



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I715838 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 01 月 11 日

(21)申請案號：107114854 (22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 05 月 02 日

(51)Int. Cl. : A61K31/711 (2006.01) A61P17/14 (2006.01)

(30)優先權：2017/05/04 美國 62/501,099

(71)申請人：高雄醫學大學(中華民國) KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY (TW)
高雄市三民區十全一路 100 號

(72)發明人：吉岡亨 YOSHIOKA, TOHRU (JP)；許文俐 HSU, WEN LI (TW)；顏佳蓉 YEN, CHIA JUNG (TW)

(74)代理人：林文杰

(56)參考文獻：

Wen-Li Hsu, et al. "Derinat Protects Skin against Ultraviolet-B (UVB)-Induced Cellular Damage", *Molecules* 2015, 20, 20297-20311.Rolf Hoffmann, et al. "Interleukin-1 α -Induced Inhibition of Hair Growth In Vitro Is Mediated by Cyclic AMP", *J Invest Dermatol*, 108:40-42, 1997.Hyoseung Shin, et al. "Induction of transforming growth factor- β 1 by androgen is mediated by reactive oxygen species in hair follicle dermal papilla cells", *BMB Rep.* 2013; 46(9): 460-464.

審查人員：官速貞

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：6 共 20 頁

(54)名稱

一種組合物用於製備促進個體毛髮生長、預防毛髮脫落或促進個體毛囊幹細胞生成之藥物的用途

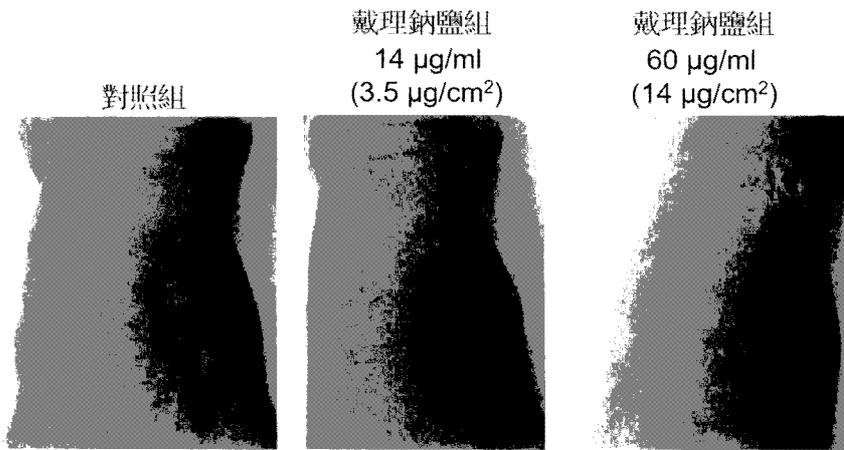
(57)摘要

本發明係關於一種組合物用於製備促進個體毛髮生長、預防毛髮脫落或促進個體毛囊幹細胞生成之藥物的用途，其中該組合物包含有效劑量之戴理納鹽(Derinat)，一種去氧核糖核酸鈉鹽，作為活性主要成分。

The present invention relates to the use of a composition in the manufacture of medicaments for promoting hair growth, preventing hair loss or promoting the proliferation of hair follicle stem cells in a subject, wherein the composition comprises Derinat, a sodium deoxyribonucleate, as the main active ingredient.

指定代表圖：

圖 3



I715838

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

一種組合物用於製備促進個體毛髮生長、預防毛髮脫落或促進個體毛囊幹細胞生成之藥物的用途 /USES OF A COMPOSITION IN THE MANUFACTURE OF MEDICAMENTS FOR PROMOTING HAIR GROWTH, PREVENTING HAIR LOSS OR PROMOTING THE PROLIFERATION OF HAIR FOLLICLE STEM CELLS IN A SUBJECT

【中文】

本發明係關於一種組合物用於製備促進個體毛髮生長、預防毛髮脫落或促進個體毛囊幹細胞生成之藥物的用途，其中該組合物包含有效劑量之戴理納鹽 (Derinat)，一種去氧核糖核酸鈉鹽，作為活性主要成分。

【英文】

The present invention relates to the use of a composition in the manufacture of medicaments for promoting hair growth, preventing hair loss or promoting the proliferation of hair follicle stem cells in a subject, wherein the composition comprises Deriant, a sodium deoxyribonucleate, as the main active ingredient.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第 (3) 圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

