

**รายละเอียดการประดิษฐ์**

**ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์**

องค์ประกอบดูแลผิว

**สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์**

5

เคมีในส่วนที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบดูแลผิว

**ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง**

10

ผิวหนังภายใต้ความเสื่อมโทรมผ่านความผิดปกติของผิวหนัง การถูกทำลายจากสภาพแวดล้อม (ลม สภาวะของอากาศ และการให้ความร้อนจากส่วนกลาง) หรือผ่านกระบวนการเจริญวัย (การแก่ชรา ตามอายุขัย) ซึ่งอาจถูกเร่งโดยการที่ผิวหนังสัมผัสกับแสงแดด (เกิดการแก่ชราจากการถูกแสง) ในไม่กี่ปีที่ผ่านมา ความต้องการวิธีทางเครื่องสำอางสำหรับปรับปรุงลักษณะที่ปรากฏให้เห็นและสภาพของผิวหนัง และโดยเฉพาะสำหรับการย้อนกลับ การลด หรือการปรับปรุงสัญญาณที่มองเห็นได้ของผิวที่เกิดรอยย่น ที่ถูกทำให้แก่ชรา และ/หรือถูกทำลายด้วยแสงที่เพิ่มขึ้นอย่างมากมาย

15

ผู้บริโภคกำลังค้นหาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง "ที่ด้านการแก่ชรา" เพิ่มมากขึ้นซึ่งทำให้เกิดการย้อนกลับ การปฏิบัติ หรือชะลอสัญญาณของผิวหนังที่เป็นไปตามวัยและที่เกิดการแก่ชราจากการถูกแสง เช่น รอยย่น ริ้วรอย การหย่อนยาน สีผิวผิดปกติ และจุดที่เกิดขึ้นตามวัย

20

คอลลาเจนเป็นโปรตีนของเมทริกซ์ผิวหนังที่สำคัญที่เป็นที่รู้กันว่าให้ความทนต่อแรงดึงแก่ผิวหนัง ยังเป็นที่รู้กันในงานที่ปรากฏไว้ก่อนหน้านี้ว่าระดับของคอลลาเจนในผิวหนังถูกทำให้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในผิวหนังที่แก่ชราและ/หรือที่ถูกทำลายด้วยแสง การศึกษาจำนวนมากได้แสดงให้เห็นว่าระดับของคอลลาเจนชนิด I ในผิวหนังถูกทำให้ลดลงตามอายุและ/หรือถูกทำลายด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น (ตัวอย่างเช่น ลาฟเกอร์ R. J. Inv.Derm. (1979), 73, 79-66; กริฟฟิธส์ และคณะ N. Eng. J. med. (1993) 329, 530-535 การลดลงของระดับคอลลาเจนในผิวหนังเกี่ยวข้องโดยสอดคล้องกับการลดของความทนต่อแรงดึงของผิวหนังที่เป็นสาเหตุให้เกิดรอยย่นและความหย่อนคล้อย

25

เป็นที่รู้กันดีในงานที่ปรากฏก่อนหน้านี้ว่ากรดเรติโนอิก (retinoic acid) เป็นสารออกฤทธิ์ที่มีผลในการด้านการแก่ชราและชักนำการซ่อมแซมผิวหนังที่ถูกทำลายด้วยแสง ได้มีการแสดงให้เห็นว่าการลดรอยย่นและซ่อมแซมผิวหนังตามการปฏิบัติต่อผิวหนังเฉพาะที่ด้วยกรดเรติโนอิกเกิดขึ้นผ่านการเกาะสะสมของคอลลาเจนใหม่และการสังเคราะห์ในผิวหนัง (ตัวอย่างเช่น กริฟฟิธส์ และคณะ N. Eng. J. med. (1993)

329, 530-535) ได้มีการยอมรับอย่างกว้างขวางว่าการเสริมสร้างความแข็งแรงของเมทริกซ์ผิวหนังโดยการเร่งระดับของคอลลาเจนในผิวหนังด้วยการใช้กรดเรติโนอิกจะให้ประโยชน์ในการต้านการแก่ชรา/ การซ่อมแซมผิวหนัง

5 J 05271046 ได้บรรยายองค์ประกอบสำหรับผิวหนังซึ่งมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอน 18 ถึง 22 อะตอม และพันธะที่ไม่อิ่มตัวสองพันธะหรือมากกว่า เช่น กรดไลโนเลอิก (linoleic acid) และกรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid) และพอลิฟีนอล (polyphenol) องค์ประกอบนี้ถูกใช้ประโยชน์สำหรับทำให้ผิวสว่างขึ้น

ได้มีการบรรยายการใช้น้ำมันที่มีจำนวนมากในกรดปีโตรเซลินิก (petroselinic acid) ในองค์ประกอบดูแลผิวเป็นสารให้ความชุ่มชื้นไว้ใน EP A 0709084

10 การใช้กรดไขมันรวมถึงกรดปีโตรเซลินิกในสูตรผสมของเครื่องสำอางสำหรับปฏิบัติต่อเส้นผมเป็นที่รู้จักกัน EP-A116439 ได้บรรยายถึงน้ำยาที่ใช้กับเส้นผมซึ่งรวมถึงกรดไขมัน เช่น กรดปีโตรเซลินิก กรดไลโนเลอิก กรดไลโนเลนิก (linolenic acid) กรดโอเลอิก (oleic acid) และ กรดอะราชิโดนิก สำหรับทำให้รังแคลดลง และสำหรับกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นผม

15 EP-A-0615753 บรรยายถึงองค์ประกอบเฉพาะที่ที่ประกอบด้วยกรดไดโฮโม-แกมมา-ไลโนเลอิก (dihomo-gamma-linolenic acid) กรดอะราชิโดนิก กรดไอโคซาเพนตะอีนอิก (eicosapentaenoic acid) และ กรดโดโคเฮกซะอีนอิก (docohexaenoic acid) ซึ่งเหมาะสำหรับการใช้โดยผู้ที่สูบบุหรี่เพื่อบรรเทาผลจากการเจ็บป่วยของการสูบบุหรี่

EP-A-0888773 บรรยายถึงการใช้กรดปีโตรเซลินิกในองค์ประกอบเครื่องสำอางสำหรับการใช้เฉพาะที่หรือการใช้ทางปากเพื่อปฏิบัติต่อการอักเสบของผิวหนังหรือมิวโคซา (mucosae)

20 XP-002152331 บรรยายถึงน้ำมันที่ประกอบด้วยกรดปาล์มิติก กรดปีโตรเซลินิก กรดโอเลอิก และ กรดไลโนเลอิก สำหรับการใช้ในเครื่องสำอาง

FR-A-2648347 บรรยายถึงองค์ประกอบเครื่องสำอางซึ่งอาจประกอบด้วยกรดแอลฟา-ไลโนเลอิก (alpha-linoleic acid) กรดไอโคซาเพนตะอีนอิก และ กรดโดโคเฮกซะอีนอิก

25 EP-A-0304603 บรรยายถึงองค์ประกอบเครื่องสำอางสำหรับการใช้เฉพาะที่ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acid) เช่น กรดไอโคซาเพนตะอีนอิก และ กรดโดโคเฮกซะอีนอิก

GB-A-2202146 บรรยายถึงองค์ประกอบเครื่องสำอางที่ผลิตผิวหนังขึ้นใหม่ซึ่งประกอบรวมด้วยสารห่วยที่มีซีลีเนียม (selenium) และกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง เช่น กรดโอโคซาเพนตะอีโนอิก และ กรดโดโคเฮกซะอีโนอิก

5 EP-A-0640581 บรรยายถึงองค์ประกอบเครื่องสำอางที่ประกอบรวมด้วยสารอาหารภายในผิวหนังซึ่งประกอบรวมด้วยผลิตภัณฑ์ที่ถูกซาฟอนิฟาย (saponified product) ของกรดโดโคเฮกซะอีโนอิก หรืออนุพันธ์ของสิ่งดังกล่าว

FR-A-0659755 บรรยายถึงองค์ประกอบเครื่องสำอางและองค์ประกอบทางผิวหนังซึ่งประกอบรวมด้วยอนุพันธ์ฟอสโฟลิพิด (phospholipid derivatives) ของกรดไขมัน เช่น กรด  $\alpha$ - และ  $\gamma$ -ไลโนเลนิก กรดโอโคซาเพนตะอีโนอิก และ กรดโดโคเฮกซะอีโนอิก

10 WO-A-99/47110 บรรยายถึงการใช้กรดปิโตรเซลีนิกในการเตรียมองค์ประกอบเฉพาะที่สำหรับปรับปรุงสภาพและลักษณะที่ปรากฏของผิวหนัง

