



NORGE

(12) **UTLEGNINGSSKRIFT**

(19) NO

(11) **175616**

(13) B

(51) Int Cl⁵ A 61 K 7/06, 31/30, 37/02

Styret for det industrielle rettsvern

(21) Søknadsnr	890089	(86) Int. inng. dag og	
(22) Inng. dag	10.01.89	søknadsnummer	11.05.88, PCT/US88/01555
(24) Løpedag	11.05.88	(85) Videreføringsdag	10.01.89
(41) Alm. tilgj.	10.01.89	(30) Prioritet	11.05.87, US, 48444
(44) Utlegningsdato	01.08.94		

(71) Patent søker	Procyte Corporation, 2893 - 152nd Avenue N.E., Redmond, WA 98052, US
(72) Oppfinner	Loren Ralph Pickart, Bellevue, WA, US
(74) Fullmektig	Dag Dawes, Bryn & Aarflot AS, Oslo

(54) **Benevnelse** **Blanding for stimulering av hårvekst**

(56) **Anførte publikasjoner** Ingen

(57) **Sammendrag**

Frengangsmåter og blandinger for (a) å stimulere hårveksten hos varmblodige dyr, (b) å øke subkutant fett hos varmblodige dyr, og (c) å øke tettheten av hår-folliklene hos varmblodige dyr, er åpenbart. Frengangsmåtene anvender en effektiv mengde av en blanding som omfatter et derivat av GHL-Cu med den generelle formelen:

[glycyl]-L-histidyl-L-lysin-C(=O)-R: koppper(II).

Foreliggende oppfinnelse vedrører blandinger for stimulering av hårvekst.

Mens forsøk på hårvekst daterer seg tilbake omlag 5000 år til gamle egyptiske oppskrifter, og mens omlag 50-100 millioner mennesker i utviklede land lider av kosmetisk tap av hår, har det vært relativt liten signifikant fremgang i å frembringe blandinger og fremgangsmåter for å stimulere hårveksten. For eksempel omfatter utvalgte "hårvekst" preparater som har vært foreslått blandinger av vitamin E, B₂ og B₆, rå ekstrakter av droger, karotinløsende midler, bakteriedrepende midler, og hodebunnstimulerende midler, alle påstått å stimulere hårveksten.

En annen tradisjonell behandling for tap av hår har vært hårtransplantasjon. Kort beskrevet er hudpartier med hår blitt transplantert fra områder av hodebunnen hvor håret grodde, til hårfrie områder. Denne fremgangsmåten er kostbar, i tillegg til at den er tidskrevende og relativt smertefull. Andre ikke medikament avhengige fremgangsmåter omfatter ultrafiolett stråling og treningsterapi.

Tradisjonelt har et av de mest vanlige utgangspunktene for å stimulere hårveksten vært på området medikamentterapi. Bruken av medikamenter for dette formålet har imidlertid bare hatt begrenset success. En av de mest lovende blandingen for stimulering av hårveksten er åpenbart av Upjohn i US-patent nr. 4.596.812, som beskriver bruken av en substans kjent som "Minoxidil". Mens resultatene som er fremskaffet ved bruk av Minoxidil hittil har syntes lovende, er det allikevel fremdeles et behov på dette området for bedre blandinger som er i stand til å stimulere hårveksten hos varmblodige dyr. Den foreliggende oppfinnelsen fyller dette behovet, samtidig som den dessuten gir andre beslektede fordeler.

Ifølge oppfinnelsen omfatter blandingen for stimulering av hårvekst et derivat av GHL-Cu med den generelle formelen:

[glycyl]-L-histidyl-L-lysin-R): kopper(II),

og at R velges fra gruppen som består av rettkjedete alkoksy-

grupper som inneholder fra 1 til 18 karbonatomer, og aryl-
oksygrupper som inneholder fra 6 til 12 karbonatomer, eller
hvor R er L-prolyl-L-valyl-L-fenylalanyl-L-valin eller L-valyl-
L-fenylalanyl-L-valin.

I en foretrukket utførelsesform er alkylgruppen en
oktylgruppe. Dessuten kan alkylgruppen være en n-stearylgruppe
eller en n-palitylgruppe.

