

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-519976

(P2017-519976A)

(43) 公表日 平成29年7月20日 (2017.7.20)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 27/62 (2006.01)	G O 1 N 27/62 V	2 G O 4 1
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	2 G O 4 5
G O 1 N 33/50 (2006.01)	G O 1 N 33/50 H	4 B O 6 3
A 6 1 K 8/36 (2006.01)	A 6 1 K 8/36	4 C O 8 3
A 6 1 Q 5/00 (2006.01)	A 6 1 Q 5/00	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 26 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-567855 (P2016-567855)
 (86) (22) 出願日 平成27年6月3日 (2015.6.3)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年11月14日 (2016.11.14)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/033945
 (87) 国際公開番号 W02015/191344
 (87) 国際公開日 平成27年12月17日 (2015.12.17)
 (31) 優先権主張番号 62/011, 275
 (32) 優先日 平成26年6月12日 (2014.6.12)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 590005058
 ザ プロクター アンド ギャンブル カ
 ンパニー
 アメリカ合衆国オハイオ州, シンシナティ
 ー, ワン プロクター アンド ギャンブ
 ル プラザ (番地なし)
 (74) 代理人 100110423
 弁理士 曾我 道治
 (74) 代理人 100111648
 弁理士 梶並 順
 (74) 代理人 100122437
 弁理士 大宅 一宏
 (74) 代理人 100161115
 弁理士 飯野 智史

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ペプチドの評価による毛髪への熱損傷の検出及び実証方法

(57) 【要約】

ケラチン繊維の熱損傷を測定するための方法であって、水溶液を用いて毛髪試料からペプチドを溶出する工程と、好適な溶媒試料を使用してペプチドを抽出する工程と、MALDI-MSを用いてペプチド試料を分析する工程と、ペプチド結果を得る工程と、標識ペプチドの存在を検出し、ペプチドに関する m/z 比を同定する工程と、を含む方法。

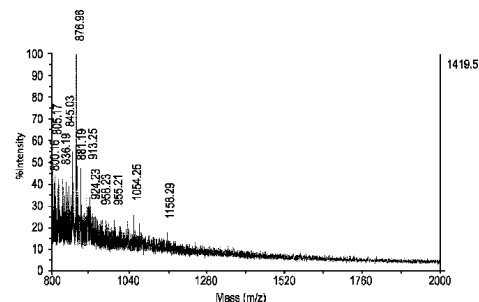


Fig. 1

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

a) 水溶液を用いて毛髪試料からペプチドを溶出する工程と、
b) 好適な溶媒試料を使用して該ペプチドを抽出する工程と、
c) M A L D I - M S を用いて該ペプチド試料を分析し、ペプチド結果を得る工程と、
d) 標識ペプチドの存在を同定し、該ペプチドに対する m/z 比を同定する工程と、を含む、ケラチン繊維の熱損傷を測定するための方法。

【請求項 2】

前記ペプチドは、漂白した毛髪に対する 1061 の m/z を有する、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記ペプチドは、真新しい毛髪に対する 1067 の m/z を有する、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

a) 処置用組成物を毛髪試料 A に塗布し、処置用組成物を毛髪試料 B に塗布しない工程と、

b) 毛髪試料 A 及び毛髪試料 B に熱を加える工程と、

c) 水溶液を用いて毛髪試料からペプチドを溶出する工程と、

d) 好適な溶媒試料を使用して該ペプチドを抽出する工程と、

e) 試料中に存在する固有の変異パターンを同定することによって、前記標識ペプチドを同定又は測定する工程であって、前記 M A L D I - M S ペプチドは、試料 A が試料 B と比較してペプチドが減少するペプチドとなる、工程と、を含む、ケラチン繊維の熱損傷に対する処置を同定する、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 5】

前記処置用組成物は、ペプチド架橋剤を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記ペプチド架橋剤は、糖、炭酸エステル、アミン、ジアミン、カルボニル含有化合物、カルボン酸、オキシエタン酸、及びこれらの混合物からなる群から選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 7】

前記処置用組成物は、熱保護剤を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記熱保護剤は、シリコーン、ポリマー、グリコール、保湿剤、金属塩、オイル、加水分解ケラチン、及びこれらの混合物からなる群から選択される、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

M A L D I - I m a g i n g を用いて毛髪を分析する工程、タンパク質フラグメント結果を得る工程、を含む、毛髪の熱損傷を測定するための、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 10】

前記方法は、マーケティング又は広告の主張を支持するために使用される、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本開示の実施形態は、抽出されたペプチドの評価及び同定によって毛髪への熱損傷を測定するプロセスを目的とする。

【背景技術】**【0002】**

50

タンパク質損失による毛髪損傷は、既知の問題であるが、概して、ほとんどの人は、自身の毛髪に生じているタンパク質損失の量又は自身の毛髪健康レベルを認識していない。タンパク質損失は、紫外線への曝露、漂白、染毛、パーマ、直毛矯正、加熱、機械的操作、及び塩水との接触などの日常的事象及び環境要因によって引き起こされ得る。

【0003】

分子レベルでの適正な毛髪構造は、健康な外観、艶、及び感触を有する毛髪の重要な特徴である。毛髪はほとんどタンパク質からなり、頭皮から出た後は再生不可能である。したがって、毛髪の全体的なタンパク質の健全性を保護する製品を有することが重要である。したがって、タンパク質及び繊維レベルでの毛幹の保護は、毛髪の健全な外観の確保のために重要である。

10

【0004】

毛髪から抽出されたペプチドを同定し、毛髪損傷の種類とペプチドの種類とを相関させることにより、1) 毛髪への損傷の種類を正確な同定を可能にし、2) 損傷を防止する製品か、又は加熱の場合若しくは他の処置の場合に損傷を生じさせない製品かいずれか一方を設計するために必要な情報を提供することができる。加えて、毛髪疾患の特定の種類を同定することもまた重要である。損傷及び/又は処置に対する反応は、毛髪疾患のある人の毛髪と正常な毛髪とは異なる。したがって、特定の種類の損傷に対するタンパク質レベルでの毛髪の反応に基づいて、存在する毛髪疾患の種類を示すことが可能であり得る。

【0005】

熱損傷効果

毛髪がケラチンベースのペプチドであることは既知であり、ほとんどのペプチドと同様に、熱分解の影響を受けやすい。毛髪が、ブロードライヤ、ストレートアイロン (flat iron)、又はカーリングアイロンによって毛髪の変性温度に近い又はこれを超える温度上昇に曝されると、ペプチドは、分解し始め、ジスルフィド結合は、開裂し始める。この構造分解により、断裂及び機械的損傷により影響されやすい弱化した毛髪繊維がもたらされる。更に、毛髪が反復的な熱処理及び高温に連続して曝されると、この分解は、更に悪化する。

20

【0006】

また、ペプチドが同定されると、ペプチド損失から生じた利用可能な結合を利用する製品、具体的には、特定の損傷種類に特化した製品を製造することができる。

30

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本開示は概ね、毛髪から抽出されたペプチドと毛髪損傷の種類とを相関させることによって、毛髪の熱損傷を検出するシステム及び方法に関する。

【0008】

本発明の実施形態は、水溶液を用いて毛髪試料からペプチドを溶出する工程と、好適な溶媒試料を使用してペプチドを抽出する工程と、MALDI-MSを用いてペプチド試料を分析する工程と、ペプチド結果を得る工程と、標識ペプチドの存在を同定し、ペプチドに対する m/z 比を同定する工程と、を含む、ケラチン繊維の熱損傷を測定するための方法を目的とする。

40

【0009】

本発明の更なる実施形態は、処置用組成物を毛髪試料Aに塗布し、処置用組成物を毛髪試料Bに塗布しない工程と、毛髪試料A及び毛髪試料Bに熱を加える工程と、水溶液を用いて毛髪試料からペプチドを溶出する工程と、好適な溶媒試料を使用してペプチドを抽出する工程と、試料中に存在する固有の変異パターンを同定することによって、標識ペプチドを同定又は測定する工程であって、MALDI-MSペプチドは、試料Aが試料Bと比較してペプチドが減少するペプチドとなる、工程と、を含む、ケラチン繊維の熱損傷に対する処置を同定する方法を目的とする。

【図面の簡単な説明】

50

【 0 0 1 0 】

【図 1】熱処理していない真新しい毛髪試料由来の抽出物の M A L D I 質量スペクトルである。

【図 2】 m/z が 1 0 6 7 のバイオ標識ピークの存在を実証している、熱処理した真新しい毛髪試料由来の抽出物の M A L D I 質量スペクトルである。

【図 3】熱処理していない漂白した毛髪試料由来の抽出物の M A L D I 質量スペクトルである。

【図 4】 m/z が 1 0 6 1 のペプチドのバイオ標識ピークの存在を実証している、熱処理した漂白した毛髪試料由来の抽出物の M A L D I 質量スペクトルである。

【図 5】架橋処理の熱保護効果を実証するグラフである。

10

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 1 】

本明細書で使用するとき、「毛髪」は、頭髮又はまつげなどの、ヒト又は動物由来のケラチン繊維を意味する。更に、本明細書で使用するとき、用語「ケラチンペプチド」は、毛髪中に存在するペプチドを意味すると理解される。本明細書で使用するとき、用語「タンパク質」は、損傷を受けてケラチンタンパク質構造から分離し、静電相互作用、弱い水素結合マトリックスのタンパク質及び脂質、又はケラチンタンパク質構造内への取り込みを含まないその他の任意の力によって、毛髪構造内に保持されている、アミノ酸及びより大きなタンパク質を意味する。