WO-A-00/15179 บรรยายถึงองค์ประกอบที่ประกอบรวมด้วยกรดแอลฟาไฮดรอกซี และ กรดปิโตรเซลีนิก

15 XP-002152332 บรรยายถึงของผสมเข้มข้นของเอทิลโอโคซาเพนตะอีเนต (ethyl eicosapentaenate) และเอทิลโดโคซาเฮกซะอีเนต (ethyl docosahexaenate) สำหรับการปฏิบัติต่อผู้ป่วยโรคสะเก็ดเงิน (psoriatic patient)

20 บัดนี้ได้พบว่าการปฏิบัติและการป้องกันที่มีประสิทธิผลของสภาพผิวหนังปกติ แต่ไม่ต้องการในทางเครื่องสำอาง เนื่องจากความชราตามวัยหรือการแก่ชราจากการถูกแสง เช่น รอยย่น ริ้วรอย ความหย่อนยาน สีผิวผิดปกติ และจุดที่เกิดขึ้นตามวัย อาจได้มาโดยผ่านการใช้ขององค์ประกอบเครื่องสำอางกับผิวหนังซึ่งประกอบรวมด้วยการรวมกันอย่างจำเพาะของส่วนประกอบของลิพิดสองชนิด

งานที่ปรากฏก่อนหน้านี้ข้างต้นไม่ได้เปิดเผยการรวมกันแบบเสริมกันอย่างจำเพาะของส่วนประกอบลิพิดชนิดที่หนึ่งทีเลือกจากกรดปิโตรเซลีนิกหรือกรดโดโคเฮกซะอีโนอิกร่วมกับส่วนประกอบลิพิดส่วนที่สอง หรือไม่ใช้การรวมกันอย่างจำเพาะดังกล่าวสำหรับการปฏิบัติต่อผิวหนังที่แก่ชรา

### **ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์**

25 การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบเฉพาะที่สำหรับการใช้กับผิวหนังของมนุษย์ และเกี่ยวข้องกับการใช้องค์ประกอบในการปรับปรุงสภาพและลักษณะที่ปรากฏของผิวหนัง

ตามลักษณะที่หนึ่งของการประดิษฐ์นี้ ได้จัดให้มีองค์ประกอบเฉพาะที่ที่ประกอบด้วย

(a) ลิพิด (lipid) ชนิดที่หนึ่งเลือกจากกลุ่มที่ประกอบด้วยกรดปิโตรเซลินิกและอนุพันธ์ของสารนี้

(b) ลิพิดชนิดที่สองที่เลือกจากกลุ่มที่ประกอบด้วยกรดไลโนเลอิก กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลอิก (conjugated linoleic acid) และของผสมของสารนี้ และ

5 (c) สารพาหะที่ยอมรับได้เกี่ยวกับผิวหนัง

ตามลักษณะที่สองของการประดิษฐ์นี้ ได้จัดให้มีวิธีการทางเครื่องสำอางที่ทำให้ได้ประโยชน์ด้านการดูแลผิวหนังอย่างน้อยที่สุดหนึ่งอย่างทีเลือกจาก : การปฏิบัติต่อ/การป้องกันผิวหนังที่เกิดรอยย่น หย่อนยาน แห้ง แก่ชรา และ/หรือ ถูกทำลายด้วยแสง; การเร่งการเกาะสะสมของคอลลาเจนในผิวหนัง การเร่งการผลิตโคโรนินในผิวหนัง การส่งเสริมการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ; การปรับปรุงลักษณะทางกายภาพ 10 ความเรียบ และ/หรือ ความแน่นของผิวหนัง; วิธีการที่ประกอบด้วยการใช้องค์ประกอบเฉพาะที่กับผิวหนังตามที่ได้บรรยายไว้แล้วข้างต้น

การประดิษฐ์นี้ยังครอบคลุมถึงการใช้องค์ประกอบที่ประดิษฐ์ขึ้นสำหรับทำให้ได้ประโยชน์ด้านการดูแลผิวหนังอย่างน้อยที่สุดหนึ่งอย่างทีเลือกจาก : การปฏิบัติต่อ/การป้องกันผิวหนังที่เกิดรอยย่น หย่อนยาน แห้งชรา และ/หรือ ถูกทำลายด้วยแสง; การเร่งการเกาะสะสมของคอลลาเจนในผิวหนัง การเร่งการผลิต 15 โคโรนินในผิวหนัง การส่งเสริมการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และการปรับปรุงลักษณะทางกายภาพ ความเรียบ และ/หรือ ความแน่นของผิวหนัง

ตามลักษณะเพิ่มเติมของการประดิษฐ์นี้ ได้จัดให้มีการใช้ส่วนประกอบลิพิดชนิดที่หนึ่งที่เลือกจาก กรดปิโตรเซลินิก และ/หรือ กรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก และ/หรืออนุพันธ์ของสารนี้ ร่วมกับส่วนประกอบลิพิด ชนิดที่สองซึ่งเป็นตัวกระตุ้นของเปอร้ออกซิไซมโพรลิเฟอเรเตอร์ที่กระตุ้นรีเซพเตอร์ชนิดย่อยแอลฟา และ/ 20 หรือ อนุพันธ์ของสารนี้ และ/หรือ ของผสมของสารนี้ ในองค์ประกอบเครื่องสำอางเฉพาะที่สำหรับทำให้ได้ ประโยชน์ด้านการปฏิบัติต่อผิวหนังทางเครื่องสำอางอย่างน้อยที่สุดหนึ่งอย่างทีเลือกจาก : การปฏิบัติต่อ/ การป้องกันผิวหนังที่เกิดรอยย่น หย่อนยาน แห้งชรา และ/หรือ ถูกทำลายด้วยแสง; การเร่งการเกาะสะสม ของคอลลาเจนในผิวหนัง การเร่งการผลิตโคโรนินในผิวหนัง การส่งเสริมการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และ การปรับปรุงลักษณะทางกายภาพ ความเรียบ และ/หรือ ความแน่นของผิวหนัง

องค์ประกอบที่ประดิษฐ์ขึ้น วิธีการ และการใช้ทำให้ได้ประโยชน์ในการด้านการแก่ชราซึ่งให้ผลใน 25 การส่งเสริมผิวหนังให้เกิดความเรียบและความอ่อนนุ่มที่มีสภาพยืดหยุ่นที่ได้รับการปรับปรุง และลักษณะที่

ปรากฏของรอยย่นและผิวหนังที่แก่ชราที่ลดลงหรือช้าลง ที่มีสีของผิวหนังที่ได้รับการปรับปรุง การปรับปรุงทั่วไปในลักษณะที่ปรากฏ ลักษณะทางกายภาพ และสภาวะ โดยเฉพาะในส่วนของความผุดผ่อง ความใส และลักษณะที่ปรากฏความอ่อนเยาว์ของผิวหนัง ทำให้สำเร็จได้

คำว่า "การปฏิบัติ" ตามที่ใช้ในที่นี้รวมอยู่ในขอบเขตของการลด การชะลอ และ/หรือ การป้องกันสภาวะของผิวหนังปกติที่กล่าวไว้แล้วข้างบนที่มีสาเหตุโดยกระบวนการแก่ชราตามปกติ แต่ไม่เป็นที่ต้องการในทางเครื่องสำอาง สัญลักษณ์ที่มองเห็นได้ของความแก่ชรา เช่น รอยย่น ริ้วรอย และ/หรือ ความหย่อนยาน ถูกชะลอหรือลดลง โดยทั่วไป คุณภาพของผิวหนังถูกส่งเสริม และลักษณะที่ปรากฏและลักษณะทางกายภาพของผิวหนังถูกปรับปรุงโดยการป้องกันหรือการลดความแก่ชราและการเพิ่มความยืดหยุ่น ความแน่น ความเรียบ ความอ่อนนุ่ม และสภาพยืดหยุ่นของผิวหนัง องค์ประกอบ วิธีการ และการใช้ตามการประดิษฐ์นี้อาจให้ประโยชน์สำหรับปฏิบัติต่อผิวหนังซึ่งอยู่ในสภาพที่เกิดรอยย่น แก่ชรา และ/หรือถูกทำลายด้วยแสง หรือสำหรับปฏิบัติต่อผิวหนังที่อ่อนเยาว์เพื่อป้องกันหรือลดการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ต้องการที่กล่าวไว้ก่อนหน้านี้ ที่เนื่องมาจากกระบวนการแก่ชราที่เกิดขึ้นตามอายุ/หรือการแก่ชราที่เกิดขึ้นจากแสง

#### การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

##### กรดปิโตรเซลินิก และ กรดโคโคทะเลกอะอีโนอิก

15 กรดปิโตรเซลินิก (ที่อ้างถึงในที่นี้หลังจากนี้เป็น PA) เป็นกรดไขมัน (C18) ชนิดโซยาวที่ไม่อิ่มตัวหนึ่งพันธะ ที่มีสูตร  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$

