(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 102573848 A
(43)申请公布日 2012.07.11

(21)申请号 200980158922.2

(22)申请日 2009.11.27

(30)优先权数据
10-2009-0035815 2009.04.24 KR
10-2009-0035814 2009.04.24 KR

(85)PCT申请进入国家阶段日
2011.10.24

(86)PCT申请的申请数据
PCT/KR2009/007030 2009.11.27

(87)PCT申请的公布数据
WO2010/123184 KO 2010.10.28

(71)申请人 济州大学校产学协力团
地址 韩国济州特别自治道
申请人 忠南大学校产学协力团

(72)发明人 金荣镐 姜希炅 金尚哲 姜正一 柳银淑 金基镐 金荣熙

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
代理人 顾晋伟 王春伟

(51)Int.Cl.
A61K 31/55(2006.01)
A61P 17/14(2006.01)
A61K 8/49(2006.01)
A61Q 7/00(2006.01)
A23L 1/30(2006.01)

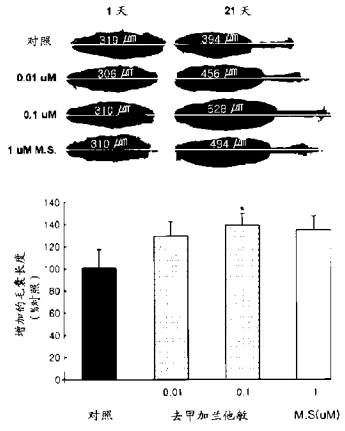
权利要求书 1 页 说明书 19 页 附图 4 页

(54)发明名称

含有去甲加兰他敏化合物作为活性成分的用于预防和治疗脱发症的组合物

(57)摘要

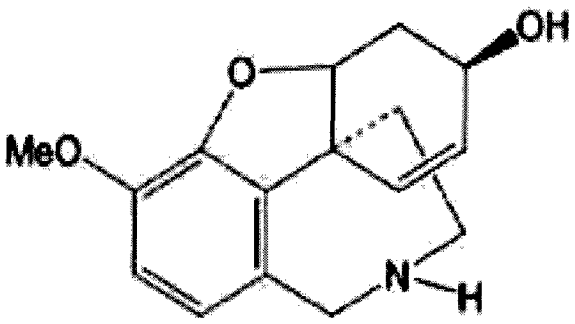
提供包含去甲加兰他敏化合物为活性成分的用于预防和治疗脱发症的药物组合物、化妆品组合物和保健食品。因为去甲加兰他敏化合物对真皮乳头生长和增殖有作用，所以去甲加兰他敏化合物可用于在预防和治疗脱发症中有用的药物组合物、化妆品组合物和保健食品。



CN 102573848 A

1. 用于预防和治疗脱发症的药物组合物，所述药物组合物包含由下式 I 所表示的去甲加兰他敏化合物作为活性成分。

式 I



。

2. 根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中所述脱发症是休止期脱发、斑形脱发、生长期脱发、损伤性脱发、瘢痕性脱发或非瘢痕性脱发。

3. 根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中所述化合物包含的含量基于所述药物组合物的总重量为 0.1 至 50 重量%。

4. 根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中所述药物组合物是皮肤外用制剂。

5. 根据权利要求 4 所述的药物组合物，其中所述去甲加兰他敏化合物以每天 0.0001 至 100mg/kg 的剂量施用。

6. 根据权利要求 4 所述的药物组合物，其中所述皮肤外用制剂是乳霜、凝胶、贴片、喷雾剂、软膏、硬膏、洗剂、搽剂、糊剂或泥敷制剂。

7. 用于预防和治疗脱发症的化妆品组合物，所述化妆品组合物包含权利要求 1 中所限定的式 I 的去甲加兰他敏化合物作为活性成分。

8. 根据权利要求 7 所述的化妆品组合物，其中所述化妆品组合物为如下制剂：生发油、护发素、固发精华、毛发洗剂、毛发滋养洗液、洗发香波、染发液、焗油膏、发乳、毛发营养霜、毛发滋润霜、毛发按摩霜、发蜡、毛发气雾剂、护发用品、毛发滋养用品、洗发皂、毛发清洁泡沫、发油、毛发干燥制剂，毛发护理制剂、染发剂、毛发卷曲剂、毛发漂白剂、发胶、毛发釉、美发用品、粘发剂、毛发保湿剂、毛发摩丝或喷发定型剂。

9. 用于预防和治疗脱发症的保健食品，所述保健食品包含权利要求 1 中限定的式 I 的去甲加兰他敏化合物作为活性成分。

10. 根据权利要求 9 所述的保健食品，其中所述保健食品为粉末、颗粒、片剂、胶囊或饮料。

含有去甲加兰他敏化合物作为活性成分的用于预防和治疗脱发症的组合物

[0001] 背景

1. 技术领域

[0002] 本发明涉及用于预防和治疗脱发症的包含去甲加兰他敏化合物为活性成分的药物组合物、化妆品组合物和保健食品。

[0003] 2. 相关领域的讨论

[0004] 最近几十年，进行了很多治疗毛发脱落（脱发）的研究。然而，仍不确切地知道脱发的原因。目前已知的脱发原因包括与毛发周期控制相关的真皮乳头的生长抑制或功能异常 (Elliott 等人，Differences in hairfollicle dermal papilla volume are due to extracellular matrix volume andcell number :implications for the control of hair follicle size and androgenresponses. J Invest Dermatol. 1990，Vol. 113，第 873 到 877 页）、雄性激素作用的毛发周期的异常、头皮血流减少引起的毛发周期异常改变 (Kaufman KD. Androgens and alopecia. Mol Cell Endocrinol. 2002，Vol. 198，第 89 到 95 页）、抗癌药 (Botchkarev VA. Molecular mechanisms ofchemotherapy-induced hair loss. J Investig Dermatol Symp Proc. 2003，Vol. 8，第 72 到 75 页）、精神性应激、物理刺激、环境污染等 (BotchkarevVA. Stress and the hair follicle :Exploring the connections. Am J Pathol. 2003，Vol. 162，第 709 到 712 页）。

[0005] 美国食品和药品管理局 (Food and Drug Administration，FDA) 批准的米诺地尔 (minoxidil) 和非那雄胺 (finasteride) 是已知的促进毛发生长的药物。米诺地尔起初是作为治疗高血压的血管扩张剂而开发的，但因为其被报道引起多毛症副作用而被开发用作生发药。米诺地尔生发作用的作用机制尚未完全确定，但是，由于血管扩张引起的营养供应增加、钾通道打开和真皮乳头细胞的凋亡抑制已被认为引起毛发生长 (Han 等人，Effect of minoXodil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cellsof human hair follicle. J Dermatol Sci. 2004，Vol. 34，第 91 到 98 页）。另外，因其抑制在雄性激素代谢中发挥作用的 5α- 还原酶的酶的活性，而被默克 (Merck) 开发用作治疗前列腺病态的治疗剂的非那雄胺，却被开发作为生发药，这是因其被报道促进毛发生长 (Kaufman 等人，Finasteride，aType 2 5alpha-reductase inhibitor，in the treatment of men withandrogenetic alopecia. Expert Opin Investig Drugs. 1999，Vol. 8，第 403 到 415 页）。多个研究机构已进行了很多研究，以发现与毛发生长和脱发机制相关的很多调节因子。尤其是，据报道，毛发生长受到各种因子及其受体的信号传导所控制，其与毛发循环相关，包括生长阶段（即，毛发生长初期）、过渡阶段（即，毛发生长中期）和休止阶段（即，毛发生长终期）。例如，生长因子，例如 EGF 和 EGFR(Botchkarev 等人，Molecular controlof epithelial-mesenchymal interactions during hair follicle cycling. J. Investig Dermatol Symp Proc. 2003，Vol. 8，第 46 到 55 页），VEGF 和 VEGFR(Ozeki 等人，In vivo promoted growth of mice hair follicles by thecontrolled release

of growth factors.Biomaterials.2003, Vol.24,, 第 2387 到 2394 页), HGF/SF 和 c-MET(Botchkarev 等人, Molecular control ofepithelial-mesenchymal interactions during hair follicle cycling.J InvestigDermatol Symp Proc.2003, Vol.8,第 46 到 55 页),FGF 族和 FGFR(JangJH.Stimulation of human hair growth by the recombinant human KGF-2.Biotechnol.Lett.2005, Vol.27,,第 749 到 752 页), IGF 和 IGF-IR(Kamiya 等人, Hair follicle elongation in organ culture of skin from newborn andadult mice.Dermatol Sci.1998,Vol.17,第 54 到 60 页) 和 TGF-β 和 TGF-βR(Hibino 等人,Role of TGF-2in the human hair cycle.J.Dermatol.Sci.2004, Vol.35,,第 9 到 18 页) 被报道为影响在真皮乳头控制之下的毛发周期。另外,也发现 Wnt 通路和 Bmp 信号转导对隆突区的毛囊干细胞的增殖或分化是至关重要的 (Moore 等人,Stem cells and their niches. Science.2006, Vol.311,,第 1880 到 1885 页)。