一種組合物用於製備促進個體毛髮生長、預防毛髮脫落或促進個體毛囊幹細胞生成之藥物的用途 /USES OF A COMPOSITION IN THE MANUFACTURE OF MEDICAMENTS FOR PROMOTING HAIR GROWTH、PREVENTING HAIR LOSS OR PROMOTING THE PROLIFERATION OF HAIR FOLLICLE STEM CELLS IN A SUBJECT

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種組合物用於製備促進個體毛髮生長、預防毛髮脫落或促進個體毛囊幹細胞生成之藥物的用途，其中該組合物包含有效劑量之戴理納鹽(Derinat)，一種去氧核糖核酸鈉鹽，作為活性主要成分。

【先前技術】

【0002】 毛囊為用來生長毛髮的皮膚重要附屬器官，其由包含毛囊幹細胞(hair follicle stem cell)等多種類型細胞組成。毛囊經歷的週期包含活化期(anagen stage)、退化期(catagen stage)及休止期(telogen stage)，三個階段的不斷重複。活化期的特徵就是毛囊幹細胞的活化，此時期的毛囊幹細胞不斷增生，往皮下組織的方向生長。到了活化期的中期，毛囊幹細胞停止分裂而進入了冬眠的狀態，毛髮生長的工作就交由毛囊幹細胞所分化出來的外根鞘(outer root sheath)、內根鞘(inner root sheath)、和基質細胞(matrix cell)負責，這些細胞最終分化出具有毛鱗片的結構而構成肉眼可見的髮幹(hair shaft)。

【0003】 毛囊週期異常往往導致嚴重的毛髮不生長或毛髮脫落，禿髮為其中一個最常見的狀況之一。禿髮不分男女的影響了個體的身心，自尊的減弱進而影響其生活的許多層面，令人備感困擾。

【0004】 目前市面上並無任何產品能有效地使毛髮增生，頂多只能增加毛髮結構的穩定度，減少掉髮機率，或是抑制5 α 還原酶（5 α -reductase），使二氫睪固酮（dihydrotestosterone，DHT）產量減少，來達到治療禿髮的目的，然而後者有性功能障礙的不良副作用。因此，提供一有效且無毒並且相對來說不具有不良副作用的組合物或方法以促進毛髮生長或預防毛髮脫落有其必要性。

【發明內容】

【0005】 戴理鈉鹽（Derinat）組合物為自魚卵（大多為鱒魚或鮭魚）萃取而出的一種天然的去氧核糖核酸（DNA）鈉鹽組合物，其由90%以上的DNA鈉鹽所組成，大小約100~300鹼基對左右。本發明揭露此戴理鈉鹽於高皮膚細胞劑量（1.5毫克/毫升（mg/ml））對於人類的皮膚角質細胞（keratinocytes，KC）及皮膚纖維母細胞（human dermal fibroblasts，HDF）並無毒性。本發明之戴理鈉鹽可降低皮膚細胞內之鈣離子濃度，並達到保護皮膚細胞、降低皮膚細胞氧化自由基（reactive oxygen species，ROS）產生的作用。更進一步，以裸鼠進行實驗發現每日使裸鼠背部接觸包含有效劑量之戴理鈉鹽的組合物兩個小時，一週後裸鼠背部的毛髮有增多的情形；接著將裸鼠犧牲取背部皮膚，利用蘇木素-伊紅染色（H&E Stain）發現毛囊有增生的情形，且使較多的毛囊呈現活化期（anagen stage）。由於毛囊的增生與幹細胞的活化有關，因此利用組織免疫染色（immunohistochemistry

(IHC) staining), 觀察兩個幹細胞會表現的分子標記CD49f及Oct-3/4, 結果發現以該戴理鈉鹽處理後, 有較多的毛囊幹細胞表現。不僅如此, 該戴理鈉鹽亦可降低毛囊細胞中氧化自由基的產生, 具有保護皮膚及毛囊細胞的功能。綜合以上實驗結果, 戴理鈉鹽不僅對皮膚細胞沒有毒性, 並可進而促進毛囊增生以及活化毛囊幹細胞; 此外亦可降低皮膚組織中氧化自由基的產生, 進而達到保護皮膚細胞與毛囊細胞之功效。

【0006】 本發明係關於一種組合物用於製備促進個體毛髮生長或預防毛髮脫落之藥物的用途, 其中該組合物包含一有效劑量之戴理鈉鹽 (Derinat)。

【0007】 於一實施例中, 該組合物包含10-1500微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 之戴理鈉鹽。

