

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 983 707**

51 Int. Cl.:

A61K 8/34 (2006.01)

A61K 31/047 (2006.01)

A61P 17/14 (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2017** **PCT/JP2017/016783**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.11.2017** **WO17188393**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2017** **E 17789674 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2024** **EP 3449897**

54 Título: **Agente para el crecimiento del cabello**

30 Prioridad:

27.04.2016 JP 2016100903

28.04.2016 JP 2016091063

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.10.2024

73 Titular/es:

KOBAYASHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.
(100.0%)

4-10, Doshomachi 4-chome
Chuo-kuOsaka-shi, Osaka 541-0045, JP

72 Inventor/es:

TANAKA, KOSUKE;
KAWASAKI, MIHOKO;
TOMI, HIRONORI y
TSUJI, TAKASHI

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 983 707 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Agente para el crecimiento del cabello

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere al uso de un agente para el crecimiento del cabello y más específicamente se refiere a un agente para el crecimiento del cabello para uso externo que comprende D-quiro-inositol.

10 **Antecedentes de la técnica**

Como un reflejo de una sociedad envejecida y estresante, la demanda de agentes para el crecimiento del cabello ha ido creciendo. El cabello normalmente repite un ciclo (ciclo del cabello) de alargamiento desde la papila del cabello que acompaña a la división celular de la matriz pilosa y de caída en la que el cabello es empujado hacia arriba después de la terminación de la división celular de la matriz pilosa, separando de esta manera la raíz del cabello de la papila del cabello. El ciclo del cabello consiste en la fase anágena en la cual la raíz del cabello y el tallo del cabello se alargan; la fase catágena en la cual se detiene la división celular de la matriz del cabello y el alargamiento disminuye gradualmente mientras se afloja la conexión entre la raíz del cabello y la papila del cabello; y la fase telógena en la cual el cabello se cae y la papila del cabello descansa. En un período que va de la fase telógena a la fase anágena del ciclo del cabello, se forma un nuevo folículo piloso.

El inositol (1,2,3,4,5,6-ciclohexanoheptaol) es un compuesto conocido como sustancia similar a una vitamina que tiene una estructura en la cual un átomo de hidrógeno en cada carbono del ciclohexano está sustituido con un grupo hidroxilo. El inositol existe como 9 estereoisómeros correspondientes a combinaciones de configuraciones estéricas de grupos hidroxilo. Como un excipiente para

productos farmacéuticos y productos parafarmacéuticos, el mio-inositol (cis-1,2,3,5-trans-4,6-ciclohexanoheptaol) se usa con el nombre de inositol (inositol) (bibliografía no de patentes (NPL) 1 a 3). Se ha informado de un agente para el crecimiento del cabello que contiene inositol como componente (bibliografía de patentes (PTL) 1). Además, se ha informado que las sustancias que aumentan la sensibilidad a la insulina (ISIS) fueron eficaces para el tratamiento de la caída del cabello asociada a la resistencia a la insulina y que la metformina y la troglitazona, como ejemplos específicos de ISIS, previnieron la caída del cabello o ralentizaron el progreso de la caída del cabello en ratones obesos (PTL 2 y 3). PTL 4 se refiere a la prevención de riesgos de defectos de nacimiento mediante una terapia conjunta con D-inositol. PTL 5 se refiere a la mejora de la expresión del gen hipotalámico en un mamífero usando D-quiro-inositol. PTL 6 divulga una composición cosmética que contiene L-quebrachitol, a saber, 2-O-metil-L-inositol. PTL 7 divulga un agente para el crecimiento del cabello que comprende mio-inositol. PTL 8 divulga un agente que comprende mio-inositol para tratar la aspereza de la piel provocada por el secado.

40 **Lista de citas**40 **Bibliografía de patentes**

PTL 1: JP 2006-28026
PTL 2: WO 2001/062237
45 PTL 3: US 2002/143039
PTL 4: US 2008/138379
PTL 5: US 2002/032177
PTL 6: JP-H02-45407
PTL 7: JP 2006/028026
50 PTL 8: EP 2 116 224

Bibliografía no de patentes

NPL 1: The Japanese Standards of Quasi-Drug Ingredients 2006 consolidated edition, Yakuji Nippo, Limited, p. 318
55 NPL 2: Japanese Pharmaceutical Excipients 2003, Yakuji Nippo, Limited, pp. 101-102
NPL 3: Japanese Pharmaceutical Excipients Directory 2000, Yakuji Nippo, Limited, p. 26

Sumario de la invención60 **Problema técnico**

Un objeto de la presente invención es proporcionar un agente para el crecimiento del cabello que tenga excelentes efectos en el crecimiento del cabello.

65

Solución del problema

Como resultado de una investigación intensiva y continua para lograr el objeto anterior, los presentes inventores descubrieron que solo quiro-inositol, entre los estereoisómeros del inositol, tiene excelente actividad de crecimiento del cabello, logrando de esta manera la presente invención.

- 5 La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

Efectos ventajosos de la invención

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un agente excelente para el crecimiento del cabello.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía D-quiró-inositol (10 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 2 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía D-quiró-inositol (5 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 3 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía D-quiró-inositol (1 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 4 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía D-quiró-inositol (0,1 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 5 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía D-quiró-inositol (0,01 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 6 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía L-quiró-inositol (5 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 7 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía mio-inositol (5 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 8 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía mio-inositol (1 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 9 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía alo-inositol (5 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 10 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía alo-inositol (1 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 11 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía epi-inositol (5 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 12 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía epi-inositol (1 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 13 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía muco-inositol (5 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 14 es un gráfico que muestra los cambios en la longitud del tallo del cabello en sitios de ratones donde se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía escilo-inositol (5 % en peso). El eje vertical representa la longitud del tallo del cabello (mm) y el eje horizontal representa el número de días. En este punto, el primer ciclo capilar muestra datos de referencia en los cuales se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que no contenía el agente.

La Fig. 15 es un gráfico que muestra el diámetro del tallo del vello corporal crecido el día 21 en porciones a las que se les ha eliminado el pelo de ratones C57BL/6N a los que se les aplicó solución de prueba, a los que se les aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía D-quiro-inositol (1 % en peso), y de ratones C57BL/6N de control negativo, a los que se le aplicó una solución acuosa de etanol al 50 %. El eje vertical representa el diámetro del tallo del cabello. La marca ** indica significancia con $P < 0,01$.

La Fig. 16 es un diagrama que muestra los cambios en la puntuación de crecimiento de cabello nuevo a lo largo del tiempo para ratones C3H/He a los que se les aplicó solución de prueba, a los que se les aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía D-quiroinositol (1 % en peso) y para ratones C3H/He de control negativo, a los que se le aplicó una solución acuosa de etanol al 50 %. El eje vertical representa la puntuación total de nuevo crecimiento de cabello y el eje horizontal representa el número de días después de la eliminación del cabello. La marca * indica significancia con $P < 0,05$.

La Fig. 17 es un gráfico que muestra el momento del nuevo crecimiento de cabello para ratones C3H/He a los que se les aplicó solución de prueba, a los que se les aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % que contenía D-quiro-inositol (1 % en peso) y para ratones C3H/He de control negativo, a los que se le aplicó una solución acuosa de etanol al 50 %. El eje vertical representa el número de días para alcanzar una puntuación de nuevo crecimiento de cabello de 1 o más después de la eliminación del cabello. La marca * indica significancia con $P < 0,05$.

La Fig. 18 es un gráfico que muestra los resultados de las pruebas de proliferación de células de la papila del cabello realizadas mediante un método de cultivo bidimensional usando, como medios, una solución de prueba A en la cual se añadió D-quiro-inositol a un medio de cultivo de células de papila del cabello (concentración final del 0,1 % en peso), una solución de prueba B en la cual se añadió mio-inositol a un medio de cultivo de células de papila del cabello (concentración final del 0,1 % en peso) y un control negativo en el cual se añadió PBS solo a un medio de cultivo de células de papila del cabello. El eje vertical representa una tasa de proliferación celular (%) en relación con el control negativo. La marca * indica significancia con $P < 0,05$.

La Fig. 19 es un gráfico que muestra los resultados de las pruebas de proliferación de células de la papila del cabello realizadas mediante un método de cultivo tridimensional usando, como medios, soluciones de prueba A1 a A3 en las cuales se añadió D-quiro-inositol a medios de cultivo de células de papila del cabello (concentraciones finales del 0,05, 0,1 y 1 % en peso), soluciones de prueba B1 a B3 en las cuales se añadió mio-inositol a medios de cultivo de células de papila del cabello (concentraciones finales del 0,05, 0,1 y 1 % en peso) y un control negativo en el cual se añadió PBS solo a un medio de cultivo de células de papila del cabello. El eje vertical representa una tasa de aumento del área (%) de los esferoides de las células de la papila del cabello, en relación con el control negativo. La marca * indica significancia con $P < 0,05$ y la marca ** indica significancia con $P < 0,01$.