Blandingen kan øke underhuds fett og dertil øke tett-
heten av hårfollikler hos varmblodige dyr.

Blandingene som er beskrevet heri kan injiseres intra-
dermalt eller anvendes lokalt, og gjøres egnet for admini-
strering til varmblodige dyr ved å kombinere derivatet med en
bærer som inneholder blandingen, enten for intradermal
injeksjon eller lokalanvendelse på et varmblodig dyr. Egnede
bærere omfatter en fysiologisk saltløsning.

Den foreliggende oppfinnelsens anvendelighet vil fremgå
av den følgende detaljerte beskrivelsen og de vedlagte
tegningene.

Figurene 1 og 2 er fotografier som illustrerer stimuler-
ingen av hårveksten ved bruk av et representativt derivat
ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

Figur 3 er et mikrofotografi av en biopsiseksjon tatt
gjennom et område med øket hårvekst. Fotografiet illustrerer
en økning i tettheten av hårfollikler innbedet i et kraftig
felt med store, subkutane fettceller, som vist mot høyre side
av figuren.

Figur 4a er et fotografi som illustrerer stimuleringen av
hårveksten ved bruk av et annet representativt derivat ifølge
den foreliggende oppfinnelsen.

Figur 4b er et mikrofotografi av en biopsiseksjon som er
tatt gjennom et område med øket hårvekst, frembrakt ved
derivatet fra figur 4a. Fotografiet illustrerer en økning i
tettheten av hårfolliklene i det subkutane fettcellelaget i
området nær injeksjonsstedet.

Figur 5 er et mikrofotografi av et kontrollområde
(nederst) og et område med en økning av de subkutane fett-
cellene og tettheten av hårfolliklene (øverst) som er frem-

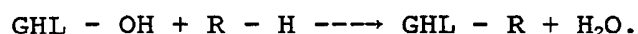
brakt ved bruk av et representativt derivat ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

Figur 6 er et fotografi som viser stimuleringen av hårveksten omkring en kirurgisk defekt ved bruk av et derivat ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

Figur 7 er et fotografi som viser økning av hårveksten omkring et helende sår på en hest.

Som beskrevet heri, kan blandingen omfattende derivatet av GHL-Cu anvendes for å stimulere hårveksten hos varmblodige dyr. Derivatene i den foreliggende oppfinnelsen er beskrevet i detalj i innlevert US-patentsøknad nr. 040.460 og US-patent nr. 4.665.054, hvilke dokumenter herved inkluderes ved referanse. Derivatene i den foreliggende oppfinnelsen kan fremstilles ved esterdannelse ved fjerning av et vannmolekyl eller ved addisjon av en gruppe (enten en alkohol så som oktanol, metanol, benzolalkohol eller NH_3) til karboksylsyreenden av GHL, som resulterer i dannelsen av det mere lipofile derivatet. Dette øker fettløsligheten ved (1) å fjerne den elektriske ladning som er assosiert med karboksylsyregruppen og (2) å innføre hydrofile grupper i molekylet.

Den generelle kjemiske reaksjonen i denne omdanningen kan karakteriseres som:



I praksis utføres reaksjonen lettest ved å tilsette R-gruppen til aminosyren lysin, før kombinasjonen av lysin med de to andre aminosyrene til GHL. Etter dannelsen og isoleringen av GHL-R blir kopper(II) gelatert til molekylet for å danne det bioaktive komplekset.

Denne generelle reaksjonen for å danne de mere lipofile derivatene av GHL-Cu kan karakteriseres:

- 1) $\text{lysin-OH} + \text{R-H} \longrightarrow \text{lysin-R} + \text{H}_2\text{O}$
- 2) $\text{lysin-R} + \text{blokkert L-histidin} \longrightarrow$
blokkert L-hisitidin-L-lysin-R
- 3) $\text{blokkert L-histidin-L-lysin-R} + \text{blokkert glycin} \longrightarrow$
blokkert glycyl-L-histidin-L-lysin-R
- 4) $\text{blokkert glycyl-L-histidin-L-lysin-R} \longrightarrow$
glycyl-L-histidin-L-lysin-R

- 5) glycyl-L-histidin-L-lysin-R + kopper(II) -----
glycyl-L-histidin-L-lysin-R: kopper(II).