【0008】 於一實施例中, 該組合物包含10-150微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 之戴理鈉鹽。

【0009】 於一實施例中, 該組合物係指經皮膚施用之醫藥組合物。

【0010】 該組合物被製備成藥物時, 每一單位藥物所含的戴理鈉鹽的單位劑量為10-1500微克 (μg), 更佳為10-150微克 (μg)。

【0011】 於一實施例中, 該個體 (subject) 包含具毛髮不生長、毛髮脫落或處於毛髮不生長或毛髮脫落風險中之哺乳動物。

【0012】 於一實施例中, 其中該毛髮係位於頭皮、面部、鬍鬚、頭部、軀幹、四肢、恥部、上唇、眉毛或眼瞼。

【0013】 本發明並關於一種組合物用於製備促進個體毛囊幹細胞生成之藥物的用途, 其中該組合物包含一有效劑量之戴理鈉鹽。

【0014】 於一實施例中，該組合物包含10-1500微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 之戴理鈉鹽。

【0015】 於一實施例中，該組合物包含10-150微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 之戴理鈉鹽。

【0016】 於一實施例中，該組合物係指經皮膚施用之醫藥組合物。

【0017】 該組合物被製備成藥物時，每一單位藥物所含的戴理鈉鹽的單位劑量為10-1500微克 (μg)，更佳為10-150微克 (μg)。

【0018】 於一實施例中，該個體包含具毛髮不生長、毛髮脫落或處於毛髮不生長或毛髮脫落風險中之哺乳動物。

【0019】 於一實施例中，其中該毛髮係位於頭皮、面部、鬍鬚、頭部、軀幹、四肢、恥部、上唇、眉毛或眼瞼。

【0020】 本發明亦提供促進個體毛髮生長或預防毛髮脫落之方法，其包含向該個體局部投與包含有效劑量之戴理鈉鹽的組合物。

【0021】 於一實施例中，該組合物包含10-1500微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 之戴理鈉鹽。

【0022】 於一實施例中，該組合物包含10-150微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 之戴理鈉鹽。

【0023】 於一實施例中，該組合物係指經皮膚施用之醫藥組合物。

【0024】 於一實施例中，該個體包含具毛髮不生長、毛髮脫落或處於毛髮不生長或毛髮脫落風險中之哺乳動物。

【0025】 於一實施例中，其中該毛髮係位於頭皮、面部、鬍鬚、頭部、軀幹、四肢、恥部、上唇、眉毛或眼瞼。

【0026】 本發明更提供促進個體毛囊幹細胞生成之方法，其包含向該個體局部投與包含有效劑量之戴理鈉鹽的組合物。

【0027】 於一實施例中，該組合物包含10-1500微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 之戴理鈉鹽。

【0028】 於一實施例中，該組合物包含10-150微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 之戴理鈉鹽。

【0029】 於一實施例中，該組合物係指經皮膚施用之醫藥組合物。

【0030】 於一實施例中，該個體包含具毛髮不生長、毛髮脫落或處於毛髮不生長或毛髮脫落風險中之哺乳動物。

【0031】 於一實施例中，其中該毛髮係位於頭皮、面部、鬍鬚、頭部、軀幹、四肢、恥部、上唇、眉毛或眼瞼。

【0032】 本發明所稱之組合物包含施用於局部和區域作用的組合物。本文所用的術語「局部」涉及使用本文所述的組合物摻入合適的藥用載體中且施塗在頭髮變薄或脫髮的部位，以實施局部作用。因此，此類局部用組合物包含其中通過與待處理皮膚表面直接接觸來自外部施塗之化合物的那些藥物形式。用於此目的的常規藥物形式包含軟膏劑、抹劑、乳膏、洗髮劑、乳液、糊劑、凝膠劑、噴劑、氣溶膠等，並且可以根據待治療的身體部位以貼片或浸漬敷料形式施用。術語「軟膏劑」包含具有油性基質、水溶性基質和乳液型基質的製劑(包含乳膏)，所述基質如凡士林、羊毛脂、聚乙二醇類以及這些組合的混合物。

