(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 109310598 B
(45)授权公告日 2022.04.19

(21)申请号 201780035127.9
(22)申请日 2017.04.27
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109310598 A
(43)申请公布日 2019.02.05
(30)优先权数据
2016-100903 2016.04.27 JP
2016-091063 2016.04.28 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.12.06
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2017/016783 2017.04.27
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/188393 JA 2017.11.02
(73)专利权人 小林制药株式会社
地址 日本大阪
(72)发明人 田中公辅 河崎美保子 富裕孝 辻孝
(74)专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所有限公司 11038
代理人 于巧玲
(51)Int.Cl.
A61K 8/34(2006.01)
A61K 31/047(2006.01)
A61P 17/14(2006.01)
A61Q 7/00(2006.01)
(56)对比文件
JP 2006028026 A,2006.02.02
US 2008138379 A1,2008.06.12
US 2002032177 A1,2002.03.14
US 2002143039 A1,2002.10.03
US 2002143039 A1,2002.10.03
审查员 王心灵
权利要求书1页 说明书12页 附图8页

(54)发明名称

育毛剂

(57)摘要

本发明涉及育毛剂,其为作为优异的育毛剂所提供的、包含手性肌醇的外用剂。

CN 109310598 B

1.D-手性肌醇在制备用于促进毛干生长或生毛发的育毛剂中的应用,所述应用不包含用于与胰岛素抵抗性关联的脱毛。

2.根据权利要求1所述应用,其用于提高毛干伸长速度。

3.根据权利要求1所述的应用,其用于提高毛干最大长度。

4.根据权利要求1所述的应用,其用于增大毛干直径。

5.根据权利要求1所述的应用,其用于增加毛发数。

6.根据权利要求1或5所述的应用,其用于促进从生毛发已停止或生毛发能力已降低的毛孔生出新的毛发。

7.根据权利要求1或5所述的应用,其用于缩短毛发周期中的休止期。

8.根据权利要求1或5所述的应用,其用于使停止的毛发周期再开始。

9.根据权利要求1所述的应用,其用于人的头发。

10.D-手性肌醇在制备用于育毛方法的育毛剂中的应用,所述应用不包含用于与胰岛素抵抗性关联的脱毛。

11.权利要求1或10所述的应用,其中,相对于前述育毛剂全体,D-手性肌醇的含量为0.001～20重量%。

12.权利要求1或10所述的应用,其中,相对于前述育毛剂全体,D-手性肌醇的含量为0.01～10重量%。

13.权利要求1或10所述的应用,其中,前述育毛剂为溶液。

育毛剂

技术领域

[0001] 本发明涉及育毛剂。更详细地说，涉及作为包含手性肌醇的外用剂 的育毛剂。

背景技术

[0002] 作为高龄化和压力社会的反映，育毛剂的需求在增大。一般地，毛 发反复进行着与毛母细胞的分裂相伴的从毛乳头的伸长、随着毛母细胞 的分裂的停止毛发被向上顶出而使毛根和毛乳头分离的脱落的循环(毛 发周期)。毛发周期由毛根和毛干伸长的生长期，随着毛母细胞的分裂 停止、伸长衰减毛根与毛乳头的结合松弛的退化期，和毛脱落、毛乳头 休止的休止期组成。在毛发周期中，在休止期至生长期的期间形成新的 毛囊。

[0003] 肌醇(1,2,3,4,5,6-环己六醇)是具有环己烷的各碳上的氢原子各 自被1个羟基取代的结构、已知作为维生素样作用物质的化合物。在肌 醇中，根据羟基的立体构型的组合，存在9种立体异构体。作为医药品、 准药品的添加物，以肌醇(inositol)(肌醇(inosit))的名称使用了 肌-肌醇(顺式-1,2,3,5-反式-4,6-环己六醇)(非专利文献1～3)。针对以肌醇作为成分的育毛剂进行了报道(专利文献1)。另外，提高 胰岛素感受性的物质(ISIS)可用于与胰岛素抵抗性关联的脱毛的处置，作为具体的例子，报道了二甲双胍和曲格列酮在肥胖小鼠中预防脱毛或 者延迟脱毛的进行(专利文献2)。

[0004] 现有技术文献

[0005] 专利文献

[0006] 专利文献1:日本特开2006-28026号公报

[0007] 专利文献2:国际公开第2001/062237号说明书

[0008] 非专利文献

[0009] 非专利文献1:准药品原料规格2006综合版，药事日报社，第318 页

[0010] 非专利文献2:医药品添加物规格2003，药事日报社，第101-102 页

[0011] 非专利文献3:医药品添加物事典2000，药事日报社，第26页

发明内容

[0012] 发明要解决的课题

[0013] 本发明的目的在于提供具有优异的育毛作用的育毛剂。

[0014] 用于解决课题的手段

[0015] 本发明人为了解决上述课题而反复认真研究，结果发现在肌醇的立 体异构体内只有手性肌醇具有优异的育毛活性，完成了本发明。

[0016] 即，本发明提供以下的发明。

[0017] [1]育毛剂，其为包含手性肌醇的外用剂。

[0018] [2][1]所述的育毛剂，其中，手性肌醇为D体。

[0019] [3][1]或[2]所述的育毛剂，其中，相对于全体，手性肌醇的含量 为0.001～20重量%。

[0020] [4][1]～[3]中任一项所述的育毛剂,其中,相对于全体,手性肌 醇的含量为0.01～10重量%。

[0021] [5][1]～[4]中任一项所述的育毛剂,其用于促进毛干生长或生毛 发。

[0022] [6][1]～[5]中任一项所述的育毛剂,其用于提高毛干伸长速度。

[0023] [7][1]～[5]中任一项所述的育毛剂,其用于提高毛干最大长度。

[0024] [8][1]～[5]中任一项所述的育毛剂,其用于增大毛干直径。

[0025] [9][1]～[5]中任一项所述的育毛剂,其用于增加毛发数。

[0026] [10][1]～[5]和[9]中任一项所述的育毛剂,其用于促进从生毛发 已停止或生毛发能力已降低的毛孔生出新的毛发。

[0027] [11][1]～[5]、[9]和[10]中任一项所述的育毛剂,其用于缩短毛 发周期中的休止期。

[0028] [12][1]～[5]、[9]和[10]中任一项所述的育毛剂,其用于使已停 止的毛发周期再开始。

[0029] [13][1]～[12]中任一项所述的育毛剂,其为溶液。

[0030] [14][1]～[13]中任一项所述的育毛剂,其用于人的头发。

[0031] [15]育毛方法,包括将[1]～[14]中任一项所述的育毛剂施用于对 象。

[0032] 发明的效果

[0033] 根据本发明,提供优异的育毛剂。

附图说明

[0034] 图1为表示包含D-手性肌醇(10重量%)的50%乙醇水溶液的涂布 后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干 长度(mm),横轴表示天数。应予说明,第一毛发周期表示涂布了不含 药剂的50%乙醇水溶液的标准数据。

[0035] 图2为表示包含D-手性肌醇(5重量%)的50%乙醇水溶液的涂布后 的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长 度(mm),横轴表示天数。应予说明,第一毛发周期表示涂布了不含药 剂的50%乙醇水溶液的标准数据。

[0036] 图3为表示包含D-手性肌醇(1重量%)的50%乙醇水溶液的涂布后 的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长 度(mm),横轴表示天数。应予说明,第一毛发周期表示涂布了不含药 剂的50%乙醇水溶液的标准数据。

[0037] 图4为表示包含D-手性肌醇(0.1重量%)的50%乙醇水溶液的涂布 后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干 长度(mm),横轴表示天数。应予说明,第一毛发周期表示涂布了不含 药剂的50%乙醇水溶液的标准数据。

[0038] 图5为表示包含D-手性肌醇(0.01重量%)的50%乙醇水溶液的涂 布后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛 干长度(mm),横轴表示天数。应予说明,第一毛发周期表示涂布了不 含药剂的50%乙醇水溶液的标准数据。

[0039] 图6为表示包含L-手性肌醇(5重量%)的50%乙醇水溶液的涂布后 的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长 度(mm),横轴表示天数。应予说明,第一毛发周期表示涂布了不含药 剂的50%乙醇水溶液的标准数据。

[0040] 图7为表示包含肌-肌醇(5重量%)的50%乙醇水溶液的涂布后的、小鼠的药剂涂

布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长度 (mm)，横轴表示天数。应予说明，第一毛发周期表示涂布了不含药剂 的50％乙醇水溶液的标准数据。

[0041] 图8为表示包含肌-肌醇(1重量％)的50％乙醇水溶液的涂布后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长度 (mm)，横轴表示天数。应予说明，第一毛发周期表示涂布了不含药剂 的50％乙醇水溶液的标准数据。

[0042] 图9为表示包含异-肌醇(5重量％)的50％乙醇水溶液的涂布后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长度 (mm)，横轴表示天数。应予说明，第一毛发周期表示涂布了不含药剂 的50％乙醇水溶液的标准数据。

[0043] 图10为表示包含异-肌醇(1重量％)的50％乙醇水溶液的涂布后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长度 (mm)，横轴表示天数。应予说明，第一毛发周期表示涂布了不含药剂 的50％乙醇水溶液的标准数据。