Descripción de las realizaciones

En lo sucesivo en el presente documento, se describirá un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención.

Un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención es un agente para el crecimiento del cabello para uso externo que comprende D-quiro-inositol.

En la presente invención, D-quiro-inositol puede extraerse de trigo sarraceno, legumbres y cítricos, por ejemplo, donde existe de forma natural; puede extraerse de lo producido mediante fermentación de legumbres y similares; o puede sintetizarse químicamente. Además, D-quiro-inositol también está disponible para su compra.

El contenido de D-quiro-inositol en un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención es, por ejemplo, del 0,001 al 20 % en peso, específicamente del 0,01 al 10 % en peso, y más específicamente del 0,1 al 10 %

en peso basado en el peso total del agente para el crecimiento del cabello.

Además específicamente, el contenido de D-quiro-inositol en el agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención es del 0,3 al 5 % en peso, aún más específicamente del 0,5 al 3 % en peso y lo más específicamente del 0,7 al 1 % en peso basado en el peso total del agente de crecimiento del cabello.

Un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención es aplicable a cosméticos (incluyendo cosméticos para el cabello y cosméticos para el cuero cabelludo). Por ejemplo, el agente para el crecimiento del cabello puede usarse como pomada, cataplasmas, linimento, loción, líquidos para uso externo, polvo de espolvoreo, crema, gel, loción lechosa, tónicos para el cabello y pulverizadores para el cabello, pero no se limita a estos usos.

Un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención puede contener otros componentes, tales como excipientes comúnmente aceptables para cosméticos (incluyendo cosméticos para el cabello y cosméticos para el cuero cabelludo), además de D-quiro-inositol como principio activo. Algunos ejemplos de otros componentes, tales como excipientes, incluyen vehículos, estabilizantes, agentes aromatizantes, bases, dispersantes, diluyentes, tensioactivos, emulsionantes, agentes promotores de la absorción transdérmica, agentes de ajuste del pH, conservantes, colorantes, aceite (grasas y aceites, aceite mineral y similares), humectantes, alcoholes, espesantes, polímeros, agentes formadores de películas, absorbentes de UV, activadores celulares, antioxidantes, antisépticos, ambientadores, desodorantes, pigmentos, tintes, perfume, azúcares, aminoácidos, vitaminas, ácidos orgánicos, aminos orgánicos y extractos vegetales, pero no se limitan a estos componentes.

Un agente para el crecimiento del cabello de la presente invención puede contener componentes comúnmente conocidos que son eficaces, por ejemplo, para hacer crecer (nuevo) cabello y para nutrir el cabello.

La cantidad de D-quiro-inositol administrada por dosis de un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención es, por ejemplo, de 0,005 a 200 mg, específicamente de 0,05 a 100 mg y más concretamente de 0,5 a 10 mg.

La frecuencia de administración de un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención es, por ejemplo, de 1 a 6 veces por día, específicamente de 1 a 3 veces por día y más específicamente una o dos veces por día.

Un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención se refiere a la promoción del crecimiento del tallo del cabello, el nuevo crecimiento de cabello y la prevención de la caída del cabello y preferentemente se refiere a la promoción del crecimiento del tallo del cabello y el nuevo crecimiento de cabello.

La expresión "promoción del crecimiento del tallo del cabello" en el presente documento significa una tasa de alargamiento aumentada, una longitud máxima aumentada y/o un diámetro aumentado del tallo del cabello.

La expresión "nuevo crecimiento de cabello" en el presente documento significa un aumento en el recuento de cabello mediante la promoción del crecimiento de cabello nuevo desde los poros donde el crecimiento de cabello nuevo se ha detenido o la capacidad de los poros para hacer crecer cabello nuevo ha disminuido en sitios sin cabello (ningún tallo de cabello que sobresalga de la epidermis) o con un recuento bajo de pelo. Específicamente, la expresión significa acortamiento de la fase telógena en un ciclo capilar y/o reanudación de un ciclo capilar detenido.

La expresión "efecto sobre la promoción del crecimiento del tallo del cabello" en el presente documento significa un efecto ventajoso ejercido sobre la promoción del crecimiento del tallo del cabello, y las características que exhiben el efecto sobre la promoción del crecimiento del tallo del cabello se denominan "actividad promotora del crecimiento del tallo del cabello". Además, la expresión "efecto sobre el crecimiento de cabello nuevo" significa un efecto ventajoso ejercido sobre el crecimiento de cabello nuevo, y las características que exhiben el efecto sobre el crecimiento de cabello nuevo se denominan "actividad promotora del crecimiento de cabello nuevo".

La expresión "pérdida de cabello" en el presente documento se refiere a un fenómeno de caída de los tallos del cabello desde los poros e indica específicamente un aumento de citocinas inhibitoras y similares que inhiben la proliferación celular, así como la muerte celular de los mismos. Las características que muestran un efecto sobre la prevención de la caída del cabello se denominan "actividad preventiva de la caída del cabello". Además, el "efecto sobre la prevención de la caída del cabello" significa una disminución del recuento de caída de los tallos del cabello desde los poros mediante la inhibición o disminución de las citocinas inhibitoras y la supresión de la muerte celular, y representa un fenómeno fisiológico diferente de las características que exhiben el efecto sobre la promoción del crecimiento del tallo del cabello o de nuevo crecimiento del cabello. Un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención previene eficazmente la caída del cabello también en usuarios no resistentes a la insulina.

Un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención puede usarse para aumentar la tasa de alargamiento de un tallo de cabello o aumentar la longitud máxima de un tallo de cabello. Puede aumentarse la tasa de alargamiento del tallo del cabello, por ejemplo, en un máximo de aproximadamente el 110 %, específicamente en aproximadamente el 25 al 110 % y más específicamente en aproximadamente el 33 al 110 % en comparación con una

tasa de alargamiento de un tallo capilar en los datos de referencia de un ciclo capilar. Puede aumentarse la longitud máxima del tallo del cabello, por ejemplo, en un máximo de aproximadamente el 49 %, específicamente en aproximadamente el 1 al 49 % y más específicamente en el 2 al 49 %.

- 5 Un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención puede usarse para aumentar un diámetro del tallo del cabello.

10 Un agente de crecimiento del cabello usado en la presente invención puede usarse para aumentar el recuento de cabello mediante la promoción del crecimiento de cabello nuevo a partir de los poros donde el crecimiento de cabello nuevo se ha detenido o la capacidad de los poros para hacer crecer cabello nuevo ha disminuido en sitios sin cabello (sin tallo del cabello que sobresale de la epidermis) o con un recuento bajo de pelo. Específicamente, el agente de crecimiento del cabello puede usarse para acortar la fase telógena en un ciclo capilar y/o reanudar un ciclo capilar detenido.

- 15 El uso de un agente para el crecimiento del cabello de la presente invención no incluye una aplicación, para la caída del cabello asociada a la resistencia a la insulina.

20 Un agente para el crecimiento del cabello usado en la presente invención también es aplicable a animales, tales como ganado y mascotas, además de seres humanos. En un aspecto de la presente invención, se proporciona un método de crecimiento del cabello (excluyendo la práctica médica) que comprende administrar un agente para uso externo que comprende D-quiro-inositol a un sujeto.

Ejemplos

25 Ejemplo 1 Evaluación de la actividad de crecimiento del cabello con D-quiro-inositol (1)

Se trasplantaron folículos pilosos (preparados quirúrgicamente) de ratones con pelo en la parte posterior de ratones desnudos (de Sankyo Labo Service Corporation, Inc.) para producir ratones trasplantados manipulados de tal manera que pueda distinguirse cada pelo y pueda observarse una pluralidad de ciclos pilosos.

30 En primer lugar, se aplicó una solución acuosa de etanol al 50 % (12,5 μ l, que no contenía el agente) a los ratones trasplantados 4 veces al día durante el crecimiento de cabello nuevo en el primer ciclo capilar para obtener datos de referencia de un ciclo capilar. Después de que el cabello se haya caído después del final del primer ciclo capilar, se aplicó a los ratones una solución acuosa de etanol al 50 % (12,5 μ l) que contenía una cantidad predeterminada del agente 4 veces al día para obtener datos sobre los efectos del agente. Después de que el cabello se haya caído después del final del segundo ciclo capilar, se aplicó a los ratones una solución acuosa de etanol al 50 % (12,5 μ l) que contenía el agente en la misma cantidad que en el segundo ciclo capilar de manera similar al segundo ciclo capilar para obtener datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente.

40 Como el agente, D-quiro-inositol (de Wako Pure Chemical Industries Ltd.) y sus estereoisómeros como quiro-inositol, L-quiro-inositol (de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.), mio-inositol (de Wako Pure Chemical Industries Ltd.), alo-inositol (cis-1,2,3,4-trans-5,6-ciclohexanoheaxol) (de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.), epi-inositol (cis-1,2,3,4,5-trans-6-ciclohexanoheaxol) (de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.), muco-inositol (cis-1,2,4,5-trans-3,6-ciclohexanoheaxol) (de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.) y esciloinositol (cis-1,3,5-trans-2,4,6-ciclohexanoheaxol) (de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.).