【0033】 就眉毛或眼瞼的局部應用而言，可透過添加藥理學上可接受的緩衝劑和鹽，將藥物配置於水溶液、乳膏、油膏劑或油劑中。此類醫藥

組合物可以包含或不包含防腐劑（例如苯扎氯銨、氯己定、氯丁醇、對羥基苯甲酸）和苯基汞鹽（例如硝酸鹽、氯化物、乙酸鹽和硼酸鹽）或抗氧化劑以及添加劑（如EDTA、山梨糖醇、硼酸等）。此外，特別是水溶液可以包含增粘劑，例如多糖（如甲基纖維素）、黏多糖（如透明質酸和硫酸軟骨素）或多元醇（如聚乙醇醇）。根據形成原位凝膠（*in situ gel*，係指以溶液狀態給藥後，能在用藥部位發生相轉變，由液態轉化成為半固體凝膠態之製劑）的物質，並可以使用不同緩釋凝膠和基質，以及可溶性和不溶性眼用嵌入劑。於實際情況下，不同藥物量和不同劑量可被應用以製劑。

【0034】 就皮膚和頭皮的局部應用而言，可有利地使用軟膏劑、乳膏、抹劑或貼片作為活性成分載體配製醫藥組合物。另外，這些醫藥組合物可以包含或不包含防腐劑。此類防腐劑包含上述醫藥組合物以及甲基、丙基-或丁基-對羥基苯甲酸、甜菜鹼、氯己定、苯扎氯銨等。本醫藥組合物並可以藉由不同基質進行緩釋遞送。要達到醫藥組合物之每日使用劑量，可以在存在或不存在抗氧化劑的情況下，每天一次或多次施用組合物。

【0035】 本發明所涉及的因毛髮不生長或毛髮脫落而導致之毛髮量減少的狀況可由脫髮（例如雄激素性脫髮，斑禿等）、遺傳性禿頂、癩痕、燒傷、放射治療、化學治療、疾病相關性脫髮、意外傷害、毛囊損傷、手術創傷、切口傷或皮膚移植的接受部位創傷所致。

【0036】 本發明可應用於所有哺乳動物物種，包含人和動物兩者。在人類中，本發明之組合物可施用於頭皮、面部、鬍鬚、頭部、軀幹、四肢、恥部、上唇、眉毛或眼瞼。在為取得毛皮而飼養的動物中，出於商業原因可將本發明之組合物施用於整個身體表面以改善整個毛皮。出於美觀原

因，並可將本發明之組合物應用於動物，例如施用於因蟎病導致一定程度的禿毛，或因其他疾病而具有禿斑的狗或貓的皮膚上。

【0037】 除非上下文另有明確說明，否則本說明書以及申請專利範圍中所使用之單數形式「一」及「該」包含複數個提及物。舉例而言，提及「一衍生物」包含複數種該等衍生物，且提及「一個體」包含提及一或多位個體等。

【0038】 又，除非另有說明，否則使用「或」意謂「及/或」。類似地，「包含」，「包含」可互換使用且不意欲具有限制性。

【0039】 進一步應理解，當各實施例之描述使用術語「包含」時，熟習此項技術者應理解在一些特定情況下，或者可使用語言「基本上由.....組成」或「由.....組成」來描述實施例。

【0040】 除非另有定義，否則本文中所使用之所有技術及科學術語均具有與熟習本揭示案所屬之技術領域之一般技術者通常所理解相同之含義。雖然與本文中所述之方法及物質類似或等效之方法及物質可用於實施所揭示之方法及組合物，但本文中僅對例示性方法，裝置及物質加以描述。

【0041】 上文及整篇文章中所討論之公開案僅針對本申請案之申請日期之前的揭示內容而提供。本文在任何方面皆不應理解為承認本發明者由於先前揭示案而無權使該揭示案具有優先權。

【圖式簡單說明】

【0042】 圖1係探討戴理鈉鹽對於人類皮膚細胞的毒性，結果顯示在皮膚角質細胞（KC）與皮膚纖維母細胞（HDF）中，在高濃度1.5毫克/毫升（mg/ml）戴理鈉鹽處理下，細胞皆無明顯死亡。

【0043】 圖2係在僅處理低濃度15微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 與150微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 戴理鈉鹽分別於皮膚角質細胞 (KC) 與皮膚纖維母細胞 (HDF) 中，即可抑制鈣離子 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 的激化 (motivation)。

【0044】 圖3係探討戴理鈉鹽對於裸鼠背部毛髮生長之影響，維持一周，每天讓裸鼠背部接觸14微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 或60微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 戴理鈉鹽兩個小時，結果發現戴理鈉鹽組之裸鼠背部的毛髮皆有增多的情形。

