



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202300136 A

(43) 公開日：中華民國 112 (2023) 年 01 月 01 日

(21) 申請案號：111107180

(22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 02 月 25 日

(51) Int. Cl. :

*A61K8/49 (2006.01)**A61K8/64 (2006.01)**A61Q7/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2021/02/26

日本

2021-029427

2022/02/25

世界智慧財產權組織

PCT/JP2022/008004

(71) 申請人：日商安佳榜控股股份公司 (日本) ADJUVANT HOLDINGS CO., LTD. (JP)

日本

(72) 發明人：高橋秀樹 TAKAHASHI, HIDEKI (JP)；中村莊太 NAKAMURA, SOUTA (JP)

(74) 代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：18 項 圖式數：2 共 22 頁

(54) 名稱

育毛劑

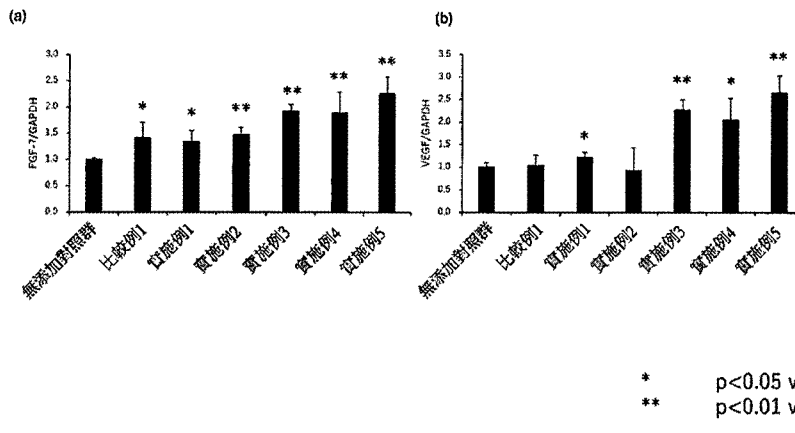
(57) 摘要

本發明之課題係提供一種屬於外用劑之育毛劑，其係促進頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛中的毛幹生長，增進毛乳頭細胞中有助於育毛的基因表現，發揮提高萌生毛髮、毛幹伸長速度，提升毛幹最大長度，以及增大毛幹直徑之效果者。本發明之解決手段係一種屬於外用劑之育毛劑，其中包含作為有效成分之棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾。

An object of the present invention is to provide a hair restorer which is an external agent which promotes hair stem growth in hair, eyebrow, and/or eyelash, enhances gene expression that contributes to hair growing in hair papillary cells, and exhibits effects of hair development, improvement in hair stem elongation speed, improvement in hair trunk maximum length, and increase in hair trunk diameter.

The hair restorer as an external agent contains palmitoyl dipeptide-5 diaminobutyrolylhydroxythreonine, palmitoyl dipeptide-5 diaminohydroxybutyric acid and minoxidyl as active ingredients.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 育毛劑

【英文發明名稱】 HAIR RESTORER

【中文】

本發明之課題係提供一種屬於外用劑之育毛劑，其係促進頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛中的毛幹生長，增進毛乳頭細胞中有助於育毛的基因表現，發揮提高萌生毛髮、毛幹伸長速度，提升毛幹最大長度，以及增大毛幹直徑之效果者。

本發明之解決手段係一種屬於外用劑之育毛劑，其中包含作為有效成分之棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾。

【英文】

An object of the present invention is to provide a hair restorer which is an external agent which promotes hair stem growth in hair, eyebrow, eyebrow, and/or eyelash, enhances gene expression that contributes to hair growing in hair papillary cells, and exhibits effects of hair development, improvement in hair stem elongation speed, improvement in hair trunk maximum length, and increase in hair trunk diameter.