50 Para cada solución de agente, la longitud de los tallos del cabello se midió cada 2 a 3 días, se trazó una longitud promedio de los tallos del cabello que cambiaba día a día como un punto en cada punto temporal en un gráfico, y se repitió un trazado similar para 3 a 4 ratones. Los resultados se muestran en las Tablas 1 a 14 y en las Fig. 1 a 14.

[Tabla 1]

Tabla 1. Resultados de D-quiro-inositol (10 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	0,30 \pm 0,02	0,46 \pm 0,06**	0,63 \pm 0,05**

(continuación)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Con respecto a los datos de referencia	-	154 %	210 %
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	4,0 ± 0,5	5,6 ± 0,5**	5,9 ± 0,5**
Con respecto a los datos de referencia	-	142 %	149 %

[Tabla 2]

5

Tabla 2. Resultados de D-quiro-inositol (5 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	0,36 ± 0,05	0,46 ± 0,04*	0,49 ± 0,07*
Con respecto a los datos de referencia	-	128 %	136 %
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	4,4 ± 0,3	5,1 ± 0,3**	5,1 ± 0,4**
Con respecto a los datos de referencia	-	116 %	116 %

[Tabla 3]

Tabla 3. Resultados de D-quiro-inositol (1 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	0,39 ± 0,01	0,47 ± 0,01**	0,48 ± 0,04*
Con respecto a los datos de referencia	-	121 %	123 %
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	5,1 ± 0,4	5,7 ± 0,4**	6,0 ± 0,4**
Con respecto a los datos de referencia	-	110 %	116 %

10

[Tabla 4]

Tabla 4. Resultados de D-quiro-inositol (0,1 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	$0,30 \pm 0,03$	$0,30 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,06$
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	$4,6 \pm 0,5$	$4,7 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4^{**}$
Con respecto a los datos de referencia		101 %	105 %

5 [Tabla 5]

Tabla 5. Resultados de D-quiro-inositol (0,01 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	$0,30 \pm 0,03$	$0,30 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,06$
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	$4,6 \pm 0,3$	$4,8 \pm 0,4$	$4,7 \pm 0,3$

[Tabla 6]

10

Tabla 6. Resultados de L-quiro-inositol (5 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	$0,35 \pm 0,07$	$0,33 \pm 0,08$	$0,33 \pm 0,13$
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	$5,1 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,7$	$4,8 \pm 0,8$

[Tabla 7]

15

Tabla 7. Resultados de mio-inositol (5 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	$0,37 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,05$	$0,39 \pm 0,06$

(continuación)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	4,6 ± 0,4	4,6 ± 0,5	4,7 ± 0,5

[Tabla 8]

5

Tabla 8. Resultados de mio-inositol (1 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	0,40 ± 0,09	0,45 ± 0,03	0,44 ± 0,08
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	4,9 ± 0,5	4,9 ± 0,5	5,0 ± 0,5

[Tabla 9]

Tabla 9. Resultados de alo-inositol (5 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	0,43 ± 0,05	0,43 ± 0,02	0,40 ± 0,03
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	5,6 ± 0,3	5,5 ± 0,3	5,5 ± 0,8

10

[Tabla 10]

Tabla 10. Resultados de alo-inositol (1 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	0,40 ± 0,02	0,37 ± 0,03	0,40 ± 0,04
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	5,1 ± 0,4	5,0 ± 0,5	5,2 ± 0,5

[Tabla 11]

Tabla 11. Resultados de epi-inositol (5 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	$0,32 \pm 0,06$	$0,33 \pm 0,09$	$0,32 \pm 0,09$
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	$4,7 \pm 0,7$	$4,7 \pm 0,6$	$4,5 \pm 0,6$

5 [Tabla 12]

Tabla 12. Resultados de epi-inositol (1 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	$0,45 \pm 0,03$	$0,43 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,09$
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	$5,2 \pm 0,3$	$5,2 \pm 0,3$	$5,3 \pm 0,4$

[Tabla 13]

10

Tabla 13. Resultados de muco-inositol (5 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	$0,33 \pm 0,07$	$0,35 \pm 0,03$	$0,36 \pm 0,10$
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	$5,0 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,3$	$5,1 \pm 0,3$

[Tabla 14]

15

Tabla 14. Resultados de escilo-inositol (5 % en peso)

	Datos de referencia (primer ciclo capilar)	Datos sobre los efectos del agente (segundo ciclo capilar)	Datos de reproducibilidad sobre los efectos del agente (tercer ciclo capilar)
Tasa de crecimiento del tallo del cabello (mm/día)	$0,36 \pm 0,07$	$0,35 \pm 0,09$	$0,35 \pm 0,09$
Longitud máxima del tallo del cabello (mm)	$4,4 \pm 0,5$	$4,4 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,5$

En las Tablas 1 a 14, la marca * indica significancia con $p < 0,05$ y la marca ** indica significancia con $p < 0,01$.

Como está claro a partir de las Tablas 1 y 3 y las Fig. 1 a 3, cuando el D-quiro-inositol estaba contenido en el 10 % en peso, el 5 % en peso o el 1 % en peso como agente, tanto la tasa de crecimiento del tallo del cabello como la longitud máxima del tallo del cabello aumentaron significativamente en relación con los datos de referencia, indicando actividad de crecimiento del cabello. Al mismo tiempo, como está claro a partir de la Tabla 4 y la Fig. 4, cuando el D-quiro-inositol estaba contenido en el 0,1 % en peso como agente, la tasa de crecimiento del tallo del cabello no fue significativamente diferente de los datos de referencia, mientras que la longitud máxima del tallo del cabello aumentó significativamente en el tercer ciclo del cabello. Por consiguiente, en vista de un efecto positivo al menos en la longitud del tallo del cabello, la actividad de crecimiento del cabello se mostró en el caso en el que contuvo D-quiro-inositol al 0,1 % en peso. Además, como está claro a partir de la Tabla 5 y la Fig. 5, cuando el D-quiro-inositol estaba contenido en el 0,01 % en peso, tanto la tasa de crecimiento del tallo del cabello como la longitud máxima del tallo del cabello mostraron diferencias marginalmente significativas con respecto a los datos de referencia en este experimento. En consecuencia, se sugiere que el límite inferior eficaz de la actividad de crecimiento del cabello del D-quiro-inositol sea del 0,001 % en peso al 0,01 % en peso en términos de contenido de D-quiro-inositol.

En cuanto a los estereoisómeros del quiro-inositol, como está claro a partir de las Tablas 6 a 14 y las Fig. 6 a 14, no se observaron diferencias significativas con respecto a los datos de referencia ni en la tasa de crecimiento del tallo del cabello ni en la longitud máxima del tallo del cabello en este experimento y, por lo tanto, la actividad de crecimiento del cabello no se confirmó en todos los casos en los que contenía el 5 % en peso de L-quiro-inositol, el 5 % en peso o el 1 % en peso de mio-inositol, el 5 % en peso o el 1 % en peso de alo-inositol, el 5 % en peso o el 1 % en peso de epi-inositol, el 5 % en peso de muco-inositol o el 5 % en peso de escilo-inositol.

Ejemplo 2 Evaluación de la actividad de crecimiento del cabello con D-quiro-inositol (2)

Desde el punto de vista de un aumento en el diámetro (grosor) del tallo del cabello, se evaluó la actividad de crecimiento del cabello del D-quiro-inositol.

En ratones C57BL/6N, se sabe que cuando se arranca el vello corporal de la espalda, los ciclos del cabello en la región arrancada se ven obligados a pasar a la fase catágena y, como resultado, los ciclos del cabello en la región arrancada se sincronizan. Por lo tanto, solo el cabello en la fase anágena se vuelve observable mediante variaciones decrecientes en los ciclos pilosos. Aproximadamente 7 días después de arrancar el cabello, como un signo de la fase anágena, el color de la piel cambia a gris cuando los melanocitos en los folículos pilosos comienzan a sintetizar melanina, además del crecimiento del cabello pigmentado. Además, aproximadamente 10 días después de arrancar el cabello, se observa crecimiento de cabello nuevo en la región arrancada. Aproximadamente 21 días después de arrancar el cabello, el límite entre la región arrancada y la región no arrancada se vuelve invisible y los ciclos del cabello entran en la fase catágena y se detiene el crecimiento del tallo del cabello. En consecuencia, la actividad de crecimiento del cabello puede evaluarse desde el punto de vista de un aumento en el diámetro del tallo del cabello midiendo el diámetro del tallo del vello corporal que crece en la región arrancada aproximadamente 21 días después de que se arranca el cabello.

En este Ejemplo, se arrancó el vello corporal de la espalda de ratones C57BL/6N (7 semanas de edad, hembras) y una solución de prueba en la que se disolvió D-quiro-inositol (de Wako Pure Chemical Industries Ltd.) en etanol al 50 % a una concentración del 1 % en peso se aplicó a la región extraída durante 21 días (una vez al día, 100 μ l).