【 0 0 1 2 】

20

本明細書で使用するとき、「標識ペプチド」は、特定の種類の毛髪損傷及び／又は損傷を及ぼす処理と相関しているペプチドを意味する。

【 0 0 1 3 】

本明細書で使用するとき、「溶出する (elute)」、「溶出している (eluting)」などは、還元剤又は抽出剤を一切添加せずに水溶液と毛髪を接触させることによって、ケラチンペプチド構造を変更せずに、かつ毛髪試料に存在する (静電相互作用、弱い水素結合マトリックスのペプチド及び脂質、又はケラチンペプチド構造体への組み込みを含まないその他の任意の力による結合以外の) 化学結合を破壊若しくは還元せずに、毛髪からペプチドを取り出すことを意味する。

【 0 0 1 4 】

30

本明細書で使用するとき、「溶出可能な」とは、毛髪試料に存在するペプチドが、還元剤又は抽出剤を一切添加せずに水溶液において毛髪構造体から取り出されることが可能なことを意味する。更に、「溶出可能な」とは、ペプチドが、本質的に水からなる水溶液において、静電相互作用、弱い水素結合マトリックスのペプチド及び脂質、又はケラチンペプチド構造体への組み込みを含まないその他の任意の力による結合以外のケラチンペプチドに存在する化学結合の破壊又は還元を伴わずに、毛髪構造体から運び出すことができることを意味する。

【 0 0 1 5 】

本明細書で使用するとき、「熱損傷」は、熱処理に曝露された結果として毛髪に生じた損傷を意味する。熱曝露は、ストレートアイロン、カーリングアイロン、携帯型又は店舗据付型ドライヤーを含むブロードライヤー、及び加熱ローラなどの整髪電気器具を含む非限定的な例による処理で生じ得る。熱損傷は、約 6 6 C (1 5 0 F) 以上の電気器具温度で複数回処理をしたとき、又は約 2 5 0 F を超える電気器具温度で 1 回処理をしたときに生じ得る。通常、熱損傷は、毛髪温度が、約 2 6 0 F ~ 約 3 0 0 F の範囲又はこれを超える範囲にあり得る変性温度に達したときに生じ得、この変性温度は、例えば、真新しい毛髪、漂白した毛髪、及び日光で傷んだ毛髪などの毛髪状態によるが、毛髪状態の例は、これらに限定されない。

40

【 0 0 1 6 】

水溶液を利用して、ケラチンペプチド構造を変異させずに毛髪からペプチドを抽出することによって、毛髪損傷を検出及び実証する方法が開発されてきた。ペプチドが毛髪から

50

抽出されるとすぐに、ペプチドは分析される。ペプチドの分析から、毛髪に与えられた損傷の種類を同定することが可能であり、特に、毛髪に対する損傷の原因を判定することが可能である。そのような特定の標識ペプチドの1種として、毛髪が熱処理に曝露されたときに発生する標識ペプチドが挙げられる。毛髪試料を試験し、ペプチドを抽出し、抗体に基づく検出及び/又は質量分析法を用いて、得られたペプチドを試験することができる。

1つの実施形態において、MALDI質量分析法、すなわち、「MALDI-MS」としても知られているマトリックス支援レーザー脱離イオン化法（「MALDI」）を用いてペプチドの評価を行う。この技法は、質量分析法で用いられるソフトイオン化法である。MALDI-MSは、ペプチドなどの生体分子、ペプチド、及びポリマーなどの巨大有機分子の分析に使用することができる。MALDIでは、 α -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸（CHCA）などのUV吸収性マトリックスで検体を最初に共結晶化してから、パルスレーザー（YAGレーザー又は窒素レーザー）放射線に曝す。これは、検体/マトリックス結晶の蒸発/脱離を引き起こし、質量分析器に伝達されて検出されるイオンを生成する。MALDI-TOFでは飛行時間質量分析器が用いられる。MALDI-TOFデータは、分子量の情報を生成するためにMSモード（例えば、ペプチド）で収集されてもよく、MS/MSモード（例えば、ペプチド配列/構造情報）で収集されてもよい。通常、MALDI質量スペクトル収集は、1分未満で行われるため、対象の試料中の分子種の高速スクリーニングに使用することができる。真新しい毛髪及び漂白された毛髪のような異なる条件下で処置された試料で得られた質量スペクトルの比較によって、変化及び分子標識を検出することができる。

10

20

【0017】

MALDI-MSは、酵素によるペプチドの分解と共に行っても、それを用いずに行ってもよい。次いで、ペプチドの試験結果を既知の標識ペプチドのライブラリと比較して、毛髪損傷の種類を識別し、場合によっては、毛髪損傷の発生源（すなわち漂白）を識別する。これは、損傷の「フィンガープリンティング」を可能にする。すなわち、毛髪試料が試験され、結果が特定の標識ペプチドを含む場合、毛髪試料は、特定の原因によって損傷を受けたことを意味する。

【0018】

ペプチドを評価するための更なる方法としては、液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー質量分析法が挙げられるが、これに限定されず、ペプチドに対する抗体を生成することができ、ELISAアッセイを開発することができると考えられる。

30

【0019】

更に、iTRAQ法（相対及び絶対定量用同重体標識法）、AB-Sciex（Framingham, MA）から入手可能な試薬を使用して、ペプチドのそれぞれのリジン側鎖及び無置換N末端基への等圧タグの共有アミン結合を確立することができる。これは、MALDI-MSによって同時に複数の試料の試験を実行することを可能にする。複数の試料をMALDI-MSで同時に実行することは、試験変動性に起因する試験データの変動を最小化する。

【0020】

更に、本発明のある実施形態において、MALDIイメージング質量分析法を使用して、毛髪などの表面上で直接化学種をマッピングすることができる。損傷した毛髪上のペプチドの断片が直接検出され、毛髪繊維上で可視化することができる。同一のデータ収集において収集されたMALDIイメージの標識ペプチド強度は比較され得る。例えば、導電性両面テープの一片を用いて、真新しい毛髪、漂白された毛髪、又はUV曝露された毛髪由来の単一の毛髪繊維をMALDIプレートに直接実装することができる。 α -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸（CHCA）などのMALDIマトリックスを塗布した後、エリア全体にレーザービームを走査させることによって、イメージングモードで毛髪繊維の表面を分析することができる。MALDIイメージングモードで収集されたデータは、例えば、BioMapなどの画像化ソフトウェアを用いて加工することができる。毛髪繊維表面上に存在する特定の損傷標識に関するイオン強度マップを目視比較用に生成することがで

40

50

きる。

【 0 0 2 1 】

これらの標識ペプチドのライブラリは、様々な異なる組成物又は処理剤で毛髪見本を損傷させ、次いで、生じたペプチドを、損傷していない同様の毛髪見本と比較して分析することによって作製することができる。毛髪が受けた損傷の種類に基づいて、同一の標識ペプチドの結果が見出されることになると考えられるため、MALDI-MSにより標識ペプチドを同定することができる。これは、標識ペプチドが特定の処理下での毛髪損傷の種類又は原因を示していることを意味する。熱処理による毛髪損傷は、特有の標識ペプチドを生じさせ、漂白による毛髪損傷は、他の特有の標識ペプチドを生じさせる。

【 0 0 2 2 】

加えて、この方法を使用して、個人の毛髪が処理に対して正常な反応を有するかどうかを示すこともできる。例えば、ある個人が特有の毛髪疾患を有する場合、この個人由来の毛髪試料は、「正常な」反応を有する個人で生成されるであろうものと同じの標識ペプチドを生成しない可能性がある。毛髪疾患を有する個人は、正常な反応により示されるであろう標識ペプチドより多い、少ない、かつ/又は更にはそれとは異なる標識ペプチドを生成する可能性がある。毛髪疾患反応のライブラリもまた、上述のような損傷に関する標識ペプチドのライブラリと同様に作製できると考えられる。したがって、この毛髪疾患に関する試験は、個人の毛髪を特定の損傷を及ぼす処理に曝露し、次いで、損傷を及ぼす処理から生成された標識ペプチドによって毛髪疾患を同定することを含むと考えられる。

【 0 0 2 3 】

この毛髪ペプチド損失試験法の1つの実施形態において、可溶性ペプチドと不溶性ペプチドとは、別々に分析される。可溶性ペプチドと不溶性ペプチドとを別々に分析することにより、より感度の高いペプチド検出を行うことができる。加えて、これらのペプチドを別々に分析することにより、毛髪に対する損傷の位置の判定を更に向上させることができる。可溶性ペプチドと不溶性ペプチドとを別々に測定するために、毛髪繊維の除去後、水中の試料を遠心分離するか、又は可溶性部分から不溶性部分が沈殿するように放置してもよい。

【 実施例 】

【 0 0 2 4 】

実施例 A :

1) 漂白処理

1. 調製 : 毛髪見本 : 4 g × 25 センチメートル (10 インチ) の真新しい巻き毛見本を使用する。

2. 漂白 : 漂白処理はドラフト内で行う。漂白溶液を調製するために、漂白溶液を1分間混合して、以下の処方を用いて十分に均質化された溶液を得る。

【 0 0 2 5 】

【 表 1 】

化学物質	重量%
蒸留水	65.00
EDTA四ナトリウム	0.20
28% NH ₄ OH	7.15
酢酸(99.7%)	0.50
30% H ₂ O ₂	20.00
蒸留水	7.16

漂白溶液をツールピーカー内に入れ、見本を漂白溶液内へ35分間吊るす。

3. すすぎ - 最初の5分間、流水下で、毛髪スイッチ(hair switch)をもむことで見本をすすぐ。次いで、流水下でもまずに更に10分間継続して毛髪スイッチをすすぐ。

4. 乾燥 - 過剰の水を搾り出し、毛髪スイッチをタオルで乾かす。次いで、毛髪スイッチをブロードライヤ及びブラッシングを用いて3分間乾燥させる。

【 0 0 2 6 】

2) 熱処理由来の損傷を示す標識ペプチドを生成する毛髪の特熱処理

毛髪試料を以下のプロトコルを用いて熱に曝露させる。

真新しい毛髪及び漂白した巻き毛を、3つのサイクルレベルで3つの異なる種類の熱を用いて処理する。(3種類の熱は、ブロードライヤ、177℃(350°F)のストレートアイロン、232℃(450°F)のストレートアイロンであり)、3つのサイクルレベルは、1回処理、5回処理、10回処理である。