I de foretrukne utførelsene er derivatet av GHL og kopper til stede i et forhold på 1:1 eller 2:1.

Som bemerkt ovenfor er derivatene i den foreliggende oppfinnelsen nyttige til å stimulere hårveksten hos varm-blodige dyr. Da et av de karakteristiske trekkene som knyttes til skallethet hos menn er den alvorlige nedsettelsen av hår-folliklene, vil bruken av derivatene som beskrevet heri resultere i øket dannelse av adipocytter, som i rom og tid er forbundet med dannelsen av hårfolliklene, og er en integrerende fase i dannelsen av hårfolliklene (Hausman et al., Am. J. Anat. 161: 85-100, 1981). Resultatene av bruken av derivatene som beskrevet heri, er illustrert delvis i figurene 3, 4b og 5, som er mikrofotografier av områder med øket hårvekst.

Økningen av underhudsfett i områder med øket hårvekst er høyst signifikant. Mannlig skallethet er nær forbundet med en dramatisk reduksjon i mengden av underhudsfett sammen med hår-follikler som er ikke-produktive. På den annen side øker innholdet av underhudsfett 2 til 3 ganger under perioder med rask hårvekst hos pattedyr.

Derivatene i den foreliggende oppfinnelsen anvendes klinisk på minst 4 hovedområder: (1) direkte stimulering av hårveksten hos personer som har mistet håret, (2) stimulering av hårtransplantater, (3) økning av innholdet av underhudsfett, og (4) i generelle kosmetiske anvendelser.

Det foretrekkes vanligvis å administrere derivatene som er beskrevet heri intradermalt midt i det området som skal behandles, sammen med en egnet bærer i en konsentrasjon på omlag 50 mikrogram derivat pr. 0.1 ml bærer. Det foretrekkes å anvende en dose på omlag 9 mikrogram pr. cm² areal som skal behandles, skjønt doser større enn 9 mikrogram pr. cm² opp til 40 mikrogram pr. cm² kan anvendes. Egnede bærere for dette formålet omfatter saltløsning. Når de brukes i form av en krem eller gel og anvendes lokalt, er det nyttig å tilsette et egnet gjennomtrengningsmiddel, så som DMSO, til blandningene. Egnede bærere for bruk i kosmetiske anvendelser vil være

åpenbare for spesialister på området. For kosmetiske formål kan blandingen dessuten inneholde et fuktemiddel, mykningsmiddel, parfyme eller fargestoff.

For å sammenfatte eksemplene som følger, illustrerer eksempel I syntesen av glycyl-L-histidyl-L-lysin-benzylester: kopper(II). Eksempel II demonstrerer syntesen av glycyl-L-histidyl-L-lysin n-oktylester: kopper(II). Eksempel III illustrerer (A) syntesen av glycyl-L-histidyl-L-lysin n-stearylester: kopper(II), og (B) syntesen av dette ved en alternativ fremgangsmåte. Basert på hvilken som helst av disse fremgangsmåtene kan en spesialist på området benytte n-palmitylalkohol (16 karbonatomer) istedenfor n-stearylalkoholen (18 karbonatomer) for å få glycyl-L-histidyl-L-lysin n-stearylester: kopper(II). Eksempel IV illustrerer syntesen av glycyl-L-histidyl-L-glycyl-L-prolyl-L-valyl-L-fenylalanyl-L-valin: kopper(II) og glycyl-L-histidyl-L-lysyl-L-valyl-L-fenylalanyl-L-valin: kopper(II). Eksemplene V, VI og VII illustrerer den hårvekststimulerende aktiviteten av foretrukne derivater. Eksempel VIII demonstrerer stimuleringen av hårveksten omkring helende sår i varmblodige dyr.

De følgende eksemplene illustrerer oppfinnelsen.