【0045】 圖4係將裸鼠犧牲取背部皮膚，利用蘇木素-伊紅染色 (H&E Stain)，發現戴理鈉鹽組毛囊有增生的情形，且使較多的毛囊呈現活化期。

【0046】 圖5係毛囊的增生與毛囊幹細胞的活化有關，因此利用組織免疫染色 (immunohistochemistry (IHC) staining)，觀察兩個毛囊幹細胞會表現的分子標記 CD49f及Oct-3/4，結果發現戴理鈉鹽處理後，有較多的毛囊幹細胞表現。

【0047】 圖6A係以活組織染色偵測皮膚組織或毛囊細胞之氧化自由基 (reactive oxygen species, ROS) 的表現量。圖6A呈現戴理鈉鹽可降低皮膚細胞中的氧化自由基。

【0048】 圖6B係以活組織染色偵測皮膚組織或毛囊細胞之氧化自由基 (reactive oxygen species, ROS) 的表現量。圖6B呈現戴理鈉鹽可降低毛囊細胞中的氧化自由基，虛線標示出毛囊的範圍，而箭頭所指處為毛囊細胞。

【實施方式】

【0049】 以下之實施例非為限定用途，僅用以呈現此發明之多種面

向。

【0050】 實施例1：戴理鈉鹽對於人類皮膚細胞的毒性的探討

【0051】 將戴理鈉鹽施用於人類皮膚角質細胞與皮膚纖維母細胞以測試其對於人類皮膚細胞的毒性。結果顯示在高濃度1.5毫克/毫升 (mg/ml) 戴理鈉鹽處理下皮膚角質細胞 (KC) 與皮膚纖維母細胞 (HDF) 皆無明顯死亡 (圖1)。

【0052】 實施例2：戴理鈉鹽對於抑制胞內鈣離子濃度變化之測試

【0053】 已知當皮膚細胞內鈣離子濃度升高時，過多的鈣離子會影響粒線體，使粒線體產生氧化自由基 (reactive oxygen species, ROS)，並進而造成對皮膚細胞的傷害。為了觀察戴理鈉鹽 (Derinat) 對皮膚細胞鈣離子通道活性及胞內鈣離子濃度的影響，首先以戴理鈉鹽處理初代人類皮膚角質細胞和皮膚纖維母細胞24小時，之後再利用鈣離子染劑 (Fluo-4-AM) 以偵測細胞內鈣離子濃度的變化。在觀察Derinat對鈣離子通道的影響時，由於鈣離子通道的特性並更精確偵測鈣離子通道，於偵測細胞內鈣離子的動態變化時利用ATP刺激細胞打開鈣離子通道。首先在無鈣離子的緩衝溶液中利用ATP去刺激鈣離子通道打開，之後洗去ATP，再換為含有2毫莫耳濃度 (mM) 鈣離子之緩衝溶液，隨後偵測曲線高度，並再做高度面積的定量。圖2顯示相較於未施予Derinat的對照組以及施予DMSO的組別，低濃度之15微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 與150微克/毫升 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 戴理鈉鹽即可抑制皮膚角質細胞及皮膚纖維母細胞之鈣離子通道活性，並因而降低細胞內鈣離子濃度，而達到保護皮膚細胞的效果。

【0054】 實施例3：戴理鈉鹽對於裸鼠毛髮生長之影響

【0055】 為探討戴理鈉鹽對於裸鼠毛髮生長之影響，以14微克/毫升 ($\mu\text{g/mL}$) (即3.5微克/平方公分 ($\mu\text{g/cm}^2$)) 或60微克/毫升 ($\mu\text{g/mL}$) (即14微克/平方公分 ($\mu\text{g/cm}^2$)) 之戴理鈉鹽每日施用至裸鼠背部使其接觸兩個小時，在為期一周的試驗後結果發現戴理鈉鹽組之裸鼠背部的毛髮皆有增多的情形 (圖3)。由於14微克/毫升 ($\mu\text{g/mL}$) 之戴理鈉鹽即有效果，後續實驗便以此劑量為主。將裸鼠犧牲後取下背部皮膚並以蘇木素-伊紅染色進行切片觀察，發現戴理鈉鹽組毛囊有增生的情形，且使較多的毛囊呈現活化期 (anagen stage) (圖4)。由於毛囊的增生與幹細胞的活化有關，因此利用組織免疫染色以觀察兩種毛囊幹細胞會表現的分子標記CD49f及Oct-3/4，結果發現經戴理鈉鹽處理後，分子標記CD49f及Oct-3/4的表現量均增加，表示有較多的毛囊幹細胞生成 (圖5)。