The hair restorer as an external agent contains palmitoyl dipeptide-5 diaminobutyroylhydroxythreonine, palmitoyl dipeptide-5 diaminohydroxybutyric acid and minoxidyl as active ingredients.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【特徵化學式】 無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 育毛劑

【英文發明名稱】 HAIR RESTORER

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種育毛劑。更詳而言之，係關於一種育毛劑，其係包含棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾(minoxidil)。

【先前技術】

【0002】 包括人類在內的哺乳動物中，對育毛效果及毛髮種類/毛髮品質的改善之育毛劑等外用劑的需求正在增加。為了育毛效果及毛髮種類/毛髮品質的改善，係提出一種有助於調節屬於毛髮的生命週期之毛髮週期的有效成分，並作為育毛劑於市面販售。

【0003】 例如，有一提案係利用米諾地爾作為育毛劑之有效成分(參照專利文獻 1 至 3 等)，經過人體臨床試驗，將米諾地爾作為有效成分之育毛劑係於市面販售。然而，該育毛劑的醫藥用途在日本僅限於男性的早發性脫髮(premature alopecia)等，並無法充分地滿足廣大消費者對於育毛效果及毛髮種類/毛髮品質的改善之效果的需求。

【0004】 棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸係作為化妝品原材料之成分而為人所知(參照專利文獻 4)。然而，並無棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽

-5-二胺基羥基丁酸之育毛效果的相關報告。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0005】

[專利文獻 1] 美國專利第 4139619 號說明書

[專利文獻 2] 日本特開昭 63-150211 號公報

[專利文獻 3] 日本特開昭 63-145217 號公報

[專利文獻 4] 日本專利第 5028474 號公報

【發明內容】

[發明所欲解決的課題]

【0006】 本發明之目的係提供一種具有優異之育毛作用的育毛劑。

[解決課題的手段]

【0007】 為了解決上述課題，本發明者等專心致志進行研究之結果，發現藉由使用棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸作為有效成分，可發揮育毛活性，更且，藉由使用棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸以及米諾地爾作為有效成分，可發揮強力的育毛活性，遂而完成本發明。

【0008】 用以解決上述課題之本發明的第 1 手段係一種育毛劑，其係含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸以及米諾地爾作為有效成分者。

【0009】用以解決上述課題之本發明的第 2 手段係一種用以與米諾地爾併用之育毛劑，其係含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸作為有效成分者。

【0010】用以解決上述課題之本發明的第 3 手段係一種用以與棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸併用之育毛劑，其係含有米諾地爾作為有效成分者。

【0011】用以解決上述課題之本發明的第 4 手段係如本發明之第 1 至第 3 手段中任一手段所記載之育毛劑，其係用以促進毛幹生長或萌生毛髮。

【0012】用以解決上述課題之本發明的第 5 手段係如本發明之第 1 至第 4 手段中任一手段所記載之育毛劑，其係用以提高毛幹伸長速度而使用。

【0013】用以解決上述課題之本發明的第 6 手段係如本發明之第 1 至第 4 手段中任一手段所記載之育毛劑，其係用以提高毛幹最大長度而使用。

【0014】用以解決上述課題之本發明的第 7 手段係如本發明之第 1 至第 4 手段中任一手段所記載之育毛劑，其係用以增大毛幹直徑而使用。

【0015】用以解決上述課題之本發明的第 8 手段係如本發明之第 1 至第 4 手段中任一手段所記載之育毛劑，其係用以增加毛髮數目而使用。

【0016】用以解決上述課題之本發明的第 9 手段係如本發明之第 1 至第 8 手段中任一手段所記載之育毛劑，其為溶液。

【0017】用以解決上述課題之本發明的第 10 手段係如本發明之第 1 至第 9 手段中任一手段所記載之育毛劑，其係用於頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛。

【0018】用以解決上述課題之本發明的第 11 手段係一種育毛劑之製造方法，其係具有下述步驟：使製劑中含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為有效成分之步驟。

【0019】用以解決上述課題之本發明的第 12 手段係一種用以與米諾地爾併用之育毛劑的製造方法，其係具有下述步驟：使製劑中含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸作為有效成分。

【0020】用以解決上述課題之本發明的第 13 手段係一種用以與棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸併用之育毛劑的製造方法，其係具有使製劑中含有米諾地爾作為有效成分之步驟。