EKSEMPLER

Kilder for kjemikalier. Kjemikalie- og peptid-mellomprodukter som anvendes i følgende eksempler, kan skaffes fra følgende leverandører: Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo.); Peninsula Laboratories (San Carlos, Calif.); Aldridge Chemical Co. (Milwaukee, Wis.); Vega Biochemicals (Tucson, Ariz.); Pierce Chemical Co. (Rockford, Ill.); Research Biochemicals (Cleveland, Ohio); Van Waters and Rogers (South San Francisco, Calif.); Bachem, Inc. (Torrance, Calif.).

EKSEMPEL I

Syntese av glycyl-L-histidyl-L-lysin benzylester: kopper(II)

N^ε-benzyloksykarbonyl-L-lysin benzylester ble løst i 1:1 heksan etylacetat og koplet til N^α-t-butyloksykarbonyl-N^{im}-

benzyloksykarbonyl-L-histidin ved å bruke dicykloheksylkarbodiimid som koplingsmiddel. Natriumbikarbonat (10%) ble tilsatt, og produktet ekstrahert over i det organiske laget. Produktet, N^a-t-butylloksykarbonyl-N^{im}-benzyloksykarbonyl-L-histidyl-N^e-benzyloksykarbonyl-L-lysin benzylester, ble krystallisert fra løsningen. N-terminalgruppen i det blokkerte dipeptidet ble fjernet ved omrøring i 50% trifluoreddikksyre i diklormetan i 30 minutter, og deretter inndampet i vakuum. Produktet, N^{im}-benzyloksykarbonyl-L-histidyl-N^e-benzoylkarbonyl-L-lysin benzylester, ble koplet til benzyloksykarbonylglycin med dicykloheksylkarbodiimid som koplingsmiddel. Blokkerende grupper ble fjernet ved katalytisk hydrogenering ved bruk av 10% palladium på karbon i iseddikk. Etter lyofilisering ble produktet, glycyl-L-histidyl-L-lysin benzylester løst i vann og rensset ved ionebyttekromatografi på Dowex 50 X-4 kationebytteharpiks og eluering med 0,1 M ammoniumhydroksyd, idet eluatet straks ble nøytralisert med eddikksyre. En ytterligere passasje gjennom en anionbyttekolonne BioRex 63 ved nøytral pH fjernet nedbrytningsprodukter med frie karboksylsyregrupper.

Glycyl-L-histidyl-L-lysin benzylesteren ble løst i vann tilsatt ekvimolart kopperacetat. pH ble hevet til nøytral med natriumhydroksyd. Løsningen ble sentrifugert ved 20.000 x g i en time ved 3°C for å fjerne materialet som var dårlig løselig i vann. Supernatanten ble lyofilisert for å oppnå glycyl-L-histidyl-L-lysin benzylester: kopper(II).

EKSEMPEL II

Syntese av glycyl-L-histidyl-L-lysin n-oktylester: kopper(II)

En blanding av N^e-benzyloksykarbonyl-L-lysin, n-oktanol, benzen, og p-toluensulfonsyremonohydrat ble oppvarmet med tilbakeløp over natten ved bruk av en Dean-Stark felle for å fjerne vann. Etter avkjøling ble det tilsatt tørr etyleter. Løsningen fikk deretter bunnfelle ved 0°C over natten. En del av det faste bunnfallet ble tilsatt til 50 ml kaliumkarbonatløsning og 50 ml diklormetan. Etter ekstraksjon ble lagene separert, og den organiske fasen vasket med vann og salt-

løsning, deretter tørket med vannfritt magnesiumsulfat. Filtrering, inndamping og rensing ved flash kolonnekromatografi ga n-oktyl N^e-benzyloksykarbonyl-L-lysinat. Produktet ble løst i tetrahydrofuran og blandet med N^a-t-butyloksykarbonyl-L-N^{im}-benzyloksykarbonyl-L-histidin, isobutylklorformiat og N-metylmorfolin. Etter inndamping ble tilsatt vann og etylacetat. Produktet ble ekstrahert over i den organiske fasen, som ble tørket med vannfritt magnesiumsulfat. Filtrering, inndamping og rensing ved flash kolonnekromatografi ga n-oktyl N^a-t-butyloksykarbonyl-N^{im}-benzyloksykarbonyl-L-histidyl-N^e-benzyloksykarbonyl-L-lysinat.