【 0 0 2 7 】

ブロードライヤによる熱処置

1. 66℃(150°F)の熱いブロードライヤボックス内に10分間毛髪を置く。 10

2. 次に、毛髪を取り出し、10分間放冷する。

3. これを1サイクル、5サイクル、及び10サイクル繰り返す。

【 0 0 2 8 】

ストレートアイロンによる処置

1. 177℃又は232℃(350°F又は450°F)のいずれか一方のストレートアイロンを用いて毛髪を処理する。

2. 毛髪をストレートアイロンを用いて根元から毛先まで8回通過してプレスする。これは、1サイクルに相当する。

3. 次に、毛髪を10分間放冷する。

4. これを1サイクル、5サイクル、及び10サイクル繰り返す。 20

【 0 0 2 9 】

3) 毛髪処理後の毛房の調製

毛髪からの総ペプチド損失量を測定することにより、熱処理の結果としての毛房の全体的なペプチド損傷量を評価する。要約すると、各毛房からの0.2~0.3gの毛髪を5センチメートル(2インチ)の部分に切り分け、ガラスシンチレーションバイアルに加える。脱イオン化(DI)水を毛髪0.1gに対してDI水1.0mLの比で加え、ボルテックスプラットフォーム上で、2,500rpmで60分間、試料を物理的に攪拌する。水抽出物は、Lowryタンパク質定量分析法を用いて総タンパク質濃度について分析される。

【 0 0 3 0 】

4) 熱処理後の毛房のMALDI-TOF分析

熱処理の結果として毛房が受けた特定のペプチド損傷は、MALDI-TOF分析によって上述の水抽出物を分析することで決定される。水抽出物を、MALDIマトリックス溶液(10mgのα-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸(CHCA)を1mLの80:20:0.1のアセトニトリル:水:トリフルオロ酢酸中に溶解)と直接混合する(1:1)。それぞれの試料約1μLをMALDIプレート上にスポットし、MALDI-TOF/TOF 4800プラスシステム(AB-Sciex)により分析する。漂白した毛髪については、m/zが1061においてピークが見られ、真新しい毛髪については、m/zが1067において別のピークが見られた。

【 0 0 3 1 】

図1は、熱処理していない真新しい毛髪試料由来の抽出物のMALDI質量スペクトルである。

【 0 0 3 2 】

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型(MALDI-TOF)質量分析法を使用して、水抽出物からペプチド標識イオンを検出する。5μLの熱処理していない真新しい毛髪由来の水抽出物を、5μLのMALDIマトリックスα-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸(80%アセトニトリル/水/0.1%トリフルオロ酢酸中10mg/mLのα-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸)と混合する。0.7マイクロリットルのこの混合物をターゲットプレート上にスポットし、MALDI分析前に室温で風乾させる。MALDI-TOF/TOF 4800 Plus質量分析器(AB-Sciex、(Fram 50

ingham、MA、U.S.A.))を陽イオンリフレクトロンモードで使用する。質量分析計は、波長355nmで動作する周波数200HzのNd:YAGレーザを使用している。MALDIプロセスによって発生したイオンは、20kVで加速される。各スポットに対して、サブスペクトルごとに250ショット、スペクトルごとに全2500ショットを伴う。MALDI-TOF質量スペクトルは、通常、800~4000Daの質量範囲で生成される。レーザ強度は、4000~4500Vに設定する。データは、試料スポット全体にわたるランダムサンプリングを用いる自動化様式で収集される。

【0033】

図1は、未処理の真新しい毛髪についての典型的なMALDIスペクトルを示す。

【0034】

図2は、m/zが1067のバイオ標識ピークの存在を実証している、熱処理した真新しい毛髪試料由来の抽出物のMALDI質量スペクトルである。

【0035】

マトリックス支援レーザ脱離イオン化飛行時間型(MALDI-TOF)質量分析法を使用して、水抽出物からペプチド標識イオンを検出する。5μLの熱処理した真新しい毛髪試料由来の水抽出物を、5μLのMALDIマトリックスα-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸(80%アセトニトリル/水/0.1%トリフルオロ酢酸中10mg/mLのα-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸)と混合する。0.7マイクロリットルのこの混合物をターゲットプレート上にスポットし、MALDI分析前に室温で風乾させる。MALDI TOF/TOF 4800 Plus 質量分析器(AB-Sciex(Framingham、MA、U.S.A.))を陽イオンリフレクトロンモードで使用する。質量分析計は、波長355nmで動作する周波数200HzのNd:YAGレーザを使用する。MALDIプロセスで発生したイオンは、20kVで加速される。各スポットに対して、サブスペクトルごとに250ショット、スペクトルごとに全2500ショットを伴う。MALDI-TOF質量スペクトルは、通常、800~4000Daの質量範囲で生成される。レーザ強度は、4000~4500Vに設定する。データは、試料スポット全体にわたるランダムサンプリングを用いる自動化様式で収集される。それぞれの抽出物のペプチド標識ピークの強度は、定量化のために測定される。

【0036】

図2は、232C(450F)のストレートアイロン由来の反復的な熱損傷を受けた真新しい毛髪を示す。図2において、未処理の真新しい毛髪試料では存在しないm/zが1067においてシグナルが出現している。

【0037】

図3は、熱処理していない漂白した毛髪試料由来の抽出物のMALDI質量スペクトルである。

【0038】

マトリックス支援レーザ脱離イオン化飛行時間型(MALDI-TOF)質量分析法を使用して、水抽出物からペプチド標識イオンを検出する。5μLの熱処理していない漂白した毛髪試料由来の水抽出物を、5μLのMALDIマトリックスα-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸(80%アセトニトリル/水/0.1%トリフルオロ酢酸中10mg/mLのα-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸)と混合する。0.7マイクロリットルのこの混合物をターゲットプレート上にスポットし、MALDI分析前に室温で風乾させる。MALDI TOF/TOF 4800 Plus 質量分析器(AB-Sciex(Framingham、MA、U.S.A.))を陽イオンリフレクトロンモードで使用する。質量分析計は、波長355nmで動作する周波数200HzのNd:YAGレーザを使用している。MALDIプロセスで発生したイオンは、20kVで加速される。各スポットに対して、サブスペクトルごとに250ショット、スペクトルごとに全2500ショットを伴う。MALDI-TOF質量スペクトルは、通常、800~4000Daの質量範囲で生成される。レーザ強度は、4000~4500Vに設定する。データは、試料スポット全体にわたるランダムサンプリングを用いる自動化様式で収集される。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 9 】

図 3 は、漂白した毛髪 of 典型的な M A L D I スペクトルを示す。

【 0 0 4 0 】

図 4 は、 m/z が 1 0 6 1 のペプチドバイオ標識ピークの存在を実証している、熱処理した漂白した毛髪由来の抽出物の M A L D I - T O F スペクトルである。

【 0 0 4 1 】

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型 (M A L D I - T O F) 質量分析法を使用して、水抽出物からペプチド標識イオンを検出する。5 μ L の熱処理した漂白した毛髪試料由来の水抽出物を、5 μ L の M A L D I マトリックス α - シアノ - 4 - ヒドロキシケイ皮酸 (8 0 % アセトニトリル / 水 / 0 . 1 % トリフルオロ酢酸中 1 0 m g / m L の α - シアノ - 4 - ヒドロキシケイ皮酸) と混合する。0 . 7 マイクロリットルのこの混合物をターゲットプレート上にスポットし、M A L D I 分析前に室温で風乾させる。M A L D I T O F / T O F 4 8 0 0 P l u s 質量分析器 (A B - S c i e x (F r a m i n g h a m , M A , U . S . A .)) を陽イオンリフレクトロンモードで使用する。質量分析計は、波長 3 5 5 n m で動作する周波数 2 0 0 H z の N d : Y A G レーザを使用している。M A L D I プロセスで発生したイオンは、2 0 k V で加速される。各スポットに対して、サブスペクトルごとに 2 5 0 ショット、スペクトルごとに全 2 5 0 0 ショットを伴う。M A L D I - T O F 質量スペクトルは、通常、8 0 0 ~ 4 0 0 0 D a の質量範囲で生成される。レーザー強度は、4 0 0 0 ~ 4 5 0 0 V に設定する。データは、試料スポット全体にわたるランダムサンプリングを用いる自動化様式で収集される。それぞれの抽出物のペプチド標識ピークの強度は、定量化のために測定される。

【 0 0 4 2 】

図 4 は、2 3 2 C (4 5 0 F) のストレートアイロン由来の反復的な熱損傷を受けた漂白した毛髪を示す。図 4 において、熱処理していない漂白した毛髪試料では存在しない m/z が 1 0 6 1 においてシグナルが出現している。

【 0 0 4 3 】

実施例 B :

1 . 熱処理後の毛髪の M A L D I - T O F 分析

熱曝露の結果として毛髪が受けた特定のペプチド損傷は、M A L D I - T O F 分析によって上述の水抽出物を分析することによって判定される。水抽出物を、M A L D I マトリックス溶液 (1 0 m g の α - シアノ - 4 - ヒドロキシケイ皮酸 (C H C A) を 1 m L の 8 0 : 2 0 : 0 . 1 のアセトニトリル : 水 : トリフルオロ酢酸中に溶解) と直接混合する (1 : 1) 。それぞれの試料約 1 μ L を M A L D I プレートにスポットし、M A L D I - T O F / T O F 4 8 0 0 プラスシステム (A B - S c i e x) により分析する。熱処理由来の毛髪損傷に関するペプチド標識は、水抽出物において、漂白した毛髪については m/z が 1 0 6 1 、真新しい毛髪については m/z が 1 0 6 7 で検出される。この標識はまた、消費者に関連する曝露範囲内で毛髪への熱曝露の量に応じて増加することも見出されている (表 1) 。