La aplicación se realizó en dos grupos (grupo al que se aplicó la solución de prueba y grupo de control negativo (grupo al que se aplicó etanol al 50 %)), donde cada grupo consistió en seis ratones. Los tallos del cabello en las regiones aplicadas se recogieron con pinzas el día 21 después de la aplicación. Se recogieron aproximadamente 20 tallos de pelo de cada ratón, y se midió el diámetro del tallo de pelo de 10 tallos de pelo seleccionados al azar de 120 tallos de pelo en total recogidos de 6 ratones de cada grupo. El diámetro del tallo del cabello se calculó midiendo diámetros en tres sitios diferentes de cada tallo del cabello dentro de un campo de visión bajo un microscopio óptico, considerando el valor promedio de estos diámetros como el diámetro de cada tallo de cabello, y promediando los diámetros de 10 tallos de cabello derivados de la misma medición. Los resultados se muestran en la Fig. 15.

Como se desprende claramente de la Fig. 15, el grupo al que se aplicó la solución de prueba y el grupo de control negativo mostraron una diferencia notable en el diámetro del tallo del cabello el día 21 después de la aplicación y el diámetro del tallo del cabello del grupo al que se aplicó la solución de prueba fue significativamente mayor. En consecuencia, la actividad de crecimiento del cabello del D-quiro-inositol se confirmó también desde el punto de vista de un aumento en el diámetro del tallo del cabello.

Ejemplo 3 Evaluación de la actividad promotora del crecimiento de cabello nuevo del D-quiro-inositol

El folículo piloso que produce el tallo del cabello es el único órgano que se sabe que repite el crecimiento y la regresión a lo largo de toda la vida. Este crecimiento y regresión regulares se dividen en la fase anágena, la fase catágena y la fase telógena de un ciclo capilar. El vello corporal de la espalda de los ratones C3H/He seguramente estará en la fase telógena entre 45 y 95 días después del nacimiento y, por lo tanto, se observa un período de unión a la fase telógena

extremadamente largo en comparación con los ratones comunes, tales como ratones C57BL/6N, cuyo ciclo piloso del vello corporal de la espalda dura aproximadamente 21 días en total para la fase anágena, la fase catágena y la fase telógena. Normalmente, cuando el folículo piloso entra en la fase anágena, la piel presenta cada vez más un color gris y el crecimiento de cabello nuevo se confirma observando la aparición gradual de cabello regenerado en la piel. Por lo tanto, usando ratones C3H/He entre 45 y 90 días después del nacimiento, puede evaluarse la actividad promotora del crecimiento del cabello nuevo.

En este Ejemplo, el pelo de la espalda de ratones C3H/He (Japan SLC, Inc.) (8 semanas de edad, hembra), cuyos ciclos capilares estaban en la fase telógena, se acortó con cortapelos, seguido de la eliminación completa del vello corporal (depilación) de la espalda mediante el uso de un depilador. Después de 24 horas de un período de recuperación, se aplicó una solución de prueba en la cual se disolvió D-quiro-inositol (de Wako Pure Chemical Industries Ltd.) en etanol al 50 % a una concentración del 5 % en peso a la región depilada (una vez al día, 100 µl) durante 21 días.

La aplicación se realizó en dos grupos (grupo al que se aplicó la solución de prueba y grupo de control negativo (grupo al que se aplicó etanol al 50 %)), donde cada grupo consistió en cinco ratones. Basándose en nuevos criterios de puntuación de crecimiento del cabello (Tabla 15) de acuerdo con los cambios de apariencia en una porción de la región aplicada que abandona la fase telógena y entra en una fase de regeneración, se cuantificó el grado de crecimiento de cabello nuevo en la región aplicada (intervalo de 1 a 10 en el cual se suman las puntuaciones de crecimiento de cabello nuevo relativas a dos elementos) a lo largo del tiempo los días 0, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20 y 21 después de la eliminación del cabello. Un valor numérico más alto indica un mayor grado de crecimiento de cabello nuevo. Cada valor numérico se calculó como una puntuación promedio de 5 ratones en cada grupo. Además, la misma prueba se realizó tres veces y el tiempo de crecimiento de cabello nuevo después de la depilación se calculó como el número de días. De esta manera se investigó la nueva actividad promotora del crecimiento del cabello también desde el punto de vista de la fase telógena en un ciclo capilar acortado por D-quiro-inositol, en relación con el control negativo. Los resultados se muestran en las Fig. 16 y 17.

[Tabla 15]

Tabla 15. Nuevos criterios de puntuación del crecimiento del cabello de acuerdo con los cambios de apariencia

Proporción de área de la porción que ha entrado en la fase de crecimiento de cabello nuevo		Aparición de la porción que ha entrado en la fase de crecimiento de cabello nuevo	
-	0	-	0
Fraccional	1	Gris claro	1
Hasta 1/3	2	Gris oscuro	2
1/3 a 2/3	3	Hasta 1/3 es tallo de cabello crecido nuevamente	3
Casi todos	4	Hasta 2/3 es tallo de cabello crecido nuevamente	4
AU	5	Todo es tallo del cabello crecido nuevamente	5

Como se desprende claramente de la Fig. 16, se observó una diferencia notable en la puntuación de crecimiento de cabello nuevo el día 21 después de la eliminación del vello entre el grupo al que se aplicó la solución de prueba y el grupo de control negativo, y la puntuación de crecimiento de cabello nuevo del grupo al que se aplicó la solución de prueba fue significativamente mayor. Por consiguiente, se confirmó la nueva actividad promotora del crecimiento del cabello del D-quiro-inositol.

Además, la Fig. 17 muestra, como el número de días después de la eliminación del cabello, el momento del crecimiento de cabello nuevo, en el cual la puntuación de crecimiento de cabello nuevo de cada grupo alcanzó 1 o más. El momento promedio de crecimiento de cabello nuevo para el grupo de control negativo fue el día 9, mientras que para el grupo al que se le aplicó la solución de prueba fue el día 4. Por consiguiente, se confirmó el acortamiento de la fase telógena en el ciclo capilar por el D-quiro-inositol.

Ejemplo 4 Prueba de crecimiento de cabello nuevo en mono

Como un modelo animal de los seres humanos, se realizó una nueva prueba de crecimiento del cabello usando un

mono.

Un macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*) es un mono (clase: *Mammalia*, orden: *Primates*, familia: *Cercopithecidae*, género: *Macaca*) que tiene muchas similitudes con los seres humanos, tal como la morfología de la articulación temporomandibular, y se emplea frecuentemente como animal de laboratorio para estudios morfológicos y estudios de medicación debido a su fácil reproducción y crianza. El macaco cangrejero es conocido por la renovación del vello corporal en un ciclo de seis meses al año. Entre las monas hembras de edad avanzada que tuvieron crías repetidamente y los monos machos de edad avanzada de bajo estatus social, los individuos con síntomas observados de adelgazamiento del cabello o cabello escaso emergen con baja frecuencia. Las porciones de cabello ralo o escaso de estos individuos se encuentran en un estado en el que los tallos del cabello no sobresalen de los poros o no pueden observarse a simple vista debido a un marcado acortamiento o adelgazamiento.

En este Ejemplo, a un macaco cangrejero anciano (19 años de edad, macho) que tiene escaso vello corporal en la cabeza, una solución de prueba A en la que se disolvió D-quiro-inositol (de Wako Pure Chemical Industries Ltd.) en etanol al 50 % a una concentración del 1 % en peso y una solución de prueba B en la que se disolvió mio-inositol en etanol al 50 % a una concentración del 1 % en peso se aplicaron todos los días a aproximadamente 4 cm²-regiones de pelo escaso (2 cm x 2 cm) en los lados izquierdo y derecho a lo largo de la línea media de la cabeza del macaco. La aplicación (una vez al día, 150 µl) se realizó durante 8 semanas y se aplicó etanol al 50 % como un control negativo. Al final de las 8 semanas, los tallos del cabello en las regiones aplicadas se cortaron con maquinillas de afeitar dejando de 2 a 3 mm desde los poros hacia el exterior del cuerpo, y se contó el número total de cabello que sobresalía de los poros en las regiones aplicadas. Se calculó una tasa de crecimiento de cabello nuevo como una tasa de aumento en la cantidad de cabello al final de 8 semanas, con respecto a la cantidad de cabello que sobresalía de los poros en las mismas regiones antes de la aplicación al inicio de la prueba como el 100 %. Los resultados se muestran en la Tabla 16.