Produktet ble løst i 50% trifluoreddiksyre i diklormetan i 30 minutter, deretter inndampet, under dannelsen av n-oktyl N^{im}-benzyloksykarbonyl-L-histidyl-N^e-benzyloksykarbonyl-L-lysinat. Dette ble løst i tetrahydrofuran, og isobutylklorformiat, N-metylmorfolin og benzyloksykarbonylglycin ble tilsatt for å danne n-oktyl benzyloksykarbonylglycyl-N^{im}-benzyloksykarbonyl-L-histidyl-N^e-benzyloksykarbonyl-L-lysinat. Dette ble løst i iseddikk og hydrogenert over natten.

Den resulterende n-oktylesteren av glycyl-L-histidyl-L-lysin ble omdannet til koppperkomplekset ved tilsetning av en ekvimolær mengde av koppperdiacetat. pH ble hevet til nøytral med natriumhydroksyd. Løsningen ble sentrifugert ved 20.000xg i 1 time ved 3°C for å fjerne materialet som var svakt vannløselig. Supernatanten ble lyofilisert for å oppnå glycyl-L-histidyl-L-lysin n-oktylester: kopper(II).

EKSEMPEL III

A. Syntese av glycyl-L-histidyl-L-lysin n-stearylester: kopper(II)

En blanding av N^e-benzyloksykarbonyl-L-lysin, n-stearylalkohol, benzen og p-toluensulfonsyre monohydrat ble oppvarmet med et tilbakesløp over natten ved bruk av en Dean-Stark felle for å fjerne vann. Etter avkjøling ble det tilsatt tørr propyleter for å øke det totale volumet 6 ganger. Produktet fikk bunnfelle ved 0°C over natten og ble filtrert. En del av filtratet ble satt til 50 ml kaliumkarbonat og 50 ml diklor-

metan. Etter ekstraksjon ble lagene separert, og den organiske fasen ble vasket med vann og saltløsning, og deretter tørket med vannfritt magnesiumsulfat. Filtrering, inndamping og rensing ved flash kolonnekromatografi ga n-stearyl N^e-benzyl-oksokarbonyl-L-lysinat. Produktet ble løst i tetrahydrofuran og blandet med N^a-t-butyloksokarbonyl-N^{im}-benzyloksokarbonyl-L-histidin og isobutyl klorformeat og N-metylmorfolin. Etter inndamping ble tilsatt vann og propylacetat, og produktet ble ekstrahert over i den organiske fasen, og deretter tørket med vannfritt magnesiumsulfat. Filtrering, inndamping og rensing ved flash kolonnekromatografi ga n-stearyl N^a-t-butyloksokarbonyl-N^{im}-benzyloksokarbonyl-L-histidyl-N^e-benzyloksokarbonyl-L-lysinat.

Produktet ble løst i 50% trifluoreddikksyre i diklormetan i 30 minutter, deretter inndampet under dampning av n-stearyl N^{im}-benzyloksokarbonyl-L-histidyl-N^e-benzyloksokarbonyl-L-lysinat, som ble løst i tetrahydrofuran, isobutylklorformeat, N-metylmorfolin og benzyloksokarbonylglycin for å danne n-stearyl benzyloksokarbonylglycyl-N^{im}-benzyloksokarbonyl-L-histidyl-N^e-benzyloksokarbonyl-L-lysinat. Produktet ble løst i 50% trifluoreddikksyre i diklormetan i 30 minutter, deretter inndampet og ga dannelse av n-stearylester glycyl-L-histidyl-L-lysin.

Det resulterende molekylet glycyl-L-histidyl-L-lysin n-stearylester, ble omdannet til koppekompleset ved addisjon av en ekvimolekylær mengde av kopperediacetat. pH ble hevet til nøytral med natriumhydroksyd og ga et produkt som er nyttig for dyrestudier.