[0044] 图11为表示包含表-肌醇(5重量％)的50％乙醇水溶液的涂布后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长度 (mm)，横轴表示天数。应予说明，第一毛发周期表示涂布了不含药剂 的50％乙醇水溶液的标准数据。

[0045] 图12为表示包含表-肌醇(1重量％)的50％乙醇水溶液的涂布后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长度 (mm)，横轴表示天数。应予说明，第一毛发周期表示涂布了不含药剂 的50％乙醇水溶液的标准数据。

[0046] 图13为表示包含粘质-肌醇(5重量％)的50％乙醇水溶液的涂布后 的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长度(mm)，横轴表示天数。应予说明，第一毛发周期表示涂布了不含药剂的50％乙醇水溶液的标准数据。

[0047] 图14为表示包含鲨-肌醇(5重量％)的50％乙醇水溶液的涂布后的、小鼠的药剂涂布部位的毛干长度的变化的曲线图。纵轴表示毛干长度 (mm)，横轴表示天数。应予说明，第一毛发周期表示涂布了不含药剂 的50％乙醇水溶液的标准数据。

[0048] 图15为表示作为包含D-手性肌醇(1重量％)的50％乙醇水溶液的 试验液涂布组的C57BL/6N小鼠和涂布了50％乙醇水溶液的阴性对照组 的C57BL/6N小鼠中的、在涂布第21日的拔毛区域生出的体毛的毛干直 径的图。纵轴表示毛干直径。＊＊表示以p＜0.01显著。

[0049] 图16为表示作为包含D-手性肌醇(5重量％)的50％乙醇水溶液的 试验液涂布组的C3H/He小鼠和涂布了50％乙醇水溶液的阴性对照组的 C3H/He小鼠中的、生毛发评分的经时的变化的曲线图。纵轴表示生毛发 评分的合计，横轴表示除毛后的天数。＊表示以p＜0.05显著。

[0050] 图17为表示作为包含D-手性肌醇(5重量％)的50％乙醇水溶液的 试验液涂布组的C3H/He小鼠和涂布了50％乙醇水溶液的阴性对照组的 C3H/He小鼠中的、生毛发的时间日程的图。纵轴表示生毛发评分为1 以上的除毛后的天数。＊表示以p＜0.05显著。

[0051] 图18为表示以将D-手性肌醇添加到毛乳头培养培养基中而成的试 验液A(最终浓度0.1重量％)、将肌-肌醇添加到毛乳头培养培养基中 而成的试验液B(最终浓度0.1重量％)和只将PBS添加到毛乳头培养培 养基中而成的阴性对照作为培养基、采用平面培养法进行的毛乳头细胞 的增殖试验的结果的图。纵轴表示与阴性对照比较的细胞增殖率(％)。＊表示以p＜0.05显著。

[0052] 图19为表示以将D-手性肌醇添加到毛乳头培养培养基中而成的试验液A1～A3(最终浓度0.05、0.1和1重量%)、将肌-肌醇添加到毛乳头培养培养基中而成的试验液B1～B3(最终浓度0.05、0.1和1重量%) 和只将PBS添加到毛乳头培养培养基中而成的阴性对照作为培养基、采用三维培养法进行的毛乳头细胞的增殖试验的结果的图。纵轴表示与阴性对照比较的毛乳头细胞的细胞块(球体)的面积增加率(%)。*表 示以p＜0.05显著，**表示以p＜0.01显著。

具体实施方式

[0053] 以下对本发明的育毛剂进行说明。

[0054] 本发明的育毛剂是作为包含手性肌醇的外用剂的育毛剂。

[0055] 本发明中的手性肌醇可以是从天然存在的荞麦、豆类、柑橘类等提 取的手性肌醇，也可以是从采用发酵法用豆科植物等生成的产物中提取 的手性肌醇，还可以是化学合成的手性肌醇。也可通过购入而得到。

[0056] 相对于育毛剂全体，本发明的育毛剂中的手性肌醇的含量例如为 0.001～20重量%，具体地为0.01～10重量%，更具体地为0.1～10重量%。

[0057] 更具体地，相对于育毛剂全体，本发明的育毛剂中的手性肌醇的含 量为0.3～5重量%，更具体地为0.5～3重量%，最具体地为0.7～1重 量%。

[0058] 本发明的育毛剂能够作为外用的医药品、准药品、化妆品(包含头 发用化妆品和头皮用化妆品)等使用。例如能够作为软膏、外敷软膏、 擦剂、洗液、外用液剂、散布剂、乳霜、凝胶、乳液、生发液、喷发剂 等使用，但并不限定于这些。

[0059] 本发明的育毛剂除了包含手性肌醇作为有效成分以外，可含有在医 药品、准药品、化妆品(包含头发用化妆品和头皮用化妆品)等中通常 所容许的添加物等其他成分。作为添加物等其他成分，例如可列举出赋 形剂、稳定剂、调味剂、基剂、分散剂、稀释剂、表面活性剂、乳化剂、 经皮吸收促进剂、pH调节剂、保存剂、着色剂、油分(油脂、矿物油等)、 保湿剂、醇、增粘剂、聚合物、被膜形成剂、紫外线吸收剂、细胞活化 剂、抗氧化剂、防腐剂、清凉剂、除臭剂、颜料、染料、香料、糖类、 氨基酸类、维生素类、有机酸、有机胺、植物提取物等，但并不限定于 这些。

[0060] 本发明的育毛剂可含有具有生毛发、育毛发、养毛发等效果的公知 的成分。

[0061] 本发明的育毛剂的每一次施用的手性肌醇的施用量例如为0.005～ 200mg，具体地为0.05～100mg，更具体地为0.5～10mg。

[0062] 本发明的育毛剂的施用次数例如为每1天1～6次，具体地为每1 天1～3次，更具体地为每1天1～2次。

[0063] 本发明的育毛剂涉及促进毛干生长、生毛发和防脱毛发，优选涉及 促进毛干生长和生毛发。

[0064] 本说明书中，“促进毛干生长”意指提高毛干伸长速度、提高毛干 最大长度、和/或增大毛干直径。

[0065] 本说明书中，“生毛发”意指促进从尚未生毛发(毛干尚未从表皮 向外出来)或在毛发数少的部位生毛发已停止或生毛发能力已降低的毛 孔，生出新的毛发而使毛发数增加，详细地说，意指缩短毛发周期中的 休止期和/或使已停止的毛发周期再开始。

[0066] 本说明书中，“具有毛干生长促进效果”意指对促进毛干生长有利 地发挥作用，将显示出毛干生长促进效果的特质称为“毛干生长促进活 性”。另外，“具有生毛发效果”意指对生毛发有利地发挥作用，将显 示生毛发效果的特质称为“生毛发促进活性”。

[0067] 本说明书中，“脱毛发”意指毛干从毛孔脱落的现象，详细地说， 意指阻碍细胞增殖的抑制性细胞因子等的增加和它们的细胞死亡。将显 示出防脱毛发效果的特质称为“防脱毛发活性”。另外，“具有防脱毛 发效果”意指经由抑制细胞因子的阻害或减少以及细胞死亡的抑制，毛 干从毛孔的脱落数减少，是与显示出促进毛干生长、生毛发效果的特质 不同的生理现象。本发明的育毛剂对于不是胰岛素抵抗性的使用者也取 得防脱毛发的效果。

[0068] 本发明的育毛剂能够用于提高毛干伸长速度或毛干最大长度。关于 毛干伸长速度，与毛发周期的标准数据中的毛干伸长速度相比，例如能 够最大提高110％左右，具体地，能够提高25～110％左右，更具体地， 能够提高33～110％左右。关于毛干最大长度，与毛发周期的标准数据中 的毛干最大长度相比，例如能够最大提高49％左右，具体地，能够提高 1～49％左右，更具体地，能够提高2～49％左右。

[0069] 本发明的育毛剂能够用于增大毛干直径。

[0070] 本发明的育毛剂能够用于促进从尚未生毛发(毛干尚未从表皮向外 出来)或在毛发数少的部位生毛发已停止或生毛发能力已降低的毛孔， 生出新的毛发而使毛发数增加，详细地说，能够用于缩短毛发周期中的 休止期和/或使已停止的毛发周期再开始。

[0071] 在一个方案中，本发明的育毛剂不包含应用于例如与胰岛素抵抗性 关联的脱毛。

[0072] 本发明的育毛剂除了人以外，也能够用于家畜·供玩赏的动物等动 物。在本发明的一个方面，提供育毛方法(不包括医疗行为)，包括将 包含手性肌醇的外用剂施用于对象。

[0073] 实施例

[0074] 实施例1 D-手性肌醇的育毛活性评价(1)

[0075] 将有毛小鼠的毛囊(采用外科的方法制备)移植于裸小鼠(由Sankyo Labo Service Corporation获得)的背部，制作以能够判断1根1根的 毛发、能够多次观察毛发周期的方式加工的移植小鼠。