[Tabla 16]

Tabla 16. Resultados de la prueba de nuevo crecimiento de cabello en mono

	Control negativo (etanol al 50 %)	Solución de prueba A (D-quiro-inositol al 1 % en peso)	Solución de prueba B (mio-inositol al 1 % en peso)
Tasa de crecimiento de cabello nuevo (%)	109,5	175,9	107,1

Como está claro a partir de la Tabla 16, se obtuvo una tasa de crecimiento de cabello nuevo notablemente mayor que en los casos de la solución de prueba B y el control negativo mediante la aplicación de la solución de prueba A. Por lo tanto, la actividad promotora del crecimiento del nuevo cabello del D-quiro-inositol también se confirmó en un mono. Aunque no se muestran los datos, los tallos del cabello en la región donde se aplicó la solución de prueba A se volvieron notablemente más gruesos que los de los casos de la solución de prueba B y el control negativo. Por consiguiente, la actividad promotora del crecimiento del tallo del cabello del D-quiro-inositol también se confirmó en un mono.

Ejemplo 5 Ensayo de proliferación de células de papila del cabello mediante cultivo bidimensional

Las células de la papila del cabello transmiten nuevas señales de crecimiento del cabello a las células de la matriz pilosa a través de sustancias de señalización para activar las células de la matriz pilosa, controlando de esta manera los procesos de crecimiento de cabello nuevo y alargamiento del cabello. En consecuencia, la actividad promotora del crecimiento del tallo del cabello y similares de las sustancias de prueba pueden evaluarse a partir de una tasa de proliferación de células de la papila del cabello.

En este Ejemplo, la piel de la región de los bigotes se tomó de un ratón C57BLZ6N y las papilas pilosas se recolectaron de folículos de bigotes aislados bajo un microscopio estereoscópico. Se fijaron seis papilas pilosas a la superficie inferior de una placa de Petri de plástico de 60 mm (de Sumitomo Bakelite Co., Ltd.), y el cultivo primario se realizó a 37 °C en presencia de CO₂ al 5 % mediante el uso de un medio de cultivo de células de papila del cabello en el que FCS (suero bovino fetal) al 2 %, ITT al 0,6 % (mezcla de insulina-transferrina-triiodotironina), BPE (extracto de pituitaria bovina) al 1 % y Cyp (solución de ciproterona) al 0,6 % se añadieron a un medio base PCGM. En lo sucesivo, el medio se reemplazó cada 2 a 3 días y el subcultivo se repitió aproximadamente cada dos semanas. En este experimento, se usaron células de papila del cabello en el pase 3 o menos. En primer lugar, las células de la papila del cabello se sembraron en una microplaca de 24 pocillos para cultivo celular (de Sumitomo Bakelite Co., Ltd.) a 10.000 células/pocillo y se cultivaron durante 3 días usando una solución de prueba A que era un medio de cultivo de células de la papila del cabello para al cual se añadió D-quiro-inositol disuelto en PBS a una concentración final del 0,1 % en peso, una solución de prueba B que era un medio de cultivo de células de papila del cabello al que se añadió mio-inositol disuelto en PBS a una concentración final del 0,1 % en peso y un control negativo que era un medio de

cultivo de células de papila del cabello al que se añadió PBS solo. El número de células después del cultivo durante 3 días se contó usando un hemocitómetro y las tasas de proliferación en la solución de prueba A y la solución de prueba B se calcularon en relación con el 100 % para una tasa de proliferación en el control negativo del 100 %. Los resultados se muestran en la Fig. 18.

Como se desprende claramente de la Fig. 18, en el caso de cultivo usando la solución de prueba A, la tasa de proliferación aumentó significativamente en comparación con el caso del cultivo usando el control negativo. Por consiguiente, se confirmó la actividad promotora de la proliferación de células de la papila del cabello del D-quiro-inositol. Al mismo tiempo, en el caso de cultivo usando la solución de prueba B, no se observó ninguna diferencia significativa y, por consiguiente, no se confirmó la actividad promotora de la proliferación de células de la papila del cabello del mio-inositol.

Ejemplo 6 Ensayo de proliferación de células de papila del cabello mediante cultivo tridimensional

En un método de cultivo tridimensional, la proliferación celular se calcula a partir del área de esferoides celulares tridimensionales que simulan condiciones más cercanas las *in vivo* y, por lo tanto, la proliferación celular puede evaluarse en términos de dos factores integrados de crecimiento celular y un aumento en el recuento celular.

En este Ejemplo, se sembraron células de papila del cabello preparadas de manera similar al Ejemplo 5 en una microplaca con fondo en U de 96 pocillos para cultivo celular (de Sumitomo Bakelite Co., Ltd.) a 6.000 células/pocillo y se centrifugaron con una centrífuga de placas a temperatura ambiente y a una velocidad de rotación de 1.000 rpm durante 1 minuto para producir esferoides tridimensionales de células de papila del cabello. Los esferoides se cultivaron durante 3 días usando cada una de las soluciones de prueba A1 a A3 que eran medios de cultivo de células de papila del cabello a los que se añadió D-quiro-inositol disuelto en PBS a una concentración final del 0,05 % en peso, el 0,1 % en peso o el 1 % en peso; soluciones de prueba B1 a B3 que eran medios de cultivo de células de papila del cabello a los que se añadió mio-inositol disuelto en PBS a una concentración final del 0,05 % en peso, el 0,1 % en peso o el 1 % en peso; y un control negativo que era un medio de cultivo de células de papila del cabello al que se añadió PBS solo. Se tomaron imágenes de los esferoides después de cultivar durante 3 días usando un microscopio digital VHX2000 (Keyence Corporation), y el área de los esferoides se calculó usando una herramienta de análisis de microscopio digital. Calculando la tasa de aumento del área del esferoide en las soluciones de prueba A1 a A3 y B1 a B3, con respecto una tasa de aumento de área en el control negativo del 100 %, la proliferación de células de la papila del cabello en condiciones más cercanas a la condición *in vivo* se cuantificó. Los resultados se muestran en la Fig. 19.

Como se desprende claramente de la Fig. 19, en los casos de cultivo usando las soluciones de prueba A1 a A3, el área del esferoide aumentó significativamente en comparación con el caso del cultivo usando el control negativo. Por consiguiente, la actividad proliferativa de las células de la papila del cabello del D-quiro-inositol se confirmó en todas las concentraciones finales analizadas del 0,05% en peso, el 0,1 % en peso y el 1 % en peso. Al mismo tiempo, no se observaron diferencias significativas en los casos de cultivo usando las soluciones de prueba B1 a B3 y, por consiguiente, la actividad promotora de la proliferación de células de la papila del cabello del mio-inositol no se confirmó en ninguna de las concentraciones finales analizadas del 0,05 % en peso, el 0,1 % en peso y el 1 % en peso. En este punto, a partir del grado de las tasas de aumento del área del esferoide, se considera que un aumento en el recuento de células contribuye en gran medida a la proliferación de células de la papila del cabello en los casos de cultivo usando las soluciones de prueba A1 a A3.

REIVINDICACIONES

1. Uso externo cosmético de un agente que comprende D-quiro-inositol en un método no terapéutico para hacer crecer el cabello, no incluyendo dicho método una aplicación a la caída del cabello asociada a la resistencia a la insulina.
- 5 2. Un método no terapéutico para promover el crecimiento del cabello que comprende aplicar externamente un agente que comprende D-quiro-inositol al cabello del cuero cabelludo humano, no incluyendo dicho método una aplicación a la caída del cabello asociada a la resistencia a la insulina.
- 10 3. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en donde el contenido de quiro-inositol es del 0,001 al 20 % en peso, preferentemente del 0,01 al 10 % en peso basado en el peso total del agente.
- 15 4. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el agente se usa para promover el crecimiento del tallo del cabello o para hacer crecer cabello nuevo.
5. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el agente se usa para aumentar la tasa de alargamiento del tallo del cabello.
- 20 6. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el agente se usa para aumentar una longitud máxima del tallo del cabello.
7. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el agente se usa para aumentar un diámetro del tallo del cabello.
- 25 8. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el agente se usa para aumentar un recuento de cabellos.
- 30 9. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 8, en donde el agente se usa para promover el crecimiento de cabello nuevo a partir de un poro donde se ha detenido el crecimiento de cabello nuevo o ha disminuido la capacidad de los poros para hacer crecer cabello nuevo.
10. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, 8 y 9, en donde el agente se usa para acortar la fase telógena en un ciclo capilar.
- 35 11. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, 8 y 9, en donde el agente se usa para reanudar un ciclo capilar detenido.
12. El uso cosmético externo o el método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el agente es una solución.
- 40 13. El uso cosmético externo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 12, en donde el agente se usa para el cabello del cuero cabelludo humano.