【0021】用以解決上述課題之本發明的第 14 手段係一種育毛劑之套組，其係包含：含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之製劑、與含有米諾地爾之製劑。

【0022】用以解決上述課題之本發明的第 15 手段係一種用以與米諾地爾併用之育毛劑的套組，其係包含：含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之製劑。

【0023】用以解決上述課題之本發明的第 16 手段係一種用以與棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸併用之育毛劑的套組，其係包含：含有米諾地爾之製劑。

【0024】用以解決上述課題之本發明的第 17 手段係一種育毛方法，其係將棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為有效成分而投予者。

【0025】用以解決上述課題之本發明的第 18 手段係一種育毛方法，其係包含朝對象投予本發明之第 1 至第 10 手段中任一手段所記載之育毛劑。

【0026】用以解決上述課題之本發明的其它手段係一種頭皮護理劑，其係包含棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為有效成分。

【0027】更且，用以解決上述課題之本發明的其它手段係一種改善頭皮症狀的方法，其係包含：朝對象投予包含棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為有效成分之頭皮護理劑者。

[發明之效果]

【0028】根據本發明之手段，藉由將棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為屬於外用劑之育毛劑的有效成分，可提供具有促進頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛中的毛幹生長、提高毛幹伸長速度、提高毛幹最大長度，以及增大毛幹直徑之效果以及頭皮護理效果之優異的育毛劑及頭皮護理劑。

【圖式簡單說明】

【0029】

圖 1 係呈示人類毛乳頭細胞之經米諾地爾、棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物刺激 24 小時，以及經棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾刺激 24 小時所致之基因表現量的變化之圖表。圖 1 的 (a) 部分係呈示 FGF-7 基因表現量之變化、圖 1 的 (b) 部分係呈示 VEGF 基因表現量之變化。

圖 2 係呈示人類毛乳頭細胞之經米諾地爾、棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物刺激 72 小時，以及經棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾刺激 72 小時所致之基因表現量的變化之圖表。圖 2 的 (a) 部分係呈示 FGF-7 基因表現量之變化、圖 2 的 (b) 部分係呈示 VEGF 基因表現量之變化。

【實施方式】

【0030】對於用以實施本發明之型態係說明如下。另外，本發明並不限於該等例示，在不超出本發明之主旨的範圍內可進行各種變更方面自不待言。

【0031】本發明之育毛劑及頭皮護理劑的有效成分係包含棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸[Palmitoyl Dipeptide-5 Diaminobutyloyl Hydroxythreone (Palm-Lys-Val-Dab-Thr-OH)]、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸[Palmitoyl Dipeptide-5 Diaminohydroxybutyrate (Palm-Lys-Val-Dab-OH)]及米諾地爾。

【0032】本發明之育毛劑及頭皮護理劑中，相對於育毛劑及頭皮護理劑之全部，屬於有效成分的棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾之濃度為 0.001 至 20 重量%。更具體而言，為 0.005 至 10 重量%。

【0033】本發明之育毛劑及頭皮護理劑係可作為醫藥品、準藥品、化妝品(包含頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛用化妝品及頭皮用化妝品)化妝品等，而使用作為具有稱作軟膏、泥罨劑、擦劑、洗劑(lotion)、外用液劑、撒布劑、乳霜、凝膠、乳液、護髮素(hair tonic)、毛髮定型噴霧(hair spray)、微針等屬於外用劑的各種型態之劑型的製劑，惟並不限於該等。

【0034】本發明之育毛劑及頭皮護理劑係可經由使含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為有效成分之步驟而製造。而且，本發明之用以與米諾地爾併用之育毛劑及頭皮護理劑係可經由使含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸作為有效成分之步驟而製造；又且，用以與棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸併用之育毛劑及頭皮護理劑係可經由使含有米諾地爾作為有效成分之步驟而製造。更且，除了上述各步驟之外，可依所需而增加使含有用以製劑化的添加物之步驟。