【0056】 實施例4：戴理鈉鹽對於皮膚組織中氧化自由基生成之影響

【0057】 為更進一步瞭解戴理鈉鹽對於皮膚組織中氧化自由基生成之影響，以活組織染色偵測皮膚細胞與毛囊細胞中氧化自由基的表現量，亦發現不論是對於皮膚細胞或毛囊細胞，戴理鈉鹽皆能降低其氧化自由基的產生，進而達到保護皮膚細胞與毛囊細胞的功效 (圖6A及圖6B)。

【0058】 為使此發明所屬技術領域中具有通常知識者得以瞭解製作以及使用這項技藝的方法，此發明已描述並已充分詳細舉例說明，然而，各式各樣的變體，修改或改進應被視為無異於此項發明之精神與範圍。

【0059】 本發明所屬技術領域中具有通常知識者易於理解並實現本發明之目的，並獲得先前所提到之結果及優點。本發明所使用之細胞，動物，材料以及生產它們的過程和方法乃代表最佳實施例，乃示例性質，而

不作為限制本發明的範圍用途。本領域的技術人員與製作或使用此項技藝時所將產生之修改或其他用途皆涵蓋於本發明的精神內，並且由權利範圍所限定。

申請專利範圍

1. 一種組合物用於製備促進個體毛髮生長或預防毛髮脫落之藥物的用途，其中該組合物包含一有效劑量之戴理鈉鹽（Derinat）。
2. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該組合物包含一有效劑量為10-1500微克/毫升之該戴理鈉鹽。
3. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該組合物包含一有效劑量為10-150微克/毫升之該戴理鈉鹽。
4. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該組合物係指經皮施用之醫藥組合物。
5. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該毛髮係位於頭皮、面部、鬍鬚、頭部、軀幹、四肢、恥部、上唇、眉毛或眼瞼。
6. 一種組合物用於製備促進個體毛囊幹細胞生成之藥物的用途，其中該組合物包含一有效劑量之戴理鈉鹽。
7. 如申請專利範圍第6項之用途，其中該組合物包含一有效劑量為10-1500微克/毫升之該戴理鈉鹽。
8. 如申請專利範圍第6項之用途，其中該組合物包含一有效劑量為10-150微克/毫升之該戴理鈉鹽。
9. 如申請專利範圍第6項之用途，其中該組合物係指經皮施用之醫藥組合物。
10. 如申請專利範圍第6項之用途，其中該毛髮係位於頭皮、面部、鬍鬚、頭部、軀幹、四肢、恥部、上唇、眉毛或眼瞼。