กรดโคโคทะเลกอะอีโนอิก (ที่อ้างถึงในที่นี้หลังจากนี้เป็น DHA) เป็นกรดไขมัน (C22) ชนิดโซยาวที่ไม่อิ่มตัวหลายพันธะ ที่มีสูตร  $\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_6\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$

20 การประดิษฐ์ยังรวมถึงอนุพันธ์ของกรดอิสระซึ่งดังนั้นประกอบรวมด้วยส่วนของกรดปิโตรเซลินิก/กรดโคโคทะเลกอะอีโนอิก อนุพันธ์ที่เหมาะสมรวมถึงสารเหล่านั้นที่ได้มาจากการแทนที่ของหมู่คาร์บอกซิลของกรด เช่น เอสเตอร์ (เช่น ไตรกลีเซอไรด์เอสเตอร์ โมโนกลีเซอไรด์เอสเตอร์ ไดกลีเซอไรด์ เอสเตอร์ ฟอสโฟเอสเตอร์) เอไมด์ (เช่น อนุพันธ์ของเซราไมด์) เกลือ (เช่น เกลือของโลหะแอลคาไลและโลหะแอลคาไลเอิร์ธ เกลือแอมโมเนียม) และ/หรือ สารเหล่านั้นที่ได้มาจากการแทนที่ของโซคาร์บอน C18/C22 เช่น อนุพันธ์ของแอลฟาไฮดรอกซี และ/หรือ เบต้า-ไฮดรอกซี

25 ในกรณีของอนุพันธ์ของไตรกลีเซอไรด์เอสเตอร์ รวมไอโซเมอร์ตามตำแหน่งทั้งหมดของหมู่แทนที่ PA/DHA ที่โครงสร้างหลัก (backbone) กลีเซอรอล ไตรกลีเซอไรด์จะต้องมีส่วนของ PA/DHA อย่างน้อย

ที่สุดหนึ่งส่วน ตัวอย่างเช่น ตำแหน่งที่สามารถเอสเตอริฟายได้ (esterifiable) สามตำแหน่งบนโครงสร้างหลักกลีเซอรอล ตำแหน่งที่ 1 และ 2 อาจถูกเอสเตอริฟายด้วย PAVDHA และโดยลิพิดอื่น ๆ ที่ตำแหน่งที่ 3 หรือเป็นทางเลือกอื่น โครงสร้างหลักกลีเซอรอลสามารถถูกเอสเตอริฟายโดย PAVDHA ที่ตำแหน่งที่ 1 และ 3 โดยลิพิดอื่น ๆ ที่ตำแหน่งที่ 2

- 5 น้ำมันซึ่งมีจำนวนมากในไตรกลีเซอไรด์ของกรดปิโตรเซลินิกยังเหมาะสำหรับใช้ในการประดิษฐ์นี้ น้ำมันดังกล่าวสามารถจัดหาได้ในทางการค้าและรวมถึงน้ำมันจากเมล็ดparsley (parsley) น้ำมันจากเมล็ดแคโรท น้ำมันจากเฟนเนลฟรุท (fennel fruit) น้ำมันจากเมล็ดพาสนิป (parsnip) น้ำมันจากเมล็ดผักชี น้ำมันจากเมล็ดเชอริวิล (chervil) น้ำมันจากพืชคล้ายยี่ห่วย และน้ำมันจากเมล็ดผักเซลอรี (celery)
- 10 น้ำมันซึ่งมีจำนวนมากในไตรกลีเซอไรด์ของ DHA ยังเหมาะสำหรับใช้ในการประดิษฐ์นี้ น้ำมันดังกล่าวสามารถหาได้ในทางการค้าและรวมถึงน้ำมันปลาและสารชนิดเข้มข้นของสารนั้น

อย่างไรก็ตาม คำว่า "กรดปิโตรเซลินิก" หรือ "PA" หรือ "กรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก" หรือ "DHA" ถูกใช้ในรายละเอียดนี้ เป็นที่เข้าใจว่าอนุพันธ์ของกรดดังกล่าวที่ประกอบรวมด้วยส่วนของ PAVDHA ยังถูกรวมอยู่ด้วย "ส่วน PAVDHA" อ้างถึงส่วนของ PA /DHA แพตตีเอซิลของอนุพันธ์ของ PAVDHA

- 15 PA และ/หรือ DHA ที่ใช้ตามการประดิษฐ์นี้อยู่ในองค์ประกอบเฉพาะที่ในปริมาณที่ให้ผล โดยปกติปริมาณทั้งหมดของสารที่ออกฤทธิ์มีอยู่ในปริมาณระหว่าง 0.0001 เปอร์เซ็นต์ และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักขององค์ประกอบ ที่เหมาะสมกว่า ปริมาณเป็นจาก 0.01 เปอร์เซ็นต์ ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ และที่เหมาะสมมากที่สุดเป็นจาก 0.1 เปอร์เซ็นต์ ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้ประโยชน์สูงสุดที่ราคาต่ำสุด โดยที่ลิพิดชนิดที่หนึ่งคือ DHA หรืออนุพันธ์ของ DHA ที่เหมาะสมมีอยู่ที่ระดับน้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาเรื่องกลิ่นที่อาจเกิดขึ้นได้ใดๆ

- 20 ตัวกระตุ้นลิพิดของเปอร์ออกซิโสมิโพรลิเฟอเรเตอร์ที่กระตุ้นรีเซพเตอร์ของชนิดย่อย  $\alpha$

คำว่า "ตัวกระตุ้นของเปอร์ออกซิโสมิโพรลิเฟอเรเตอร์ที่กระตุ้นรีเซพเตอร์ของชนิดย่อย  $\alpha$ " หรือ "ตัวกระตุ้น PPAR  $\alpha$ " ในการใช้นี้หมายถึงลิพิดซึ่งกระตุ้นนิวเคลียร์รีเซพเตอร์ PPAR  $\alpha$

- 25 เปอร์ออกซิโสมิโพรลิเฟอเรเตอร์ที่กระตุ้นรีเซพเตอร์เป็นกลุ่มของนิวเคลียร์รีเซพเตอร์ที่เป็นที่รู้จักที่มีชนิดย่อยสามชนิด  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ของการกระจายเนื้อเยื่อที่ผันแปร เปอร์ออกซิโสมิโพรลิเฟอเรเตอร์ที่กระตุ้นรีเซพเตอร์ของชนิดย่อย  $\alpha$  (อ้างถึงในที่นี้หลังจากนี้เป็น PPAR  $\alpha$ ) มีอยู่ในผิวหนัง ตัวกระตุ้นลิพิดของ PPAR  $\alpha$  เช่น กรดไลโนเลอิกเป็นที่รู้จักกันเป็นอย่างดีในงานที่ปรากฏไว้ก่อนหน้า สิ่งเหล่านี้ได้แสดงถึงการ

เร่งการพัฒนาตัวกีดขวางของหนังกำพร้าของผิวหนังภายนอกร่างกาย (เฮนลีย์ และคณะ (1997) J. Clin. Inv. 100, 705-712) อย่างไรก็ตาม ไม่ได้มีการเปิดเผยหรือการเสนอแนะในงานที่ปรากฏไว้ก่อนหน้านี้ของตัวกระตุ้นของ PPAR  $\alpha$  ที่มีการใช้ในองค์ประกอบเครื่องสำอางสำหรับทำให้ได้การปฏิบัติการณ์ด้านการแก่ชราในทางเครื่องสำอาง

5           วิธีการที่สร้างขึ้นและเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางโดยที่สามารถแสดงการกระตุ้น PPAR และ ดังนั้นโดยที่สามารถจำแนกตัวกระตุ้นลิพิดของ PPAR คือการวิเคราะห์หีร์พอร์เตอร์ยีน จะจำแนกลิพิดที่เป็น ตัวกระตุ้นของ PPAR  $\alpha$  ได้โดยง่ายโดยเหล่านักคนที่มีความชำนาญในวิทยาการด้านนี้ เนื่องจาก สารประกอบเหล่านั้นซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการแสดงออกของลูซิเฟอเรส หรือ คลอแรมฟินิโคลอะซีทิล

10           ทรานส์เฟอเรส (ที่อ้างถึงในที่นี้เป็น CAT) ในการวิเคราะห์หีร์พอร์เตอร์ยีนที่ระบุในตัวอย่างที่ 1 ข้างล่าง- โปรโตคอล (protocol) ที่สมบูรณ์ได้ถูกจัดให้มีขึ้นโดย Kliewer และคณะ (1992) เนเจอร์ 358 771-774