【0035】本發明之育毛劑及頭皮護理劑中，當棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾包含在不同的製劑而提供時，就該等製劑之劑型而言，可為相同劑型亦可為不同劑型之組合，亦可作為用以提供該等劑型之製劑的套組來提供。

【0036】又，在不損及本發明之育毛效果及頭皮護理效果的範圍內，可進一步調配在包含醫藥品、準藥品、化妝品(包含頭髮、眉毛及/或睫毛用化妝品、頭皮用化妝品)等中通常容許含有的添加物等成分。該添加物等成分方面，可列舉例如：賦形劑、穩定劑、掩臭劑、基劑、分散劑、稀釋劑、陰離子性界面活性劑、兩性界面活性劑、非離子性界面活性劑、陽離子性界面活性劑、陰離子性聚合物、非離子性性聚合物、環氧乙烷/環氧丙烷嵌段共聚物、醇類、乳化劑、經皮吸收促進劑、pH調整劑、保存劑、著色劑、油脂、礦物油等油分、保濕劑、增稠劑、聚合物、成膜劑、紫外線吸收劑、細胞活化劑、保濕劑、無機鹽、功能性珠粒/膠囊類、聚矽氧類、金屬螯合劑、抗氧化劑、防腐劑、清涼劑、除臭劑、顏料、染料、香料、糖類、胺基酸類、維生素類、有機酸、有機胺、植物萃取物、黏土礦物及各種聚合物等黏度調整劑等，惟並不限於該等。

【0037】本發明之育毛劑及頭皮護理劑可進一步含有具有萌生毛髮、育毛、養護毛髮等效果之習知成分。

【0038】本發明之手段中的育毛劑及頭皮護理劑之每 1 次投予的有效成分之投予量，係可以發揮本發明之育毛劑及頭皮護理劑的效果之方式進行調整。而且，其投予量例如可設為 0.005 至 200mg，具體上可設為 0.05 至 100mg，更具體上可設為 0.5 至 10mg。

【0039】本發明之育毛劑及頭皮護理劑的投予次數，可以達到本發明之育毛劑及頭皮護理劑的效果之方式而設為 1 次或多次。再者，本發明之育毛劑及頭皮護理劑的投予次數例如可設為每天 1 至 6 次。然後，具體上可設為每天 1 至 3 次，更具體上可再者為每天 1 至 2 次。

【0040】本發明之育毛劑及頭皮護理劑係有關於促進毛幹生長、萌生毛髮及防止毛髮脫落者，較佳係有關於促進毛幹生長及萌生毛髮者。

【0041】本說明書中，「促進毛幹生長」之用語係指：提高毛幹伸長速度、提高毛幹最大長度及/或增大毛幹直徑。

【0042】本說明書中，「萌生毛髮」之用語係指在未生毛髮(毛幹未從表皮向外伸出)或毛髮數目少的部位，促進從停止萌生毛髮或萌生毛髮能力降低之毛孔長出新毛髮，而增加毛髮數目，詳而言之，係指縮短毛髮週期中的休止期及/或重啟已停止的毛髮週期。

【0043】本說明書中，「具有促進毛幹生長效果」係指對於促進毛幹生長有所助益的作用，並將呈現促進毛幹生長效果之特質稱為「促進毛幹生長活性」。而且，「具有萌生毛髮效果」係指對於萌生毛髮有所助益的作用，並將呈現萌生毛髮效果之特質稱為「促進萌生毛髮活性」。

【0044】本說明書中，「毛髮脫落」之用語係指毛幹從毛孔脫落的現象，詳而言之，係指阻礙細胞增殖之抑制性細胞激素等的增加，以及該等之細胞凋亡。將呈現防止毛髮脫落的效果之特質稱為「防止毛髮脫落活性」。而且，所謂「具有防止毛髮脫落的效果」係指經由阻礙或減少抑制性細胞激素及抑制細胞凋亡而減少從毛孔脫落的毛幹數量，與呈現促進毛幹生長、萌生毛髮效果之特質係不同的生理現象。