Fig. 1

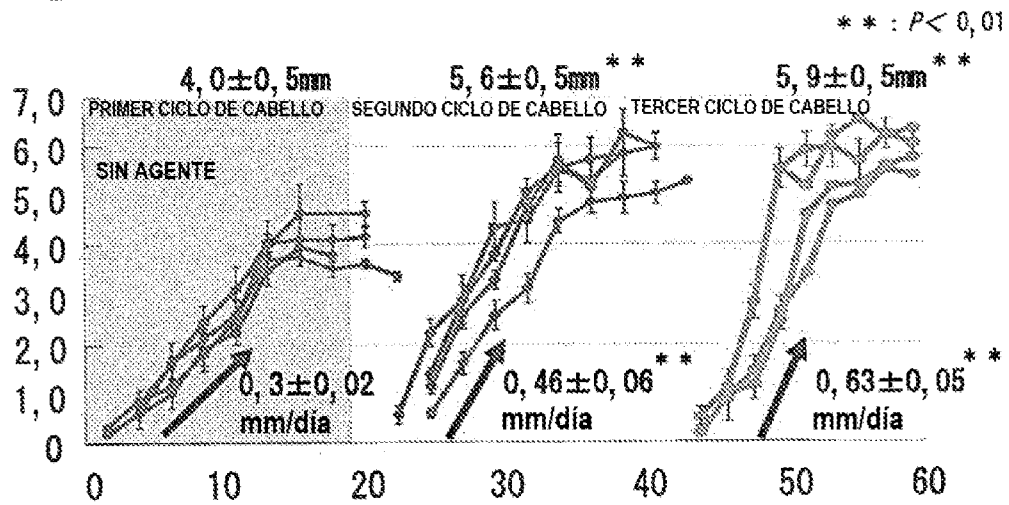


Fig. 2

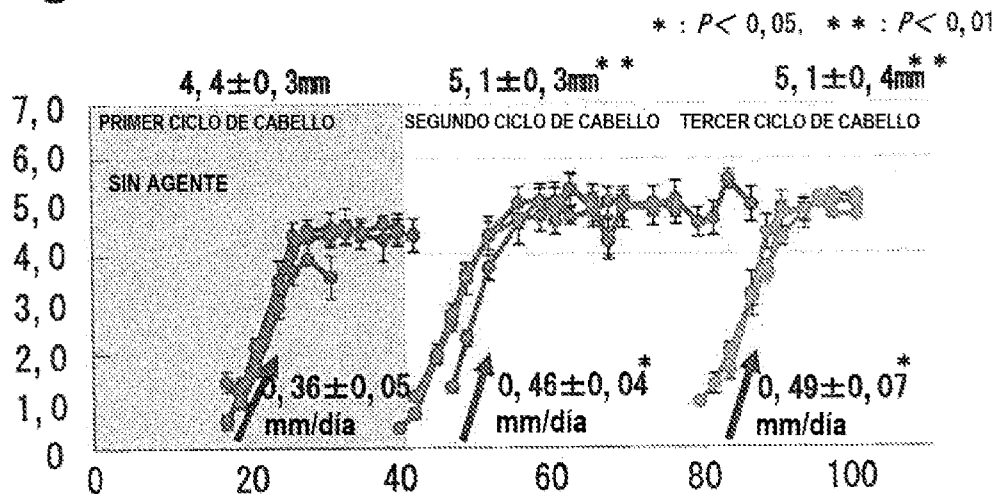


Fig. 3

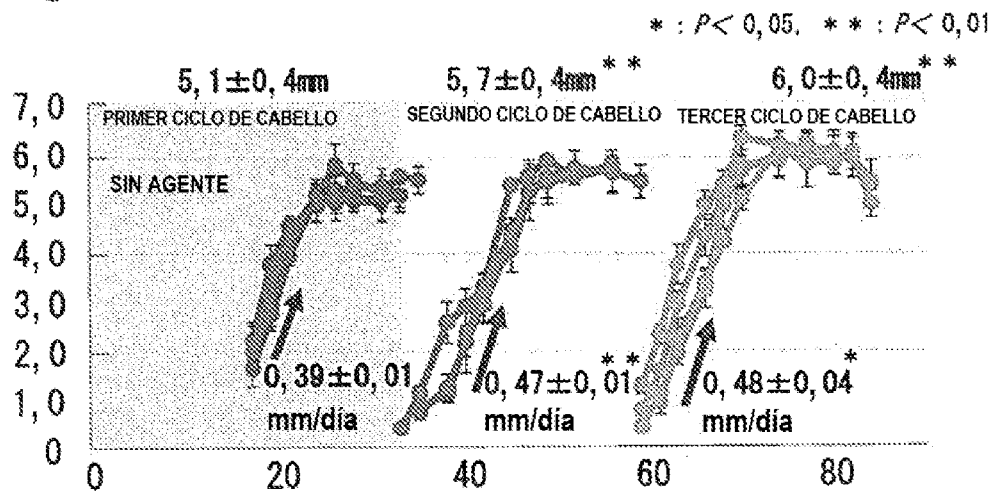


Fig. 4

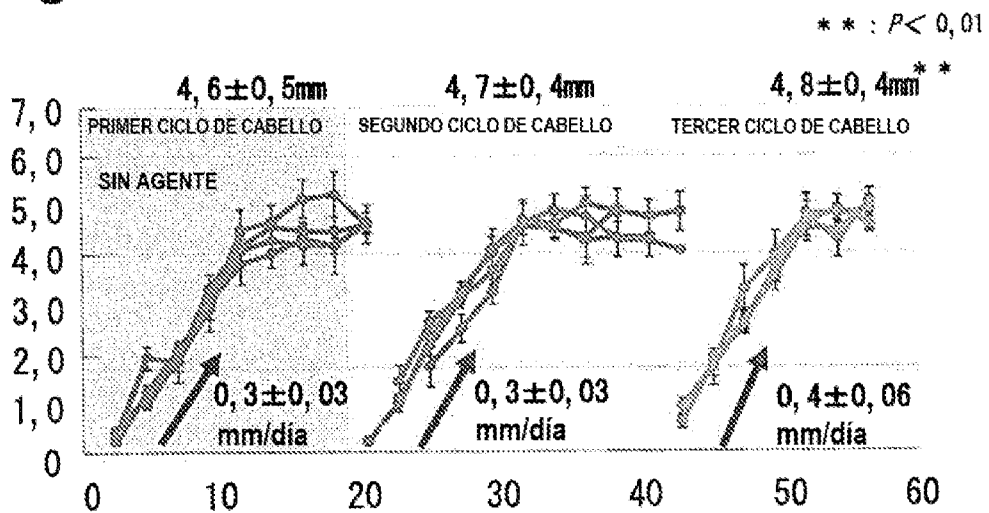


Fig. 5

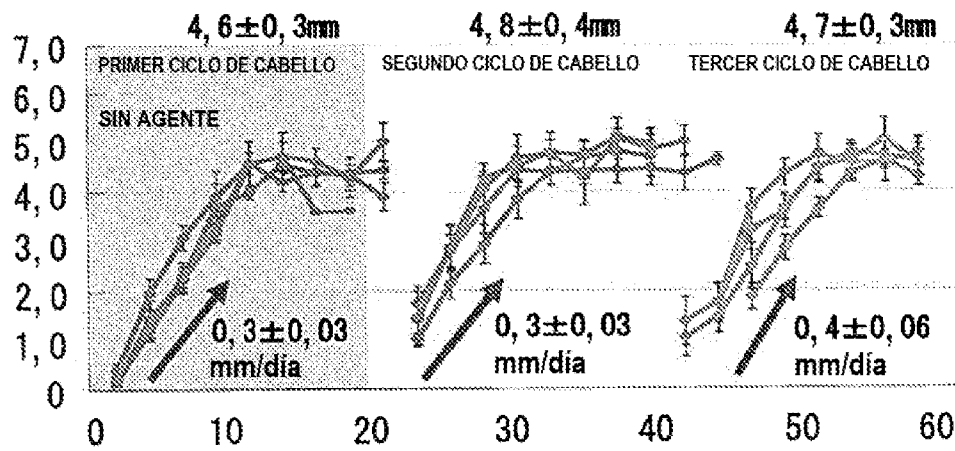


Fig. 6

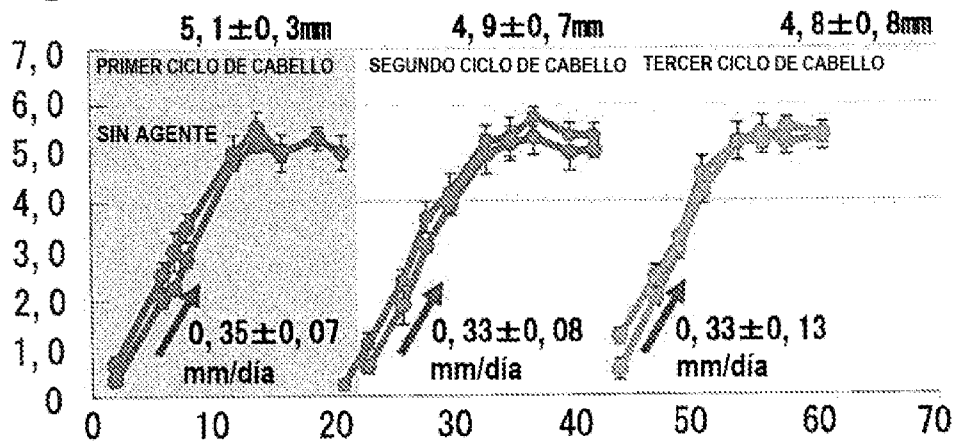


Fig. 7