          ดังนั้น ถ้าสารประกอบลิพิดผ่านการวิเคราะห์หีร์พอร์เตอร์ยีนภายนอก่างกายนี้ นั่นคือมันเป็น สาเหตุให้เกิดการแสดงออกของลูซิเฟอเรส หรือ CAT ในการวิเคราะห์หีร์พอร์เตอร์ยีนที่ระบุในตัวอย่างที่ 1 ข้างล่าง มันถูกรวมเป็นตัวกระตุ้นของลิพิด PPAR  $\alpha$  ถึงแม้ว่าจะไม่ได้กล่าวถึงเป็นพิเศษในที่นี้ ในรูปลักษณะ

15           ที่เหมาะสมของการประดิษฐ์ ตัวกระตุ้นของลิพิด PPAR  $\alpha$  เป็นสารประกอบซึ่งสนับสนุนการกระตุ้นของ หีร์พอร์เตอร์ยีนอย่างน้อยที่สุดสองเท่าเหนือกว่าระดับพื้นฐาน เนื่องจากสารเหล่านี้เป็นสารด้านการแก่ชรา ที่มีประสิทธิผลมากกว่า

          ตัวอย่างของตัวกระตุ้นลิพิด PPAR  $\alpha$  ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบวิเคราะห์หีร์พอร์เตอร์ยีนรวมถึง กรดไขมันที่อิ่มตัว C10-C18 ที่เหมาะสมคือ ชนิดที่มีกิ่ง หรือที่ถูกทำให้เป็นอนุพันธ์ (เช่น ที่มีหมู่ไฮดรอกซี) ถ้า เป็นกรดไขมันชนิดไฮดรอกซีตรงที่ไม่อิ่มตัวหนึ่งพันธะที่มี C10-C20 และที่ไม่อิ่มตัวหลายพันธะที่มี C10 - C22

20           กรดไขมันอาจเป็นไฮดรอกซีหรือไฮดรอกซีชนิดอิ่มตัวหรือไม่อิ่มตัว และอาจถูกแทนที่ เช่น ถูกไฮดรอกซีเลท เช่น อนุพันธ์ของแอลฟาไฮดรอกซี หรือเบต้าไฮดรอกซี แอลกอฮอล์, ไตรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟลิพิด ที่สอดคล้องกันของกรดเหล่านั้นใดๆ ยังเหมาะสำหรับใช้ในการประดิษฐ์นี้ อนุพันธ์ที่เหมาะสมรวมถึง สารเหล่านั้นที่ได้มาจากการแทนที่ของหมู่คาร์บอกซิลของกรด เช่น เอสเตอร์ (เช่น ไตรกลีเซอไรด์เอสเตอร์, โมโนกลีเซอไรด์เอสเตอร์, ไดกลีเซอไรด์เอสเตอร์, ฟอสโฟเอสเตอร์) เอไมด์ (เช่น อนุพันธ์เซราไมด์) เกลิอ (เช่น

25           เกลิอของโลหะแอลคาไลและโลหะแอลคาไลเอิร์ธ เกลิอแอมโมเนียม) ในกรณีของอนุพันธ์ของไตรกลีเซอไรด์ เอสเตอร์ รวมไอโซเมอร์ตามตำแหน่งทั้งหมดที่โครงสร้างหลักกลีเซอรอล

น้ำมันที่มีไตรกลีเซอไรด์ของกรดไขมันอยู่เป็นจำนวนมาก ดังนั้น ยังเหมาะสำหรับใช้ในการ  
ประดิษฐ์นี้ น้ำมันดังกล่าวจัดหาได้ในทางการค้าและรวมถึงน้ำมันจากเมล็ดผักชี (มีกรดปิโตรเซลินิกจำนวนมาก)  
น้ำมันจากเมล็ดพาร์สลีย์ (มีกรดปิโตรเซลินิกอยู่จำนวนมาก) น้ำมันอีฟนิ่งพริมโรส (evening primrose)  
(มีกรดแกมมาไลโนเลนิกอยู่จำนวนมาก) น้ำมันจากเมล็ดบอแรก (borage) (มีกรดแกมมาไลโนเลนิกอยู่  
5 จำนวนมาก) เชียบัตเตอร์ (shea butter) (มีกรดโอเลอิกและกรดไลโนเลนิกจำนวนมาก) น้ำมันปลาและ  
สิ่งเข้มข้นของมัน (มี DHA และ EPA อยู่จำนวนมาก) น้ำมันแครัมป์ (cramb) (มีกรดอีรูซิกอยู่เป็นจำนวน  
มาก) น้ำมันลินซีด (linseed) (มีกรดแอลฟาไลโนเลนิกอยู่จำนวนมาก) น้ำมันแอลมอนด์ (มีกรดโอเลอิก  
อยู่จำนวนมาก) และน้ำมันของเมล็ดฝ้าย (มีกรดไลโนเลนิกอยู่จำนวนมาก)

ตัวกระตุ้น PPAR  $\alpha$  ที่เหมาะสมตามการประดิษฐ์คือ กรด 12-ไฮดรอกซีสเตียริก กรดซิสพารินาริก  
10 กรดทรานส์-7-ออกตะเตซีนิก กรดซิส-5, 8, 11, 14, 17 ไอโคซะเพนตะนิก กรดซิส-4, 7, 10, 13, 16, 19  
โดโคซะเฮกซีนิก กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลนิก (c9, t11) กรดโคลัมบีนิก กรดไลโนลีเนลาอิดิก  
กรดริซอินลาอิดิก กรดสเตียริโดนิก กรด 2-ไฮดรอกซีสเตียริก กรดแอลฟา-ไลโนเลนิก กรดอะราชิโดนิก  
กรด ซิส-11,14-ไอโคซะไดอีนิก กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลนิก (t10, c12) กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลนิก  
(t9, t11) กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลนิก (ของผสม 50:50 ของ c9, t11 และ t10, c12) กรดโคเรียนเดอร์  
15 กรดไลโน ลีลาอิดิก กรดริซอินเลนิก กรดสเตียโรลิก สารสกัดจากธูจา (thuja) และ กรดทรานส์แควซีนิก

ตัวกระตุ้น PPAR  $\alpha$  ที่เหมาะสมเพิ่มเติมรวมถึง กรดซิส-11,14,17-ไอโคซะไตรอีนิก กรดซิส-5  
ไอโคซีนิก กรดซิส-8,11,14-ไอโคซะไตรอีนิก กรดเฮกซะเดคะไตรอีนิก กรดปาล์มิตอเลอิก  
กรดปิโตรเซลาอิดิก ทรานส์ทรานส์ฟาร์นิซอล กรดซิส-13,16-โดโคซะไดอีนิก กรดซิสแควซีนิก กรดซิส-  
11 ไอโคซีนิก กรดซิส-13,16,19-โดโคซะไตรอีนิก กรดซิส-13-ออกตะเตซีนิก กรดซิส-15-ออกตะ  
20 เดคะ นิก กรดซิส-7,10,13,16-โดโคซะเตตระอีนิก กรดอีลาอิดิก กรดแกมมา-ไลโนเลนิก กรดเจอร์านิก  
กรดเจอร์านิลเจอร์านิก กรดไลโนเลนิก กรดโอเลอิก ปิโตรเซลินิลแอลกอฮอล์ กรดไฟตานิิก กรดไพโนลีนิก  
กรดทรานส์-13-ออกตะเตซีนิก กรดไตรเตซิลซาลิไซลิก (TDS)

หมวดหมู่ที่เหมาะสมเพิ่มเติมของตัวกระตุ้น PPAR  $\alpha$  รวมถึงสารสกัดจากพืช เช่น ไบโอซานิน A  
(เรดโคลฟเวอร์ไฟโตเอสโตรเจน) สารสกัดจากโครโมลีนาโอโดราตา (chromolaena odorata) สารสกัดที่  
25 สามารถไฮโดรไลซ์และซาฟอนิฟายได้จากพืชชนิดทับทิม บุกกลอสซอยด์ (buglossoides) (สารสกัดจากพืช  
สเตียริโดนิก) และแซนธาลิน (สารสกัดจากซิซวอนเปปเปอร์คอร์น (Sichuan peppercorn))



ลิติตที่เหมาสมโดยเฉพาะ เนื่องจากการให้ผลในการด้านการแก่ชราที่เหนือกว่าเมื่อรวมกับกรด  
ปีโตรเซลินิก และ/หรือ DHA (หรืออนุพันธ์ของสารดังกล่าว) ตามการประดิษฐ์นี้ ถูกเลือกจากกลุ่มที่ประกอบ  
รวมด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวหลายพันธะ เช่น กรดไลโนเลอิก กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลอิก กรดไลโนเลนิก  
กรดโอโคซะเตตระอีโนอิก กรดอะราชิโดนิก กรดโอโคซะเพนตะอีโนอิก (EPA) กรดโดโคซะเฮกซะอีโนอิก  
5 (DHA) กรดอีลาอิดิก กรดโอเลอิก กรดอีรูซิก และกรดไดโออิก เช่น กรดเฮกซะเดเคนไดโออิก

