

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 7/42
A61K 7/06
A61K 7/48



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 98813240.0

[45] 授权公告日 2005 年 5 月 25 日

[11] 授权公告号 CN 1202808C

[22] 申请日 1998.11.9 [21] 申请号 98813240.0
[30] 优先权
[32] 1998. 1. 20 [33] GB [31] 9801191.9
[86] 国际申请 PCT/EP1998/007218 1998.11.9
[87] 国际公布 WO1999/037279 英 1999.7.29
[85] 进入国家阶段日期 2000.7.21
[71] 专利权人 荷兰联合利华有限公司
地址 荷兰鹿特丹
[72] 发明人 S·拉格胡帕蒂 A·拉麦尔
G·拉曼 S·S·瓦格
审查员 牛艳玲

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 杨九昌

权利要求书 1 页 说明书 6 页

[54] 发明名称 使皮肤和毛发变黑的组合物
[57] 摘要

本发明提供一种局部施用于皮肤和/或毛发上使其变黑的美容用组合物，它包含 0.1 – 10% (重量) 的其等电点为 6 – 11 的肽。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种美容用的组合物，该组合物含有：
 - (i) 0.1-10 重量%的具有等电点为 6 至 11 的一种肽；
 - 5 (ii) 有效量的二羟基丙酮皮肤晒黑剂；以及
 - (iii) 一种美容上可接受的载体。
2. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述的肽的含量为 0.5-5.0 重量%。
3. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述的肽的分子量为 200-20,000 道尔顿。
- 10 4. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述的肽是多聚赖氨酸。
5. 根据权利要求 1 的组合物，其中所述的肽是多聚精氨酸。
6. 使皮肤变黑的方法，该方法包括将含有以下成分的一种美容用的组合物施用于皮肤上：
 - (i) 0.1-10 重量%的具有等电点为 6 至 11 的一种肽；
 - 15 (ii) 有效量的二羟基丙酮皮肤晒黑剂；以及
 - (iii) 一种美容上可接受的载体。
7. 根据权利要求 6 的方法，其中所述的肽的含量为 0.5-5.0 重量%。
8. 根据权利要求 6 的方法，其中所述的肽的分子量为 200-20,000 道尔顿。
9. 根据权利要求 6 的方法，其中所述的肽是多聚赖氨酸。
- 20 10. 根据权利要求 6 的方法，其中所述的肽是多聚精氨酸。

使皮肤和毛发变黑的组合物

5 本发明涉及一种使皮肤和/或毛发变黑的美容用组合物。本发明还涉及一种将本发明的用于使皮肤/毛发变黑的组合物局部施用于皮肤和/或毛发上的方法。

在紫外线下暴晒而使皮肤晒成棕褐色是一个众所周知的现象。然而从文献中也可得知，在紫外线下暴晒可导致皮肤老化速度的加快和皮肤癌发病率的上升。因而现已出现了另一种可使皮肤变成棕褐色的替代方法。在现有技术中，
10 使用二羟基丙酮（DHA）作为一种可使皮肤变成棕褐色的非紫外线的辅助药物。然而，为了让皮肤变成棕褐色而使用的二羟基丙酮，却产生了并非我们所希望的一种很不自然的日光棕褐色。而且这种由 DHA 所产生的人工的棕褐色不能象天然的棕褐色那样保护皮肤免受紫外线的照射。

15 黑色素是毛发和皮肤中的黑色颜料，它是通过黑素体从酪氨酸合成的。黑素体是黑素细胞中的细胞器，黑素细胞是一类位于真皮-表皮连接处的细胞。酪氨酸是通过一种酶即酪氨酸酶来起作用的，这是在黑色素的生成中的关键步骤。

在黑素体中，黑色素由单体合成，并被转移到邻近的角化细胞中。角化细胞
20 分裂，变异，并将黑色素运送到皮肤的表面。黑色素的数量，大小，含量，形成率及将黑色素迁移 / 运送到角化细胞的比例，直接影响到皮肤颜色的深浅。

已知某些特定序列的多聚氨基酸和肽残基可抑制黑色素的沉着，并可使皮肤变白（JP 6345797;JP 6321757;JP 6321755;JP 5170636;US 5,126,327）。

现有技术中所描述的肽含有高比例的基础的疏水氨基酸，且等电点（pI）
25 的值远大于 5.5。这些主要是用于减轻与皮肤异常情况有关的过多的色素沉着面积。

在共同申请的英国专利申请 9719195.1 的申请人公开了一种使皮肤颜色变浅的美容用组合物，它包含 0.1-10%（重量）的等电点为 2-5.5 的肽。等电点（pI）即净电荷数为零时的 pH 值。那些包含大量酸性氨基酸，如谷氨酸，天冬氨酸等的肽具有低等电点，和那些包含碱性氨基酸，如赖氨酸，精氨酸，组氨酸的
30 肽具有高等电点。