[0076] 首先，在第一毛发周期的生毛发时，将50％乙醇水溶液(12.5μl) 每1天涂布4次(不含药剂)，得到了毛发周期的标准数据。第一毛发 周期结束，毛发脱落后，在第二毛发周期的生毛发时将以规定的量包含 药剂的50％乙醇水溶液(12.5μl)每1天涂布4次，得到了药剂作用的 数据。在第二毛发周期结束、毛发脱落后，在第三毛发周期的生毛发时， 与第二毛发周期中的情形同样地涂布含有与第二毛发周期中的情形相 同的量的药剂的50％乙醇水溶液(12.5μl)，得到药剂作用的再现性的 数据。

[0077] 就药剂而言，使用了以下的药剂：D-手性肌醇(和光纯药工业制造) 以及作为手性肌醇的立体异构体的L-手性肌醇(东京化成工业制造)、肌-肌醇(和光纯药工业制造)、异-肌醇(顺式-1,2,3,4-反式-5,6-环 己六醇)(东京化成工业制造)、表-肌醇(顺式-1,2,3,4,5-反式-6- 环己六醇)(东京化成工业制造)、粘质-肌醇(顺式-1,2,4,5-反式-3,6- 环己六醇)(东京化成工业制造)和鲨-肌醇(顺式-1,3,5-反式-2,4,6- 环己六醇)(东京化成工业制造)。

[0078] 对于每个药剂，每隔2～3日计量毛干的长度，将经日变化的各时 刻的毛干的长度

的平均值作为1个点,绘图,将同样的绘图重复3～4 只的份。将结果示于表1～14和图1～14中。

[0079] 【表1】

[0080] 表1.D-手性肌醇(10重量%)的结果

[0081]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.30±0.02	0.46±0.06**	0.63±0.05**
相对于标准数据之比	-	154%	210%
毛干最大长度（mm）	4.0±0.5	5.6±0.5**	5.9±0.5**
相对于标准数据之比	-	142%	149%

[0082] 【表2】

[0083] 表2.D-手性肌醇(5重量%)的结果

[0084]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.36±0.05	0.46±0.04*	0.49±0.07*
相对于标准数据之比	-	128%	136%
毛干最大长度（mm）	4.4±0.3	5.1±0.3**	5.1±0.4**
相对于标准数据之比	-	116%	116%

[0085] 【表3】

[0086] 表3.D-手性肌醇(1重量%)的结果

[0087]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.39±0.01	0.47±0.01**	0.48±0.04*
相对于标准数据之比	-	121%	123%
毛干最大长度（mm）	5.1±0.4	5.7±0.4**	6.0±0.4**
相对于标准数据之比	-	110%	116%

[0088] 【表4】

[0089] 表4.D-手性肌醇(0.1重量%)的结果

[0090]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.30±0.03	0.30±0.03	0.40±0.06
毛干最大长度（mm）	4.6±0.5	4.7±0.4	4.8±0.4**
相对于标准数据之比	-	101%	105%

[0091] 【表5】

[0092] 表5.D-手性肌醇(0.01重量%)的结果

[0093]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.30±0.03	0.30±0.03	0.40±0.06
毛干最大长度（mm）	4.6±0.3	4.8±0.4	4.7±0.3

[0094] 【表6】

[0095] 表6.L-手性肌醇(5重量%)的结果

[0096]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.35±0.07	0.33±0.08	0.33±0.13
毛干最大长度（mm）	5.1±0.3	4.9±0.7	4.8±0.8

[0097] 【表7】

[0098] 表7.肌-肌醇(5重量%)的结果

[0099]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.37±0.02	0.37±0.05	0.39±0.06
毛干最大长度（mm）	4.6±0.4	4.6±0.5	4.7±0.5

[0100] 【表8】

[0101] 表8.肌-肌醇(1重量%)的结果

[0102]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.40±0.09	0.45±0.03	0.44±0.08
毛干最大长度（mm）	4.9±0.5	4.9±0.5	5.0±0.5

[0103] 【表9】

[0104] 表9.异-肌醇(5重量%)的结果

[0105]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.43±0.05	0.43±0.02	0.40±0.03
毛干最大长度（mm）	5.6±0.3	5.5±0.3	5.5±0.8

[0106] 【表10】

[0107] 表10.异-肌醇(1重量%)的结果

[0108]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.40±0.02	0.37±0.03	0.40±0.04

[0109]

毛干最大长度（mm）	5.1±0.4	5.0±0.5	5.2±0.5

[0110] 【表11】

[0111] 表11.表-肌醇(5重量%)的结果

[0112]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.32±0.06	0.33±0.09	0.32±0.09
毛干最大长度（mm）	4.7±0.7	4.7±0.6	4.5±0.6

[0113] 【表12】

[0114] 表12.表-肌醇(1重量%)的结果

[0115]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.45±0.03	0.43±0.06	0.45±0.09
毛干最大长度（mm）	5.2±0.3	5.2±0.3	5.3±0.4

[0116] 【表13】

[0117] 表13.粘质-肌醇(5重量%)的结果

[0118]

	标准数据（第一毛发周期）	药剂作用的数据(第二毛发周期)	药剂作用的再现性的数据（第三毛发周期）
毛干生长速度（mm/天）	0.33±0.07	0.35±0.03	0.36±0.10
毛干最大长度（mm）	5.0±0.3	4.9±0.3	5.1±0.3

[0119] 【表14】

[0120] 表14.鲨-肌醇(5重量%)的结果

[0121]

	标准数据(第一毛发周期)	药剂作用的数据（第二毛发周期）	药剂作用的再现性的数据(第三毛发周期)
毛干生长速度（mm/天）	0.36±0.07	0.35±0.09	0.35±0.09
毛干最大长度（mm）	4.4±0.5	4.4±0.3	4.4±0.5

[0122] 表1～14中，*表示以p＜0.05显著，**表示以p＜0.01显著。

[0123] 由表1～3和图1～3可以看到，以10重量%、5重量%和1重量%含 有D-手性肌醇作为药剂的情况下，与标准数据相比，毛干生长速度和毛 干最大长度都显著地提高，确认了育毛活性。另一方面，由表4和图4 可以看到，在以0.1重量%含有D-手性肌醇作为药剂的情况下，与标准 数据相比，虽然在毛干生长速度上没有发现显著差异，但在第三毛发周 期中毛干最大长度显著地提高。由此，至少在对毛干长度发挥正向作用 的方面，以0.1重量%含有D-手性肌醇的情况下也确认了育毛活性。另 外，由表5和图5可以看到，在以0.01重量%含有D-手性肌醇作为药剂 的情况下，与标准数据相比，在本实验中毛干生长速度和毛干最大长度 都为显著的倾向。因此，暗示D-手性肌醇的育毛活性的有效下限用D- 手性肌醇的含量表示，为0.001重量%至0.01重量%之间。

[0124] 对于手性肌醇的立体异构体，由表6～14和图6～14可以看到，在 各自含有5重量%的L-手性肌醇、含有5重量%或1重量%的肌-肌醇、含 有5重量%或1重量%的异-肌醇、含有5重量%或1重量%的表-肌醇、含 有5重量%的粘质-肌醇以及含有5重量%的鲨-肌醇的所有情形下，与标 准数据相比，在本实验中对毛干生长速度和毛干最大长度都没有发现显 著差异，未确认有育毛活性。

[0125] 实施例2 D-手性肌醇的育毛活性评价(2)

[0126] 从毛干直径(粗度)的增大的观点出发，进行了D-手性肌醇的育毛 活性的评价。

[0127] 就C57BL6/N小鼠而言，可知如果对背部体毛进行拔毛，则强制地 使拔毛区域的毛发周期过渡到退化期，结果使拔毛区域的毛发周期同期 化。因此，可以抑制毛发周期的偏差，只观察生长期的毛发。在拔毛后 用7天左右，作为生长期的征兆，除了具有色素的毛发的生成以外，随 着毛囊中的黑色素细胞开始合成黑色素，观察到皮肤变为灰色的样子。进而，在拔毛后用10天左右，确认了拔毛区域中的生毛发，在拔毛后 用21天左右，不再能够看

到拔毛区域与非拔毛区域的边界线，过渡到 退化期，毛干生长停止。因此，可通过测定拔毛后21天左右的在拔毛 区域中生长的体毛的毛干直径，从而从毛干直径的增大的观点出发对育 毛活性进行评价。

[0128] 在本实施例中，对C57BL/6N小鼠(7周龄、雌性)的背部体毛进行 拔毛，将溶解于50％乙醇的浓度1重量％的D-手性肌醇(和光纯药工业 制造)作为试验液，对于该拔毛区域历时21天进行了涂布(1次/天、100μl)。

[0129] 以1组6只进行涂布，用2组(试验液涂布组和阴性对照组(50％ 乙醇涂布组))实施，在涂布第21天用镊子获取涂布区域的毛干。每1 只获取20根左右，从由1组6只获取的毛干合计120根中随机地选出 10根，计量毛干直径。毛干直径通过在光学显微镜下的一个视野中计量 1根毛干的不同3处部位的直径，将其平均值作为每1根的直径，计算 为进行了同样的计量的10根毛干的平均值。将结果示于图15中。