【 0 0 4 4 】

【表 2】

表 1

毛髪の種類	処理	m/z1067	m/z1061
真新しい毛髪	未処理	1125	
真新しい毛髪	ブロードライボックス1サイクル66℃(150° F)	1041	
真新しい毛髪	ブロードライボックス5サイクル66℃(150° F)	7655	
真新しい毛髪	ブロードライボックス10サイクル66℃(150° F)	5184	
真新しい毛髪	ストレートアイロン1サイクル177℃(350° F)	6567	
真新しい毛髪	ストレートアイロン5サイクル177℃(350° F)	7463	
真新しい毛髪	ストレートアイロン10サイクル177℃(350° F)	7100	
真新しい毛髪	ストレートアイロン1サイクル232℃(450° F)	4876	
真新しい毛髪	ストレートアイロン5サイクル232℃(450° F)	7185	
真新しい毛髪	ストレートアイロン10サイクル232℃(450° F)	5726	
漂白した毛髪	未処理		1263
漂白した毛髪	ブロードライボックス1サイクル66℃(150° F)		1145
漂白した毛髪	ブロードライボックス5サイクル66℃(150° F)		1041
漂白した毛髪	ブロードライボックス10サイクル66℃(150° F)		2318
漂白した毛髪	ストレートアイロン1サイクル177℃(350° F)		1969
漂白した毛髪	ストレートアイロン5サイクル177℃(350° F)		2135
漂白した毛髪	ストレートアイロン10サイクル177℃(350° F)		1872
漂白した毛髪	ストレートアイロン1サイクル232℃(450° F)		1417
漂白した毛髪	ストレートアイロン5サイクル232℃(450° F)		2030
漂白した毛髪	ストレートアイロン10サイクル232℃(450° F)		2480

10

【0045】

20

架橋剤を用いた処理

1. 予洗した毛髪

2. くしですいて、均一に広げながら 2.0 mL の処理剤を塗布する。

3. 30 分間置いて発現させる。

4. ブラッシングを伴うブロー乾燥。

5. くしですいて、もつれをほぐしながら、232 (450° F) でストレートアイロン。

【0046】

熱のみで処理した毛髪

1. 予洗した毛髪

2. ブラッシングを伴うブロー乾燥。

3. くしですいて、もつれをほぐしながら、232 (450° F) でストレートアイロン。

【0047】

図 5 - 毛髪を 5 サイクルの熱処理に曝露すると、結果として、標識強度が増加する。しかしながら、7.5 % のグリオキシル酸 (架橋処理剤) 及び熱で処理した試料において、標識 m/z 1061 は、もはや存在せず、熱由来の損傷がより少ないことを示す。

【0048】

しかしながら、熱損傷バイオ標識が減少していることによって示されるように、ペプチド架橋剤を用いた前処理により、損傷レベルの低下がもたらされることもまた示されている。加えて、熱保護組成物を用いた毛髪の前処理によっても、毛髪に対する熱損傷を低減させることができる。

40

【0049】

架橋性組成物

熱損傷を軽減する 1 つの方法は、ケラチン繊維に架橋性組成物を塗布することを含み、架橋性組成物は、架橋剤を含み、架橋剤は、 $-NH_2$ 、 $-NH-$ 、 $-SH$ 、 $-OH$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-C=O$ 、及び $-COOH$ からなる群から選択される少なくとも 1 つの官能基を有し、架橋剤は、500 g/mol 以下の分子量を有する。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、400 g/mol 以下の分子量を有する。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、300 g/mol 以下、又は約 50 g/mol ~ 250 g/mol

50

o 1、又は約 80 g/mol ~ 約 150 g/mol の分子量を有する。ケラチン繊維内に浸透して、架橋が外部要因により曝露される表面的にだけでなく、内部から架橋することを考慮すると、この分子量は有用である。ケラチン繊維との関連においては、この分子量は、毛幹に、すなわち、キューティクルの下まで浸透するために有用である。

【0050】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、25 で液体である。この温度で液体である架橋剤は、この温度で固体の架橋剤と比較して、向上した毛髪の感触をもたらすという利点を有する。

【0051】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、ケラチンを架橋できる。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、ジオール、カルボン酸、アミン、ジアミン、還元糖、カルボニル、カルボン酸、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、アルデヒド、ヒドロキシル、カルボキシル、及びこれらの混合物からなる官能基から選択される少なくとも 1 つの反応性部位を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、1, 7 - ジアミノヘプタン、1, 4 - ジアミノブタン、6 - アミノヘキサン - 1 - オール、6 - アミノヘキサン酸、2 - アミノ酢酸、2 - アミノ - 2 - オキソ - エタン酸、4 - アミノブタン酸、リボース、アラビノース、キシロース、リキソース、ガラクトース、マンノース、3 - (2 - ヒドロキシエチル) - 2 - オキサゾリジノン、ヘキサン - 2, 5 - ジオン、ブタン - 2, 3 - ジオン、エタンジオール、2 - ヒドロキシ - ブタンジオール、4 - オキソ - ペンタン酸、1, 4 - ブタンジオール、1, 6 - ヘキサンジオール、1, 2, 4 - ブタントリオール、1, 2, 6 - ヘキサントリオール、ブタン二酸、ヘプタン二酸、オキソエタン酸、2, 2 - ジヒドロキシエタン酸、2, 2' - オキシビス(2 - ヒドロキシ) - エタン酸、2 - ヒドロキシプロパン - 1, 2, 3 - トリカルボン酸、1, 2, 3, 4 - ブタンテトラカルボン酸、1, 3 - ジオキソラン - 2 - オン、炭酸ジメチル、炭酸ジエチル、炭酸ジフェニル、1, 3 - ジオキサン - 2 - オン、4 - メチル - 1, 3 - ジオキソラン - 2 - オン、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、リボース、アラビノース、オキソエタン酸、2, 2 - ジヒドロキシエタン酸、2 - ヒドロキシプロパン - 1, 2, 3 - トリカルボン酸、1, 2, 3, 4 - ブタンテトラカルボン酸、1, 3 - ジオキソラン - 2 - オン、及びこれらの混合物からなる群から選択される。

【0052】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋性組成物は、約 0.1 % ~ 約 40 % の架橋剤を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋性組成物は、約 1 % ~ 約 20 %、又は約 0.1 % ~ 約 15 %、又は約 1 % ~ 約 12 %、又は約 2 % ~ 約 10 % の架橋剤を含む。

【0053】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋性組成物は、架橋剤を含み、この架橋剤は、アミン又はジアミンである。アミンは、多くの場合、天然由来(例えば、グリシン)であり、合成化合物と比較して消費者に好まれるため、有用である。これは、認識されている健康上の理由及び感作の欠如という理由だけではなく、持続可能性及び環境上の理由のためである。アミンは、通常、自然にかつ短期間で分解され、特別な処分法を必要としないためである。また、アミンは、通常、25 において液体であり、手触りの観点から有用である。消費者は、ケラチン繊維に触れたときに、25 において固体である活性物質と比較して、粗さ及び摩擦が減少したことを感じる。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、25 で液体である。架橋剤は、アミン又はジアミンであり、この架橋剤は、-NH₂、-NH-、-SH、-OH、-C(=O)H、-C=O、-SH、及び-COOH からなる群から選択される少なくとも 2 個の官能基を有し、架橋剤は、500 g/mol 以下の分子量を有する。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、400 g/mol 以下、又は 300 g/mol 以下、又は約 50 g/mol ~ 250 g/mol、又は約 80 g/mol ~ 約 150 g/mol の分子量を有する。ケラチン繊維に浸透して、架橋が外部要因により曝露される表面的にだけでなく、内部から架橋することを考慮す

ると、この分子量は有用である。ケラチン繊維との関連においては、この分子量は、毛幹に、すなわち、キューティクルの下まで浸透するために有用である。

【0054】

少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、第一級アミン又は第二級アミンである。アミンは、通常、官能基の一部として少なくとも1個の窒素原子を有する有機種を含む。アミンは、少なくとも1個の窒素原子を含む1個の官能基を有するモノアミン、少なくとも1個の窒素原子をそれぞれ含む2個の官能基を有するジアミン、又は少なくとも1個の窒素原子をそれぞれ含む、3個以上の官能基を有するポリアミンであってもよい。第一級アミンでは、窒素原子は、2個の水素原子と、1個の有機部分と、を有する。第二級アミンでは、窒素原子は、1個の水素原子と、2個の有機部分と、を有する。少なくとも1つの実施形態において、有機部分は、 $C_1 \sim C_{32}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{32}$ 置換アルキル、 $C_5 \sim C_{32}$ 又は $C_6 \sim C_{32}$ アリール、 $C_5 \sim C_{32}$ 又は $C_6 \sim C_{32}$ 置換アリール、 $C_6 \sim C_{32}$ アルキルアリール、 $C_6 \sim C_{32}$ 置換アルキルアリール、 $C_1 \sim C_{32}$ ヒドロキシ、 $C_1 \sim C_{32}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{32}$ 置換アルコキシ、 $C_1 \sim C_{32}$ アルキルアミノ、及び $C_1 \sim C_{32}$ 置換アルキルアミノ、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、及び $=NH$ からなる群から独立して選択される。

10

【0055】

少なくとも1つの実施形態では、架橋剤は、少なくとも1個の更なる官能基を含む。少なくとも1つの実施形態において、更なる官能基は、酸素原子、窒素原子、リン原子、ホウ素原子、又は硫黄原子のうち少なくとも1つを含む任意の有機部分である。少なくとも1つの実施形態において、更なる官能基は、ヒドロキシル、カルボニル、アルデヒド、ハロホルミル、炭酸エステル、カルボン酸塩、カルボキシル、エステル、メトキシ、ヒドロペルオキシ、ペルオキシ、エーテル、ヘミアセタール、ヘミケタール、アセタール、ケタール、オルトエステル、オルト炭酸エステル、カルボキサミド、第一級アミン、第二級アミン、第三級アミン、アンモニウム、第一級ケチミン、第二級ケチミン、第一級アルジミン、第二級アルジミン、イミド、アジド、アゾ又はジイミド、シアナート、イソシアナート、硝酸エステル、ニトリル、イソニトリル、ニトロソオキシ、ニトロ、ニトロソ、ピリジル、スルフヒドリル、スルフィド、ジスルフィド、スルフィニル、スルホニル、スルフィノ、スルホ、チオシアナート、イソチオシアナート、カルボノチオイル、カルボノチオイル、ホスフィノ、ホスホノ、リン酸エステル、ボロノ、ボロナート、ポリノ、ポリナートからなる群から選択される。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、ポリアミンである。