圖式

圖 1

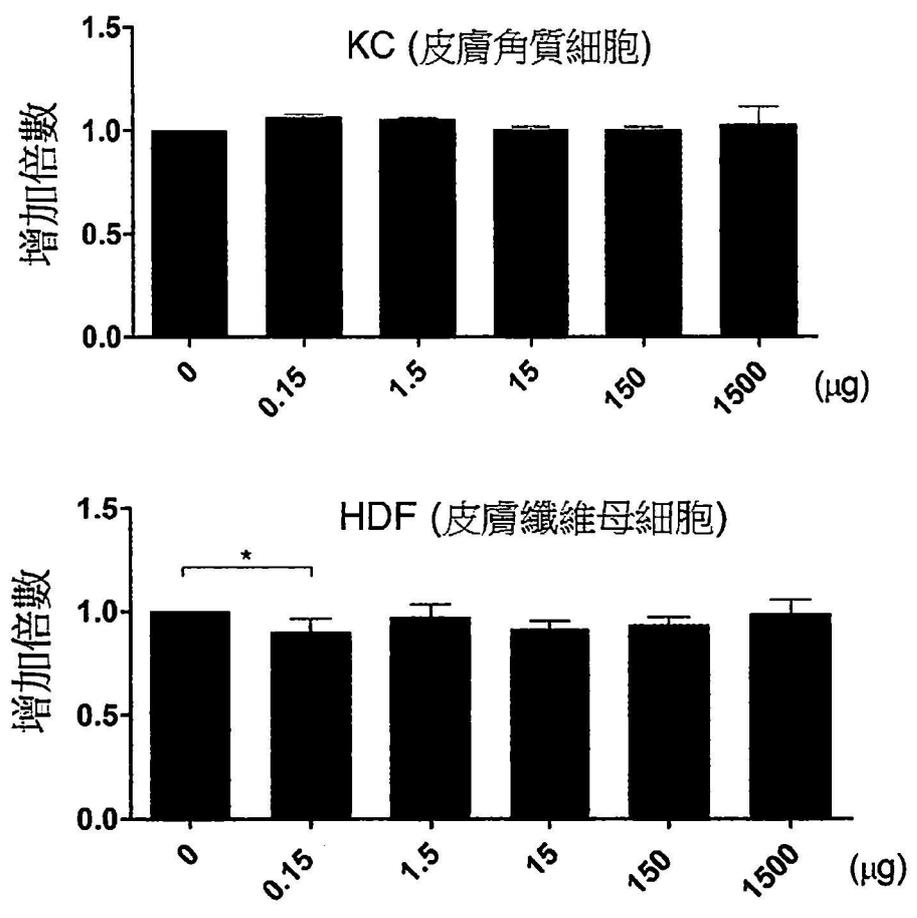


圖 2

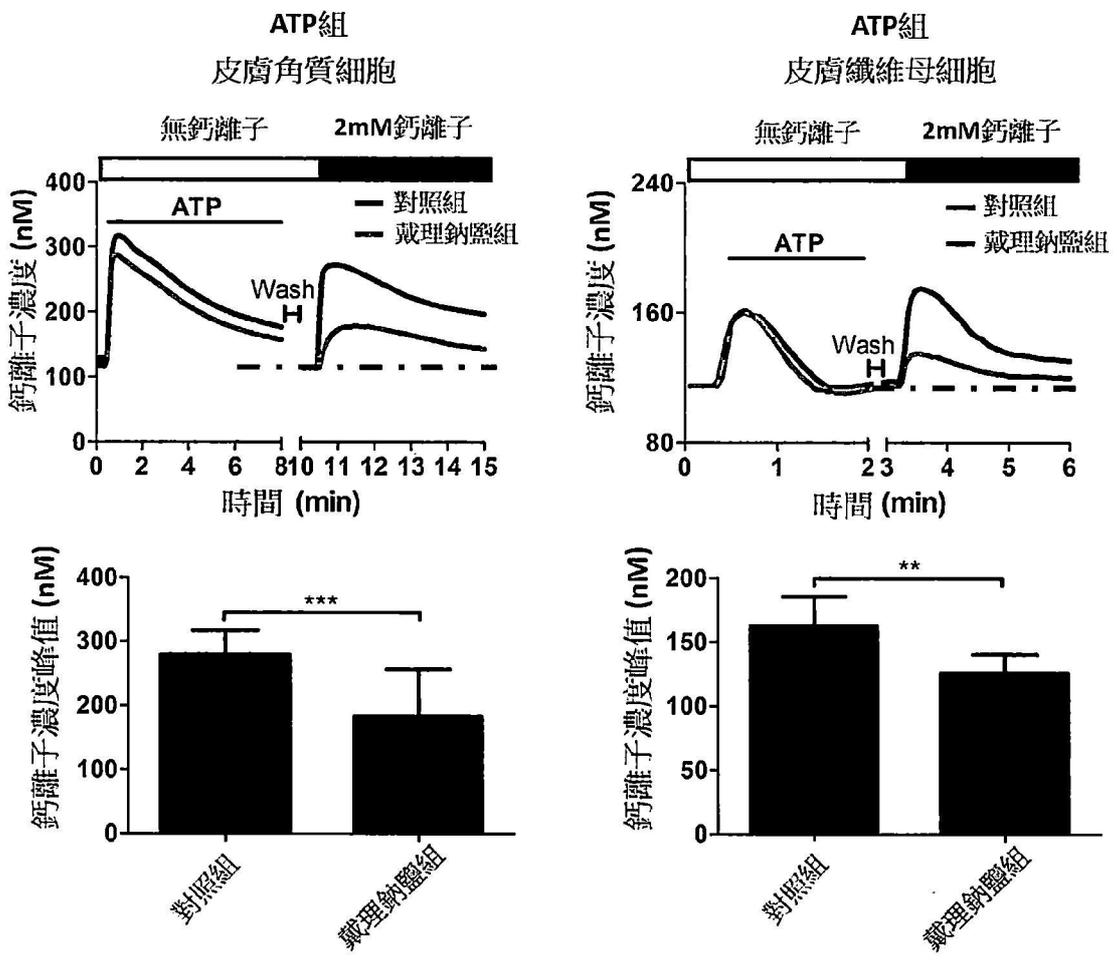


圖 3

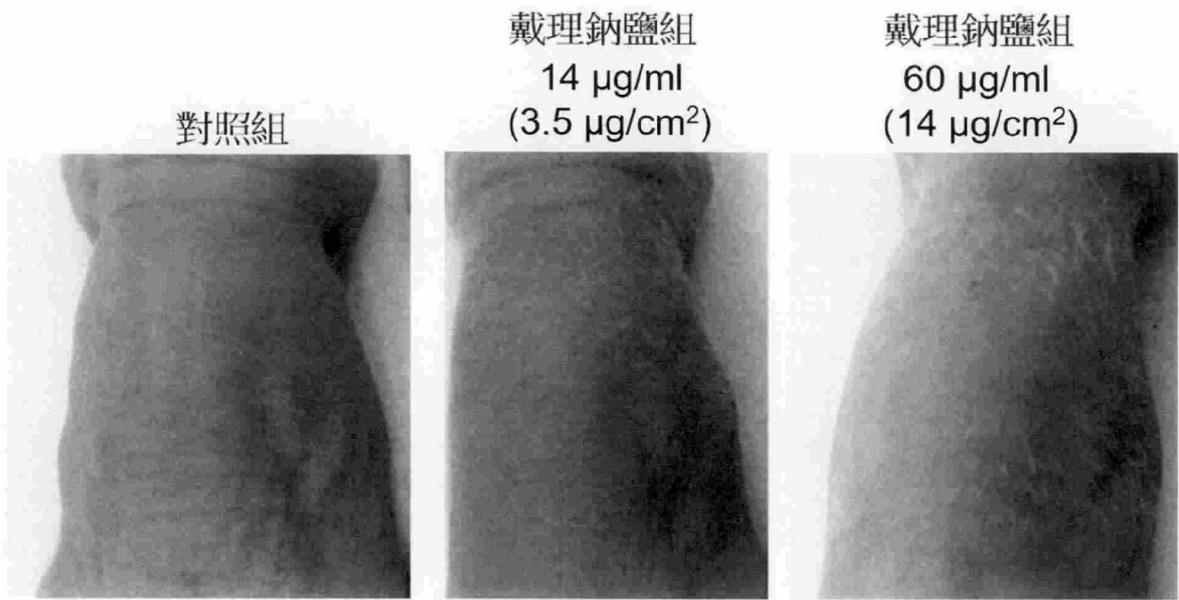