[0006] 毛发的生长通过复杂的机制发生,包括多种基因、生长因子及其受体和全身激素的作用。特别是由上皮细胞构成的毛发基质细胞和由间质细胞构成的真皮乳头细胞在毛囊中毛发的形成和生长中发挥关键作用。Jahoda 等人 (Jahoda 等人, Induction of hair growth by implantation ofcultured dermal papilla cells.Nature.1984,Vol.311,,第 560 到 562 页) 报道,当从大鼠鼻毛毛囊中除去真皮乳头细胞时,毛发的生长暂时中止,且随后随着细胞从真皮根鞘移入以重新形成真皮乳头细胞而再次继续。另外,据报道,当毛囊下部至多 1/3 被除去时,随着真皮乳头细胞自真皮根鞘形成并且毛发基质细胞自上皮根鞘形成,毛发的生长再次继续,但是,当毛囊下部的至少 1/3 被除去时,毛发的生长没有继续。然而,当毛囊下部至少 1/3 被除去,并将分离的真皮乳头细胞移植到除去的部分时,毛发的生长继续。从这些事实可见,真皮乳头细胞在毛发的生长中发挥非常重要的作用。

[0007] 石蒜科 (Amaryllidaceae) 的日本文殊兰 (Crinum asiaticum var.japonicum) (下文中称为“C.asiaticum”) 广泛生长于韩国和日本,包括各种菲啶生物碱、三萜烯醇和类黄酮 (Min 等人, Cytotoxic alkaloids anda flavan from the bulbs of Crinum asiaticum var.j aponicum.ChemPharm Bull(Tokyo).2001, Vol.49(9), 第 1217 到 1219 页)。一般来说,已知生物碱表现出多种药理学作用,例如抗病毒作用 (Gabrielsen 等人, Antiviral (RNA) activity of selected Amaryllidaceae isoquinolineconstituents and synthesis of related substances.J Nat Prod.1992, Vol.55(11), 第 1569 到 1581 页)、抗疟疾作用 (Likhitwitayawuid 等人, Cytotoxicand antimalarial alkaloids from the bulbs of Crinum amabile.J Nat Prod.1993, Vol.56(8), 第 1331 到 1338 页)、细胞毒作用 (Abdel-Halim 等人, New crinine-type alkaloids with inhibitory effect on induction of induciblenitric oxide synthase from Crinum yemense.J Nat Prod.2004, Vol.67(7), 第 1119 到 1124 页) 和抗炎作用 (Samud 等人, Anti-inflammatory activityof Crinum asiaticum plant and its effect on bradykinin-inducedcontractions on isolated uterus.Immunopharmacology.1999, Vol.43(2-3),第 311 到 316 页)。此外,进行了 C.asiaticum 对毛发生长的作用的研究,提交了与 C.asiaticum 对毛发生长的作用相关的题目为“A topicalcomposition for preventing baldness and promoting hair growth”(韩国专利申请 No.10-2008-27742, 2008 年 3 月 26 日提交) 的专利申请。

[0008] 因此，发明人筛选了C.asiaticum中表现出毛发生长作用的组分，使用作为C.asiaticum的一种组分的去甲加兰他敏化合物，进行了预防和治疗脱发症的持续研究，并发现去甲加兰他敏化合物在大鼠中对鼻毛毛囊的生长和对在毛发生中发挥重要作用的真皮乳头细胞的增殖显示出作用。据此，基于这些发现完成了本发明。

[0009] 发明详细说明

[0010] 技术课题

[0011] 本发明涉及提供有效用于预防和治疗脱发症的药物组合物、化妆品组合物和保健食品。

[0012] 技术解决方法

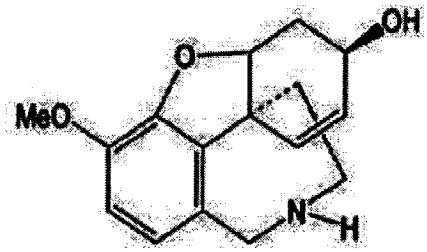
[0013] 一方面，用于预防和治疗脱发症的药物组合物可包括由下式Ⅰ所表示的去甲加兰他敏化合物为活性成分。

[0014] 另一方面，用于预防和治疗脱发症的化妆品组合物可包含由下式Ⅰ所表示的去甲加兰他敏化合物为活性成分。

[0015] 仍另一方面，用于预防和治疗脱发症的保健食品可包含由下式Ⅰ所表示的去甲加兰他敏化合物为活性成分。

[0016] 式Ⅰ

[0017]



[0018] 有益效果

[0019] 因为本发明的去甲加兰他敏化合物对真皮乳头细胞（其在生长中发挥重要作用）的生长和增殖具有作用，所以去甲加兰他敏化合物可用于药物组合物、化妆品组合物和保健食品，其用于预防和治疗脱发症。

[0020] 附图简述

[0021] 图1是显示去甲加兰他敏化合物对鼻毛毛囊生长的作用（%对照）的图；

[0022] 图2是显示去甲加兰他敏化合物对真皮乳头细胞增殖的作用（%对照）的图；

[0023] 图3显示去甲加兰他敏化合物的^{13}C-NMR谱（75MHz，CD_3OD）；

[0024] 图4显示去甲加兰他敏化合物的DEPT谱；

[0025] 图5显示去甲加兰他敏化合物的^{1}H-NMR谱（300MHz，CD_3OD）；和

[0026] 图6显示去甲加兰他敏化合物的FAB(+)-质谱。

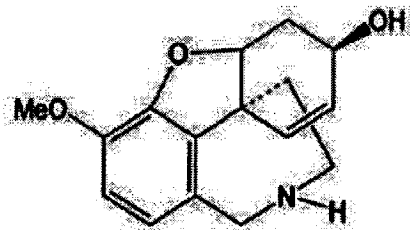
具体实施方式

[0027] 在下文中，将关于根据本发明的实施例和并非根据本发明的对比例具体描述本发明，但本发明的范围不限于此。

[0028] 为了实现这些目的，本发明提供用于预防和治疗脱发症的药物组合物，其包含由下式Ⅰ所表示的去甲加兰他敏化合物为活性成分。

[0029] 式 I

[0030]



[0031] 去甲加兰他敏化合物可以，例如，从 C.asiaticum 提取物中分离。另外，去甲加兰他敏化合物可从其他植物的提取物中分离，或使用常规方法例如化学合成法制备，但是本发明并不限于此。

[0032] 根据本发明的一个示例性实施方案，脱发症可以是选自如下的至少一种疾病：休止期脱发、斑形脱发、生长期脱发、损伤性脱发、瘢痕性脱发和非瘢痕性脱发，优选休止期脱发，但本发明不限于此。

[0033] 根据本发明的另一个示例性实施方案，本发明的包含去甲加兰他敏化合物的药物组合物可包含含量为 0.1 至 50 重量％的去甲加兰他敏化合物，例如 1 至 50 重量％或 1 至 40 重量％，基于所述组合物的总重量。然而，组分的量并不必限于此，而是可根据患者的情况和疾病的类型与进展而改变。

[0034] 本发明的去甲加兰他敏化合物可安全地长时间用于预防目的，这是因为该化合物几乎没有毒性或副作用。

[0035] 本发明的药物组合物还可包含合适的组分，例如载体、赋形剂和稀释剂，这些组分通常用于药物组合物的制备。

[0036] 可包含于本发明的药物组合物中的载体、赋形剂和稀释剂可包含乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇，木糖醇，赤藓糖醇，麦芽糖醇，淀粉，阿拉伯胶，藻酸盐，明胶，磷酸钙，硅酸钙，纤维素，甲基纤维素，无定形纤维素，聚乙烯基吡咯烷酮，水，羟基苯甲酸甲酯，羟基苯甲酸丙酯，滑石粉，硬脂酸镁和矿物油。当配制所述药物组合物时，可使用通常使用的稀释剂或赋形剂制备制剂，例如填充剂 (filler)、增量剂 (extendingagent)、粘合剂、润湿剂、崩解剂和表面活性剂。用于口服施用的固体制剂包括片剂、丸剂、粉末剂、颗粒剂、和胶囊剂等。这样的固体制剂通过将去甲加兰他敏化合物与至少一种赋形剂混合而制备，所述赋形剂例如为淀粉、碳酸钙、蔗糖或乳糖、或明胶。另外，除了简单的赋形剂之外，可使用润滑剂，例如硬脂酸镁和滑石粉。用于口服施用的液体制剂包括混悬剂、内用液体制剂、乳剂和糖浆剂。一般来说，除了通常使用的简单稀释剂（例如，水和液体石蜡）之外，液体制剂可包含多种赋形剂，例如，润湿剂、甜味剂、芳香剂和防腐剂。肠胃外施用制剂包含无菌水溶液、非水溶液、混悬剂、乳剂、冻干制剂和栓剂。植物油，例如丙二醇、聚乙二醇或橄榄油和可注射的酯（例如油酸乙酯）可用作非水溶剂和悬浮液。Witepsol、聚乙二醇 (Macrogol)、吐温 61(Tween 61)、可可油脂，三月桂酸甘油酯油 (laurin butter) 或甘油明胶可用作栓剂的基质。

[0037] 使用常规方法，可将本发明的药物组合物配制成口服制剂，例如粉末剂、颗粒剂、片剂、胶囊剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂或气雾剂、外用制剂、栓剂和无菌的注射溶液剂。