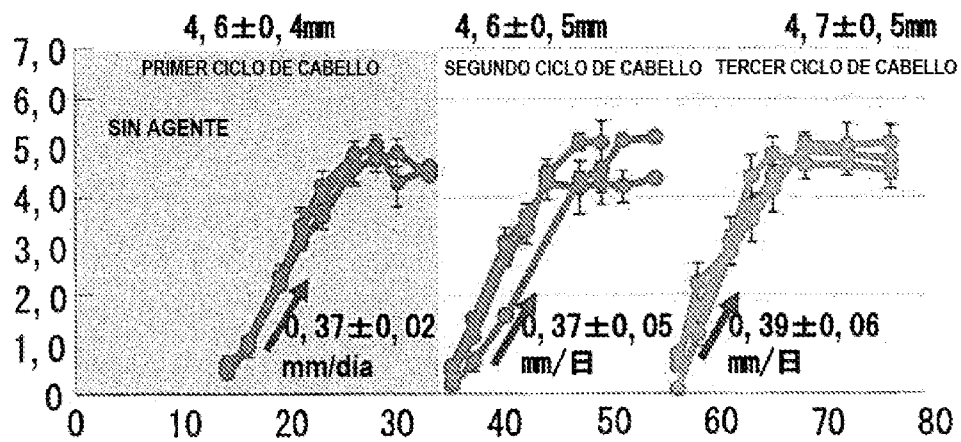


Fig. 8

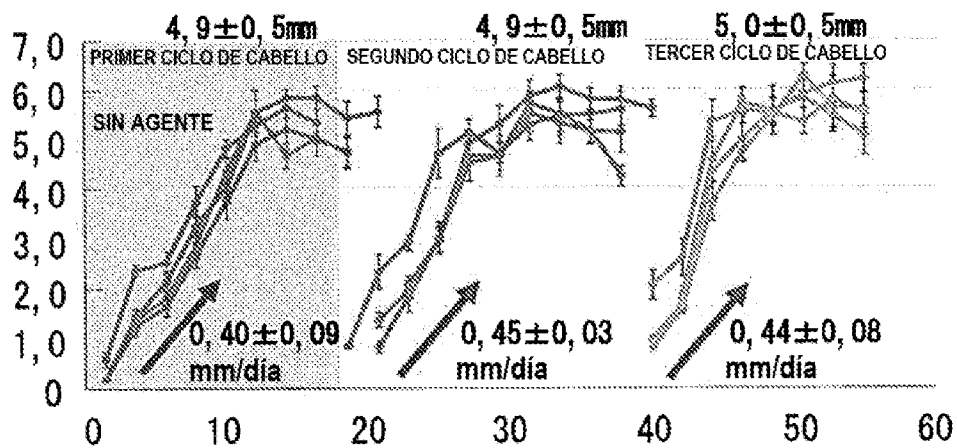


Fig. 9

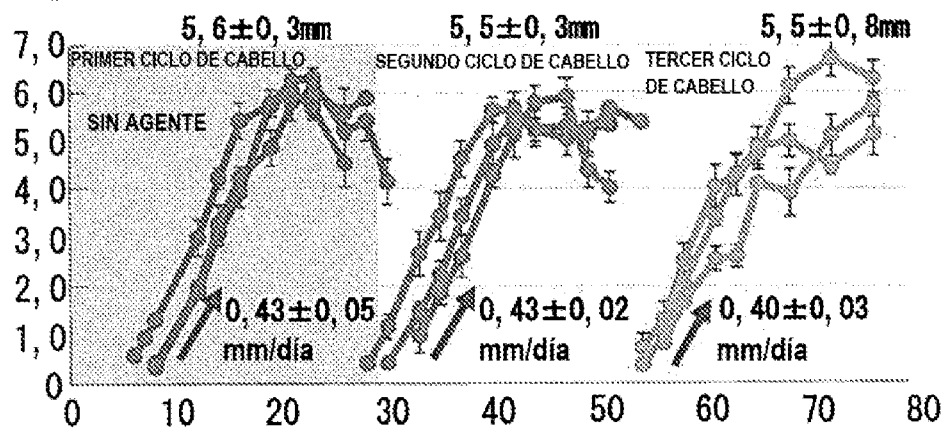


Fig. 10

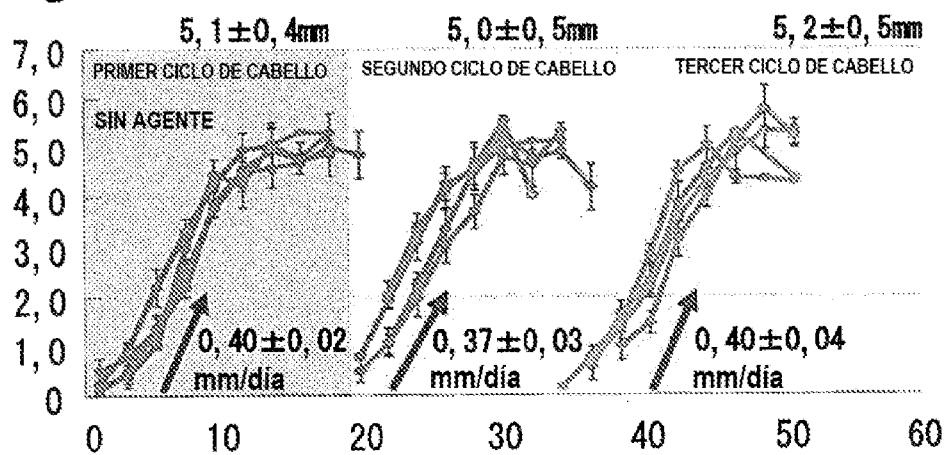


Fig. 11

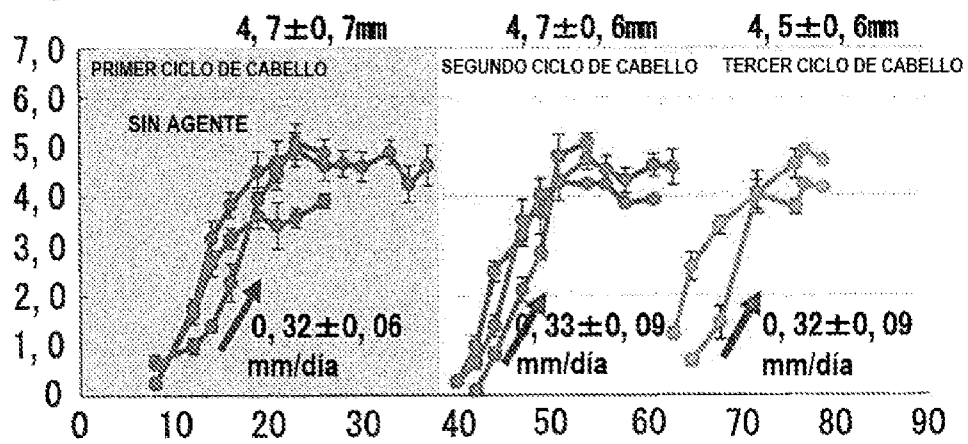


Fig. 12

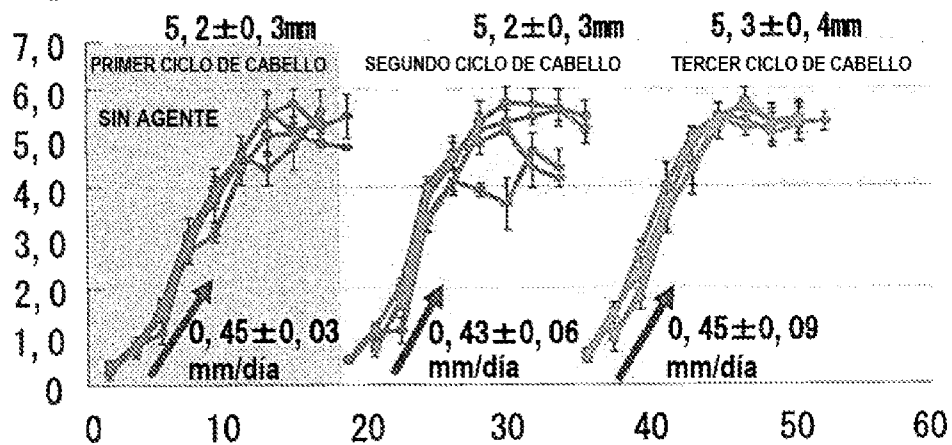


Fig. 13