ควรเป็นที่เข้าใจว่าตัวกระตุ้น PPAR  $\alpha$  ซึ่งมีอยู่ในองค์ประกอบตามการประดิษฐ์ โดยอุดมคติ มีอยู่  
ในรูป "สารออกฤทธิ์" นั่นคือ ไม่ถูกเอสเตอริฟาย ดังที่เป็นเช่นนั้น ขณะที่แหล่งตามธรรมชาติของสาร เช่น  
น้ำมันที่ถูกอ้างถึงไว้แล้วข้างบน ตัวกระตุ้น PPAR  $\alpha$  ซึ่งถูกใช้ในองค์ประกอบตามการประดิษฐ์ที่เหมาะสม  
ไม่เป็นแบบตั้งต้น, รูปที่ถูกเอสเตอริฟายของตัวกระตุ้น แต่แหล่งของสารตั้งต้นซึ่งมีตัวกระตุ้น PPAR  $\alpha$  ที่ไม่  
10 ถูกเอสเตอริฟายจำนวนมาก หรือหนึ่งในแหล่งซึ่งรูปที่ถูกเอสเตอริฟายถูกไฮโดรไลซ์เพื่อปลดปล่อยกรดไขมัน  
ออกมา

ใช้ส่วนประกอบลิติตชนิดที่สองในองค์ประกอบที่ประดิษฐ์ขึ้นในปริมาณระหว่าง 0.0001  
เปอร์เซ็นต์ ถึง 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักขององค์ประกอบ ปริมาณที่เหมาะสมมากกว่าเป็นจาก 0.01  
เปอร์เซ็นต์ ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณที่เหมาะสมมากที่สุดเป็นจาก 0.1 เปอร์เซ็นต์ ถึง 5 เปอร์เซ็นต์  
15 เพื่อที่จะให้ได้ประโยชน์สูงสุดที่ราคาต่ำสุด

#### สารพาหะที่ยอมรับได้เกี่ยวกับผิวหนัง

องค์ประกอบที่ใช้ตามการประดิษฐ์ยังประกอบด้วยสารพาหะที่ยอมรับได้ในทางเครื่องสำอางที่  
เกี่ยวกับผิวหนังเพื่อทำหน้าที่เป็นสารเจือจาง สารช่วยในการกระจายตัว หรือสารพาหะสำหรับสารออกฤทธิ์  
สารพาหะอาจประกอบด้วยสารที่ใช้กันอย่างปกติในผลิตภัณฑ์ดูแลผิว เช่น น้ำ สารให้ความนุ่มที่เป็น  
20 ของเหลวหรือของแข็ง น้ำมันซิลิโคน สารอิมัลซิฟายเออร์ ตัวทำละลาย สารให้ความชุ่มชื้น สารให้ความ  
ชื้น ผง สารช่วยในการขั้บตัน และอื่น ๆ

สารพาหะโดยปกติจะเกิดจาก 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 99.9 เปอร์เซ็นต์ ที่เหมาะสมเป็นจาก 25 เปอร์เซ็นต์  
ถึง 80 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักขององค์ประกอบ และสามารถทำให้เกิดส่วนผสมขององค์ประกอบ ในกรณีนี้  
ไม่มีสารเสริมในทางเครื่องสำอางอื่น ๆ อยู่

สารที่ให้ประโยชน์แก่ผิวหนังและสารเสริมในทางเครื่องสำอางที่เป็นทางเลือกอื่น ๆ

นอกเหนือจากสารออกฤทธิ์ สารออกฤทธิ์ที่ให้ประโยชน์แก่ผิวหนังที่เฉพาะเจาะจงอื่นๆ เช่น สารกันแดด สารทำให้ผิวสว่างขึ้น สารที่ทำให้ผิวมีสีแทน อาจถูกรวมอยู่ด้วย สารพาหะยังอาจรวมถึง สารเสริม เช่น สารแอนติออกซิแดนท์ สารให้ความหอม สารช่วยในการทึบแสง สารกันเสีย สารให้สี และ บัฟเฟอร์

การเตรียมผลิตภัณฑ์ รูปแบบ การใช้ และการบรรจุหีบห่อ

เพื่อที่จะเตรียมองค์ประกอบเฉพาะที่ใช้ในวิธีการของการประดิษฐ์นี้ อาจใช้วิธีปกติสำหรับการเตรียมผลิตภัณฑ์ดูแลผิว ส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์โดยทั่วไปถูกรวมอยู่ในสารพาหะที่ยอมรับได้ในทางเครื่องสำอางที่เกี่ยวข้องกับผิวหนังในวิธีแบบดั้งเดิม ส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ที่เหมาะสมขั้นแรกจะถูกทำให้ละลายหรือกระจายตัวในส่วนของน้ำหรือตัวทำละลายอื่น ๆ หรือของเหลว เพื่อที่จะถูกรวมอยู่ในองค์ประกอบ องค์ประกอบที่เหมาะสมคือ อิมัลชันน้ำมัน-ใน-น้ำ (oil-in-water) หรือน้ำ-ใน-น้ำมัน (water-in-oil) หรือน้ำ-ใน-น้ำมัน-ใน-น้ำ (water-in-oil-in-water)

องค์ประกอบอาจอยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์ดูแลผิวแบบดั้งเดิม เช่น ครีม เจลหรือโลชั่น แคนพูล หรืออื่นๆ องค์ประกอบยังสามารถอยู่ในรูปที่เรียกว่าผลิตภัณฑ์แบบ "ล้างออก" เช่น เจลที่ใช้อาบน้ำสำหรับอ่างอาบน้ำหรือฝักบัว ที่เป็นไปได้มีระบบการนำส่งสารออกฤทธิ์เพื่อส่งเสริมการเกาะติดกับผิวหนังในระหว่างการล้างทำความสะอาด ที่เหมาะสมที่สุด ผลิตภัณฑ์เป็นผลิตภัณฑ์แบบ "ปล่อยทิ้งไว้" เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับผิวหนังโดยไม่มีขั้นตอนการล้างทำความสะอาดในทันทีอย่างเจตนาภายหลังการใช้ขององค์ประกอบกับผิวหนัง

อาจบรรจุองค์ประกอบในวิธีการที่เหมาะสมใดๆ เช่น ในโถ ขวด หลอด ลูกกลิ้ง หรืออื่น ๆ ในวิธีแบบดั้งเดิม ได้พบด้วยว่าสามารถบรรจุองค์ประกอบที่ประดิษฐ์ขึ้นเป็นชุดคิตของสององค์ประกอบที่แยกกัน ส่วนหนึ่งที่มีส่วนประกอบลิพิดชนิดที่หนึ่ง กรดปีโตรเซลินิก และ/หรือ DHA ส่วนที่สองที่มีส่วนประกอบลิพิดชนิดที่สองของการประดิษฐ์นี้ ที่จะถูกใช้กับผิวหนังพร้อมกันหรือต่อเนื่องตามลำดับ

อาจผสมสูตรองค์ประกอบตามการประดิษฐ์นี้เป็นรูปแบบที่เหมาะสมสำหรับการกลืนกินทางปาก เช่น แคนพูล เม็ดแบน หรือที่คล้ายกัน

วิธีการของการประดิษฐ์นี้อาจถูกดำเนินการหนึ่งครั้งหรือมากกว่าหนึ่งครั้งในแต่ละวันกับผิวหนังซึ่งต้องการการปฏิบัติ การปรับปรุงลักษณะที่ปรากฏของผิวหนังปกติจะเริ่มมองเห็นได้หลังจาก 3 ถึง 6 เดือน

ขึ้นกับสภาพของผิวหนัง ความเข้มข้นของส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ที่ใช้ในวิธีการที่ประดิษฐ์ขึ้น ปริมาณขององค์ประกอบที่ใช้และความถี่ที่ใช้ โดยทั่วไป ปริมาณเล็กน้อยขององค์ประกอบ ตัวอย่างเช่น 0.1 ถึง 5 มิลลิเมตร ถูกใช้กับผิวหนังจากภาชนะบรรจุที่เหมาะสมหรือแอปพลิเคชัน (applicator) และกระจายโดยทั่วและ/หรือ ปล่อยให้เข้าสู่ผิวหนังด้วยการใช้มือหรือนิ้วหรืออุปกรณ์ที่เหมาะสม ขั้นตอนการล้างทำความสะอาด