申请人现已发现了一种组合物，它包含有等电点(pI)为 6-11 的肽序列，能使皮肤 / 毛发变黑。

因此，本发明涉及一种美容用的使皮肤 / 毛发变黑的组合物，它包含有 0.1%-10% (重量) 其等电点(pI)为 6.0-11 的肽。

- 5 本发明的组合物对皮肤 / 毛发变黑的作用是可逆的,且没有副作用。本发明的组合物在白天和黑夜都是有活性的。

本发明中的肽是分子量为 200—20,000 道尔顿 (Da), pI 为 6.0-11.0 的氨基酸序列。此肽可与疏水氨基酸或靶分子或载体任意选择地连接。

- 10 由氨基酸残基形成的肽序列可以天然地存在或人工合成，可以是左旋或右旋的形式，并且包括其任何衍生物。肽序列中必须包含一定比例的基础氨基酸，以使所得到的肽序列在本质上是基础的序列。肽序列可以是直链的，或是环状的。

肽序列的分子量为 200-20,000 Da, 优选 200-2000 Da。

肽序列的等电点为 6.0-11.0。

- 15 疏水氨基酸可以从丙氨酸，异亮氨酸，亮氨酸，蛋氨酸，苯丙氨酸，脯氨酸，色氨酸，或缬氨酸中选出的任何一种，优选为色氨酸。优选的靶分子为一种肽，最优选的为六肽，尤其是基本序列为天冬氨酸-谷氨酸-脯氨酸-亮氨酸-亮氨酸-苏氨酸，且位于活性肽的末端羧基的 27 氨基酸残基中，靶赋形剂如胶束和/或可逆胶束也可以被应用。

- 20 本发明的优选方案提供一种美容用的使皮肤/毛发变黑的组合物，它包含 0.5-5.0% (重量) 的肽。

- 25 本发明还涉及一种使皮肤/毛发变黑的美容方法，它包括将本发明中的组合物局部施用于皮肤和/或毛发。此组合物还可以包含一种用于皮肤的晒成褐色剂。这种皮肤晒褐剂可以从目前已知的用于此目的的二羟基丙酮，茶碱，葡萄糖酸铜，从紫檀木中获取的天然活性物质，及任意选择的其它已知的皮肤晒黑剂中选出。

本发明的组合物还可以包含美容上可接受的载体。它可以包含防腐剂，乳化剂，增稠剂，香料，色素，有益于皮肤的材料如增湿剂，润肤剂和抗衰老的化合物。

- 30 可构成该美容用组合物一部分的赋形剂，是一种或多种可与多聚氨基酸序

列相容且不会伤害皮肤/毛发的在美容上可接受的物质。用于本发明组合物中的赋形剂可以包含粉末吸收剂, 粘合剂, 载体, 及液体如润肤剂, 喷射剂, 溶剂, 保湿剂及增稠剂。简单的赋形剂如乙醇, PEG, 丙二醇等, 也可以使用。

实施例中的增湿剂和保湿剂包含多元醇, 甘油, 鲸蜡醇, 聚羧乙烯 934, 乙烷基蓖麻油, 石蜡油, 羊毛脂及其衍生物。聚硅氧烷化合物, 如聚硅氧烷表面活性剂如 DC3225C(道康宁)和/或聚硅氧烷润肤剂, 硅油也可以使用。

本发明的组合物可以制备成局部施用于皮肤/毛发以简单溶液或普通的 leave-on 或 wash-off 产品的形式如洗剂, 乳剂, 软膏, 洗发剂和/或喷雾剂。

除非另有说明, 本文和所附权利要求中指出的所有的百分比都是以组合物的重量为准。

现通过实施例对本发明作出进一步地说明。实施例仅用于详细说明, 而不是以任何方式来限制本发明的范围。

实施例 1

促进黑色素形成的体外证明

对于用等电点为 11.0 的肽序列在 pH5 的体外系统对黑色素形成的影响与在一定 pH 值的黑素体系统对黑色素形成的影响相比较并进行分析。在体外系统中黑色素形成的测定条件如下。

测定方法

对照测定混合物是在装有 pH 5.0 的醋酸缓冲溶液的试管中包含 5 μ mol 的 DL-DOPA (二羟基苯丙氨酸), 20nmol 的溶菌酶和 3.2 个单位的酪氨酸酶。一个单位定义为在 1 分钟内转化 1nmol 的 DOPA 所需的酪氨酸酶的量。在试验设备中除了如在对照中限定的其它成分之外, 还应用了 11nmol 多聚赖氨酸, 一种等电点 11.0 的多聚氨基酸序列。用醋酸缓冲溶液冲洗已形成的黑色素, 将其悬浮在 1N 的氢氧化钠中, 在 60°C 下加热 5 分钟使其溶解。测量的吸光度为 400nm。