[0130] 由图15可以看到，在涂布第21天，在试验液涂布组与阴性对照组 的毛干直径上发现显著的差异，试验液涂布组的毛干直径显著地大，由 此从毛干直径的增大的观点出发，也确认了D-手性肌醇的育毛活性。

[0131] 实施例3 D-手性肌醇的生毛发促进活性评价

[0132] 产生毛干的毛囊是已知终生唯一反复进行生长和退化的器官。作为 毛发周期，其规则的生长和退化分为生长期、退化期、休止期。C3H/He 小鼠的背部体毛在生后45～95天期间被限制在休止期，相比较于 C57BL/6N小鼠等通用的小鼠而言背部体毛的毛发周期为生长期、退化 期、休止期合计约21天，观察到非常长的休止期限制期。一般地，如 果毛囊进入生长期，则皮肤逐渐呈现灰色，然后慢慢地在皮肤上观察到 再生毛发，由此确认生毛发。因此，通过使用生后45～90天期间的 C3H/He小鼠，可对生毛发促进活性进行评价。

[0133] 在本实施例中，使用理发推子将毛发周期处于休止期的C3H/He小 鼠(日本SLC)(8周龄、雌性)的背部短毛化后，使用除毛剂将背部 体毛完全地除去(除毛)。空出24小时的恢复期间后，将在50％乙醇中 溶解的浓度5重量％的D-手性肌醇(和光纯药工业制造)作为试验液， 对该除毛区域历时21天进行了涂布(1次/天、100μl)。

[0134] 以1组5只进行涂布，用2组(试验液涂布组和阴性对照组(50％ 乙醇涂布组))实施，基于根据涂布区域中的脱离休止期而进入了再生 期的部分的外观变化的生毛发评分的标准(表15)，在除毛后0、4、5、 6、7、10、11、12、13、14、17、18、19、20、21天经时地将涂布区域 中的生毛发的程度数值化(将对于2个项目的生毛发评分合计得到的 0～10的范围)。数值越高，表示生毛发的程度越高。数值计算为1组 5只的评分的平均值。另外，将同样的试验实施3次，以天数算出除毛 后的生毛发时间日程，从与阴性对照相比的D-手性肌醇的毛发周期中的 休止期的缩短的观点出发，也验证了生毛发促进活性。将结果示于图16 和17。

[0135] 【表15】

[0136] 表15.根据外观变化的生毛发评分标准

[0137]

进入了生毛发期的部分的面积的比例		进入了生毛发期的部分的样子	
-	0	-	0
极少的一部分	1	浅灰色	1
~1/3	2	深灰色	2
1/3~2/3	3	~1/3生毛发毛干	3
几乎全部	4	~2/3生毛发毛干	4
全部	5	全部生毛发毛干	5

[0138] 由图16可以看到，在除毛后第21天，在试验液涂布组与阴性对照 组的生毛发评分上发现显著的差异，试验液涂布组的生毛发评分显著地 高，由此确认了D-手性肌醇的生毛发促进活性。

[0139] 另外，图17表示各个组的生毛发评分为1以上的生毛发时间日程 的除毛后的天数，阴性对照组的平均的生毛发时间日程为第9天，而在 试验液涂布组中为第4天，由此确认了D-手性肌醇的毛发周期中的休止 期的缩短。

[0140] 实施例4猿猴的生毛发试验

[0141] 作为人的模型动物，进行了使用了猿猴的生毛发试验。

[0142] 食蟹猕猴(Macaca fascicularis)是分类为哺乳纲灵长目长毛猴 科猕猴属的猿猴，颚关节的形态等类似于人的方面多，另外从繁殖和饲 养的容易性出发，多用作形态的研究、给药研究中的实验动物。已知食 蟹猕猴在1年期间以6个月的周期更换体毛，在反复生产的高龄雌猿猴 和社会地位低的高龄雄猿猴中确认有毛发少或毛发稀疏症状的个体低频率地出现。这些个体的毛发少或毛发稀疏的部位处于毛管尚未从毛孔 露出或者显著地短毛化或细毛化而无法用肉眼识别的状态。

[0143] 在本实施例中，使用头部体毛显示出毛发稀疏的高龄食蟹猕猴(19 岁、雄性)，将在50％乙醇中溶解的浓度1重量％的D-手性肌醇(和光 纯药工业制造)作为试验液A，将在50％乙醇中溶解的浓度1重量％的肌 -肌醇作为试验液B，对于同一个体头部的穿过正中线的左右约4平方厘 米(2厘米×2厘米)的毛发稀疏区域，连日实施涂布。进行8周涂布 (1次/天、150μl)，对于阴性对照涂布了50％乙醇。第8周结束时， 通过使用理发推子将该区域中的毛干从毛孔向体外方向剩余2～3mm地 剃掉，从而计算试验涂布区域中的由毛孔生毛发的毛发总数。算出将试 验开始时药剂涂布前的该区域中的从毛孔生毛发的毛发根数设为100％ 时的、第8周结束时的毛发根数的增加率，作为生毛发率。将结果示于 表16中。

[0144] 【表16】

[0145] 表16.猿猴的生毛发试验结果

[0146]

	阴性对照（50%乙醇）	试验液A（1重量%D-手性肌醇）	试验液B（1重量%肌-肌醇）
生毛发率（%）	109.5	175.9	107.1

[0147] 由表16可以看到，与试验液B和阴性对照相比，通过试验液A的 涂布，获得了显著

高的生毛发率，在猿猴中也确认了D-手性肌醇的生毛 发促进活性。另外，虽然没有示出数据，但与试验液B和阴性对照相比， 涂布了试验液A的区域的毛干显著地变粗，在猿猴中也确认了D-手性肌 醇的毛干生长促进活性。

[0148] 实施例5采用平面培养的毛乳头细胞增殖试验

[0149] 毛乳头细胞通过经由信号传导物质将生毛发信号传导至毛母细胞 等来进行活化，从而控制生毛发和毛发的伸长的过程。因此，由毛乳头 细胞的增殖率能够评价试验物质的毛干生长促进活性等。

[0150] 在本实施例中，从C57BL/6N小鼠获取腮须区域皮肤，在实体显微 镜下从分离腮须毛囊将毛乳头摘出。将6个的毛乳头固定于60mm塑料 培养皿(Sumitomo Bakelite Co.,Ltd.制造)底面，将其在37℃的5% 二氧化碳存在下，使用在PCGM基础培养基中添加了2%FCS(牛胎仔血 清)、0.6%ITT(胰岛素・铁传递蛋白・三碘甲状腺氨酸混液)、1%BPE (牛下垂体提取液)、0.6%Cyp(环丙孕酮溶液)的毛乳头培养培养基， 进行了初代培养。以后，每2～3天进行培养基更换，约每2周反复继代培养。在实验中使用了三代以内的毛乳头细胞。首先，使用24孔的细胞培养用微板(Sumitomo Bakelite Co.,Ltd.制造)，播种毛乳头细胞使成为10000细胞/孔，使用以最终浓度0.1重量%将溶解于PBS的 D-手性肌醇添加到毛乳头培养培养基中而成的培养基即试验液A、以最终浓度0.1重量%将溶解于PBS的肌-肌醇添加到毛乳头培养培养基中而成的培养基即试验液B、只将PBS添加到毛乳头培养培养基中而成的培养基即阴性对照，培养了3天。然后，使用血细胞计算盘计量培养3天后的细胞数，算出了将阴性对照中的增殖率设为100%时的试验液A和试验液B中的增殖率。将结果示于图18中。

[0151] 由图18可以看到，在使用试验液A培养的情况下，与使用阴性对 照培养的情形相比，增殖率显著地增加，确认D-手性肌醇具有促进毛乳 头细胞的增殖的活性，而在使用试验液B培养的情况下，没有发现显著 差异，确认肌-肌醇不具有促进毛乳头细胞的增殖的活性。

[0152] 实施例6采用三维培养的毛乳头细胞增殖试验

[0153] 三维培养法由于用反映更接近生物体的状态的三维的细胞块(球 体)的面积算出细胞的增殖性，因此能够复合地掌握细胞生长和细胞数 的增加这两个要素来评价细胞的增殖性。

[0154] 在本实施例中，使用96孔的U字底的细胞培养用微板(Sumitomo Bakelite Co.,Ltd.制造)，播种与实施例5同样地准备的毛乳头细胞 使成为6000(细胞/孔)，采用板式离心机在室温下以1000rpm的转数 离心1分钟，得到了三维的毛乳头细胞球体。使用将溶解于PBS的D- 手性肌醇分别以最终浓度0.05重量%、0.1重量%、1重量%添加到毛乳 头培养培养基中而成的培养基即试验液A1～A3、将溶解于PBS的肌-肌 醇分别以最终浓度0.05重量%、0.1重量%、1重量%添加到毛乳头培养 培养基中而成的培养基即试验液B1～B3、只将PBS添加到毛乳头培养培 养基中而成的培养基即阴性对照，培养了3天。然后，使用数字显微镜 VHX2000(KEYANCE)拍摄培养3天后的球体，使用数字显微镜解析工具 算出了球体的面积。通过计算将阴性对照的面积增加率设为100%时的试 验液A1～A3和B1～B3的球体面积增加率，从而将更接近生物体的状态 下的毛乳头细胞的增殖性数值化。将结果示于图19中。