5 โดยทางเลือก อาจขึ้นกับองค์ประกอบที่ถูกลบออกว่าเป็นผลิตภัณฑ์แบบ "ปล่อยทิ้งไว้" หรือแบบ "ล้างออก" เพื่อที่จะให้เข้าใจการประดิษฐ์นี้ได้ง่ายขึ้น ตัวอย่างต่อไปนี้จะให้ไว้ในลักษณะการแสดงตัวอย่างเท่านั้น

ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ 1

10 การวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดของ PPAR แอลฟา

วิธีการที่สร้างขึ้นและเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางโดยที่สามารถแสดงการกระตุ้น PPAR และโดยที่สามารถจำแนกตัวกระตุ้นของ PPAR คือการวิเคราะห์รีพอร์ตเตอร์ยีน โปรโตคอลถูกระบุโดย Kliewer และคณะ (1992) หมายเลข 358 771-774

15 ทำการวิเคราะห์บนเซลล์ไลน์ (cell lines) (เช่น COS หรือ CV-1) ซึ่งแสดงระดับของการแสดงออกของ PPAR ในร่างกายต่ำ เซลล์เหล่านี้ถูกเพาะ (plated) ในรูปแบบที่มีหลายหลุม และถูกทรานส์เฟกต์ (transfected) ในเวลาเดียวกันด้วย 4 แมมมาเลียเนียนเอ็กซ์เพรสชันพลาสมิด (4 mammalian expression plasmids) พลาสมิดเหล่านี้มีการเข้ารหัสของ DNA หนึ่งในสิ่งต่อไปนี้:

a) PPAR ที่สนใจ ในกรณีนี้ PPAR ชนิดย่อย  $\alpha$

20 b) เรตินอยด์ X รีเซพเตอร์ (ที่อ้างถึงในที่นี่หลังจากนี้เป็น RXR) RXR ชนิดย่อย  $\alpha$  ในกรณีของผิวหนัง

c) รีพอร์ตเตอร์ยีน เช่น ลูซิเฟอเรส หรือ คลอแรมฟินิโคลอะซีทิลทรานส์เฟอเรส (CAT) ที่มีส่วนที่ตอบสนอง PPAR ที่สอดแทรกเข้าไปในโปรโมเตอร์ของมัน

d) รีพอร์ตเตอร์ยีนที่แสดงออกที่ประกอบขึ้นมา เช่น  $\beta$ -กาแลคโตซิเดส ซึ่งไม่สนองตอบต่อการกระตุ้นของ PPAR

25 การกระตุ้นของทรานส์เฟกต์ RXR/PPAR แข็งข้อโดยรีเอเจนต์ภายนอกหาได้โดยการวัดการแสดงออกของรีพอร์ตเตอร์ยีนที่ตอบสนองกับ PPAR (ลูซิเฟอเรส หรือ CAT) สิ่งนี้ทำให้สำเร็จได้ด้วยการใช้

ชุดคิดที่จัดหาได้ในทางการค้า เช่น ระบบการวิเคราะห์ลูซิเฟอเรส (โปรเมก้า) หรือระบบการวิเคราะห์เอนไซม์ CAT (โปรเมก้า) การแสดงออกของรีพอร์ตเตอร์ยีนที่ไม่สนองตอบกับ PPAR ถูกตรวจวัดคล้ายกันด้วยการใช้ชุดคิดที่จัดหาได้ในทางการค้า เช่น ระบบการวิเคราะห์เอนไซม์  $\beta$ -กาแลคโตซิเดส (โปรเมก้า) และถูกใช้เพื่อควบคุมการหาประสิทธิภาพของทรานส์เฟคชัน (transfection) และด้วยวิธีนั้น จะทำการวิเคราะห์ให้เป็นมาตรฐาน

ในวิธีนี้ ลิพิดภายนอกเหล่านั้นซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการแสดงออกของลูซิเฟอเรส หรือ CAT ที่เหมาะสม ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการเพิ่มขึ้นต่ำสุด 2 เท่า ในการแสดงออกของลูซิเฟอเรสหรือ CAT สามารถจำแนกได้อย่างง่ายดาย เป็นลิพิดซึ่งกระตุ้น PPAR  $\alpha$

#### ตัวอย่างที่ 2

ตัวอย่างนี้จะแสดงประโยชน์ด้านการดำเนินการแก่ชราชของส่วนผสมที่ออกฤทธิ์ของการประดิษฐ์นี้ วิธีดำเนินการสำหรับการวัดการสังเคราะห์โปรคอลลาเจน-1 ในเดอร์มอลไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ (Human Dermal Fibroblasts)

การเตรียมตัวกลางที่ถูกปรับสภาพด้วยเดอร์มอลไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์

เพาะเลี้ยงฟอรัสกินไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ชนิดปฐมภูมิ (primary human foreskin fibroblasts) ที่แพสเสจ 2 (passage 2) (P2) ในภาชนะที่มี 12 หลุม ที่ 10000 เซลล์/หลุม<sup>2</sup> และรักษาไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงในบรรยากาศของ 5 เปอร์เซ็นต์ คาร์บอนไดออกไซด์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ ออกซิเจน ในตัวกลางดัลเบคคอสโมดิฟายด์อีเกิล (Dulbeccos Modified Eagles Medium, DMEM) ที่เสริมด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ ซีรัมจากลูกวัว ภายหลังจากเวลานี้ ล้างเซลล์ด้วย DMEM ที่ไม่มีซีรัม และครั้นแล้วบ่มใน DMEM ที่ไม่มีซีรัมที่เตรียมใหม่เป็นเวลาต่อไปอีก 60 ชั่วโมง ล้างชั้นเดียวของไฟโบรบลาสต์อีกด้วย DMEM ที่ไม่มีซีรัม ไสรีเอเจนต์ที่ทดสอบและสารควบคุมที่เป็นสารพาหะไปยังเซลล์ซ้ำสามครั้งในปริมาตรสุดท้ายของ DMEM ที่ไม่มีซีรัมที่เตรียมใหม่ 0.4 มิลลิลิตร/หลุม และบ่มเป็นเวลาต่อไปอีก 24 ชั่วโมง

ตัวกลางที่ถูกปรับสภาพด้วยไฟโบรบลาสต์นี้ถูกวิเคราะห์โดยทันที หรือแช่แข็งชั่วคราวในไนโตรเจนเหลว และเก็บไว้ที่  $-70^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส เพื่อการวิเคราะห์ต่อไป ครั้นแล้วนับเซลล์และข้อมูลจากการวิเคราะห์แบบดอท-บล็อต (dot-blot) ที่เป็นมาตรฐานกับจำนวนเซลล์

การวิเคราะห์แบบทดสอบลือทสำหรับโปรคอลลาเจน-I โปรตีนในตัวอย่างที่ถูกปรับสภาพด้วยเดอรัมอลไฟโบรบลาสต์

ตัวอย่างทดสอบของตัวอย่างที่ถูกปรับสภาพจากเดอรัมอลไฟโบรบลาสต์ที่ถูกปฏิบัติด้วยด้วยสารพาหะ (เป็นสารควบคุม) หรืออีเอเจนท์ที่ทดสอบถูกเสริมด้วย 20 มิลลิโมลาร์ (mM) ไดโรอีเอริทอล (การเจือจาง 1:10 ของ 200 มิลลิโมลาร์ สารละลายสต็อก) และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (การเจือจาง 1:100 ของ 10 เปอร์เซ็นต์ สารละลายสต็อก) ทำการผสมอย่างดี และครั้งแล้วบ่มที่ 75 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 นาที

สร้างสารมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ โดยการเจือจางเป็นชุดของตัวอย่างที่ถูกปรับสภาพด้วยไฟโบรบลาสต์ที่ไม่มีการผสมจากไฟโบรบลาสต์ที่เพาะเลี้ยงที่ 10000 เซลล์/ซม<sup>2</sup> ในพลาสติกขนาด 175 ซม<sup>2</sup> และรักษาไว้ใน DMEM ที่ไม่มีซีรัมตามที่ได้บรรยายไว้แล้วข้างต้น ถัดมาใช้ตัวอย่างทดสอบที่วิเคราะห์ห้าสามครั้งกับแผ่นที่ถูกทำให้เปียกไว้ก่อนของอิมโมไบลอน-P ทรานส์เฟอร์เมมเบรน ด้วยการใส่เครื่องไบโอคอปที่มี 96 หลุม จาก ไบโอ-เรด ตามที่ได้บรรยายไว้ในแนวทางสำหรับผู้ผลิต ประมาณ 200 ไมโครลิตร ( $\mu$ ) ของตัวอย่างถูกใช้ต่อหลุม ยอมให้ตัวอย่างกรองผ่านเมมเบรนภายใต้แรงโน้มถ่วง (30 นาที) ภายหลังจากซึ่งเมมเบรนถูกล้างสองครั้งด้วย PBS (200 ไมโครลิตร) ยอมให้การล้างด้วย PBS เหล่านี้กรองผ่านเมมเบรนภายใต้แรงโน้มถ่วง (2 X 15 นาที)