[0038] 本发明药物组合物的所需剂量可根据患者的情况和体重、疾病的严重性、药物的

类型和施用途径与持续时间而改变，或可由本领域技术人员适宜地选择。然而，为了实现希望的效果，本发明的去甲加兰他敏化合物可以以 0.5g/kg 至 5g/kg 的剂量、优选 1g/kg 至 3g/kg 的剂量每天施用。可以每天一次或以每天分次剂量进行所述施用。因此，剂量并非意在在任何方面限制本发明的范围。

[0039] 根据本发明的一个示例性实施方案，包含式 I 的去甲加兰他敏化合物为有效成分的用于预防和治疗脱发症的药物组合物可以是用于皮肤外用制剂的药物组合物。在此，所述皮肤外用制剂可制成乳霜、凝胶、贴片、喷雾剂、软膏、硬膏、洗剂、搽剂、糊剂或泥敷剂，但本发明不限于此。

[0040] 当本发明的组合物是用于皮肤外用制剂的药物组合物时，去甲加兰他敏化合物的优选剂量可根据患者的情况和体重、疾病的严重程度、药物的类型和使用途径与持续时间而变化，或可由本领域技术人员适宜地选择。然而，为了实现希望的效果，本发明的化合物可以以 0.0001 至 100mg/kg、优选 0.001 至 10mg/kg 的剂量每天施用。可每天一次或每天分次剂量进行所述施用。因此，所述剂量并不意在在任何方面限制本发明的范围。

[0041] 可通过多种施用途径将本发明的组合物施用给哺乳动物，例如大鼠、小鼠、家畜和人。可使用任何类型的施用，包括例如，口服、直肠或通过静脉、肌内或皮下注射。

[0042] 此外，本发明提供包含式 I 的去甲加兰他敏化合物为活性成分的用于预防和治疗脱发症的化妆品组合物。根据本发明的化妆品组合物可广泛用于护发产品，所述护发产品旨在预防脱发并增强毛发恢复。

[0043] 根据本发明的一个示例性实施方案，所述化妆品组合物可为如下制剂：生发油、护发素、固发精华 (hair essence)、毛发洗剂、毛发营养洗液 (hair-nourishing lotion)、洗发香波、染发液、焗油膏 (hair treatment)、发乳、毛发营养霜 (hair-nourishing cream)、毛发滋润霜 (hair moisturecream)、毛发按摩霜、发蜡、毛发气雾剂 (hair aerosol)、护发用品 (hairpack)、毛发滋养用品 (hair-nourishing pack)、洗发皂 (hair soap)、毛发清洁泡沫 (hair cleansing foam)、发油、毛发干燥制剂，毛发护理制剂、染发剂、毛发卷曲制剂、毛发漂白剂、发胶、毛发釉、美发用品 (hairdressinger)、粘发剂 (hair lacquer)、毛发保湿剂、毛发摩丝或喷发定型剂 (hair spray)，但本发明并不特别限于此。

[0044] 根据本发明的用于预防脱发和增强毛发恢复的化妆品组合物可包含基于所述组合物的总重量的 0.1 至 50 重量%、1 至 50 重量%或 1 至 40 重量%的去甲加兰他敏化合物。然而，所述化合物的含量不必限于此，但可根据待治疗情况和疾病的进展而变化。

[0045] 根据本发明的去甲加兰他敏化合物的优选剂量可根据待治疗患者的情况和体重、疾病的严重性、药物的类型和施用的途径和持续时间而变化，或由本领域技术人员适宜地选定。然而，为了达到希望效果，本发明的所述化合物可以以 0.0001 至 100mg/kg、优选 0.001 至 10mg/kg 的剂量每天施用。所述施用可以每天进行一次或每天分次剂量进行。因此，所述剂量并不意在在任何方面限制本发明的范围。

[0046] 本发明的化妆品组合物还可包含选自如下的组分：水溶性维生素、油溶性维生素、高分子肽、高分子多糖、鞘脂和海藻提取物。

[0047] 只要能与化妆品混合，可不加限制地使用水溶性维生素。优选地，所述水溶性维生素可包含维生素 B1、维生素 B2、维生素 B6、吡哆醇、盐酸吡哆醇、维生素 B12、泛酸、烟酸、烟酰胺、叶酸、维生素 C 或维生素 H。另外，可用于本发明的水溶性维生素可以包含上述组分

的盐（盐酸硫胺素、抗坏血酸钠等）或衍生物（抗坏血酸 -2- 磷酸钠、抗坏血酸 -2- 磷酸镁等）。可使用常规方法获得水溶性维生素，例如微生物转化、从微生物培养溶液中纯化、酶或化学合成。

[0048] 只要能与化妆品混合，可不加限制地使用油溶性维生素。优选地，所述油溶性维生素可包含维生素 A、胡萝卜素、维生素 D2、生物素 D3、维生素 E(dl- α 生育酚、d- α 生育酚、d- α 生育酚）等。另外，可用于本发明的油溶性维生素包含上述组分的衍生物（抗环血酸棕榈酸酯、抗环血酸硬脂酸酯、抗坏血酸双棕榈酸酯、乙酸 dl- α 生育酚、烟酸 dl- α 生育酚维生素 E、DL- 泛醇、D- 泛醇、泛醇乙醚等）。可使用常规的方法获得油溶性维生素，例如微生物转化、从微生物培养溶液中纯化、酶或化学合成。

[0049] 只要能与化妆品混合，可不加限制地使用高分子肽。优选地，所述高分子肽可包含胶原、水化胶原、明胶、弹性蛋白、水化弹性蛋白、角蛋白等。可使用常规方法以纯化形式获得高分子肽，例如从微生物培养溶液中纯化、酶或化学合成，或从常规天然来源中纯化，例如，从猪或牛的厚皮或从来自蚕的丝心蛋白中纯化。

[0050] 只要能与化妆品混合，可不加限制地使用高分子多糖。优选地，所述高分子多糖可包含羟乙基纤维素、黄原胶、透明质酸钠、硫酸软骨素或其盐（钠盐等）。例如，通常可从哺乳动物或鱼类中纯化硫酸软骨素或其盐。

[0051] 只要能与化妆品混合，可不加限制地使用鞘脂。优选地，所述鞘脂可包含神经酰胺、植物鞘氨醇、鞘糖脂等。通常可使用常规的方法从哺乳动物、鱼类、贝类、酵母或植物纯化所述鞘脂，或使用常规方法获得，例如化学合成法。

[0052] 只要能与化妆品混合，可不加限制地使用海藻提取物。优选地，所述海藻提取物可包含褐藻提取物、红藻提取物、绿藻提取物等。另外，本发明中使用的海藻提取物包含从海藻提取物中纯化的卡拉胶、海藻酸、海藻酸钠、海藻酸钾等。可使用常规方法（例如，纯化）从海藻中获得海藻提取物。

[0053] 除了必要组分外，本发明的化妆品组合物必要时可包含可混入常规化妆品组合物中的其他组分。

[0054] 除了上述组分之外，可加入其中的混合组分可包含脂肪组分、保湿剂、润肤剂、表面活性剂、有机和无机颜料、有机粉末、UV 吸收剂、防腐剂、杀菌剂、抗氧化剂、草药提取物、pH 调节剂、醇、着色剂、芳香剂、血流刺激剂、冷却剂、止汗剂、纯水等。

[0055] 脂肪组分可包含基于酯的脂肪、基于烃的脂肪、基于硅的脂肪、基于氟的脂肪、动物脂肪、植物脂肪等。

[0056] 基于酯的脂肪可包含三 -2- 乙基己烷甘油酯、2- 乙基己烷鲸蜡酯、肉豆蔻酸异丙酯、肉豆蔻酸丁酯、棕榈酸异丙酯、硬脂酸乙酯、棕榈酸辛酯、异硬脂酸异鲸蜡酯、硬脂酸丁酯、亚油酸乙酯、亚油酸异丙酯、油酸乙酯、肉豆蔻酸异鲸蜡酯、肉豆蔻酸异硬脂基酯、棕榈酸异硬脂基酯、肉豆蔻酸辛基十二烷酯、异硬脂酸异鲸蜡酯、癸二酸二乙酯、己二酸二异丙酯、新戊酸异烷酯、三（辛酸，癸酸）甘油酯、三 -2- 乙基己烷三羟甲基丙烷、三异硬脂酸三羟甲基丙烷、四 -2- 乙基己烷季戊四醇、辛酸鲸蜡酯、月桂酸十二烷酯、月桂酸己酯、肉豆蔻酸十二烷酯、肉豆蔻酸肉豆蔻酯、肉豆蔻酸鲸蜡酯、硬脂酸硬脂基酯、油酸十二烷酯、蓖麻油酸鲸蜡酯、月桂酸异硬脂基酯、肉豆蔻酸异十三烷酯、棕榈酸异鲸蜡酯、硬脂酸辛酯、硬脂酸异鲸蜡酯、油酸异癸酯、油酸辛基十二烷酯、亚油酸辛基十二烷酯、异硬脂酸异丙酯、2- 乙基