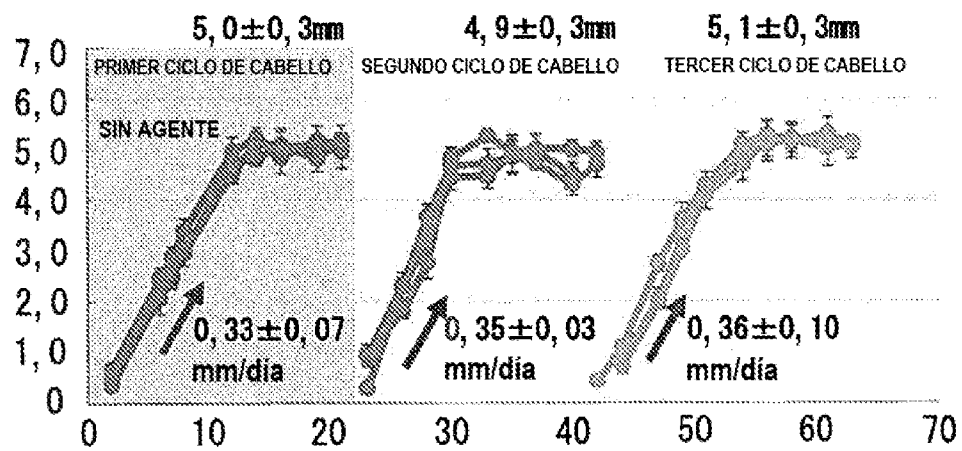


Fig. 14

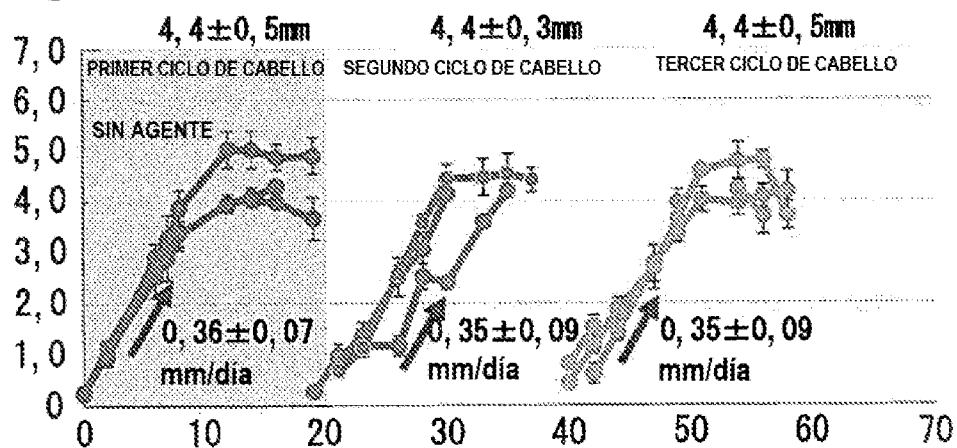


Fig. 15

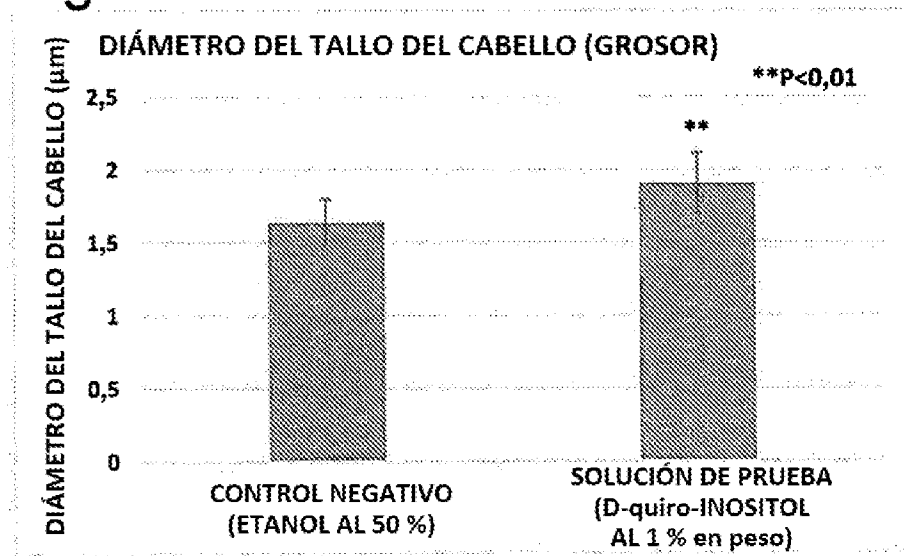


Fig. 16

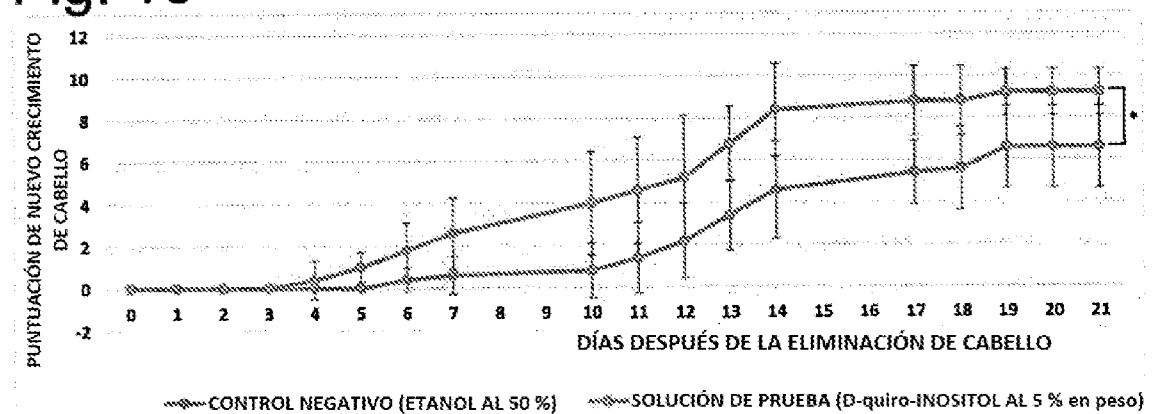


Fig. 17

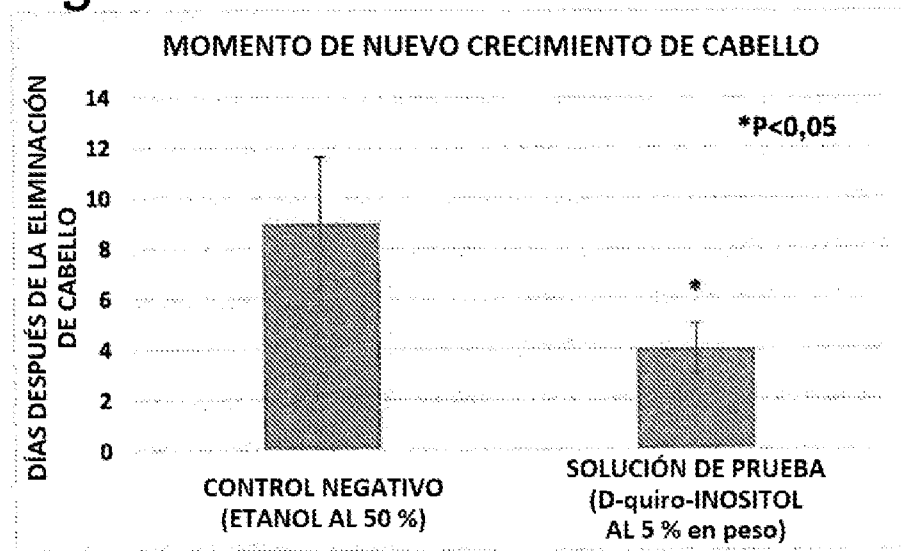


Fig. 18

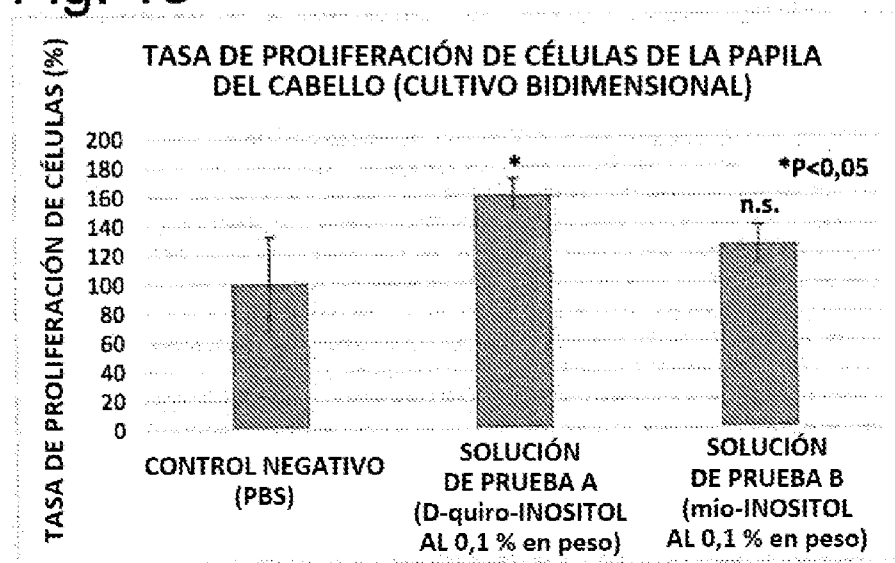


Fig. 19