【0045】本說明書中，「頭皮症狀」係指頭皮屑、頭皮粗糙、頭皮乾燥、紅斑、搔癢、痤瘡等症狀。而且，在本說明書中，「頭皮症狀的改善」係指頭皮屑、頭皮粗糙、頭皮乾燥、紅斑、搔癢、痤瘡等的抑制或改善。

【0046】本發明之育毛劑係可用以提高毛幹伸長速度或提高毛幹最大長度而使用。而且，相較於毛髮週期的標準數據中的毛幹伸長速度，毛幹伸長速度可提高例如最多 110%左右，具體上係可提高 25 至 110%左右，更具體上係可提高 33%至 110%左右。而且，相較於毛髮週期的標準數據中的毛幹最大長度，毛幹最大長度係可提高例如最多 49%左右，具體上係可提高 1 至 49%左右，更具體上係可提高 2%至 49%左右。

【0047】本發明之育毛劑係可用於增大毛幹直徑而使用。

【0048】本發明之育毛劑係可用於在毛髮未生長(毛幹未從表皮向外長出)或毛髮數目少之部位促進從停止萌生毛髮或萌生毛髮能力降低的毛孔長出新毛髮並增加毛髮數目而使用，詳而言之，係可用於縮短毛髮週期中的休止期及/或重啟已停止的毛髮週期而使用。

【0049】本發明之育毛劑及頭皮護理劑係除了可使用於人類以外，亦可使用於牲畜及寵物等動物。本發明之一個面向係提供育毛方法及頭皮症狀改善方法，該等方法係包含將外用劑投予至對象，該外用劑包含棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸以及米諾地爾，該對象包含牲畜及寵物等動物。

[實施例]

【0050】<試驗例 1：人類毛乳頭細胞中的 FGF-7 基因及 VEGF 基因表現之評估>

【0051】FGF-7 基因及 VEGF 基因係在毛乳頭細胞中表現，有助於促進頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛中的毛幹生長，提高毛幹伸長速度，提高毛

幹最大長度及增大毛幹直徑等效果的表現。因此，使用人類毛乳頭細胞，對各成分中 FGF-7 基因及 VEGF 基因的表現增加進行評估。

【0052】 1.材料與方法

(1)關於人類毛乳頭細胞及培養基

採購人類毛乳頭細胞[目錄型號：CA60205a，白種人，源自 29 歲男性，東洋紡股份有限公司(日本)]，以如協議書中所記載之方式維持/培養細胞並進行試驗評估。

【0053】 (2)藥劑

調製以下各濃度(最終濃度)的藥劑溶液，並使用作為試驗用藥劑。

比較例 1：米諾地爾 30 μ M

實施例 1：棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物 0.025%溶液

實施例 2：棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物 0.1%溶液

實施例 3：棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物 3%溶液

實施例 4：棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物 0.1%溶液與米諾地爾 30 μ M 之混合溶液

實施例 5：棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物 3%溶液與米諾地爾 30 μ M 之混合溶液

【0054】 (3)試驗方法

將人類毛乳頭細胞以成為 5×10^4 個/孔之方式接種在 96 孔板上。在 CO_2 培養箱($5\% \text{CO}_2$, 37°C)中培養 1 天後，更換為含有各試驗用藥劑的培養基。然後，將細胞板放回 CO_2 培養箱，再培養 24 小時或 72 小時。培養後，從每個孔中提取、回收全部 RNA，並將之逆轉錄成 cDNA。使用所調製的 cDNA，以即時聚合酶連鎖反應(Real-Time Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)法分別測定 FGF-7 基因及 VEGF 基因的表現。用 GAPDH 基因作為內標，計算作為與陰性對照群的相對值之 FGF-7 基因及 VEGF 基因的表現量。

【0055】就從細胞回收全部 RNA 而言，係使用 FastGene RNA Basic Kit[目錄型號：FG-80250，Japan Genetics 股份有限公司(日本)]。