20

30

【0056】

少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、ジアミンである。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、式 $H_2N-(CH_2)_n-NH_2$ （式中、 n は、3～12の整数）に適合するジアミン及びこれらの異性体である。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、式 $H_2N-(CH_2)_n-NH_2$ （式中、 n は、2～12、又は4～10、又は5～8の整数）に適合するジアミン及びこれらの異性体である。2-メチルプロパン-1,3-ジアミンは、1,4-ジアミノブタンの異性体である。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、1,7-ジアミノヘプタン、1,4-ジアミノブタン、6-アミノヘキサン-1-オール、6-アミノヘキサン酸、2-アミノ酢酸、2-アミノ-2-オキシソ-エタン酸、4-アミノブタン酸、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、ジアミンであり、このジアミンは、1,2-ジアミノエタン、1,3-ジアミノプロパン、2-メチルプロパン-1,3-ジアミン、1,4-ジアミノブタン、1,5-ジアミノペンタン、1,6-ジアミノヘキサン、1,7-ジアミノヘプタン、1,8-ジアミノオクタン、1,9-ジアミノノナン、1,10-ジアミノデカン、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、ジアミンであり、このジアミンは、1,7-ジアミノヘプタン、1,4-ジアミノブタン、及びこれらの混合物からなる群から選択される。1,4-ジアミノブタンは、約88 g/molの分子量を有し、1,7-ジアミノヘプタンは、約130 g/molの分子量を有する。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は

40

50

、チオール基を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、2 - アミノエタンチオールである。

【0057】

少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、糖である。糖は、天然由来であり、合成化合物と比較して消費者に好まれるため、有用である。これは、認識されている健康上の理由及び感作の欠如という理由だけではなく、持続可能性及び環境上の理由のためである。糖は、通常、自然にかつ短期間で分解され、特別な処分法を必要としないためである。更に、糖は、調達も容易であり、比較的安価である。架橋剤は、500 g / mol 以下の分子量を有する。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、300 g / mol 以下、又は約50 g / mol ~ 250 g / mol、又は約80 g / mol ~ 約150 g / mol の分子量を有する。ケラチン繊維に浸透して、架橋が外部要因により曝露される表面的にだけではなく、内部から架橋することを考慮すると、この分子量は有用である。ケラチン繊維との関連においては、この分子量は、毛幹に、すなわち、キューティクルの下まで浸透するために有用である。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、25℃で液体である。この温度において液体である架橋剤は、この温度において固体である架橋剤と比較して、向上した毛髪への感作をもたらしという利点を有する。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、単糖である。少なくとも1つの実施形態において、糖は、単糖であり、架橋性組成物は、約0.1% ~ 約40%、又は約0.5% ~ 約20%、又は約1% ~ 約15%、又は約7% ~ 約20%、又は約8% ~ 約19%、又は約10% ~ 約18%の単糖を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、ペントース又はヘキソースである。

10

20

【0058】

少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、還元糖を含み、この架橋性組成物は、100℃の温度に加熱され、この組成物は、約1% ~ 約20%の還元糖を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、還元糖を含み、この架橋性組成物は、100℃の温度に加熱され、この架橋性組成物は、約12% ~ 約18%の還元糖を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、スクロース、緩衝剤、及び外見上許容される担体を含み、架橋性組成物が100℃の温度まで加熱されると、架橋性組成物は、約1% ~ 約20%の還元糖を含む。スクロースは、加熱を受けて還元糖に分解することができる。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、還元糖を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約0.1% ~ 約20.0%、又は約2% ~ 約15%、又は約5% ~ 約12%の還元糖を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約12% ~ 約18%の還元糖を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約12% ~ 約18%の還元糖である還元糖の総量を含む。

30

【0059】

少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、還元糖及び外見上許容される担体を含む。本明細書で使用する時、表現「還元糖」は、アルデヒド基を有するか、異性化によって溶液中でアルデヒド基を形成できるかのいずれか一方であり、ベネジクト試験で陽性結果をもたらす、任意の糖を意味する。アルデヒド基は、 $-C(=O)H$ である。ベネジクト試験は、ベネジクト溶液の使用を伴う。ベネジクト溶液は、Aldrichから「Benedict's Reagent」として入手可能であり、炭酸ナトリウム、硫酸銅五水和物、及び2, 5 - ジフルオロトルエンを含む。ベネジクト試験では、溶解した被験化合物を含む、20 mLの5%水溶液に1 mLのベネジクト溶液を加える。ベネジクト溶液は、青色の銅(II)イオン(Cu^{2+})を含有する。この溶液を80℃に15分間加熱し、結果として生じる色の変化を記録する。ベネジクト溶液の第二銅イオンは、糖のアルデヒドによって第一銅イオンに還元される。陽性反応は、第二銅イオン(Cu^{2+})が第一銅イオン、すなわち、銅(I)イオン(Cu^{+})に変換されるにつれて、色の変化で確認される。銅(I)イオンは、水に不溶性である赤色の酸化銅(I)として沈殿する。試験はまた、任意の色の変化を記録するために、より長い加熱時間及びより高温で行われるように設計されている。溶液は、(還元糖の量が増加すると共に)緑色から黄色

40

50

及びオレンジ色を経由して赤色までの色の範囲を含んでもよい。青色からの任意の変色により、還元糖のレベルが示唆される。波長は、色と共に変化する。

【 0 0 6 0 】

【表 3】

表 2：ベネジクト試験を使用した糖の評価

糖	80℃、15分	100℃、40分
対照(緩衝液*)	陰性	陰性
リボース	陽性	陽性
アラビノース	陽性	陽性
グルコース	陽性	陽性
フルクトース	陽性	陽性
キシロース	陽性	陽性
スクロース	陰性	陽性
メチルグルコシド	陰性	陽性

* ベネジクト溶液のみ。

【 0 0 6 1 】

一般に、ベネジクト試薬は、還元糖が存在することの試験として使用される。これは、全ての単糖と、ラクトース及びマルトースなど多数の二糖を含む。更により一般的には、ベネジクト試験は、アルデヒド、及び特定のケトースで生じるものなど α - ヒドロキシケトンの存在を検出することとなる。したがって、ケトースであるフルクトースは、厳密には還元糖ではないが、 α - ヒドロキシケトンであり、試薬内の塩基によってアルドース、グルコース、及びマンノースに転換されるために陽性となる。ベネジクト溶液中の硫酸銅は、還元糖と反応する。1 L のベネジクト試薬は、100 g の無水炭酸ナトリウム、17.3 g のクエン酸ナトリウム、及び17.3 g の硫酸銅 (II) 五水和物から調製できる。ベネジクト試薬は、定性試験と共に、定量試験を還元糖に提供する。得られる沈殿物の色は、溶液中に存在する糖の概量を示す。緑色の沈殿物は、約 0.5 % の濃度を示し、黄色の沈殿物は、1 % の濃度を示し、オレンジ色の沈殿物は、1.5 % の濃度を示し、赤色の沈殿物は、2 % 以上の濃度を示す。ベネジクト試験での陽性結果は、化合物の 5 % (重量 / 重量) 水溶液を用いて、化合物に関して赤色呈色として認識され得る。糖のアルデヒド基のおかげで、糖類は、例えば、ベネジクト試験において、還元剤として作用できる。

【 0 0 6 2 】

少なくとも 1 つの実施形態において、還元糖は、リボース、アラビノース、キシロース、リキソース、ガラクトース、マンノース、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、還元糖は、リボース、アラビノース、又はこれらの混合物のいずれかである。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋性組成物は、還元糖を含み、還元糖は、アラビノース、リボース、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、唯一の還元糖は、ペントースである。少なくとも 1 つの実施形態において、唯一の還元糖は、アラビノース、リボース、及びこれらの混合物からなる群から選択される。アラビノース、リボース、及びこれらの混合物である還元糖は、優れた真直化性能という利益を有する。還元糖を使用して毛髪を処理し、続いて本発明のとおり毛髪を熱処理することにより、処理した毛髪は永続的に真直化する。アラビノース及びリボースは五炭糖であり、これらは、他の炭素数を有する糖類 (六炭糖及び七炭糖など) よりも更に優れた性能を有することが見出されている。その一方で、六炭糖は極めて入手しやすく、したがって経済上の利点を有する。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋性組成物は、約 12 % ~ 約 18 % の還元糖である還元糖の総量を含み、この架橋性組成物は、アラビノースを含む。

【 0 0 6 3 】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-H$ 、

及び - C (= O) - O - からなる群から選択される官能基を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、 - C (= O) - 、 - C (= O) - H 、 - O H 、 - N H ₂、及び - C (= O) - O - からなる群から選択される少なくとも 1 つの官能基官能基 (functional groups functional group) を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、 - C (= O) - H 、 - O H 、 - N H ₂ からなる群から選択される少なくとも 1 つの官能基官能基 (functional groups functional group) を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、カルボニル化合物である。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、アルデヒドである。アルデヒドは、ケラチン繊維中のアミノ基との反応に使用される。ケラチン繊維は、ポリペプチドであるため、利用可能なアミノ基は通常存在する。