己烷鲸蜡硬脂酯、2- 乙基己烷硬脂酯、异硬脂酸己酯、二辛酸乙二醇、二油酸乙二醇、二癸酸丙二醇、二（辛酸，癸酸）丙二醇、二辛酸丙二醇、二癸酸新戊二醇、二辛酸新戊二醇、三癸酸甘油酯、三 - 十一酸甘油酯、三异棕榈酸甘油酯、三异硬脂酸甘油酯、新戊酸辛基十二烷酯、辛酸异硬脂基酯、异壬酸辛酯、新癸酸己基癸酯、新癸酸辛基十二烷酯、异硬脂酸异鲸蜡酯、异硬脂酸异硬脂基酯、异硬脂酸辛基癸酯、聚甘油油酸酯、聚甘油异硬脂酸酯、柠檬酸三异鲸蜡酯、柠檬酸三异烷基酯、柠檬酸三异辛酯、乳酸月桂酯、乳酸肉豆蔻酯、乳酸鲸蜡酯、乳酸辛基癸酯、柠檬酸三乙酯、柠檬酸乙酰基三乙酯、柠檬酸乙酰基三丁酯、柠檬酸三辛酯、苹果酸二异硬脂基酯、羟基硬脂酸 2- 乙基己酯、琥珀酸二 -2- 乙基己酯、己二酸二异丁酯、癸二酸二异丙酯、癸二酸二辛酯、硬脂酸胆甾醇酯、异硬脂酸胆甾醇酯、羟基硬脂酸胆甾醇酯、油酸胆甾醇酯、油酸二氢胆甾醇酯、异硬脂酸植物甾醇酯、油酸植物甾醇酯、12- 硬脂酰羟基硬脂酸异鲸蜡酯、12- 硬脂酰羟基硬脂酸硬脂基酯、12- 硬酯酰羟基硬脂酸异硬脂基酯等。

[0057] 基于烃的脂肪可包含角鲨烯、液体石蜡、α - 烯烃低聚物、异链烷烃、地蜡、石蜡、液体异链烷烃、聚丁烯、微晶蜡、凡士林等。

[0058] 基于硅的脂肪可包含聚甲基硅酮、甲基苯基硅酮、甲基环聚硅氧烷、八甲基聚硅氧烷、十甲基聚硅氧烷、十二甲基环硅氧烷、二甲基硅氧烷 / 甲基鲸蜡基氧基硅氧烷共聚物、二甲基硅氧烷 / 甲基硬脂基氧基硅氧烷共聚物、烷基改性的硅油、氨基改性的硅油等。

[0059] 基于氟的脂肪可包含全氟聚醚等。

[0060] 动物或植物脂肪可包含鳄梨油、杏仁油、橄榄油、芝麻油、米糠油、红花油、大豆油、玉米油、菜籽油、杏油、棕榈仁油、棕榈油、蓖麻油、葵花籽油、葡萄籽油、棉籽油、椰子油、小麦胚芽油、大米胚芽油、牛油果油、月见草油、澳洲坚果油、白芒花籽油 (meadowfoam oil)、蛋黄油、牛油、马油、貂油、橙连鳍鲑鱼油 (orange roughy oil)、西蒙得木油、小烛树蜡、巴西棕榈蜡、液体羊毛脂、氢化蓖麻油等。

[0061] 保湿剂可包含水溶性低分子保湿剂、脂溶性低分子保湿剂、水溶性聚合物、脂溶性聚合物等。

[0062] 水溶性低分子保湿剂可包含丝氨酸、谷氨酰胺、山梨醇、甘露醇、吡咯烷酮 - 羧酸钠、甘油、丙二醇、1,3- 丁二醇、乙二醇、聚乙二醇 B（聚合度 (n) 至少为 2)、聚丙二醇（聚合度 (n) 至少为 2)、聚甘油 B（聚合度 (n) 至少为 2)、乳酸、乳酸盐（酯）等。

[0063] 脂溶性低分子保湿剂可包含胆甾醇、胆甾醇酯等。

[0064] 水溶性聚合物可包含羧乙烯聚合物、聚天冬氨酸、黄蓍胶、黄原胶、甲基纤维素、羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羧甲基纤维素、水溶性甲壳质、缩小甘露糖酸 (chitonic acid)、糊精等。

[0065] 脂溶性聚合物可包含聚乙烯吡咯烷酮 / 二十碳烯共聚物、聚乙烯吡咯烷酮 / 十六碳烯共聚物、硝酸纤维素、糊精脂肪酸酯、聚合物硅等。

[0066] 润肤剂可包含长链酰基谷氨酸胆甾醇酯、羟基硬脂酸胆甾醇酯、12- 羟基硬脂酸、硬脂酸、松香酸、羊毛脂脂肪酸胆甾醇酯等。

[0067] 表面活性剂可包含非离子型表面活性剂、阴离子型表面活化剂、阳离子型表面活性剂、两性表面活性剂等。

[0068] 非离子型表面活性剂可包含自乳化的单硬脂酸甘油酯、丙二醇脂肪酸酯、甘油脂肪酸酯、聚甘油脂肪酸酯、山梨聚糖脂肪酸酯、聚环氧乙烷 (POE，polyoxyethylene) 山梨聚

糖脂肪酸酯、POE 山梨醇脂肪酸酯、POE 甘油脂肪酸酯、POE 烷基醚、POE 脂肪酸酯、POE 氢化蓖麻油、POE 蓖麻油、POE/ 聚环氧丙烷 (POP) 共聚物、POE/POP 烷基醚、聚醚改性的硅、月桂酸烷醇酰胺、烷基胺氧化物、氢化大豆磷脂等。

[0069] 阴离子表面活性剂可包含脂肪酸皂、α - 酰基磺酸盐、烷基磺酸盐、烷基芳基磺酸盐、烷基萘磺酸盐、烷基硫酸盐、POE 烷基醚硫酸盐、烷基酰胺硫酸盐、烷基磷酸盐、POE 烷基磷酸盐、烷基酰胺磷酸盐、烷酰基烷基牛磺酸、N- 酰基氨基酸盐、POE 烷基醚羧酸盐、烷基磺基琥珀酸盐、烷基磺基乙酸钠、酰基化水化胶原肽盐、全氟烷基磷酸酯等。

[0070] 阳离子表面活性剂可包含氯化烷基三甲基铵、氯化硬脂基三甲基铵、溴化硬脂基三甲基铵、氯化鲸蜡硬脂基三甲基铵、氯化二硬脂基二甲基铵、氯化硬脂基二甲基苄基铵、溴化山嵛基三甲基铵、氯化苄烷铵、二乙基氨基乙基酰胺硬脂酸盐、二甲基氨基丙基酰胺硬脂酸盐、羊毛脂的季铵盐衍生物等。

[0071] 两性表面活性剂可包含羧基甜菜碱型、酰胺甜菜碱型、磺基甜菜碱型、羟基磺基甜菜碱型、酰胺磺基甜菜碱型、磷酸甜菜碱型、氨基羧酸盐型、咪唑啉衍生物型、酰胺胺型两性表面活性剂等。

[0072] 有机和无机颜料可包含无机颜料，例如硅酸、硅石、硅酸镁、滑石粉、绢云母、云母、高岭土、红铁粉、粘土、膨润土、钛包被的云母、氧氯化铋、氧化锆、氧化镁、氧化锌、氧化钛、氧化铝、硫酸钙、硫酸钡、硫酸镁、碳酸钙、碳酸镁、氧化铁、群青、氧化铬、氢氧化铬、异极矿及其复合物；有机颜料例如聚酰胺、聚酯、聚丙烯、聚苯乙烯、聚氨酯、乙烯基树脂、脲树脂、酚树脂、氟树脂、硅石树脂、丙烯酸树脂、三聚氰胺树脂、环氧树脂、聚碳酸酯树脂、二乙烯基苯 / 苯乙烯共聚物、丝粉、纤维素、CI 颜料黄或 CI 颜料橙；以及无机颜料和有机颜料的复合颜料等。

[0073] 有机粉末可包含金属皂，例如硬脂酸钙；金属烷基磷酸盐，例如鲸蜡酸锌钠、月桂酸锌或月桂酸钙；多价酰基氨基酸金属盐，例如，N- 月桂酰 - β - 丙氨酸钙、N- 月桂酰 - β - 丙氨酸锌或 N- 月桂酰甘氨酸钙；多价酰胺磺酸金属盐，例如 N- 月桂酰 - 牛磺酸钙或 N- 棕榈酰 - 牛磺酸钙；N- 酰基碱性氨基酸，例如 N- ε - 月桂酰 -L- 赖氨酸、N- ε - 棕榈酰赖氨酸、N- α - 棕榈酰鸟氨酸、N- α - 月桂酰精氨酸或 N- α - 氢化牛油脂肪酸酰基精氨酸；N- 酰基多肽，例如 N- 月桂酰甘氨酰基甘氨酸；α - 氨基脂肪酸，例如 α - 氨基辛酸或 α - 氨基月桂酸；聚乙烯、聚丙烯、尼龙、聚甲基丙烯酸甲酯、聚苯乙烯、二乙烯基苯 / 苯乙烯共聚物、四氟乙烯等。