Ved å anvende n-palmitylalkohol istedenfor n-stearylalkohol kan man på lignende måte syntetisere n-palmitylesteren.

B. Alternativ syntese av glycyl-L-histidyl-L-lysin n-stearylester: koppekompleset

N(ε)-benzyloksokarbonyl-L-lysin, n-stearylalkohol, p-toluensulfonsyre monohydrat, og benzen oppvarmes sammen med tilbakesløp ved bruk av en Dean-Stark felle for å fjerne det

dannete vannet azeotropt. Etter avkjøling til romtemperatur og deretter tilsetning av tørr etyleter, blir n-stearyl N(ϵ)-benzyloksykarbonyl-L-lysinat p-toluensulfonatsalt oppsamlet ved filtrering, behandlet med 2 molar vandig kaliumkarbonatløsning, og ekstrahert over i diklormetan. Inndamping gir det frie amin, som løses igjen i tørr tetrahydrofuran (THF) og tilsettes under omrøring til en løsning av N(α)-t-butyloksykarbonyl-N(im)-benzyloksy-karbonyl-L-lystidin, N-metylmorfolin, og isobutyl klorformeat i tørr THF ved -15°C . Den resulterende fullstendig beskyttede dipeptidesteren behandles med 1/1 trifluoreddiksyre/diklormetan ved romtemperatur, nøytraliseres med mettet vandig natriumbikarbonatløsning, og ekstraheres over i etylacetat. Inndamping gir det delvis deblokkerte dipeptidet, som løses igjen i tørr THF og tilsettes til en omrørt løsning av benzyloksykarbonyl-glycin, N-metylmorfolin og isobutyl klorformeat i tørr THF ved -15°C . Den dannede fullstendig beskyttede tripeptidesteren blir fullstendig avblokkert ved behandling med hydrogengass i iseddikk ved romtemperatur i nærvær av Pd-C katalysator. Filtrering, inndamping og rensing på en mikrokrystallinsk cellulosekolonne etterfulgt av lyofilisering, gir den ønskete tripeptidesteren som dennes triacetatsalt.

Det resulterende molekylet, glycyl-L-histidyl-L-lysin n-stearylester, ble omdannet til kopperkomplekset ved tilsetning av en ekvimolær kopperdiacetat. pH ble hevet til nøytral med natriumhydroksyd og ga et produkt som er nyttig i dyrestudier. Ved å anvende n-palmitylalkohol istedenfor n-stearylalkohol kan man på samme måte syntetisere glycyl-L-histidyl-L-lysin n-palmitylester.

EKSEMPEL IV

Syntese av glycyl-L-histidyl-L-lysyl-L-prolyl-L-valyl-L-fenylalanyl-L-valin: kopper(II) og av glycyl-L-histidyl-L-lysyl-L-valyl-L-fenylalanyl-L-valin: kopper(II)

Disse peptidene syntetiseres ved standard fastfasemetoder som er vanlige i peptidområdet (J. Stewart og J. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Co., 1984). Kort

beskrevet ble Boc-Val-O-Resin trinnvis koplet med andre blokkerte aminosyrer ved bruk av dicykloheksylkarbodiimid som reaksjonsmiddel. Beskyttede aminosyrer, harpikser for fast-fasesyntese, og koplingsmidler ble skaffet fra Peninsula Laboratories, San Carlos, California. Blokkerte aminosyrer tilsettes i rekkefølge for å oppnå det ønskede peptidet. Det endelige peptidet avblokkeres ved bruk av hydrogenfluorid. Det endelige peptidet løses i 0,5% eddikksyre og renses ved passasje gjennom en Sephadex G-15 kolonne (Pharmacia). Tilsetning av ekvimolært koppar(II) acetat, etterfulgt av lyofilisering, gir det aktive molekylet.

EKSEMPEL V

Bruk av glycyl-L-histidyl-L-lysin n-oktylester: koppar(II) for å stimulere hårveksten

A. Stimulering av hårvekst i normal hud

For å demonstrere stimuleringen av hårveksten i varm-blodige dyr, ble museryggene barbert på dag 1 med en elektrisk barbermaskin. Deretter ble én enkelt dose på 50 mikrogram av glycyl-L-histidyl-L-lysin n-oktylester: Cu(II) infiltrert under huden på 8 mus. Som vist i figur 1 var det på dag 7 en utalt akselerert hårvekst rundt injeksjonsområdet på alle musene.