【 0 0 6 4 】

10

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、式 $H_2N - (CH_2)_n - C(=O) - H$ (式中、 n は、2 ~ 10、又は 5 ~ 8 の整数) に適合するか、これらの異性体である。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、式 $H_3C - C(=O) - (CH_2)_n - C(=O) - CH_3$ (式中、 n は、0 ~ 10、1 ~ 8、又は 2 ~ 7 の整数) に適合するか、これらの異性体である。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、ヘテロ環式五員環を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、窒素原子及び酸素原子を含むヘテロ環式五員環を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、ケトンである。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、ジアル、又は OH 基を有するジアルである。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、オキサゾリドンである。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、3 - (2 - ヒドロキシエチル) - 2 - オキサゾリジノン、ヘキサン - 2 , 5 - ジオン、ブタン - 2 , 3 - ジオン、エタンジアル、2 - ヒドロキシ - ブタンジアル、4 - オキソ - ペンタン酸、これらの異性体、これらの誘導体、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、3 - (2 - ヒドロキシエチル) - 2 - オキサゾリジノン、ヘキサン - 2 , 5 - ジオン、ブタン - 2 , 3 - ジオン、エタンジアル、2 - ヒドロキシ - ブタンジアル、4 - オキソ - ペンタン酸、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、3 - (2 - ヒドロキシエチル) - 2 - オキサゾリジノン、ヘキサン - 2 , 5 - ジオン、ブタン - 2 , 3 - ジオン、2 - ヒドロキシ - ブタンジアル、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、ブタン - 2 , 3 - ジオン、2 - ヒドロキシ - ブタンジアル、2 - ヒドロキシ - ブタンジアル、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、ブタン - 2 , 3 - ジオン、2 - ヒドロキシ - ブタンジアル、及びこれらの混合物からなる群から選択される。

20

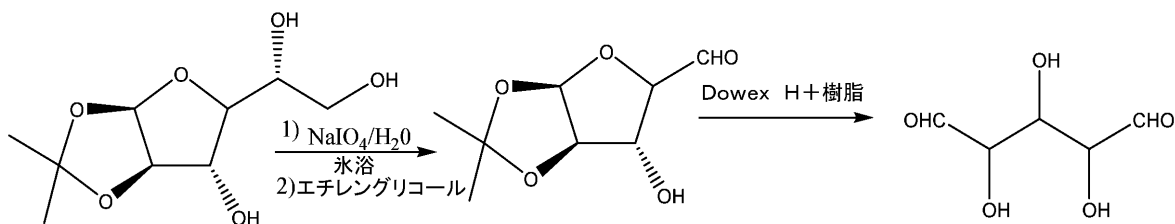
30

【 0 0 6 5 】

ジアルデヒドの合成

【 0 0 6 6 】

【 化 1 】



40

【 0 0 6 7 】

氷浴に入れた 1 , 2 - O - イソプロピリデン - D - グルコフラノース (50 グラム、0 . 227 mol、CAS # 185 - 40 - 1、Sigma - Aldrich) の水 (500 mL) 中の溶液に、固体のメタ過ヨウ素酸ナトリウム (50 グラム、0 . 183 mol、CAS # 7790 - 28 - 5、Aldrich) を 30 分かけて分割添加する。反応物を室温まで温め、24 時間攪拌する。エチレングリコール (5 mL) を加え、反応物を室温で 3 時間攪拌する。次いで、溶液を終夜凍結乾燥して、水を除去する。残留物を水 (1

50

00 mL) に溶解し、次いで、クロロホルム (3 × 500 mL) で抽出する。有機層を組み合わせ、乾燥させ (Mg_2SO_4)、次いで、溶媒を減圧下で除去して、ゴム状粘性オイルを得る。ゴム状物を水 (200 mL) に溶解し、Amberlite H+ 樹脂 (5 グラム) を用いて 70 ~ 80 で約 24 時間処理する。反応物を室温まで冷却し、樹脂を濾過し、濾液を凍結乾燥して、水を除去する。生じたオフホワイト色の固体を試験まで冷凍室に 0 で保管する。

【0068】

Amberlite H+ 樹脂は、Rohm and Haas から入手することができる。

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、 $-\text{C}(\text{OH})-$ 及び $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ から選択される少なくとも 2 個の官能基を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、1, 2, 4 - ブタントリオール、オキソブタン二酸、ブタン二酸、ヘブタン二酸、1, 4 - ブタンジオール、1, 6 - ヘキサジオール、1, 2, 6 - ヘキサントリオール、6 - アミノ - 1 - ヘキサノール、6 - アミノヘキサン酸、2 - アミノブタン酸、エタン - 1, 2 - ジオール、アミノエタン酸、2 - ヒドロキシエタン酸、4 - オキソペンタン酸、エタン二酸、アミノオキソエタン酸、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、式 $\text{HO} - (\text{CH}_2)_n - \text{OH}$ (式中、 n は、2 ~ 12 の整数) に適合するジオール又はこれらの異性体である。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、トリオールである。

【0069】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 官能基を含む。前記カルボン酸基は、ケラチンポリペプチド (keratin polypeptide) 内の OH 基との反応が、他の化学物質よりも効率的な反応であるという利点を有する。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、ヒドロキシル官能基を含む。ヒドロキシル基は、架橋剤がケラチン繊維にコンディショニングを更にもたすことができるという利点を有する。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、 $-\text{C}(\text{OH})-$ 官能基及び $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ 官能基の両方を含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、式 $\text{HO} - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$ (式中、 n は、2 ~ 12、又は 4 ~ 10、又は 5 ~ 8 の整数) に適合するか、又はこれらの異性体である。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、式 $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$ (式中、 n は、2 ~ 12、又は 4 ~ 10、又は 5 ~ 8 の整数) に適合するか、又はこれらの異性体である。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、1, 4 - ブタンジオール、1, 6 - ヘキサジオール、1, 2, 4 - ブタントリオール、1, 2, 6 - ヘキサントリオール、ブタン二酸、ヘブタン二酸、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、 $-\text{NH}_2$ 及び $-\text{C}(=\text{O})-$ からなる群から選択される官能基を更に含む。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、トリオールであり、4 個以上の炭素原子を有する。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋性組成物は、2 - ヒドロキシプロパン - 1, 2, 3 - トリカルボン酸及びプロパン - 1, 2, 3 - トリオールを実質的に含まない。

【0070】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、1, 4 - ブタンジオール、1, 6 - ヘキサジオール、1, 2, 4 - ブタントリオール、1, 2, 6 - ヘキサントリオール、ブタン二酸、ヘブタン二酸、2 - オキソ - ブタン二酸、6 - アミノ - 1 - ヘキサノール、6 - アミノヘキサン酸、2 - アミノブタン酸、1, 2 - エタンジオール、2 - アミノ酢酸、2 - ヒドロキシ - 酢酸、4 - オキソ - ペンタン酸、エタン二酸、2 - アミノ - 2 - オキソ - 酢酸、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、1, 2, 4 - ブタントリオール、オキソブタン二酸、ブタン二酸、ヘブタン二酸、1, 4 - ブタンジオール、1, 6 - ヘキサジオール、1, 2, 6 - ヘキサントリオール、及びこれらの混合物からなる群から選択される。

【0071】

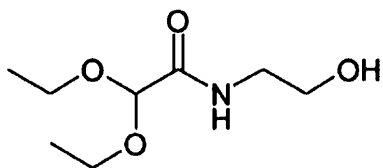
少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、オキソエタン酸、2, 2 - ジヒドロキ

シエタン酸、2, 2'-オキシビス(2-ヒドロキシ)-エタン酸、これらの誘導体、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、2, 2'-ジヒドロキシエタン酸である。少なくとも1つの実施形態において、活性物質は、オキソエタン酸、2, 2'-ジヒドロキシエタン酸、又は2, 2'-オキシビス(2-ヒドロキシ)-エタン酸の誘導体である。好適な誘導体は、参照によって本明細書に援用される国際公開第2013/117771A1号に開示されている。少なくとも1つの実施形態において、活性物質は、オキソエタン酸、2, 2'-ジヒドロキシエタン酸、2, 2'-オキシビス(2-ヒドロキシ)-エタン酸の塩、又は前記塩の2種以上の混合物である。少なくとも1つの実施形態において、誘導体は、グリオキシル酸メチル、グリオキシル酸エチル、グリオキシル酸2-ヒドロキシエチル、グリオキシル酸3-ヒドロキシ

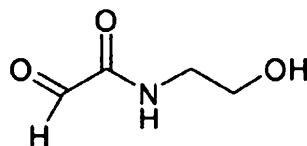
10

【0072】

【化2】

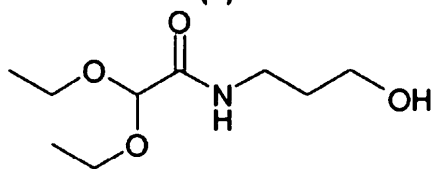


(1)

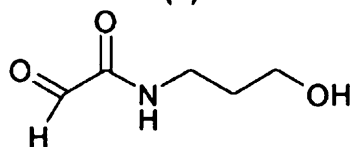


(2)

20



(3)



(4)

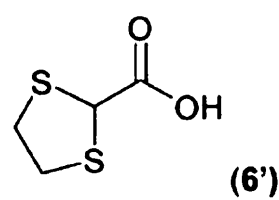
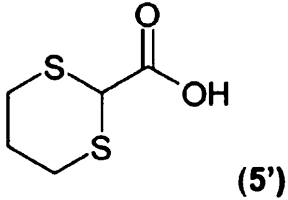
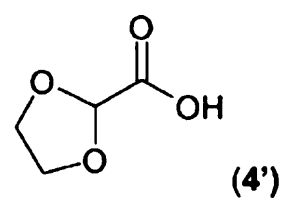
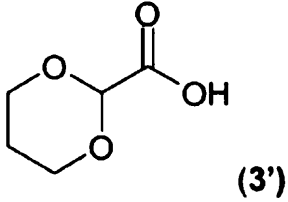
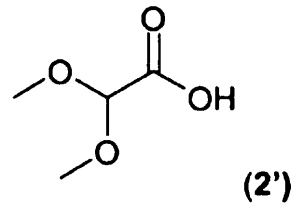
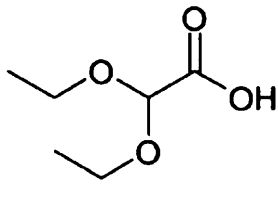
30