[0074] UV 吸收剂可包含对 - 氨基苯甲酸、乙基对 - 苯甲酸酯、对 - 氨基苯甲酸戊酯、对 - 氨基苯甲酸辛酯、水杨酸乙二醇、水杨酸苯 (henyl) 酯、水杨酸辛酯、水杨酸苄酯，水杨酸丁基苯基酯，水杨酸三甲环己酯 (homomentyl salicylate)，肉桂酸苄酯、对 - 甲氧基肉桂酸 2- 乙氧基乙基酯，对甲氧基肉桂酸辛酯、单 -2- 乙基己烷甘油基二 - 对 - 甲氧基肉桂酸酯、对 - 甲氧基肉桂酸异丙酯、二异丙基 / 二异丙基肉桂酸酯混合物、尿刊酸、尿刊酸乙酯、羟基甲氧基苯甲酮、羟基甲氧基苯甲酮磺酸及其盐、二羟基甲氧基苯甲酮、二羟基甲氧基苯甲酮二磺酸钠、二羟基苯甲酮、四羟基苯甲酮、4- 叔 - 丁基 -4’ - 甲氧基二苯甲酰基甲烷、2,4,6- 三苯胺基 - 对 -(羰基 -2′ - 乙基己基 -1’ - 氧基)-1,3,5- 三嗪、2-(2- 羟基 -5- 甲基苯基) 苯并三唑等。

[0075] 杀菌剂可包含日扁柏素、三氯生 (triclosan)、三氯羟基二苯基醚、葡萄糖酸氯已

定、苯氧乙醇、间苯二酚、异丙基甲基苯酚、蒽 (azulene)、水杨酸、吡硫锌、苯扎氯铵、光敏剂 301、单硝基愈创木酚钠、十一烯酸等。

[0076] 抗氧化剂可包含丁基羟基苯甲醚、没食子酸丙酯、异抗坏血酸等。

[0077] pH 调节剂可包含柠檬酸、柠檬酸钠、苹果酸、苹果酸钠、富马酸、富马酸钠、琥珀酸、琥珀酸钠、氢氧化钠、磷酸氢二钠等。

[0078] 醇可包含高级醇，例如鲸蜡醇。

[0079] 此外，可添加到其中的混合组分不限于上述组分，可以不阻碍本发明的目的和效果的范围内混入任何组分。即，所述组分可优选以基于组合物总重量为 0.01 至 5 重量％的量混入，更优选 0.01 至 3 重量％。

[0080] 本发明的化妆品组合物可以制备成溶液、乳剂或粘性混合物的形式。

[0081] 除了该化合物，本发明的化妆品组合物中包含的组分还可包含一般作为活性成分用于化妆品组合物的组分。例如，所述化妆品组合物包含常规的佐剂和载体，例如稳定剂、增溶剂、维生素、颜料和芳香剂。

[0082] 本发明的化妆品组合物可制备成本领域中一般制备的任何制剂，所述制剂的例子可包含乳液、乳霜、脸部化妆水、美容涂敷剂、粉底蜜、洗液、精华液、护发组合物等。

[0083] 当本发明的制剂是膏、霜或凝胶的形式时，可使用动物纤维、植物纤维、蜡、石蜡、淀粉、西黄蓍胶 (tragant)、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅、膨润土、硅石、滑石粉或氧化锌作为载体组分。

[0084] 当本发明的制剂是粉末或喷雾剂的形式时，可使用乳糖，滑石粉，硅石，氢氧化铝，硅酸钙或聚酰胺粉末作为载体组分。尤其是当本发明的制剂是喷雾剂形式时，该制剂还可包含抛射剂，例如氯氟烃，丙烷 / 丁烷或二甲基乙醚。

[0085] 当本发明的制剂是溶液或乳剂的形式时，可使用溶剂、溶剂化剂或乳化剂作为载体组分。例如，载体组分可包含水、乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3- 丁基二醇油、脂肪族甘油酯、聚乙二醇或山梨醇脂肪酸酯。

[0086] 当本发明的制剂是混悬剂的形式时，可使用液体稀释剂 (例如，水、乙醇或丙二醇)、混悬剂 (例如，乙氧基化的异硬脂醇，聚环氧乙烷山梨醇酯和聚环氧乙烷山梨聚糖酯，微晶纤维素，氢氧化铝氧化物 (aluminummethahydroxide)，膨润土，琼脂或西黄蓍胶作为载体组分。

[0087] 当本发明的制剂是含有表面活性剂的清洁剂的形式时，可使用脂肪醇硫酸酯、脂肪醇醚硫酸酯、磺基琥珀酸单酯、羟乙基磺酸酯、咪唑衍生物、甲基牛磺酸酯、肌氨酸酯、脂肪酸酰胺醚硫酸酯、烷基酰胺基甜菜碱、脂肪醇、脂肪酸甘油酯、脂肪酸二乙醇酰胺、植物油、亚油精衍生物或乙氧基化的甘油脂肪酸酯作为载体组分。

[0088] 另外，本发明提供用于预防和治疗脱发症的保健食品，包含式 I 的去甲加兰他敏化合物作为活性成分。

[0089] 根据本发明包含去甲加兰他敏化合物的组合物可被广泛地用于药物、食品和饮料，以预防和治疗脱发症。可以向其中添加本发明化合物的食品，例如，包括各种食品、饮料、口香糖、茶、维生素复合物和保健食品补充剂，但本发明不限于此。例如，可以以粉末、颗粒、片剂、胶囊或饮料的形式使用该食品。

[0090] 本发明的化合物可添加到食品或饮料，用于预防和治疗脱发症的目的。在保健食

品组合物的情况下，食物或饮料中的化合物一般可以基于食品总重量的 1 至 5％重量的量添加。另外，在保健饮料组合物的情况下，可以以基于 100ml 组合物 0.02 至 10g 的比例添加，优选 0.3 至 1g。

[0091] 本发明的保健饮料组合物包含指定比例的该化合物作为必要组分，但可包含没有特别含量限制的其他液体组分。如同常规的饮料那样，所述保健饮料组合物可包含额外组分，例如多种调味剂或天然糖。上述天然糖的例子包括单糖（例如，葡萄糖）、双糖（例如，果糖）、多糖（例如，麦芽糖或蔗糖）、常规的糖（例如糊精或环糊精）和糖醇（例如，木糖醇、山梨糖醇或赤藓糖醇）。除了上述组分，天然调味剂（索马甜、甜菊提取物（即，甜叶菊甙 A、甘草甜素等））和合成调味剂（糖精、阿斯巴甜等）可有利地用作调味剂。天然糖一般可以以基于 100ml 本发明的组合物大约 1 至 20g 的量存在，优选大约 5 至 12g。

[0092] 除了上述组分，本发明的组合物可包含多种营养物，维生素、矿物（电解质）、调味剂（例如，合成调味剂或天然调味剂）、着色剂和改良剂（奶酪、巧克力等）、果胶酸及其盐、褐藻酸及其盐、有机酸、保护性胶体增稠剂、pH 调节剂、稳定剂、防腐剂、甘油、醇和碳酸饮料中使用的碳酸化剂。此外，本发明的组合物可包含用于制备天然的水果汁和蔬菜汁的果肉。这些组分可单独使用或组合使用。这样的添加剂的含量是无关紧要的，但一般选自基于 100 份重量的本发明的组合物 0 至大约 20 重量份的范围。

[0093] 下文中将参照参考实施例、实施例和实验实施例来详细地描述本发明。

[0094] 然而，应该理解的是，本文中提出的如下参考实施例、实施例和实验实施例仅为示例目的而描述，并不意在限制本发明的范围。

[0095] 实施例 1：去甲加兰他敏的分离和纯化

[0096] 收集生长在济州道（韩国）野外的 C.asiaticum 的地上部分，在阴凉处干燥获得样品。1.5kg 的样品切成碎片，从 25000ml 甲醇中提取 3 次，并浓缩以产生 500g 甲醇提取物。用 1000ml 己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯和丁醇依次分馏甲醇提取物。随后，使用氯仿－甲醇－水（13 ： 7 ： 2(v/v/v)，下层）作为流动相对丁醇馏份进行硅胶柱色谱分离，获得 9 个亚级份（“Fr.1”至“Fr.9”）。根据上述方法，将亚级份 Fr.4 悬于水和二氯甲烷中，依次用酸和碱处理，以获得生物碱级份。使用丙酮－水（2 ： 1(v/v)）为流动相也将该生物碱级份进行硅胶柱色谱分离，以获得粗去甲加兰他敏级份。随后，从丙酮中对该粗去甲加兰他敏级份进行重结晶，以获得 160mg 白色针状结晶的去甲加兰他敏。

[0097] 白色针状结晶

[0098] 熔点：179-181℃

[0099] $[]_D^{20}$(MeOH，c 0.29)：-65.5°

[0100] $UV_{最大}$：278、288nm

[0101] FAB-MS m/z：274[M+H]+

[0102] ^{1}H-NMR(300MHz，CD_3OD)：2.52(H，d，J ＝ 15.9Hz，H-1)，2.18(H，d，15.9Hz，H-1)，4.21(H，m，H-2)，6.02(H，d，J ＝ 10.3Hz，H-3)，6.16(H，d，J ＝ 10.3Hz，H-4)，2.08(2H，m，H-6)，3.65(H，d，J ＝ 15.0Hz，H-7)，3.63(H，d，J ＝ 15.0Hz，H-7)，4.34(H，d，J ＝ 15.0Hz，H-9)，4.54(H，d，J ＝ 15.0Hz，H-9)，6.83(H，d，J ＝ 8.3Hz，H-11)，6.86(H，d，J ＝ 8.3Hz，H-12)，4.63(H，m，H-16)，3.83(3H，s，H-OCH_3)