表 1

样品	吸光度为 400 时所形成的黑色素
对照物	0.120
含有多聚赖氨酸的	0.168

上述结果表明，在多聚赖氨酸的序列的存在下，黑色素产物显著地提高。

现参照下述美容用的软膏来详细说明本发明。

组分重量%	对照实施例	实施例 2
硬脂酸	2.5	2.5
鲸蜡醇	0.2	0.2
硅油	0.5	0.5
异丙基十四烷酸酯	2.0	2.0
甘油单硬脂酸酯	1.5	1.5
甲基 / 丙基对羟基苯甲酸酯	0.3	0.3
甘油	1.0	1.0
EDTA 二钠盐	0.04	0.04
轻石蜡油	1.5	1.5
三乙醇胺	0.5	0.5
聚羧乙烯 941	0.5	0.5
二羟基丙酮	2.0	2.0
香料	0.3	0.3
多聚氨基酸(pI 为 6-11)	-	5.0
水	至 100	至 100

5

在对照实施例和实施例 2 中，对本申请中美容用软膏的描述表明，实施例 2 的产品与对照实施例的产品相比，可显著地使皮肤变黑。

这样，由本发明提供的一种可逆的、无副作用的皮肤/毛发变黑用组合物成为可能。此组合物在白天和黑夜都是具有活性的。

10

表中数字代表组合物的重量百分比。

实施例 3

促进黑色素形成的体外证明

将在 pH5 的体外系统中，含有 pI 为 2.5 的多聚谷氨酸，pI 为 10.9 的多聚精氨酸，或 pI 为 11.0 的多聚赖氨酸的多聚氨基酸序列对黑色素形成的影响与

在一定 pH 值的黑素体系统中对黑色素形成的影响相比较并进行分析。在体外系统中黑色素形成的测定条件如下。

测定方法

对照测定混合物在装有 pH 5.0 的醋酸缓冲溶液的试管中包含 5 mmol 的 DL-DOPA (二羟基苯丙氨酸), 20nmol 的溶菌酶和 0.45mg 的酪氨酸酶。在试验设备中, 除了如在对照中限定的其它成分之外再加入 18nmol 的多聚谷氨酸, 一种等电点为 2.5 的多聚氨基酸序列, 或等电点为 10.9 的多聚精氨酸, 或等电点为 11.0 的多聚赖氨酸。用醋酸缓冲溶液冲洗已形成的黑色素, 将其悬浮在 1N 的氢氧化钠中, 在 60℃下加热 5 分钟使其溶解。测量的吸光度为 400nm。

表 2

样品	吸光度为 400 时所形成的黑色素
对照物	0.120
含有等电点为 3-4 的多聚谷氨酸的	0.048
含有等电点为 11.0 的多聚赖氨酸的	0.168
含有等电点为 10.9 的多聚精氨酸的	0.182

上述结果表明, 具有碱性等电点或等电点大于 5.0 的多聚氨基酸序列可使黑色素产物显著地提高, 而等电点在酸性范围内的多聚氨基酸序列则不能使黑色素产物同样地提高。

实施例 4

促进黑色素形成的体表证明

挑选 12 名女性志愿者, 她们的皮肤光洁, 没有疤痕, 前臂没有明显的毛发。用模型在手掌一侧的前臂上作一面积为 1 平方厘米的标记。使用分子量为 14K 道尔顿, 等电点为 11.2, 在适宜的赋形剂中浓度为 2% 的肽的混合物。施用上述每微升含有 0.3 微克的蛋白质的溶液 10 天。用未作治疗的和安慰剂 (赋形剂) 作为对照。在第 0 天和第 11 天, 由不知道此治疗任务的专家对上述作标记的位置评出等级。表 3 中的数据表明, 甚至是在体内系统中, 等电点大于 5.0 的肽与对照组, 即未作治疗的和赋形剂相比, 也可使皮肤显著地变黑。其临界差值为 0.12。

表 3

治疗组	皮肤瘢痕的平均改变值
对照组（未治疗）	-0.10±0.220
对照组（赋形剂）	0.050±0.063
5%碱性肽	0.360±0.074

对专家评价的说明

5	显著变浅	-1.0	显著变黑	+1.0
	明确变浅	-0.75	明确变黑	+0.75
	适当变浅	-0.5	适当变黑	+0.50
	轻微变浅	-0.25	轻微变黑	+0.25
	无差别	0		