【0073】

少なくとも1つの実施形態において、誘導体は、以下の式1'～式6'、及びこれらの混合物からなる群から選択される。

【0074】

【化 3】



10

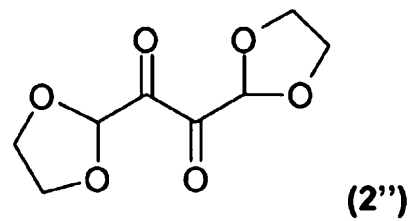
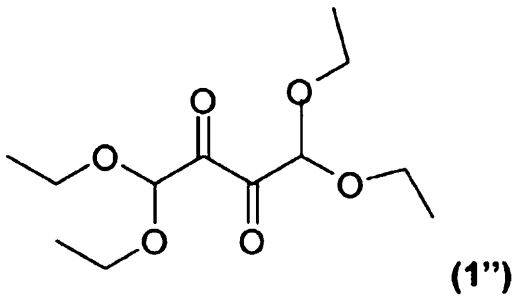
【 0 0 7 5 】

少なくとも 1 つの実施形態において、誘導体は、以下の式 1' ~ 式 5'、及びこれらの混合物からなる群から選択される。

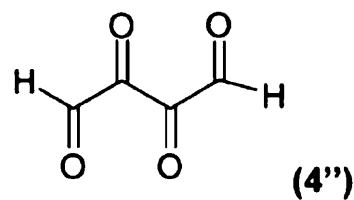
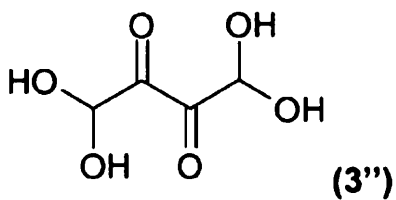
20

【 0 0 7 6 】

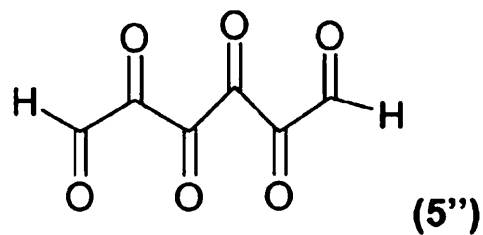
【化 4】



30



40



【 0 0 7 7 】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、オキシエタン酸、2, 2 - ジヒドロキシエタン酸、2, 2' - オキシビス(2 - ヒドロキシ) - エタン酸、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋剤は、オキシエタ

50

ン酸、2,2-ジヒドロキシエタン酸、及び2,2'-オキシビス(2-ヒドロキシ)-エタン酸の混合物である。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、2,2-ジヒドロキシエタン酸である。オキシエタン酸及び2,2-ジヒドロキシエタン酸は、Sigma Aldrichから入手可能である。

【0078】

少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、2-ヒドロキシプロパン-1,2,3-トリカルボン酸、1,2,3,4-ブタンテトラカルボン酸、これらの誘導体、及びこれらの混合物からなる群から選択される。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、2-ヒドロキシプロパン-1,2,3-トリカルボン酸である。少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、1,2,3,4-ブタンテトラカルボン酸である。2-ヒドロキシプロパン-1,2,3-トリカルボン酸及び1,2,3,4-ブタンテトラカルボン酸は、Sigma Aldrichから入手可能である。

【0079】

少なくとも1つの実施形態において、架橋剤は、炭酸エステルである。少なくとも1つの実施形態において、炭酸エステルは、式 $R_1O(C=O)OR_2$ (式中、 R_1 及び R_2 は、独立して、環状、非環状、分枝鎖、及び直鎖を含む C_{1-18} アルキル、アルキレン、又はフェニルである)に適合する。少なくとも1つの実施形態において、炭酸エステルは、式 $R_1O(C=O)OR_2$ (式中、 R_1 及び R_2 は、独立して C_{1-10} アルキル又はアルキレンである)に適合する。少なくとも1つの実施形態において、炭酸エステルは、式 $R_1O(C=O)OR_2$ (式中、 R_1 及び R_2 は、メチル、エチル、及びフェニルから独立して選択される)に適合する。少なくとも1つの実施形態において、炭酸エステルは、1,3-ジオキソラン-2-オン、炭酸ジメチル、炭酸ジエチル、炭酸ジフェニル、1,3-ジオキサン-2-オン(炭酸トリメチレン)、4-メチル-1,3-ジオキソラン-2-オン、及びこれらの混合物からなる群から選択される。

【0080】

少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約pH2~約pH11のpHを有する。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約pH2~約pH6.5、約pH3~約pH5、又は約pH3~pH4のpHを有する。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約pH6~約pH10のpHを有する。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約pH6.5~約pH9.75、又は約pH7.0~約pH9.5、又は約pH7.5~約pH9.25、又は約pH8.0~約pH9.0のpHを有する。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約pH6.5~約pH9.75のpHを有する。毛髪への浸透を考慮すると、塩基性のpHが有用である。

【0081】

少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、緩衝剤を含む。少なくとも1つの実施形態において、緩衝剤は、リン酸緩衝液である。少なくとも1つの実施形態において、緩衝剤は、グリシン/水酸化ナトリウム、炭酸ナトリウム/炭酸水素ナトリウム、四ホウ酸ナトリウム/水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム/水酸化ナトリウム、塩化アンモニウム/アンモニアからなる群から選択される。

【0082】

少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、酸化防止剤を含む。組成物により長期間の安定性をもたらすことを考慮すると、酸化防止剤が有用である。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、約0.001%~約5%、又は約0.5%~約1.0%の酸化防止剤を含む。好適な酸化防止剤は、以下に記載されている。

【0083】

少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、キレート化剤又はキレート剤を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、安全かつ有効な量のキレート化剤又はキレート剤を含む。少なくとも1つの実施形態において、架橋性組成物は、キレート剤を含み、このキレート剤は、N-ヒドロキシスクシンイミド、EDTA、NTA

、デフェロキサミン、ヒドロキサム酸及びその塩、フィチン酸、フィチン酸塩、グルコン酸及びその塩、トランスフェリン、ラクトフェリン、ヒスチジン、エチレンジアミン - N , N ' - ジコハク酸、並びにこれらの混合物からなる群から選択される。更なる実施形態において、架橋性組成物は、糖、カルボニル含有化合物、炭酸エステルに支障をきたしてもよい (may compromise) 。少なくとも 1 つの実施形態において、架橋性組成物は、約 0 . 0 0 0 0 1 % ~ 約 1 0 % 、又は約 0 . 0 0 1 % ~ 約 5 % 、又は約 0 . 0 0 1 % ~ 約 5 % 、又は約 0 . 5 % ~ 約 1 . 0 % のキレート剤を含む。

【 0 0 8 4 】

少なくとも 1 つの実施形態において、架橋性組成物は、ヘアスタイリングポリマーを含む。少なくとも 1 つの実施形態において、ヘアスタイリングポリマーは、非イオン性ヘア 10
スタイリングポリマー、アニオン性ヘアスタイリングポリマー、双極性イオン性及び / 又は両性ヘアスタイリングポリマー、カチオン性ヘアスタイリングポリマー、又はこれらの混合物からなる群から選択される。好適なヘアスタイリングポリマーは、以下に記載されている。

【 0 0 8 5 】

熱保護剤：

熱損傷を軽減する 1 つの方法は、熱保護組成物の使用によるものであり得る。本明細書で使用するとき、熱保護組成物は、外部熱源から引き起こされたケラチン繊維の内部又は 20
外部のいずれか一方の損傷を防止又は低減する組成物を指す。通常、外部のキューティクルの損傷は、光学顕微鏡及び走査型電子顕微鏡 (S E M) を用いて視覚的に等級付けされる。変性温度における変位によって示されるケラチンペプチドに対する内部損傷は、引張特性及びねじり特性の変化と併せて、示差走査熱量測定 (D S C) によって測定される。熱保護を提供することを訴求している組成物は、毛髪ペプチドの変性温度を通常は上昇させることによって、処理時の毛髪ペプチドの損傷レベルを低下させる。

【 0 0 8 6 】

好適な熱保護組成物は、含水又は無水であってもよく、シリコーン、ポリマー、オイル、第四級アンモニウム化合物、グリコール、保湿剤、金属塩、ペプチド、抽出物、酸化防 30
止剤、 α - ヒドロキシ酸、加水分解ケラチン、及びこれらの混合物を含んでもよい。好適なシリコーンには、フェニルトリメチコーン、ポリジメチルシロキサン (P D M S) 、ジメチコーン、アミノジメチコーン、及びジメチコーン架橋ポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。1 種又は 2 種以上のシリコーンは、熱保護組成物の約 1 重量 % ~ 約 9 5 重量 % で存在してもよい。

【 0 0 8 7 】

ポリマーとしては、ポリビニルピロリドン (P V P) 、ポリビニルアルコール (P V A) 、ポリアクリル酸、ポリウレタン、セルロース、ポリクオタニウム、及びこれらのコポリマー又は混合物が挙げられるが、これらに限定されない。1 種又は 2 種以上のポリマーは、熱保護組成物の約 1 重量 % ~ 約 3 0 重量 % で存在してもよい。

【 0 0 8 8 】

アルミニウム、チタン、及び亜鉛の金属塩はまた、熱保護組成物に好適である。金属塩 40
の非限定的な例としては、塩化アルミニウム、塩化亜鉛、二酸化チタン、及びこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。1 種又は 2 種以上の金属塩が、熱保護組成物の約 1 重量 % ~ 約 1 0 重量 % で熱保護組成物中に存在してもよい。