[0103] ^{13}C-NMR(75MHz，CD_3OD)：31.40(C-1)，62.08(C-2)，129.99(C-3)，127.00(C-4)，

49.28(C-5),35.94(C-6),46.62(C-7),51.74(C-9),123.04(C-10),123.55(C-11),113.60(C-12),148.43(C-13),147.04(C-14),134.20(C-15),88.57(C-16),56.66(OCH_3)

[0104] 参考实施例 1 :统计学分析

[0105] 所有测量的数据都以平均值 ± 标准偏差表示,使用 Student t 检验进行统计显著性检验。在此,当 p 值等于或小于 0.05 时,被证明是显著性的。使用用于 Windows 操作系统的 SPSS 12.0K 进行统计学分析 (Release 12.0.1.SPSS Inc.USA)。

[0106] 实验实施例 1 :测量对鼻毛毛囊生长的作用

[0107] 1-1. 分离和培养大鼠鼻毛毛囊

[0108] 为了测量实验实施例 1 中制备的去甲加兰他敏化合物对毛发生长的作用,使用出版物 (Philpott MP,等人,Cyclical changes in rat vibrissafollicles maintained in vitro.J Invest Dermatol.115,pp.1152-1155,2000) 中描述的方法进行如下实验。

[0109] 三周龄的雄性 Wistar 大鼠 (Japan SLC, Hamamatsu, Japan) 购自 Central Lab. Animal Inc.(Korea),用乙醚麻醉,通过颈椎脱臼处死。取出大鼠的左侧和右侧面部触须垫并放入补充了 100 单位 /ml 青霉素和 100μg/ml 链霉素 (Gibco Inc,NY,USA) 的 E/P 缓冲液 ((EBSS,Earle′ s 平衡盐溶液,Sigma MO,USA)+(PBS,磷酸盐缓冲盐水,Sigma MO,USA))。在立体解剖显微镜下仔细分离鼻毛毛囊。完全分离毛囊后,将毛囊放入含有 E/P 缓冲液的 Petri 培养皿中,并在 37℃下在 5% CO_2 恒温器中孵育 1 小时。将 500μl 含有 2mM L- 谷氨酰胺 (Gibco Inc,NY,USA)、10μg/ml 胰岛素 (Sigma MO,USA)、50nM 氢化可的松 (Sigma MO,USA) 和 100 单位 /ml 青霉素 -100μg/ml 链霉素的 William E 培养基 (Gibco Inc,NY,USA) 加入到 24 孔板的每个孔中,每个孔中加入一个毛囊,37℃下在 5% CO_2 恒温器中孵育。每个实验组使用 10 至 12 个毛囊,孵育过程中,每 3 天用新鲜培养基更换培养基。用 0.01 至 0.1uM 浓度的实验实施例 1 的去甲加兰他敏化合物处理毛囊,并用 1μM 浓度的硫酸米诺地尔 (M.S.,Sigma,USA) 处理作为阳性对照。

[0110] 1-2. 测量大鼠鼻毛毛囊的生长

[0111] 使用显微镜 (Olympus,Japan) 拍摄鼻毛毛囊形状的照片。在 0、7、14 和 21 天的时间点,使用图像分析仪 (DP controller ;Olympus,Japan) 测量毛囊的长度。计算毛囊长度的平均变化,通过将平均变化与对照的平均长度对比来检测生长水平。

[0112] 1-3. 实验结果

[0113] 根据实验结果,通过从生长期的 3 周龄大鼠中分离鼻毛毛囊,孵育所述鼻毛毛囊 3 周并测量毛囊的长度,证实了去甲加兰他敏化合物对毛发生长的作用。如图 1 所示,考查了去甲加兰他敏治疗组和对照之间毛囊长度的差异 (%)。结果,当用 0.01 和 0.1uM 浓度的去甲加兰他敏分别处理毛囊时,在 21 天时间点,与对照 (100%) 相比,毛发纤维的生长显著性增加至 128.7±13.8%和 139.2±10.3% ($p > 0.05$),而用 1uM 硫酸米诺地尔 (M.S., minoxidil sulfate) 作为阳性对照的处理使毛发纤维的生长增加到 135.03±38.8%。

[0114] 实验实施例 2 :测量对真皮乳头细胞增殖的作用

[0115] 为了证实实验实施例 1 的去甲加兰他敏化合物是否对真皮乳头细胞 (其在毛发的生长中发挥非常重要的作用) 的增殖表现出作用,使用出版物 (Han JH,等人,Effect of minoxodil on proliferation and apoptosis indermal papilla cells of human hair follicle.,J Dermatol Sci,34,pp.91-98,2004) 中描述的方法,通过 MTT 检测来测试大鼠

鼻毛永生化的真皮乳头细胞系。

[0116] 通过永生化分离自大鼠胡须的真皮乳头细胞而获得的大鼠鼻毛永生化的真皮乳头细胞系 (Filsell W,等人,Transfection of rat dermal papillacells with a gene encoding a temperature-sensitive polyomavirus large Tantigen generates cell lines a differentiated phenotype.,J.Cell Sci,107,pp.1761-1772,1994) 在 37℃下,在含有 100 单位 /ml 青霉素 -100μg/ml 链霉素 (Gibco Inc,NY,USA) 和 10%加热灭活的胎牛血清 (FBS,fetal bovineserum,Gibco Inc,NY,USA) 的 DMEM(Hyclone Inc,USA) 培养基中,使用 5% CO 恒温器孵育,每 3 天传代。

[0117] 将培养的真皮乳头细胞 (1.0×10^4 细胞 /ml) 放入 96 孔板的每个孔中,孵育 24 小时。随后,所使用的培养溶液被更换为无血清 DMEM 培养基,再次孵育 24 小时。之后,分别用 0.01 和 0.1μM 浓度的实验实施例 1 的去甲加兰他敏化合物和 1μM 浓度的阳性对照硫酸米诺地尔 (M.S.,Sigma,MO,USA) 处理培养溶液。孵育所得混合物 4 天,向其中加入 50μl 的 MTT(Sigma,MO,USA),混合物反应 4 小时。除去上清,将丸粒溶于 200μl 的 DMSO 中,随后使用微板读取仪 (Amersham Pharmacia Biotech,NY,USA) 测量在 540nm 处的吸收值。计算每个样品组的平均吸收值,并通过将该平均吸收值与对照的吸收值进行比较而检测毛发增殖的水平。

[0118] 如图 2 所述,根据实验结果,证实了与对照的增殖 (100%) 相比,当分别用 0.01 和 0.1μM 浓度的本发明的去甲加兰他敏化合物处理毛囊时,毛发的生长显著增加到 114.0±4.3% ($p>0.05$) 和 106.2±5.6%,并且去甲加兰他敏化合物对真皮乳头细胞增殖的作用增加到类似硫酸米诺地尔 (M.S.) 对真皮乳头细胞增殖的水平 (114.9±4.5%),硫酸米诺地尔是公知的促进毛发生长的代表药物。

[0119] 总之,作为 C.asiaticum 的一个组分的去甲加兰他敏化合物被认为可以通过促进真皮乳头细胞的生长和增殖而诱导或维持毛囊的生长,所述真皮乳头细胞在毛发生长中发挥非常重要的作用。因此,去甲加兰他敏化合物可有效地用于预防和治疗脱发。

[0120] 下文中将描述包含根据本发明的化合物的组合物的制备实施例。然而,应当理解的是,本文中提出的描述仅为示例目的,并不意在限制本发明的范围。

[0121] 制备实施例 1 :药物组合物的制备

[0122] 制备实施例 1-1 :粉末剂的制备

[0123] 去甲加兰他敏化合物 20mg

[0124] 乳糖 100mg

[0125] 滑石粉 10mg

[0126] 混合这些组分,并随后将混合的组分填充到气密袋中以制备粉末剂。

[0127] 制备实施例 1-2 :片剂的制备

[0128]

去甲加兰他敏化合物	**10 mg**
玉米淀粉	**100 mg**
乳糖	**100 mg**
硬脂酸镁	**2 mg**

[0129] 混合这些组分，并随后使用常规的制备片剂的方法压成片剂。

[0130] 制备实施例 1-3 ：胶囊剂的制备

[0131]

去甲加兰他敏化合物	**10 mg**
结晶纤维素	**3 mg**
乳糖	**14.8 mg**
硬脂酸镁	**0.2 mg**

[0132] 使用制备胶囊剂的常规方法，混合这些组分，并用混合的组分填充明胶胶囊中以制备胶囊剂。

[0133] 制备实施例 1-4 ：注射溶液的制备

[0134]

去甲加兰他敏化合物	**10 mg**
甘露醇	**180 mg**
注射用无菌蒸馏水	**2974 mg**
$Na_2HPO_4,12H_2O$	**26 mg**

[0135] 混合上述组分，并根据制备注射溶液的常规方法，将 2ml 所得的混合物装入各个安瓿中。

[0136] 制备实施例 1-5 ：溶液的制备

[0137]

去甲加兰他敏化合物	**20 mg**
异构化糖	**10 g**
甘露醇	**5 g**
纯水	**适量**

[0138] 通过在纯水中溶解上述组分，向其中加入柠檬味调味剂，混合所有组分，向所得的混合物中加入纯水使得混合物的最终量调节为 100ml，将混合物装入棕色小瓶中并对混合物灭菌，使用制备溶液的常规方法制备溶液。