I noen områder med øket hårvekst observertes øket follikkeltetthet sammen med økte mengder av underhudsfett.

I en annen serie eksperimenter ble musene barbert og injisert én gang med glycyl-L-histidyl-L-lysin oktylester: koppar(II) med en dose på 500 mikrogram pr. mus. Figur 2 viser at det ble en signifikant økning av hårveksten i løpet av 2 til 3 uker etter injeksjonen. Mus injisert med saltløsning viste ikke noen økning.

I området med øket hårvekst ble det en signifikant økning i tykkelsen av det subkutane fettlaget. Det er kjent at tykkelsen av dette fettlaget har direkte sammenheng med hårveksten. Denne økningen i det subkutane fettet vises ved å ta en biopsiprøve på dag 21 gjennom området, og lage snitt for histologislidder. Figur 3 viser denne økningen i fettlaget. Det

injiserte området er til høyre med det nærliggende ikke-injiserte området til venstre på fotografiet. Det ble en økning både i antallet og størrelsen på fettcellene. Målinger viste at det var en omlag 3 gangers økning i det subkutane fettlaget i huden nær injeksjonsstedet.

Disse eksemplene viser at stimuleringen av hårveksten kan observeres både i normal hud og i nettopp helende områder, ved bruk av derivatene ifølge den foreliggende oppfinnelsen.

EKSEMPEL VI

Bruk av glycyl-L-histidyl-L-lysin decylester koppper(II) for å stimulere hårvekst hos mus

En gruppe på 10 mus ble barbert og injisert en gang med glycyl-L-histidyl-L-lysin decylester: koppper(II) med en dose på 500 mikrogram pr. mus. Figur 4a viser at det ble en signifikant økning i hårveksten i løpet av 2-3 uker etter injeksjon. Mikroskopisk undersøkelse ga også tegn på øket hårvekst, fettcellelag og øket tetthet av hårfollikler i området omkring injeksjonsstedet. Figur 4b viser at det ble en markert formering av hårstammeenheter som kom til syne i det subkutane fettlaget i området med akselerert hårvekst. Undersøkelse av huden langt fra injeksjonsstedet viste normal histologi.

EKSEMPEL VII

Bruk av glycyl-L-histidyl-L-lysin palmitylester koppper(II) for å stimulere hårveksten hos mus

En gruppe på 10 mus ble barbert og injiserte en gang med gylcyl-L-histidyl-L-lysin palmitylester: koppper(II) med en dose på 500 mikrogram pr. mus. Det ble en signifikant akselerasjon av hårveksten i løpet av 2 til 3 uker etter injeksjonen. Histologiske snitt gjennom området med akselerert hårvekst lignet på dem som er beskrevet i eksempel VI. Dette er vist i figur 5. Mikrofotografiet demonstrerer det store antallet av utviklende hårfollikler i det subkutane fettlaget, i likhet med det man ser etter injeksjon av glycyl-L-histidyl-L-lysin decylester:Cu.

EKSEMPEL VIIIStimulering av hårveksten omkring helende sår

Reetablering av hårveksten er en normal del av helingen. Som vist i figur 6 kan blandingene som er beskrevet heri, anvendes til å stimulere hårveksten omkring en kirurgisk skade. I dette modellsystemet ble det laget en skade på 1,2 cm i diameter i full tykkelse på ryggen av mus. Straks etter inngrepet ble defekten behandlet med den løsning inneholdende glycyl-L-histidyl-L-lysin oktylester: kopper(II). Den økte hårveksten etter helingen var sterkt øket etter 7 til 10 døgn og spredte seg utover fra det behandlede området (figur 6). Den maksimale differensialvirkningen i forhold til kontrollmusene ble observert omlag 22 dager etter behandlingen.