【 0 0 8 9 】

更なる実施形態において、追加の熱保護組成物は、以下を含んでもよい。約 0 . 5 % ~ 9 5 % の、モロッコオイル (アルガン油) 、オリーブ油、約 0 . 5 % ~ 9 5 % の、C o s m e t i c B e n c h m a r k の軟化剤セクションなどが挙げられるが、これらに限定されないオイル、約 1 ~ 1 5 % の、アルキルベンジルジメチルアンモニウム塩、アルキルベタイン、ヘテロ環アンモニウム塩、テトラアルキルアンモニウム塩などであるが、これらに限定されない、第四級アンモニウム化合物、約 1 ~ 5 0 % の、エチレングリコール、ブチレングリコール、プロピレングリコールなどであるが、これらに限定さ 50

れない、グリコール、約 1 ~ 25 % の、グリセリン、ソルビトールなどであるが、これらに限定されない、保湿剤、約 1 ~ 10 % の、アミノ酸を含む小麦ペプチドなどであるが、これらに限定されない、ペプチド、約 0.5 ~ 95 % の、シードオイル、果実、植物、及び堅果由来成分などであるが、これらに限定されない、抗酸化剤、約 1 ~ 30 % の Cosmetic Bench Reference (文献) に記載の物質。

【0090】

本明細書に開示される寸法及び値は、記載される正確な数値に厳密に限定されるとして理解されるべきではない。むしろ、特に断らない限り、それぞれのかかる寸法は、記載される値とその値の周辺の機能的に同等の範囲との両方を意味するものとする。例えば、「40 mm」として開示される寸法は、「約 40 mm」を意味することを意図する。

10

【0091】

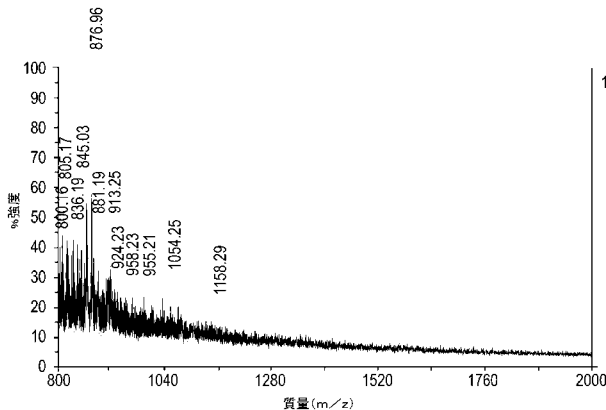
本明細書で引用されているあらゆる文献は、あらゆる相互参照特許又は関連特許若しくは特許出願を含め、明示的に除外されたり、ないしは別の方法で限定されたりしている場合を除き、その全体が参照により本明細書に援用される。いかなる文献の引用も、本明細書中で開示又は特許請求される任意の発明に対する先行技術であるとはみなされず、あるいはそれを単独で又は他の任意の(単数又は複数の)参考文献と組み合わせたときに、そのような発明全てを教示、示唆、又は開示するとはみなされない。更に、本文書における用語の任意の意味又は定義が、参照することによって組み込まれた文書内の同じ用語の意味又は定義と矛盾する範囲において、本文書におけるその用語に与えられた意味又は定義が適用されるものとする。

20

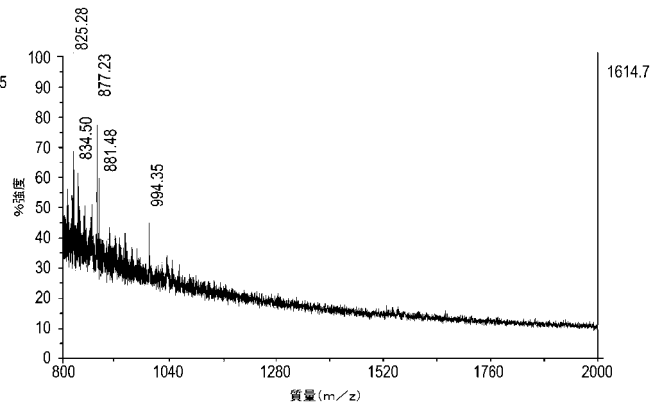
【0092】

以上、本発明の特定の実施形態を図示及び説明したが、本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく他の様々な変更及び改変を実施することが可能である点は当業者には自明であろう。したがって、本発明の範囲内に含まれるそのような全ての変更及び改変は、添付の特許請求の範囲にて網羅することが意図される。

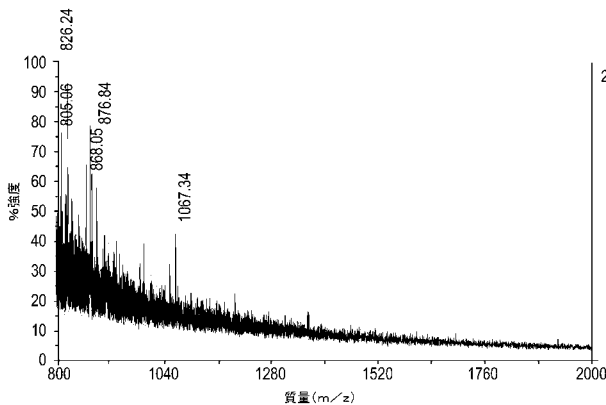
【図 1】



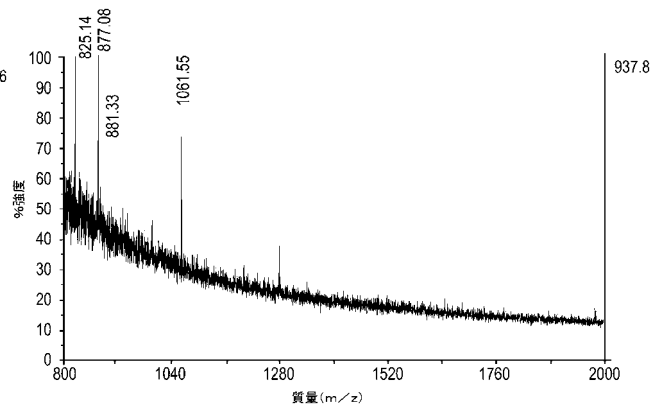
【図 3】



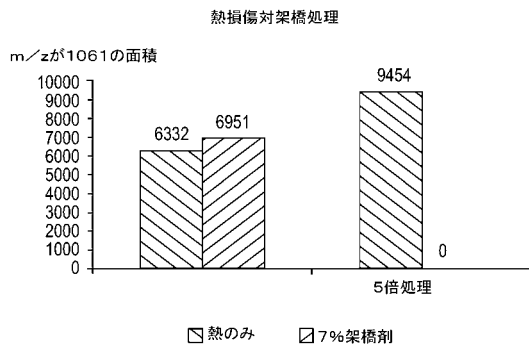
【図 2】



【図 4】



【 図 5 】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/033945

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G01N33/68
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2011/281256 A1 (DAVIS MICHAEL GLENN [US] ET AL) 17 November 2011 (2011-11-17) particularly Fig 1, par. 28, 29	9
A		1-8,10
A	R. SINCLAIR ET AL: "The proteomic profile of hair damage", BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY, vol. 166, 7 June 2012 (2012-06-07), pages 27-32, XP055201716, ISSN: 0007-0963, DOI: 10.1111/j.1365-2133.2012.10862.x the whole document particularly, p. 29, "protein loss", "Proteomics", p. 30, fig. 4, col. 1 lines 9 - 20	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 July 2015

Date of mailing of the international search report

28/07/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hoesel, Heidi

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/033945

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 665 741 A (KABACOFF BERNARD L [US] ET AL) 19 May 1987 (1987-05-19) claim 1, col. 1, lines 32 - 38 -----	1-10
A	BARTHÉLEMY NICOLAS R ET AL: "Proteomic tools for the investigation of human hair structural proteins and evidence of weakness sites on hair keratin coil segments", ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, vol. 421, no. 1, 1 February 2012 (2012-02-01), pages 43-55, XP028884214, ISSN: 0003-2697, DOI: 10.1016/J.AB.2011.10.011 the whole document -----	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/033945

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2011281256	A1	17-11-2011	CA 2798517 A1 24-11-2011
			CN 102893160 A 23-01-2013
			EP 2572201 A1 27-03-2013
			JP 5513679 B2 04-06-2014
			JP 2013526712 A 24-06-2013
			US 2011281256 A1 17-11-2011
			US 2014197309 A1 17-07-2014
			WO 2011146462 A1 24-11-2011

US 4665741	A	19-05-1987	NONE

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
G 0 1 N 27/64 (2006.01) G 0 1 N 27/64 B

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 ロン ウォーカー
 アメリカ合衆国 4 5 2 0 2 オハイオ州 シンシナティ ワン プロクター アンド ギャンブル プラザ (番地なし)

(72) 発明者 イービン スン
 アメリカ合衆国 4 5 2 0 2 オハイオ州 シンシナティ ワン プロクター アンド ギャンブル プラザ (番地なし)

(72) 発明者 マイケル グレン デイビス
 アメリカ合衆国 4 5 2 0 2 オハイオ州 シンシナティ ワン プロクター アンド ギャンブル プラザ (番地なし)

(72) 発明者 ランディ パーネル ワシントン
 アメリカ合衆国 4 5 2 0 2 オハイオ州 シンシナティ ワン プロクター アンド ギャンブル プラザ (番地なし)

(72) 発明者 キャサリン メイ ベリンガー
 アメリカ合衆国 4 5 2 0 2 オハイオ州 シンシナティ ワン プロクター アンド ギャンブル プラザ (番地なし)

(72) 発明者 ステファニー リー デイビス
 アメリカ合衆国 4 5 2 0 2 オハイオ州 シンシナティ ワン プロクター アンド ギャンブル プラザ (番地なし)

F ターム (参考) 2G041 CA01 DA04 EA12 FA12
 2G045 AA24 AA40 BA13 BB03 CB16 DA36 FA34
 4B063 QA01 QA18 QQ08 QQ79
 4C083 AC271 AC272 BB53