[0139] 制备实施例 2 ：化妆品组合物的制备

[0140] 制备实施例 2-1. 生发油的制备

[0141]

间苯二酚	0.1%
薄荷醇	0.05%
泛酰醇	0.2%
水杨酸	0.1%
醋酸生育酚	0.1%
盐酸吡哆醇	0.1%
蓖麻油	5.0%
去甲加兰他敏化合物	10.0%
着色物	适量
芳香剂	适量
乙醇	适量
纯水	平衡量
总计	100.0%

[0142] 制备实施例 2-2. 护发素的制备

[0143]

鲸蜡醇	3.5%
自乳化的单硬脂酸甘油酯	1.5%
丙二醇	2.5%
氯化硬脂基甲基苄基铵(25%)	7.0%

[0144]

对-氧基苯甲酸甲酯	0.3%
去甲加兰他敏化合物	2.5%
着色物	适量
芳香剂	适量
纯水	平衡量
总计	100.0%

[0145] 制备实施例 2-3. 毛发洗剂的制备

[0146]

间苯二酚	2.0%
薄荷醇	2.0%
泛醇	0.5%
吡罗克酮乙醇胺（Piroctone Olamine）	0.1%
去甲加兰他敏化合物	5.0%
芳香剂/着色物	0.5%
纯水	平衡量
总计	100.0%

[0147] 制备实施例 2-4. 洗发皂的制备

[0148]

去甲加兰他敏化合物	0.1%
二氧化钛	0.2%
聚乙二醇	0.8%

[0149]

甘油	0.5%
乙二胺四乙酸	0.05%
钠	1.0%
着色物	适量
皂用香精	适量
化妆品皂基(湿度:13 重量%)	平衡
总计	100.0%

[0150] 制备实施例 2-5. 亲水软膏

[0151]

编号	物质	含量 (重量%)	含量 (%重量)
1	去甲加兰他敏化合物	0.5	-
2	白凡士林	250	250
3	硬脂醇	220	220
4	对-氧基苯甲酸乙酯(或甲酯)	0.25	0.25
5	丙二醇	120	120
6	十二烷基硫酸钠	15	15
7	对-氧基苯甲酸丙酯	0.15	0.15

[0152] 制备实施例 3 :保健食品的制备

[0153] 制备实施例 3-1. 保健食品的制备

[0154]

去甲加兰他敏化合物	1000 mg
维生素混合物	适量
醋酸维生素 A	70 μg

[0155]

维生素 E	1.0 mg
维生素 B1	0.13 mg
维生素 B2	0.15 mg
维生素 B6	0.5 mg
维生素 B12	0.2 μg
维生素 C	10 mg
生物素	10 μg
烟酰胺	1.7 mg
叶酸	50 μg
泛酸钙	0.5 mg
矿物混合物	适量
硫酸亚铁	1.75 mg
氧化锌	0.82 mg
碳酸镁	25.3 mg
磷酸二氢钾	15 mg
磷酸氢钙	55 mg
柠檬酸钾	90 mg
碳酸钙	100 mg
氯化镁	24.8 mg

[0156] 维生素和矿物混合物的组成比是通过将优选的实验实施例中用于保健食品的相对适宜的组分而获得的，但可任选地改变。随后，根据制备保健食品的常规方法混合上述组

分以制备颗粒，并可根据常规方法用于制备保健食品组合物。

[0157] 制备实施例 3-2. 保健饮料的制备

[0158]

去甲加兰他敏化合物	**1000 mg**
柠檬酸	**1000 mg**
寡糖	**100 g**
梅提取物	**2 g**
牛磺酸	**1 g**
纯水	**至 900 ml**

[0159] 根据制备保健饮料的常规方法混合上述组分，并在 85℃下边搅拌边加热大约 1 小时。将所得的混合物过滤并置于 2L 无菌容器中。之后，将无菌容器密封、消毒并冷藏。然后，该混合物被用于制备本发明的保健饮料组合物。

[0160] 这些组分的组成比是通过将优选的实验实施例中用于保健饮料的相对适宜的组分混合而获得的，但可根据类别和需求的国家，以及区域和国家的偏好（例如，使用）而任选地改变。

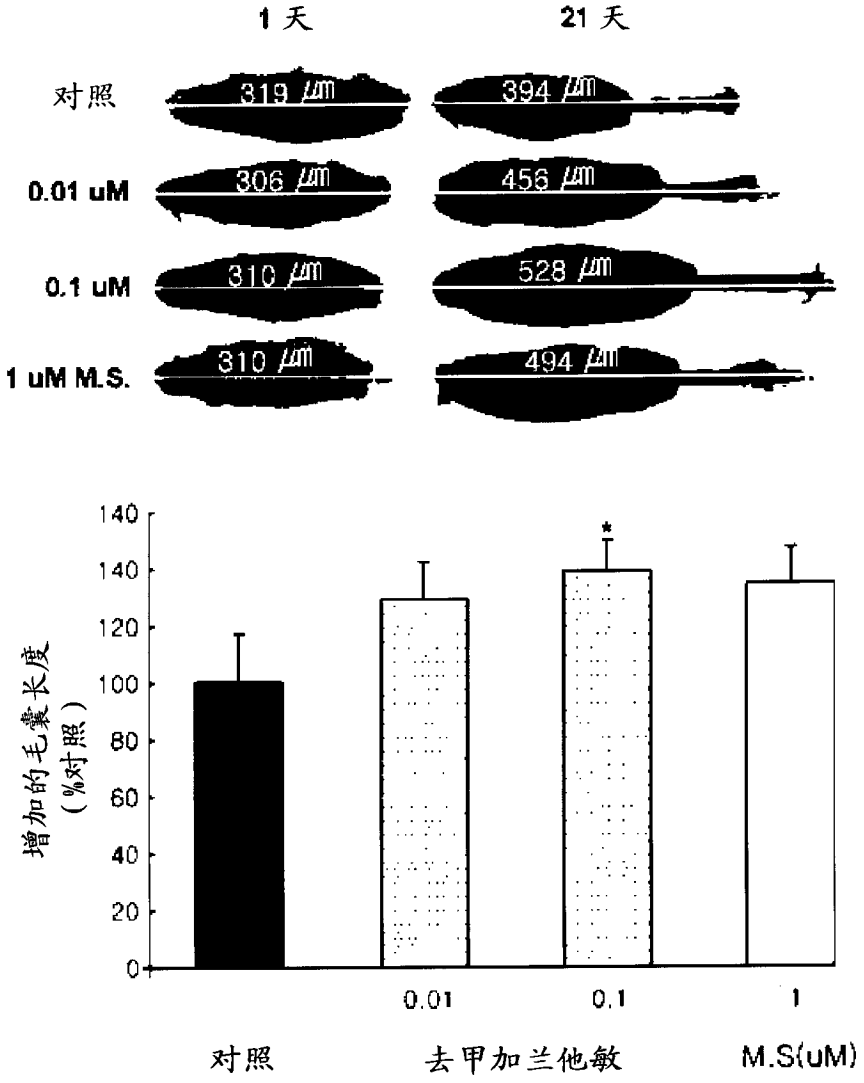

1 天
21 天
对照
319 μm
394 μm
0.01 uM
306 μm
456 μm
0.1 uM
310 μm
528 μm
1 uM M.S.
310 μm
494 μm
增加的毛囊长度
(%对照)
140
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
对照
去甲加兰他敏
M.S(uM)

图 1

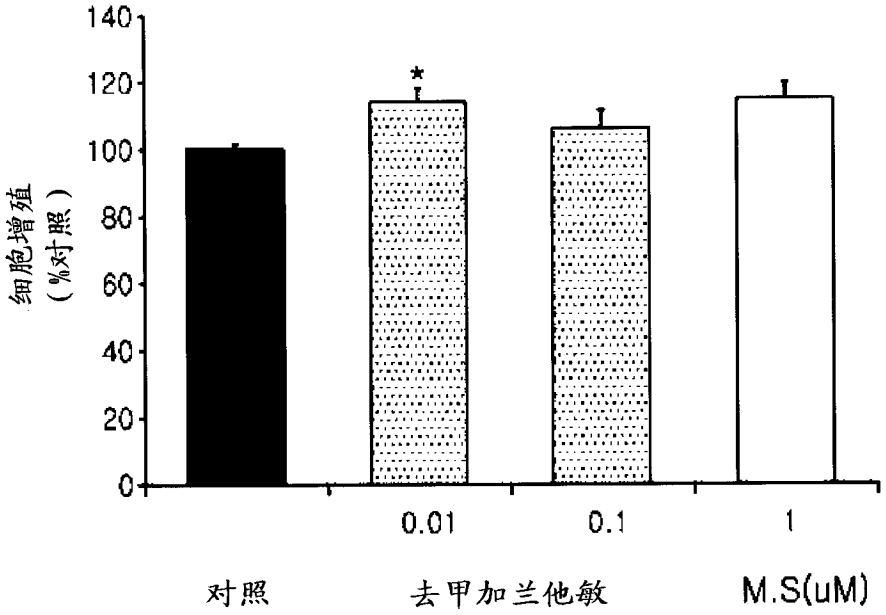

140
120
100
80
60
40
20
0
细胞增殖
(%对照)
*
0.01
0.1
1
对照
去甲加兰他敏
M.S(uM)