[0155] 由图19可以看到,在使用试验液A1～A3培养的情况下,与使用阴 性对照培养的情形相比,球体面积显著地增加,在进行了试验的(0.05 重量%、0.1重量%、1重量%)全部最终浓度下,确认了D-手性肌醇具有 促进毛乳头细胞的增殖的活性,而在使用试验液B1～B3培养的情况 下,没有发现显著差异,在进行了试验的0.05重量%、0.1重量%、1重 量%的全部最终浓度下,确认了肌-肌醇不具有促进毛乳头细胞的增殖 的活性。再有,由球体面积的增加率的程度,认为细胞数的增加大幅 地有助于使用试验液A1～A3培养时的毛乳头细胞的增殖。

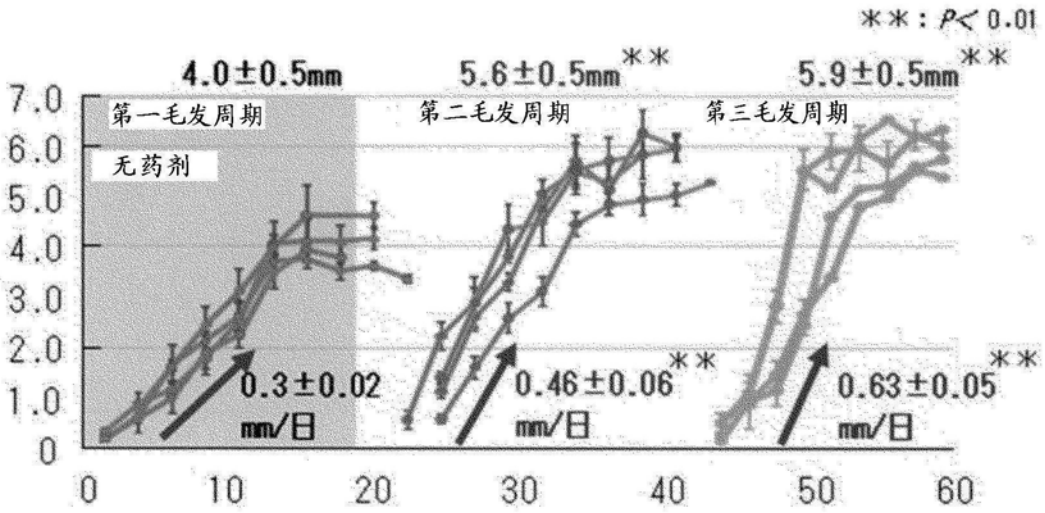

＊＊：P< 0.01
4.0±0.5mm
5.6±0.5mm＊＊
5.9±0.5mm＊＊
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.3±0.02 mm/日
0.46±0.06＊＊ mm/日
0.63±0.05＊＊ mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0 10 20 30 40 50 60

图1

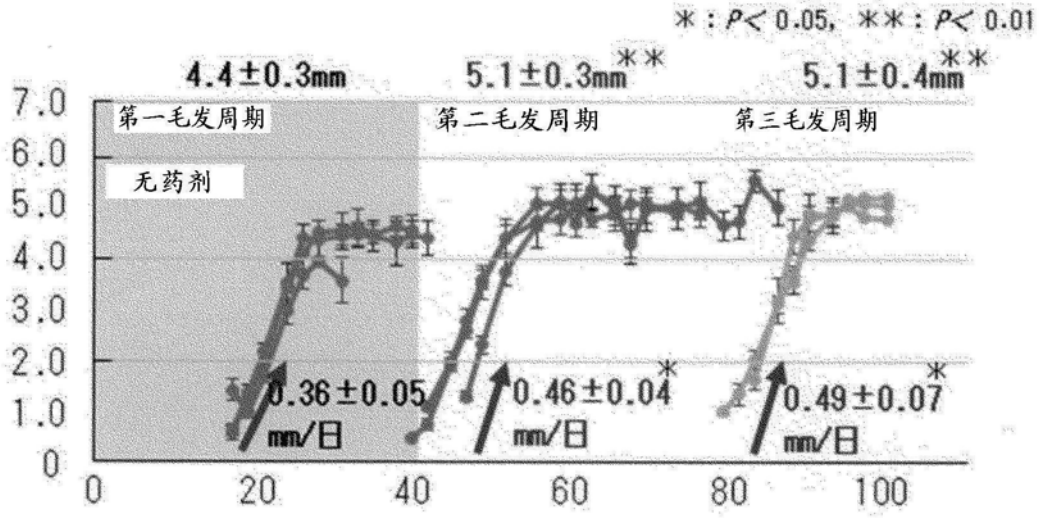

＊：P< 0.05, ＊＊：P< 0.01
4.4±0.3mm
5.1±0.3mm＊＊
5.1±0.4mm＊＊
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.36±0.05 mm/日
0.46±0.04＊ mm/日
0.49±0.07＊ mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0 20 40 60 80 100

图2

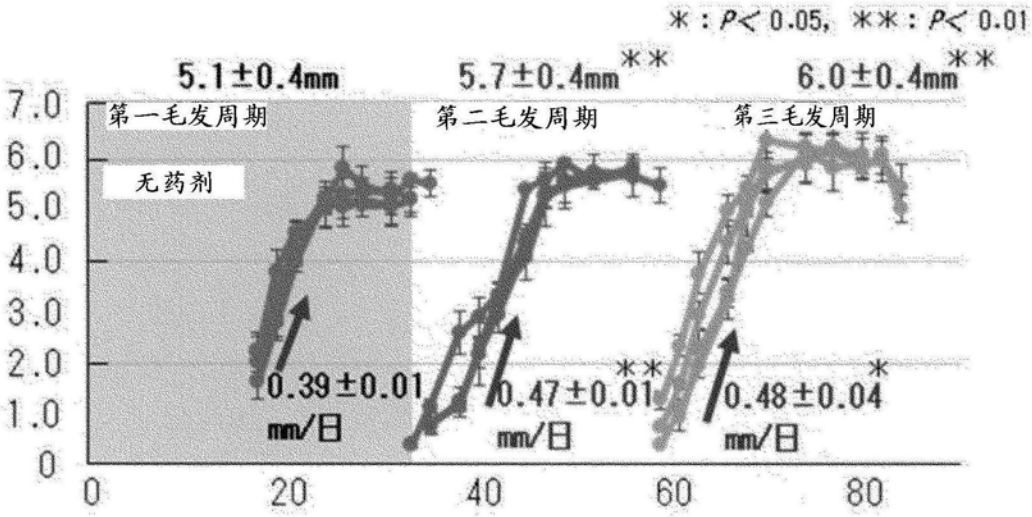

＊：P＜0.05，＊＊：P＜0.01
5.1±0.4mm
5.7±0.4mm＊＊
6.0±0.4mm＊＊
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.39±0.01 mm/日
0.47±0.01＊＊ mm/日
0.48±0.04＊ mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0
20
40
60
80

图3

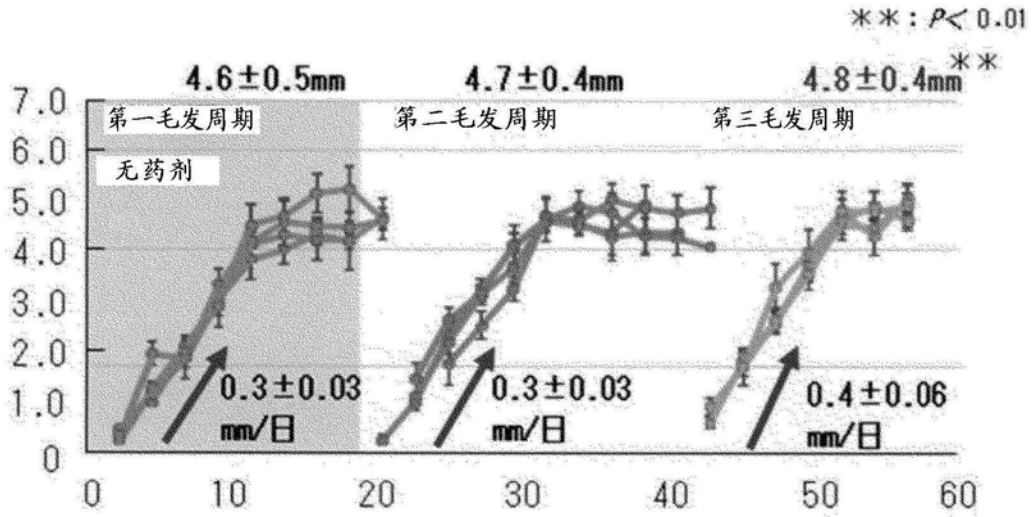

＊＊：P＜0.01
4.6±0.5mm
4.7±0.4mm
4.8±0.4mm＊＊
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.3±0.03 mm/日
0.3±0.03 mm/日
0.4±0.06 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0
10
20
30
40
50
60