【0056】每孔加入 $100\mu\text{L}$ 之溶解緩衝液 RL，並以沖吸(pipetting)溶解細胞。將 $100\mu\text{L}$ 的 70%乙醇添加到細胞溶解液中，並以沖吸混合。將試樣溶液添加到 FastGene RNA 結合柱中，在室溫下以 $10000g$ 離心 1 分鐘。從收集管丟棄已通過管柱的濾液，並將 FastGene RNA 結合柱返回到原來的收集管，然後在 FastGene RNA 結合柱中加入 $600\mu\text{L}$ 的洗滌緩衝液 RW1，在室溫下以 $10000g$ 離心 1 分鐘。將 FastGene RNA 結合柱轉移設置到新的收集管中，在 FastGene RNA 結合柱中加入 $700\mu\text{L}$ 之洗滌緩衝液 RW2，在室溫下以 $10000g$ 離心 1 分鐘。將 FastGene RNA 結合柱轉移設置到新的收集管中，在室溫下以 15000rpm 離心 1 分鐘。將 FastGene RNA 結合柱轉移設置到新的收集管中，並在 FastGene RNA 結合柱的膜之中央加入 $50\mu\text{L}$ 之洗脫緩衝液 RE，在室溫下以 $10000g$ 離心 1 分鐘，回收經純化的 RNA。將所回收的 RNA 之濃度用 NanoDrop Lite(目錄型號：ND-LITE，

Thermo Fisher Scientific 股份有限公司)測定，在-80°C保存至下一次的cDNA轉化操作。

【0057】 cDNA之合成係使用FastGene scriptaseII cDNAsynthesis 5 × Ready Mix[目錄型號：NE-LS64，Japan Genetics 股份有限公司(日本)]。以使在新管中生成的全部RNA濃度成為20ng/mL之方式用RNase Free Water稀釋，將4μL FastGene scriptase II cDNA synthesis 5 × Ready Mix添加到16μL的該試樣溶液中，並用旋渦混合器(Vortex)攪拌。使用MiniAmp熱循環儀(Thermo Fisher Scientific 股份有限公司)，在25°C孵育10分鐘、在42°C孵育60分鐘、在85°C孵育5分鐘以合成cDNA。

【0058】 將由上述方法所合成的cDNA用於即時聚合酶連鎖反應(RT-PCR)。將各cDNATemplate稀釋液添加到96孔板的預定孔中，並添加混合THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix[目錄型號：QPS-201，東洋紡股份有限公司(日本)]與引子，在QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR System(目錄型號：4485693，Thermo Fisher Scientific 股份有限公司)分析基因表現。作為PCR反應，係將95°C 5秒、60°C 30秒、72°C 30秒進行40個循環。

【0059】 試驗中使用的FGF-7基因之特異性引子、VEGF基因之特異性引子及作為內標的GAPDH基因之特異性引子係如下所示。

FGF-7 基因表現檢測用引子

順向：tctgtcgaacacagtgttacctgag(序列編號 1)

反向：gccactgtcctgattccatga(序列編號 2)

VEGF 基因表現檢測用引子

順向：atcttcaagccatcctgtgtgc(序列編號 3)

反向：caagcccccacagggattttc(序列編號 4)

GAPDH 基因表現檢測用引子

順向：catccctgacctactggcgctgcc(序列編號 5)

反向：ccaggatgcccttgagggggccctc(序列編號 6)

【0060】各基因的相對表現量係以如下方式算出。由各基因的擴增曲線與閾值線的交點計算出 Ct 值(PCR 循環數)。將目標基因的 Ct 值除以內標 GAPDH 基因的 Ct 值所得的值作為相對表現量。

【0061】 2.結果

在使棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物作用於人類毛乳頭細胞 24 小時與 72 小時後，測定 FGF-7 基因及 VEGF 基因的表現量之變化，並將其結果分別呈示於圖 1(24 小時)及圖 2(72 小時)。