图 2

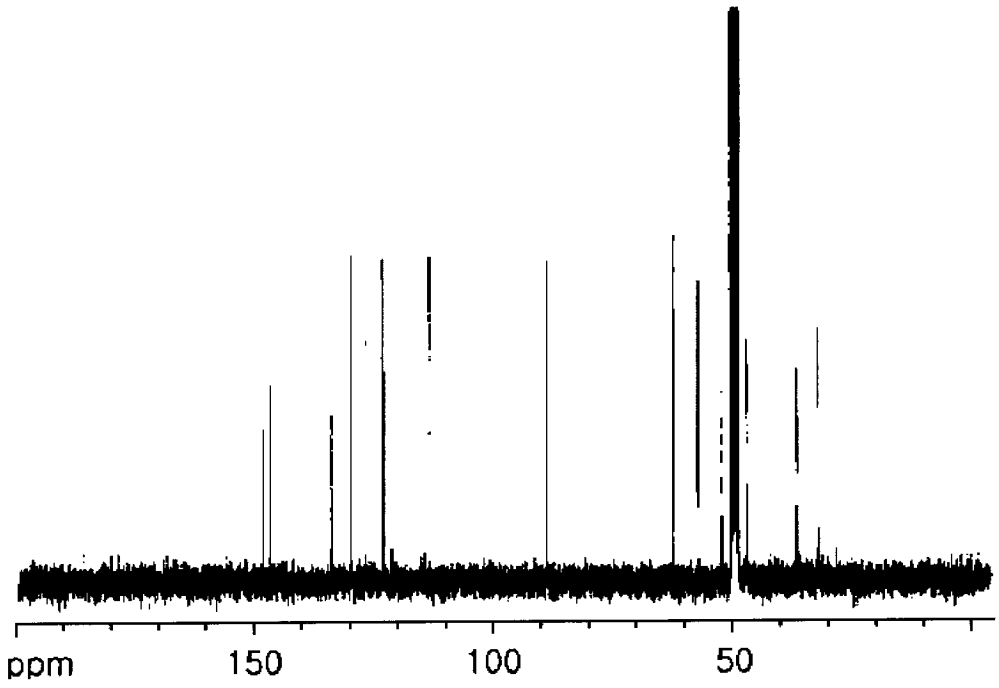

ppm
150
100
50

图 3

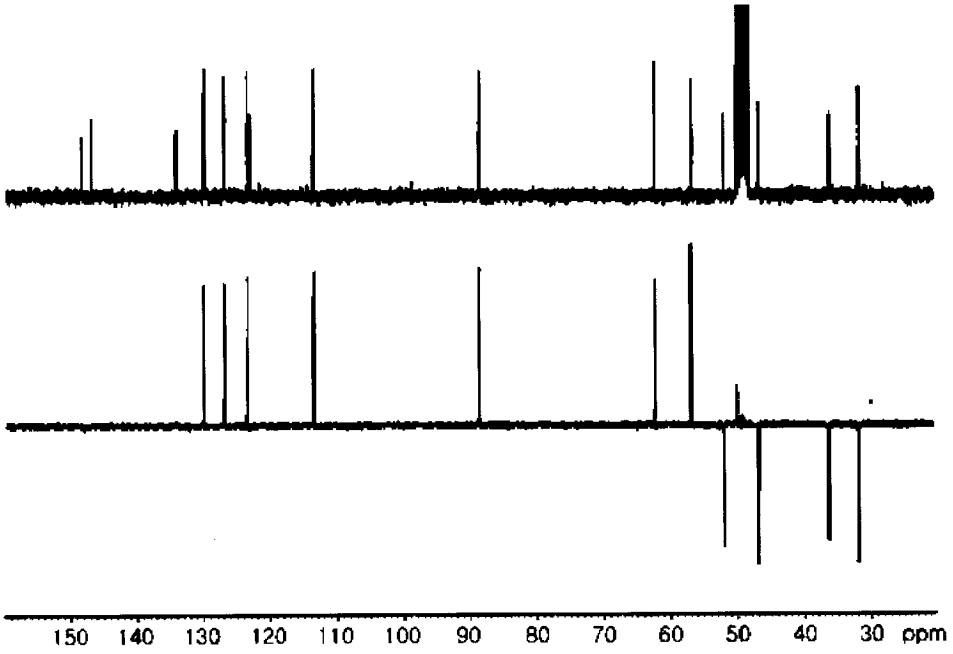


图 4

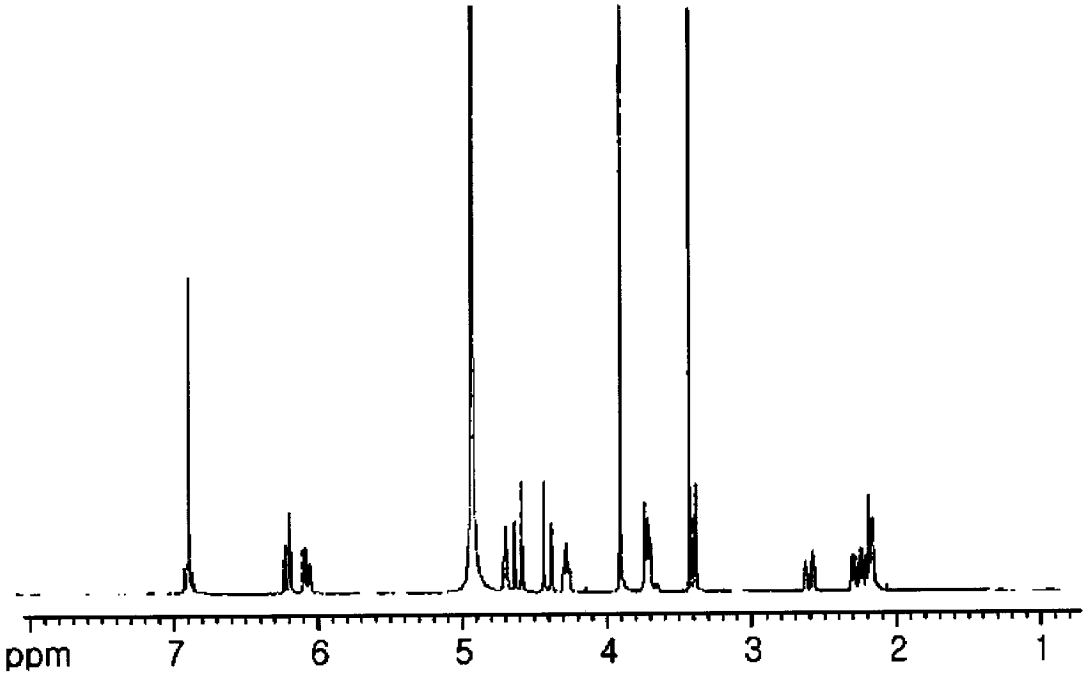


图 5

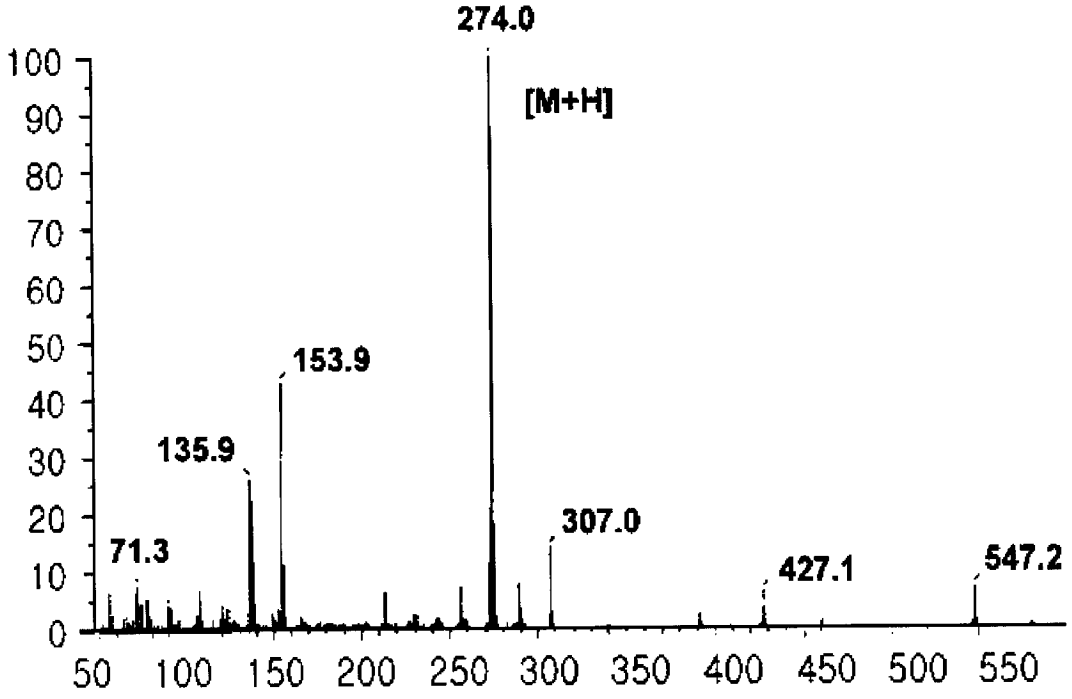

274.0
[M+H]
153.9
135.9
307.0
71.3
427.1
547.2
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
550

图 6