图4

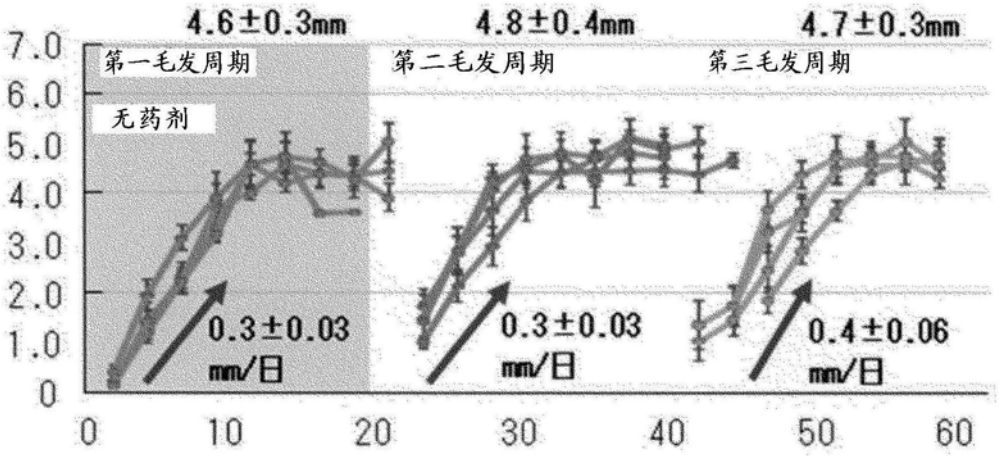

4.6±0.3mm
4.8±0.4mm
4.7±0.3mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.3±0.03 mm/日
0.3±0.03 mm/日
0.4±0.06 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0 10 20 30 40 50 60

图5

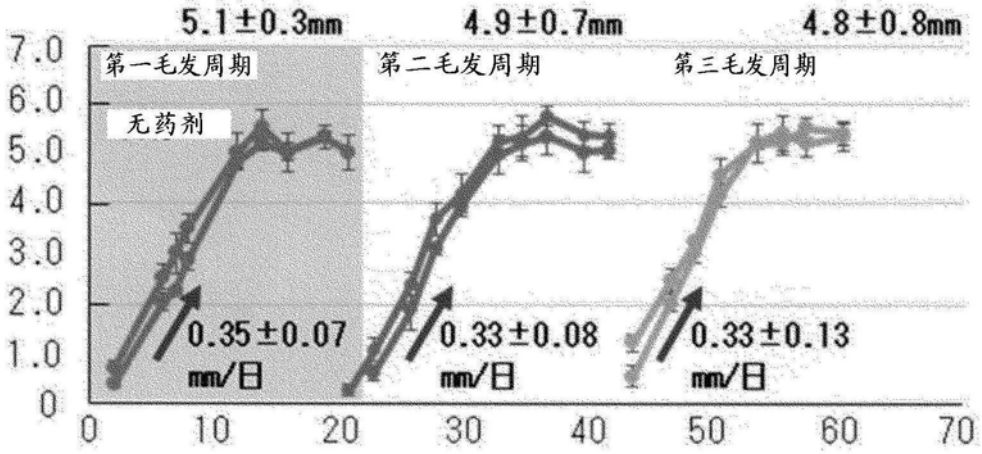

5.1±0.3mm
4.9±0.7mm
4.8±0.8mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.35±0.07 mm/日
0.33±0.08 mm/日
0.33±0.13 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0 10 20 30 40 50 60 70

图6

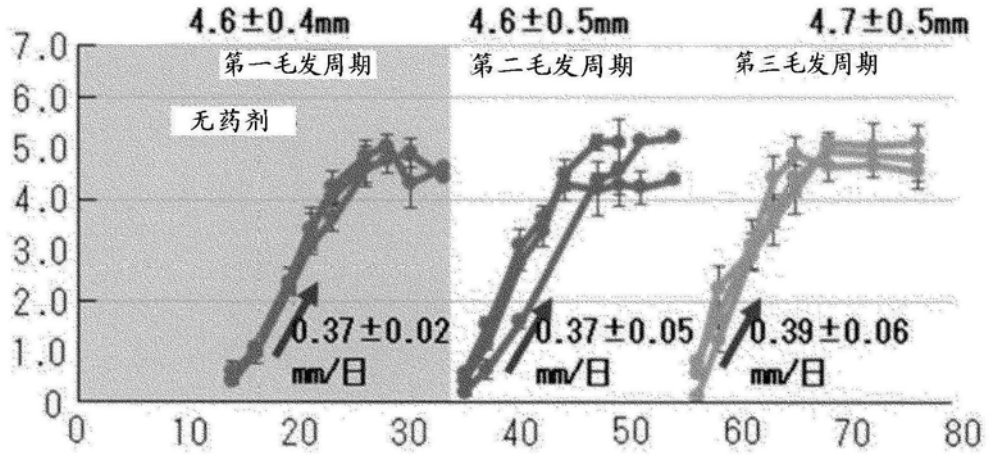

4.6±0.4mm
4.6±0.5mm
4.7±0.5mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.37±0.02 mm/日
0.37±0.05 mm/日
0.39±0.06 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0 10 20 30 40 50 60 70 80

图7

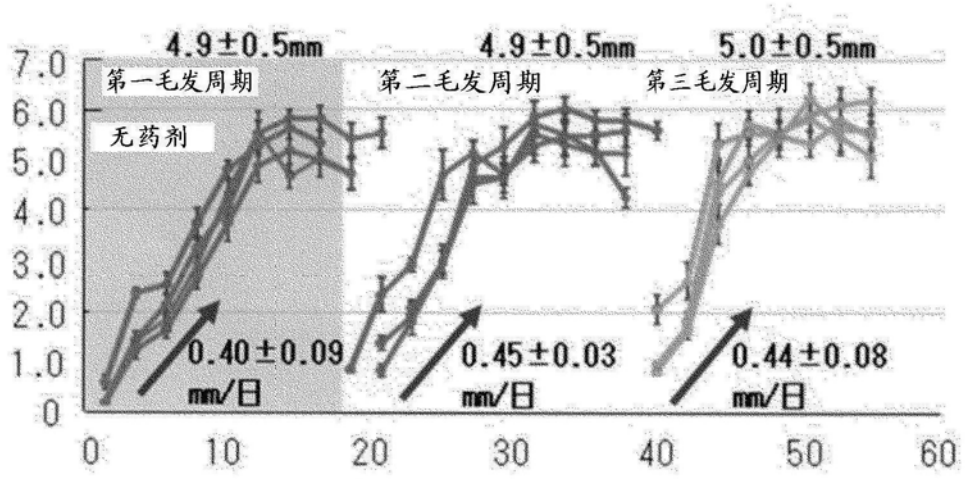

4.9±0.5mm
4.9±0.5mm
5.0±0.5mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.40±0.09 mm/日
0.45±0.03 mm/日
0.44±0.08 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0
10
20
30
40
50
60

图8

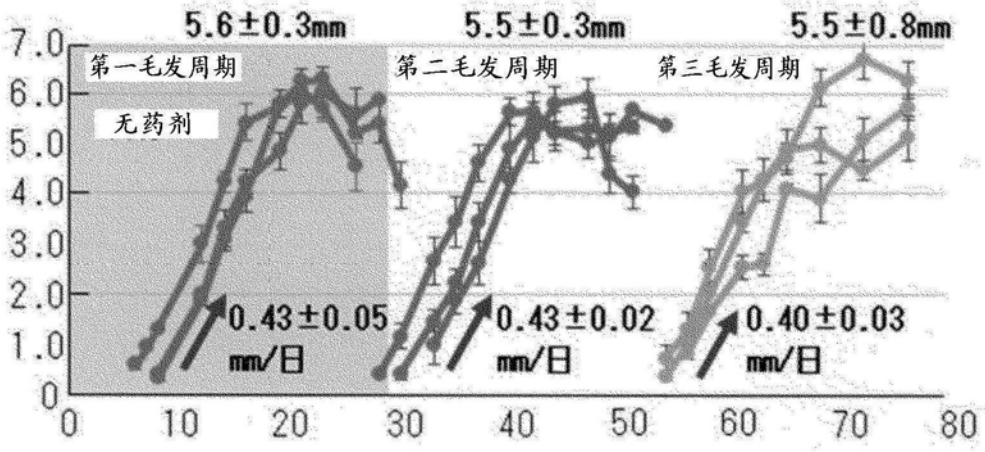

5.6±0.3mm
5.5±0.3mm
5.5±0.8mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.43±0.05 mm/日
0.43±0.02 mm/日
0.40±0.03 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80