【0062】如圖 1 所示，係確認到在使棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物(實施例 1 至 3)於人類毛乳頭細胞作用 24 小時之時，相較於無添加對照群，FGF-7 基因表現量及 VEGF 基因表現量為增加。而且，確認到當將棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物的添加量增加時，FGF-7 基因表量及 VEGF 基因表現量係大於米諾地爾(比較例 1)作用時的情形。

【0063】此外，確認到當棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物與米諾地爾之混合溶液(實施例 4 至 5)於人類毛乳頭細胞作用 24 小時之時，FGF-7 基因表現量及 VEGF 基

因表現量相較於僅以米諾地爾、或僅以棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物時係顯著地增加。

【0064】 因此，確認到棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物係增進毛乳頭細胞中 FGF-7 基因之表現及 VEGF 基因之表現，可使用作為具有促進頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛之毛幹生長、提高毛幹伸長速度、提高毛幹最大長度及增大毛幹直徑的效果之育毛劑的有效成分。

此外，確認到相較於將棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之混合物或米諾地爾作為有效成分時的毛乳頭細胞中 FGF-7 基因表現及 VEGF 基因之表現，將棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸的混合物與米諾地爾予以併用者於毛乳頭細胞中 FGF-7 基因之表現及 VEGF 基因之表現係顯著地增加，而可使用作為具有促進頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛之毛幹生長、提高毛幹伸長速度、提高毛幹最大長度及增大毛幹直徑的效果之育毛劑的有效成分。

[產業上之可利用性]

【0065】 根據本發明之手段，藉由將棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾使用作為育毛劑之有效成分，可提供具有促進頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛等毛髮中的毛幹生長效果、提高毛幹伸長速度之效果、提高毛幹最大長度之效果以及頭皮護理效果之新穎的育毛劑及頭皮護理劑。

【符號說明】

無。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種育毛劑，其係含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為有效成分。

【請求項2】 一種用以與米諾地爾併用之育毛劑，其係含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸作為有效成分。

【請求項3】 一種用以與棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸併用之育毛劑，其係含有米諾地爾作為有效成分。

【請求項4】 如請求項 1 至請求項 3 中任一項所述之育毛劑，其係用以促進毛幹生長或萌生毛髮而使用。

【請求項5】 如請求項 1 至請求項 4 中任一項所述之育毛劑，其係用以提高毛幹伸長速度而使用。

【請求項6】 如請求項 1 至請求項 4 中任一項所述之育毛劑，其係用以提高毛幹最大長度而使用。

【請求項7】 如請求項 1 至請求項 4 中任一項所述之育毛劑，其係用以增大毛幹直徑而使用。

【請求項8】 如請求項 1 至請求項 4 中任一項所述之育毛劑，其係用以增加毛髮數目。

【請求項9】 如請求項 1 至請求項 8 中任一項所述之育毛劑，其為溶液。

【請求項10】如請求項 1 至請求項 9 中任一項所述之育毛劑，其係用於頭髮、鬍鬚、眉毛及/或睫毛。

【請求項11】一種育毛劑之製造方法，其係具有下述步驟：使製劑中含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為有效成分。

【請求項12】一種用以與米諾地爾併用之育毛劑的製造方法，其係具有下述步驟：使製劑中含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸作為有效成分。

【請求項13】一種用以與棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸併用之育毛劑的製造方法，其係具有使製劑中含有米諾地爾作為有效成分之步驟。

【請求項14】一種育毛劑之套組，其係包含：含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之製劑、與含有米諾地爾之製劑。