ครั้งแล้ว เครื่องไบโอ-คอปถูกติดเข้ากับท่อสุญญากาศแบบแมนิโฟลด์ (vacuum manifold) และทำการล้าง PBS ที่สามและสุดท้ายภายใต้การดูด เครื่องมือถูกแยก เมมเบรนถูกนำออกและตัดอย่างรวดเร็วตามที่ต้องการก่อนที่จะใส่ไว้ในบล็อกกิงบัฟเฟอร์ (blocking buffer) ตลอคคีนที่ 4 องศาเซลเซียส เมมเบรนที่เตรียมสำหรับการวิเคราะห์โปรคอลลาเจน-I ถูกบล็อกด้วย 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ของนมผงแห้งที่ไม่มีไขมัน/ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ทวีน 20 ใน PBS วันต่อมา ตรวจสอบเมมเบรนด้วยสารเจือจาง 1:10000 ของแอนติบอดี (antibodies) ชนิดปฐมภูมิ ต่อโปรคอลลาเจน-I ของมนุษย์ (MAB1912 ;โมโนโคลนัลของหนู; เคมีคอน อินท์ อิงค์ เทมีคิวล่า CA) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ถัดมา ล้างเมมเบรนด้วย TBS/0.05 เปอร์เซ็นต์ ทวีน 20 (3 X 5 นาที) และครั้งแล้วบ่มด้วยสารเจือจาง 1:1000 ของส่วนย่อย <sup>125</sup>I-คอนจูเกตเตดแอนติแรท (<sup>125</sup>I-conjugated anti-rat fragment) (อเมอรัแซม) ตามที่ต้องการเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้น ล้างแถบอิมโมบิลอน (Immobilon strips) อีกด้วย TBS/ทวีน 20 (3 X 5 นาที) ก่อนที่จะปล่อยให้แห้งในอากาศที่อุณหภูมิห้อง

ห่อเมมเบรนที่ถูกทำให้แห้งในเซลโลเฟน (cellophane) และเปิดให้สัมผัสกับโมเลกุลาร์ไดนามิกส์  
 สตอเรจ ฟอสฟอรัสกรีน (Molecular Dynamics storage phosphor screen) เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง  
 ณ จุดสิ้นสุดของเวลานี้ สกรีนที่ถูกเปิดถูกสแกนโดยฟอสฟอริอิมเมจเจอร์ (phosphorimager) (โมเลกุลาร์  
 ไดนามิกส์ฟอสฟอริอิมเมจเจอร์ SF) ด้วยการใช้ ImageQuant™ ซอฟต์แวร์ ประเมินความเข้มของจุด  
 5 โดยใช้การวิเคราะห์ภาพที่ถูกช่วยโดยคอมพิวเตอร์ ด้วยการใช้เครื่องมือที่มีคุณภาพใน ImageQuant™  
 ที่ทำให้เป็นมาตรฐานกับจำนวนของเซลล์ และหาผลของรีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบต่าง ๆ ในการสังเคราะห์  
 ไพรคอลลาลาเจน-I ที่สัมพันธ์กับค่าควบคุมที่สร้างด้วยสารพาหะ 100 หน่วยที่กำหนด

การทดสอบ

ตารางที่ 1 ข้างล่างแสดงผลแบบเสริมกันของกรดปิโตรเซลลินิก/DHA ร่วมกับกรดไลโนเลอิกในการ  
 10 สังเคราะห์ไพรคอลลาลาเจน-I ในเดอรัมอลโฟโบริบลาสต์ของมนุษย์ และปริมาณที่ซึ่งสารออกฤทธิ์ถูกใช้  
 เพื่อที่จะทำให้ผลลัพธ์เป็นมาตรฐาน ผลของสารที่ทดสอบถูกหาเทียบกับค่าควบคุมที่ถูกปฏิบัติด้วยสาร  
 พาหะ 100 หน่วยที่กำหนด การทดสอบเปรียบเทียบถูกทำด้วยการรวมกันของลิพิดที่นอกเหนือขอบเขตของ  
 การการประดิษฐ์นี้ กรดโอเลอิกร่วมกับกรดไลโนเลอิก ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทดลองไม่มี  
 อิทธิพลต่อเซลล์ที่มีชีวิต

ตารางที่ 1

การปฏิบัติ	ไพรคอลลาลาเจน-I
สารควบคุม (สารพาหะ)	100
PA 1 ไมโครโมลาร์ (µM)	87.6
กรดไลโนเลอิก 10 ไมโครโมลาร์	110.3
PA 1 ไมโครโมลาร์ + กรดไลโนเลอิก 10 ไมโครโมลาร์	152.2
DHA 10 ไมโครโมลาร์	105.1
กรดไลโนเลอิก 10 ไมโครโมลาร์	111.8
DHA 10 ไมโครโมลาร์ + กรดไลโนเลอิก 10 ไมโครโมลาร์	129.8
กรดโอเลอิก 10 ไมโครโมลาร์	102.6
กรดไลโนเลอิก 1 ไมโครโมลาร์	99.3
กรดโอเลอิก 10 ไมโครโมลาร์ + กรดไลโนเลอิก 1 ไมโครโมลาร์	89.5

5 ผลในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าการรวมกันอย่างเฉพาะเจาะจงของกรดปิโตรเซลินิก หรือ DHA กับ ตัวกระตุ้นลิพิด PPAR แอลฟา (การรวมกันอยู่ภายในขอบเขตของการประดิษฐ์นี้) จะช่วยส่งเสริมอย่างเสริม กันอย่างน่าประหลาดใจในการสังเคราะห์โปรคอลลลาเจน-I ในเดอร์มอลไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ ซึ่งเป็น มาร์กเกอร์ (marker) ด้านการแก่ชราที่เป็นที่รู้จัก ในทางตรงกันข้าม การรวมกันของกรดโอเลอิก (ซึ่งเป็นลิพิด ซึ่งเกี่ยวข้องกับอย่างใกล้ชิดทางโครงสร้างกับกรดปิโตรเซลินิก) และตัวกระตุ้นลิพิด PPAR แอลฟา (การรวมกัน ที่นอกเหนือขอบเขตของการประดิษฐ์นี้) ไม่ได้แสดงผลแบบเสริมกันดังกล่าว

การเร่งหรือการรักษาของระดับของโปรคอลลลาเจน-I ในผิวหนังเกี่ยวข้องกับประโยชน์ในการด้านการ แก่ชราของผิวหนังมากมาย เช่น การบางลงของรอยย่น และการซ่อมแซมผิวหนังที่ถูกทำลายด้วยแสง ตัวอย่างที่ 3

10 สูตรผสมข้างล่างได้บรรยายถึงครีมชนิดน้ำมันในน้ำที่เหมาะสมสำหรับวิธีการและการใช้ตามการ ประดิษฐ์นี้ เปอร์เซ็นต์ที่แสดงเป็นโดยน้ำหนักขององค์ประกอบ

	เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก	เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก	เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนัก
น้ำมันแร่	4	4	4
15 กรดปิโตรเซลินิก (ไตรกลีเซอไรด์) จาก NU Check Prep	1.15	2	3
ไตรกลีเซอไรด์ของกรดไลโนเลอิก จาก NU Check Prep	0	2	0
20 ไตรกลีเซอไรด์ของกรดไลโนเลนิก จาก NU Check Prep	0	0	3
25 ไตรกลีเซอไรด์ของกรดคอนจูเกตเตดไลโนเลอิก จาก Loders Croklaan	0.5	0	0
บริจ 56*	4	4	4
แอลฟอล 16RD*	4	4	4
ไตรเอทานอลามีน	0.75	0.75	0.75
บิวเทน-1,3-ไดออล	3	3	3

แซนแรนแกม	0.3	0.3	0.3
สารให้ความหอม	ที่เพียงพอ	ที่เพียงพอ	ที่เพียงพอ
บิวทิลเตตไฮดรอกซีโทลูอีน	0.01	0.01	0.01
น้ำ	จนครบ 100	จนครบ 100	จนครบ 100

5 \*บริจ 56 คือ ซีทิลแอลกอฮอล์ POE (10)