Behandling av et helende sår med glycyl-L-histidyl-L-lysin: kopper(II) gir også en akselerasjon av hårveksten. En hest med et dypt, verkende sår ble behandlet lokalt med en krem som inneholdt 0,4% glycyl-L-histidyl-L-lysin: kopper(II) for å fremskynde helingsprossessen. Som en del av behandlingen ble hårene omkring såret klippet for å gjøre det lettere å rense området. Behandling med kremen foregikk hver dag inntil såret lukket seg, etterfulgt av mindre hyppige påføringer. Etter 5 uker var såret nesten fullstendig helet med bare en liten rest ruve. Som vist i figur 7 ble det en signifikant akselerasjon av hårveksten omkring det behandlede området sammenlignet med de ikke behandlede områdene.

Av det foregående vil det fremgå at spesielle utførelser av oppfinnelsen er blitt beskrevet heri som illustrasjon. Oppfinnellesomfanget er definert i de vedlagte kravene.

P a t e n t k r a v

1. Blanding for stimulering av hårvekst,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter et derivat
av GHL-Cu med den generelle formelen:

[glycyl]-L-histidyl-L-lysin-R]: kopper(II),

og at R velges fra gruppen som består av rettkjedete alkoksy-
grupper som inneholder fra 1 til 18 karbonatomer, og aryl-
oksygrupper som inneholder fra 6 til 12 karbonatomer, eller
hvor R er L-prolyl-L-valyl-L-fenylalanyl-L-valin eller L-valyl-
L-fenylalanyl-L-valin.

2. Blanding ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at den rette kjeden er en
n-oktyl gruppe.

3. Blanding ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at karbondelen av alkoksy-
gruppen er en n-stearyl gruppe.

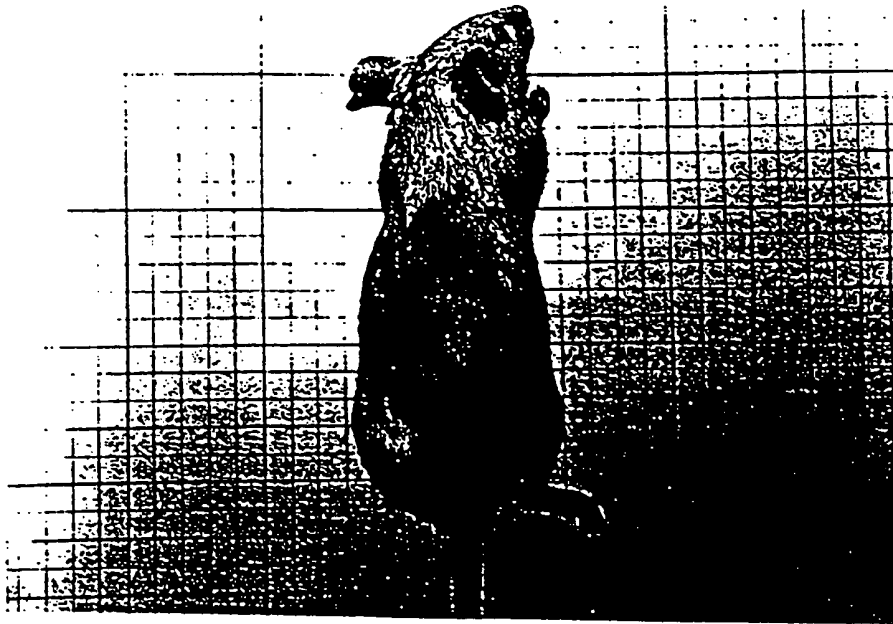
4. Blanding ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at karbondelen av alkoksy-
gruppen er en n-palmityl gruppe.

5. Blanding ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at karbondelen av
aryloksygruppen er en benzylgruppe.

6. Blanding ifølge hvert av kravene 1-5,
k a r a k t e r i s e r t v e d at forholdet av derivat
av GHL til kobber(II) er 2:1.

175616

FIGURE 1.



175616

FIGURE 2.



175616

FIGURE 3.



175616

FIGURE 4A.



175616

FIGURE 4B.



175616

FIGURE 5.



175616

FIGURE 6.



175616

FIGURE 7.

