇(E4)的体内稳定性，测定在若干剂量水平下一次皮下给药(sc)后，雌四醇(E4)在雌性 Sprague Dawley 大鼠体内的清除半衰期。

如 Kuipers 等人所述(1985, Gastroenterology, 88, 403-411)，给雌性 Sprague Dawley 大鼠安装永久性的硅化橡胶 (silastic) 心脏导管。手术后

让大鼠恢复 5 天，然后以 0.05、0.5 或 5 mg/kg 的剂量给药在 0.5 ml 花生油中的 E4。使用 1ml 注射器和 20g 针头将 E4 注射到颈部区域。随后在 0.5、1、2、4、8 和 24 小时，通过心脏导管在肝素化的管中收集血样。通过在 4°C 以 $5000 \times g$ 离心 10 分钟除去红细胞，血浆储存在 -20°C。解冻血浆样品后，应用液-液萃取（己烷和乙醚）制备含有 E4 的血浆样品进行 HPLC 分析(Perkin Elmer 200)和使用 PE Sciex 3000 串联质谱仪和 APCI 接口的串联质谱分析。对于每一个样品批次，记录带有 6 个校正点的校正曲线。使用线性回归（相关系数 > 0.98 ）计算校正曲线，其允许血浆浓度的定量。收集在不同的时间间隔取样的所有大鼠血浆的数据。

用“WinNonLin, 版本 3.1”和所涉及的药物动力学参数分析血浆 E4 浓度数据以获得 C_{max} 、半衰期和 AUC_{0-24} 。令人感兴趣的是，E4 表现出相对较长的 2-3 小时的半衰期，使得在 24 小时间隔内的所有时间点都可以测得未结合的 E4 的生物活性水平。

实施例 3 含 1 mg/g 雌四醇的护肤霜的制备

A. 霜剂的制备

I. 在烧杯中将 60 ml 纯水煮沸。停止加热，加入 4 g solutio sorbitoli 和 0.2 g 山梨酸 (acidum sorbicum) 并使其溶解完全。盖上盖子并冷却至 70°C。

II. 同时将 15 g Cera cetomacrogolis emulsificans 和 20 g Cetiol V 加热至 70°C。

温和搅拌下将 I 和 II 混合，将所得护肤霜冷却(其间不时进行搅拌)。搅拌下加入纯水（煮沸的）至 100 g。

B. 含雌四醇的护肤霜的制备

取 99.9 g A 项下描述的护肤霜，搅拌下加入 100 mg 雌四醇。继续搅拌直至雌四醇均匀分散至霜剂中。

实施例 4

试验对象为 20 名健康的绝经期后妇女，选择标准为出现若干种快速皮肤萎缩症状，如面部皱纹或眼角皱纹数量快速增加、皮肤色素快速改变，即“老年斑”，或其他快速的皮肤老化的症状。由于皮肤萎缩也可能是由于其他因素，如太阳 UV 损伤或其他环境造成的伤害，临床研究时排除遭受这些因素影响的患者。

本项研究的第一部分是通过评价患者外观的改变定性。该项评价需要提供将来对比用的基线水平。起始的基线值通过以一组标准化问卷调查的形式建立，内容涉及患者对其外观的看法、患者的照片以及患者自我形象的心理特征。本项研究的第二部分是定量的，包括尿液中羟脯氨酸的排泄、皮肤水分含量、皮肤中粘多糖以及皮肤弹性和柔韧性的改变。这些参数的测量方法见于 “The Menopause” , Ed. R. J. Beard, University Press, Chapter 7 (1977), “Methods in Skin Research” , Ed. Skerrow, D. and Skerrow C. J. , John Wiley & Sons Ltd. , Chp. 22, “Analysis of Sebaceous Lipids” , p. 587-608 (1985) 及其引用的文献中，本发明引用这些文献作为参考。同样地，在进行研究之前先取得这些定量因子的基线值。

然后，试验的志愿者参加接受实施例 3 中所述的局部使用组合物的临床治疗方案。将该复合组合物施用于皮肤萎缩最严重的区域，每天 2 次，持续 1 至 3 个月。每 2 周进行一次定性和定量评价。

实施例 3 中的复合组合物对于大多数参与试验的个体表现出积极效果，改善了患者外观定性指数和/或定量参数，如尿液中羟脯氨酸排泄增加表明胶原蛋白代谢和合成、皮肤水分含量、粘多糖、柔韧性或弹性的增加。

实施例 5

选择 20 位患有与绝经有关的阴道萎缩和/或阴道干燥症状的妇女。这些妇女健康状况良好，由于这种疾病的本质具有高度的主观性，对治疗效果的评价也必然具有主观性质。女性患者被要求作日志，记录有关阴道瘙痒、干燥和性交困难的程度，并采用视觉模拟评分法记录其主观评价。相对于治疗前的（基线值），对治疗期间（1 至 3 个月）的改变进行评价，并以此作为评价疗效的指标。

然后，试验的志愿者参加接受实施例 3 中所述的局部使用组合物的临床治疗方案。将复合组合物每天一次施用于阴道内，持续 1 至 3 个月。每 2 周对阴道瘙痒、干燥和性交困难程度进行一次评价。使用雌四醇被证明对大多数参与试验的患者表现出积极效果，改善了阴道瘙痒、干燥和性交困难程度的自基线值的改变。

实施例 6：含 1 mg/g 雌四醇的伤口护理软膏

将 2.5 g alcohol cetostearliylicus、6 g 羊毛脂、51.5 g 凡士林 和 40 g 液体石蜡 (paraffmum liquidum) 一同加热直到所有成分熔化。采用纸滤器过滤温热的混合物。然后用 0.2 μ m 滤器对经过滤的混合物进行灭菌。

在无菌条件下将 99.9 g 上述软膏与 100 mg 雌四醇充分混合。