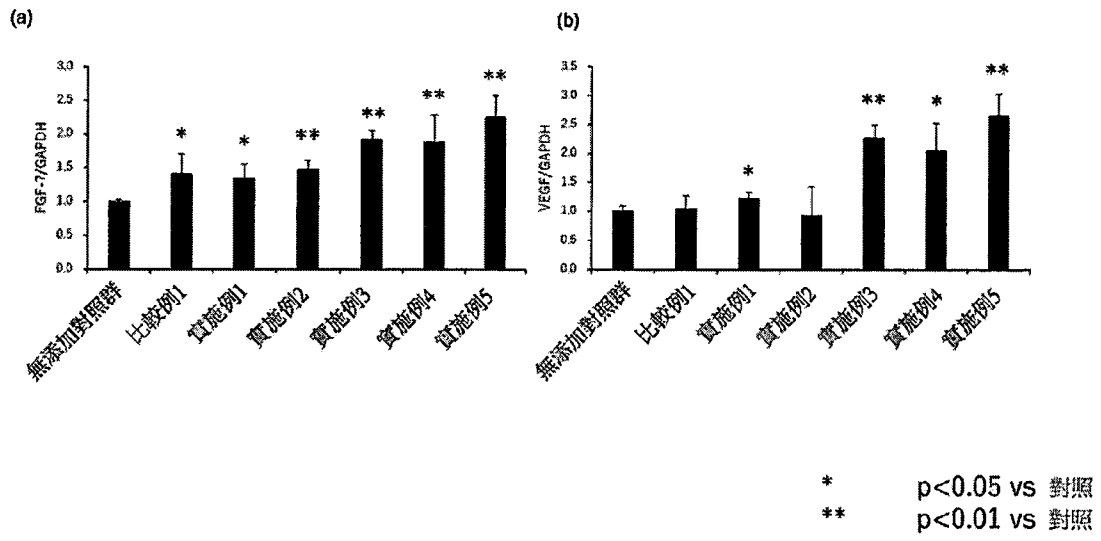
【請求項15】一種用以與米諾地爾併用之育毛劑的套組，其係包含：含有棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸之製劑。

【請求項16】一種用以與棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸及棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸併用之育毛劑的套組，其係包含：含有米諾地爾之製劑。

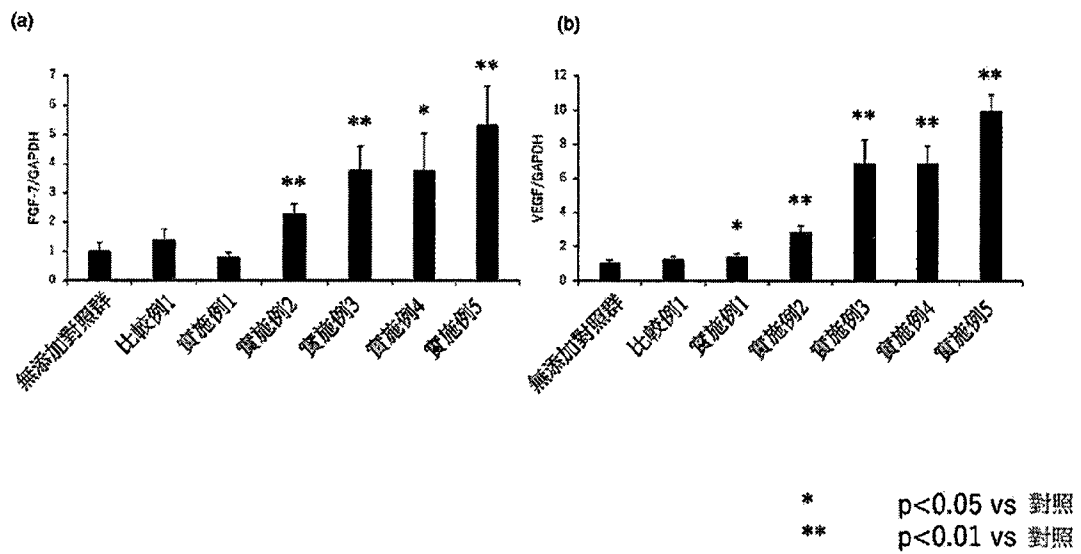
【請求項17】 一種育毛方法，其係將棕櫚醯基二肽-5-二胺基丁醯基羥基蘇胺酸、棕櫚醯基二肽-5-二胺基羥基丁酸及米諾地爾作為有效成分而投予者。

【請求項18】 一種育毛方法，其係包含朝對象投予請求項 1 至請求項 10 中任一項所述之育毛劑者。

【發明圖式】



【圖1】



【圖2】