图9

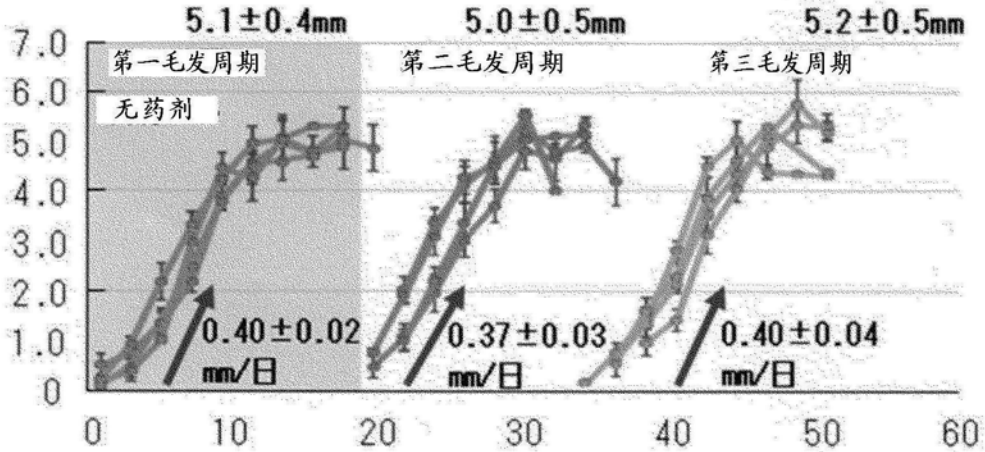

5.1±0.4mm
5.0±0.5mm
5.2±0.5mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.40±0.02 mm/日
0.37±0.03 mm/日
0.40±0.04 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0
10
20
30
40
50
60

图10

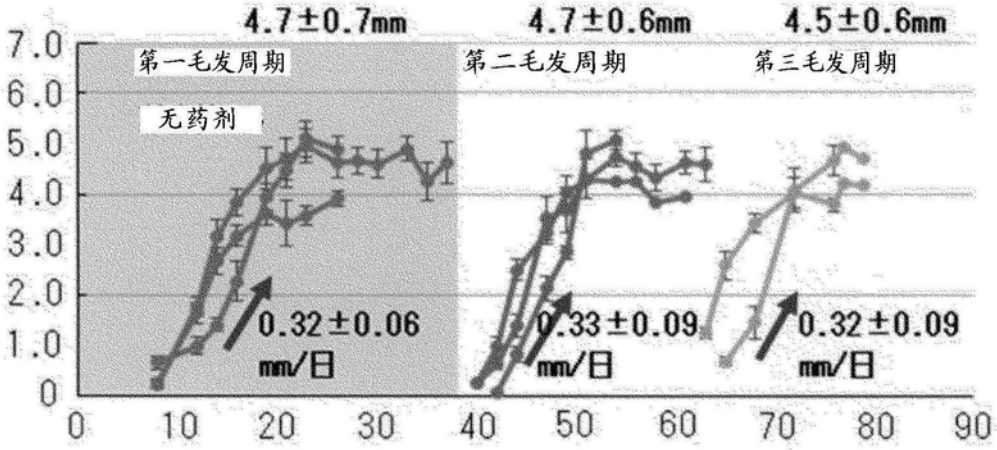

4.7±0.7mm
4.7±0.6mm
4.5±0.6mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.32±0.06 mm/日
0.33±0.09 mm/日
0.32±0.09 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90

图11

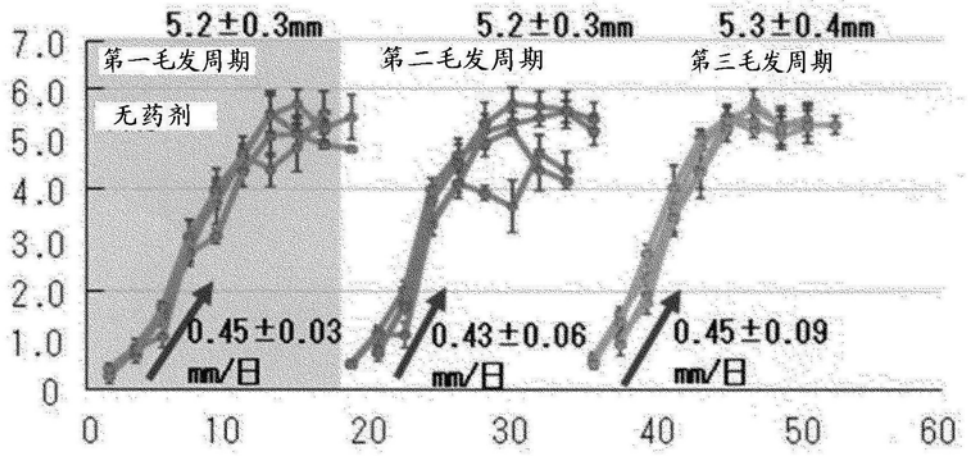

5.2±0.3mm
5.2±0.3mm
5.3±0.4mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.45±0.03 mm/日
0.43±0.06 mm/日
0.45±0.09 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0 10 20 30 40 50 60

图12

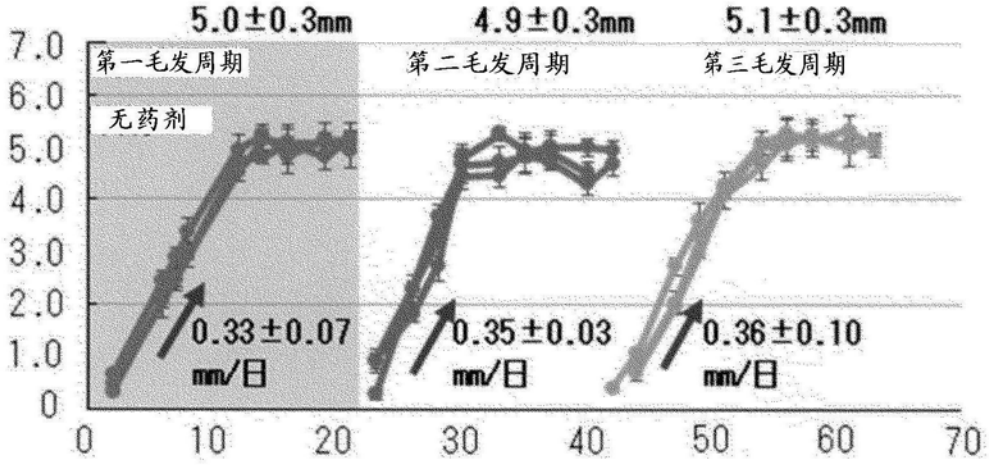

5.0±0.3mm
4.9±0.3mm
5.1±0.3mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.33±0.07 mm/日
0.35±0.03 mm/日
0.36±0.10 mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0 10 20 30 40 50 60 70

图13

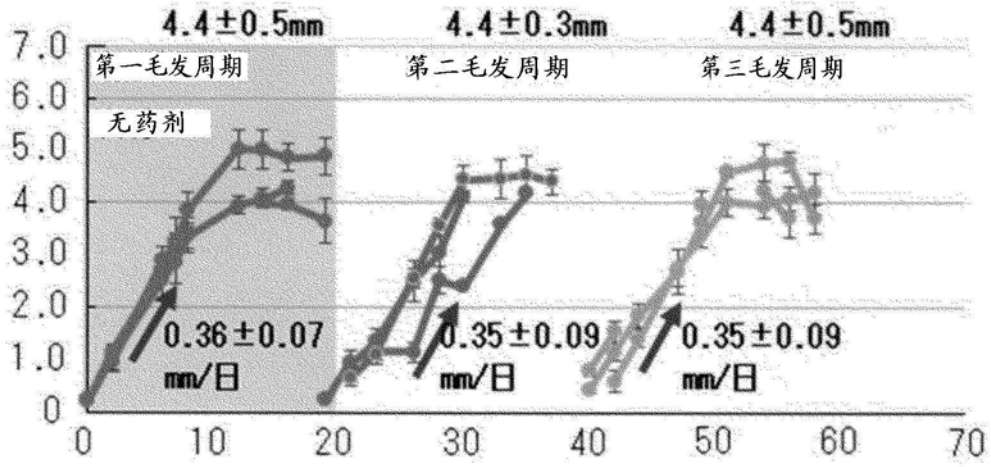

4.4±0.5mm
4.4±0.3mm
4.4±0.5mm
第一毛发周期
第二毛发周期
第三毛发周期
无药剂
0.36±0.07
mm/日
0.35±0.09
mm/日
0.35±0.09
mm/日
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
0
10
20
30
40
50
60
70