\*แอลพอล 16RD คือ ซีทิลแอลกอฮอล์

ตัวอย่างที่ 4

ในองค์ประกอบของตัวอย่างที่ 3 ข้างบน แทนที่กรดปิโตรเซลีนิก (ไตรกลีเซอไรด์) ด้วย DHA (ไตรกลีเซอไรด์) จาก NU Check Prep

10 ตัวอย่างที่ 5

สูตรผสมข้างล่างได้บรรยายถึงครีมนิมัลชันตามการประดิษฐ์นี้

ชื่อเต็มทางเคมี หรือชื่อ CTFA	ชื่อทางการค้า	เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก	เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก	เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก
น้ำมันจากเมล็ดผักชี จาก Loders Croklaan (PA ไตรกลีเซอไรด์ 60-75 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันทั้งหมด)		2.0	3	1.5
น้ำมันจากเมล็ดบอระจ จากบรูคส์		1	0	0
เซียบัตเตอร์ จากแคปปิตอลซีดี		0	2	
น้ำมันอีพีนิงพริมโรส จากบรูคส์		0	0	1.5
ไดโซเดียม EDTA	ซีควอสเตริน Na2	0.05	0.05	0.05
แมกนีเซียมอะลูมิเนียมซิลิเกต	วิกัม อัลตรา	0.6	0.6	0.6
เมธิลพาราเบน	เมธิลพาราเบน	0.15	0.15	0.15
ไซเมธิโคน	DC แอนตี้โฟม อิมัลชัน	0.01	0.01	0.01
บิวทิลีนไกลคอล 1,3	บิวทิลีนไกลคอล 1,3	3.0	3.0	3.0

25



	ไฮดรอกซีเอธิลเซลลูโลส	นาโทรซอล 250HHR	0.5	0.5	0.5
	กลีเซอริน USP	กลีเซอริน USP	2.0	2.0	2.0
	แซนแทนกัม	เคลทรอล 1000	0.2	0.2	0.2
5	ไตรเอทานอลามีน	ไตรเอทานอลามีน (99 เปอร์เซ็นต์)	1.2	1.2	1.2
	กรดสแตียริก	พริสเตอร์รีน 4911	3.0	3.0	3.0
	โพรพิลพาราเบน NF	โพรพิลพาราเบน NF	0.1	0.1	0.1
	กลีเซอรอลไฮโดรเจนเตตระเรท	เนเจอร์เค็ม GMHS	1.5	1.5	1.5
	สเตียริลแอลกอฮอล์	ลาเนท 18 DEO	1.5	1.5	1.5
10	ไอโซสเตียริลปาล์มิเตท	โปรทาเค็ม ISP	6.0	6.0	6.0
	C12-C15 แอลกอฮอล์ออกตะโนเอท	อีเทสเตอร์ FAO	3.0	3.0	3.0
	ไดเมทริกอน	ซิลิโคนฟลูอิด 200 (50cts)	1.0	1.0	1.0
15	คอเลสเตรอล NF	คอเลสเตรอล NF	0.5	0.5	0.5
	ซอร์บิทานเตเตเรท	ซอร์บิทานเตเตเรท	1.0	1.0	1.0
	บิวทิลเตเตไฮดรอกซีโทลูอีน	อบบานอกซ์ BHT	0.05	0.05	0.05
	โทโคเฟอรอลอะซีเตท	วิตามิน E อะซีเตท	0.1	0.1	0.1
	PEG-100 สเตเตเรท	ไมร์จ 59	2.0	2.0	2.0
20	ไซเตียมสเตียโรลแลคทิล	แพทไฮอนิก SSL	0.5	0.5	0.5
	กรดไฮดรอกซีคาพริลิก	กรดไฮดรอกซีคาพริลิก	0.1	0.1	0.1
	แอลฟา-ไบซาโบลอล	แอลฟา-ไบซาโบลอล	0.2	0.2	0.2
25	น้ำ DI		ปริมาณที่ เพียงพอจน ครบ 100	ปริมาณที่ เพียงพอจน ครบ 100	ปริมาณที่ เพียงพอจน ครบ 100

ตัวอย่างที่ 6

5 ในองค์ประกอบของตัวอย่างที่ 5 ข้างบน แทนที่น้ำมันจากเมล็ดฝักซีด้วยน้ำมันปลาจากกรด  
องค์ประกอบเฉพาะที่ข้างต้นทำให้ได้การปฏิบัติทางเครื่องสำอางที่มีประสิทธิผลเพื่อปรับปรุง  
ลักษณะที่ปรากฏของผิวหนังที่มีรอยย่น ที่แก่ชรา หรือที่ถูกทำลายด้วยแสง เมื่อใช้กับผิวหนังปกติซึ่งสูญเสีย  
ความเรียบและความแน่นผ่านกระบวนการแก่ชราตามปกติ หรือเมื่อใช้กับผิวหนังที่อ่อนเยาว์เพื่อช่วยป้องกัน  
หรือชะลอการเปลี่ยนแปลงที่ไม่พึงปรารถนา องค์ประกอบสามารถถูกดำเนินการได้ในวิธีแบบดั้งเดิม

วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

เหมือนกับที่ได้เปิดเผยไว้ในข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถือสิทธิ

1. องค์ประกอบเฉพาะที่สำหรับปฏิบัติต่อการแก่ชราของผิวหนังที่ประกอบด้วย
  - (a) ลิพิด (lipid) ชนิดที่หนึ่งที่เลือกจากกลุ่มที่ประกอบด้วยกรดปิโตรเซลินิก (petroselinic acid) และอนุพันธ์ของสารดังกล่าว
  - 5 (b) ลิพิดชนิดที่สองที่เลือกจากกลุ่มที่ประกอบด้วยกรดไลโนเลอิก (linoleic acid) กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลอิก (conjugated linoleic acid) และของผสมของสารดังกล่าว และ
  - (c) สารพาหะที่ยอมรับได้เกี่ยวกับผิวหนัง
2. องค์ประกอบเฉพาะที่ตามข้อถือสิทธิข้อ 1 ที่ซึ่งลิพิดชนิดที่สองดังกล่าวมีอยู่ในปริมาณ 0:1 เปอร์เซ็นต์ ถึง 5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักขององค์ประกอบ
- 10 3. องค์ประกอบเฉพาะที่ตามข้อถือสิทธิข้อ 1 หรือข้อถือสิทธิข้อ 2 ที่ซึ่งลิพิดชนิดที่สองดังกล่าวคือ กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลอิก (c9, t11), กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลอิก (t10, c12), กรดคอนจูเกตเตดไลโนเลอิก (t9, t11) หรือกรดคอนจูเกตเตดไลโนเลอิก (ของผสม 50:50 ของ c9, t11 และ t10, c12)
4. องค์ประกอบเฉพาะที่ตามข้อถือสิทธิข้อใดข้อหนึ่งก่อนหน้านี ที่ซึ่งลิพิดชนิดที่สองดังกล่าวอยู่ในรูปอิสระ (free) และรูปที่ไม่ถูกคอนจูเกต (unconjugated)
- 15 5. องค์ประกอบเฉพาะที่ตามข้อถือสิทธิข้อ 1 ที่ซึ่งองค์ประกอบถูกจัดให้ในรูปของชุดคิด (kit) ที่ประกอบด้วยสององค์ประกอบที่แยกกัน องค์ประกอบที่หนึ่งประกอบด้วยลิพิดชนิดที่หนึ่งดังกล่าว และองค์ประกอบที่สองที่ประกอบด้วยลิพิดชนิดที่สองดังกล่าว

**บทสรุปการประดิษฐ์**

องค์ประกอบเฉพาะที่ที่ประกอบด้วย

(a) ลิพิด (lipid) ชนิดที่หนึ่งที่เลือกจากกรดปีโตรเซลินิก (petroselinic acid) และ/หรือกรดโดโคเฮกซะอีโนอิก (docohexaenoic acid) และ/หรือ อนุพันธ์ของสารดังกล่าว

5 (b) ลิพิดชนิดที่สองซึ่งเป็นตัวกระตุ้นของเปอร์ออกซิโซมโพรลิเฟอเรเตอร์ (peroxisome proliferator) ที่กระตุ้นรีเซพเตอร์ชนิดย่อยแอลฟา และ/หรือ อนุพันธ์ของสารดังกล่าว และ/หรือ ของผสมของสารดังกล่าว

(c) สารพาหะที่ยอมรับได้เกี่ยวกับผิวหนัง

ที่มีเงื่อนไขว่าลิพิดชนิดที่หนึ่งและชนิดที่สองไม่เป็นลิพิดชนิดเดียวกัน

10 องค์ประกอบถูกใช้ประโยชน์เป็นครีมและโลชั่นดูแลผิวสำหรับต้านการแก่ชราในทางเครื่องสำอาง