图14

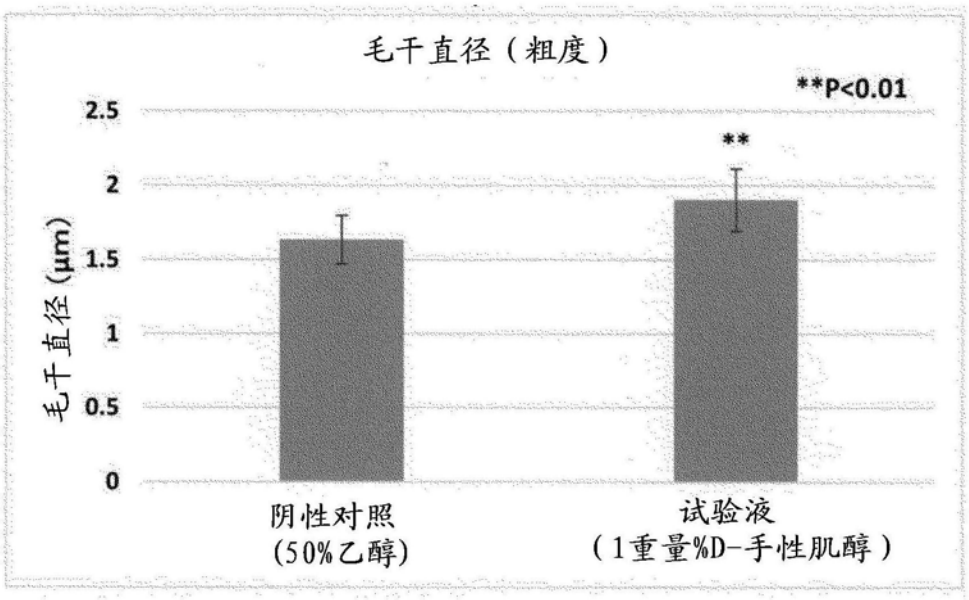

毛干直径（粗度）
**P<0.01
**
毛干直径 (μm)
2.5
2
1.5
1
0.5
0
阴性对照
(50%乙醇)
试验液
（1重量%D-手性肌醇）

图15

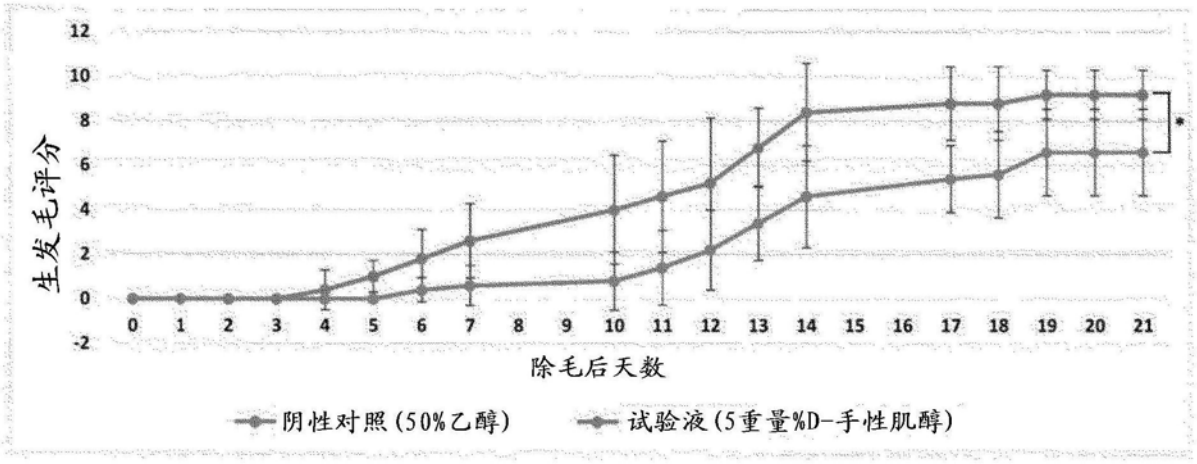

生发毛评分
除毛后天数
阴性对照(50%乙醇)
试验液(5重量%D-手性肌醇)
*

图16

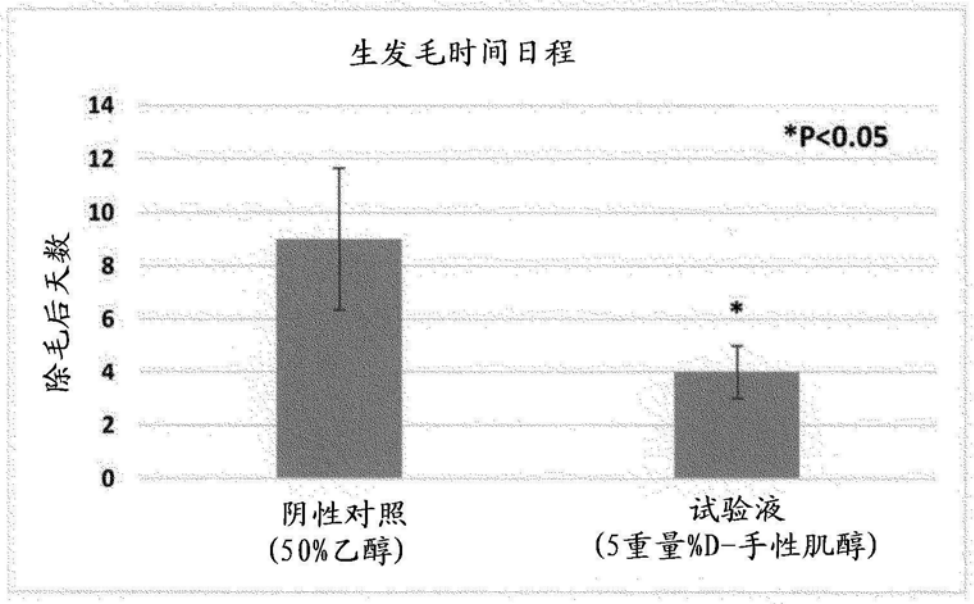

生发毛时间日程
除毛后天数
*P<0.05
*
阴性对照
(50%乙醇)
试验液
(5重量%D-手性肌醇)

图17

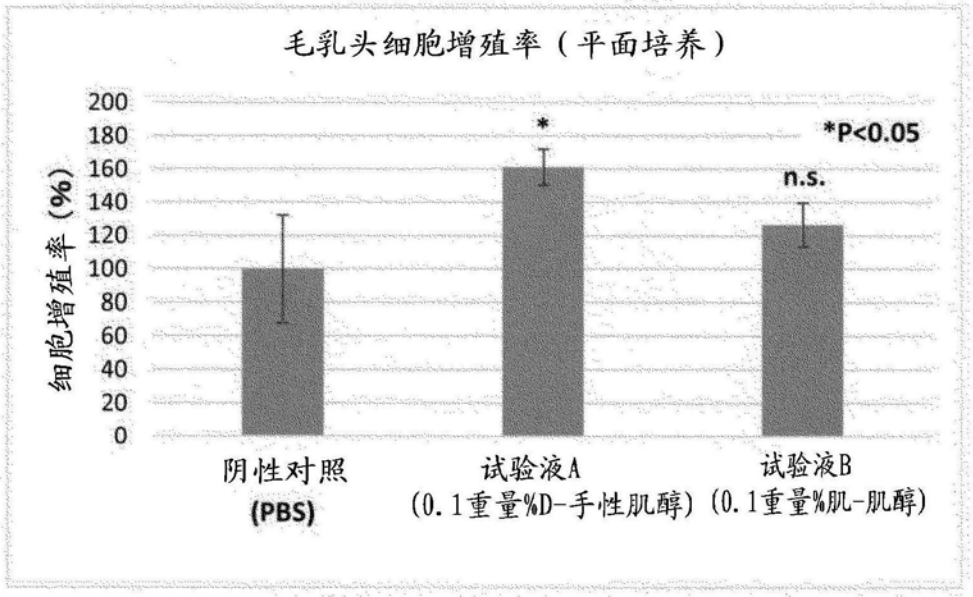
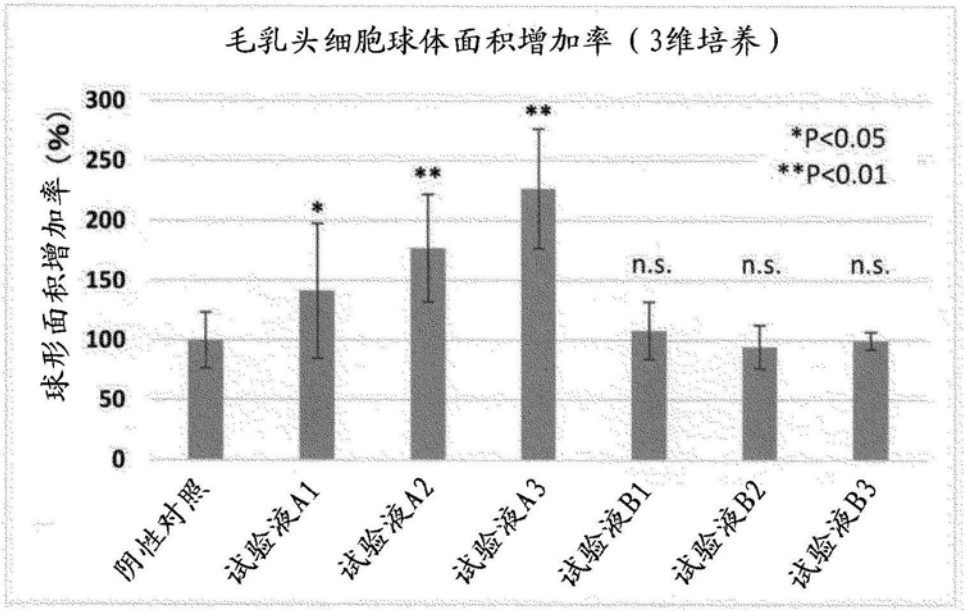


图18



阴性对照：PBS
试验液A1：0.05重量%D-手性肌醇
试验液A2：0.1重量%D-手性肌醇
试验液A3：1重量%D-手性肌醇
试验液B1：0.05重量%肌-肌醇
试验液B2：0.1重量%肌-肌醇
试验液B3：1重量%肌-肌醇

图19