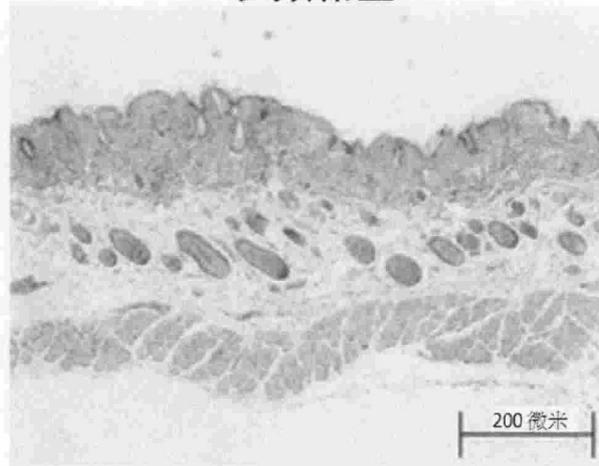


圖 4

對照組



戴理鈉鹽組

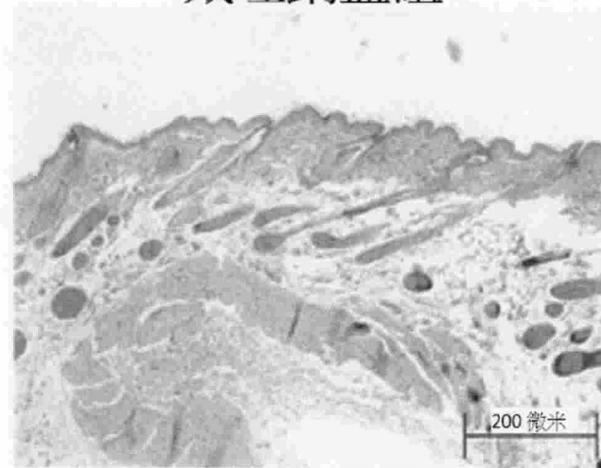


圖 5

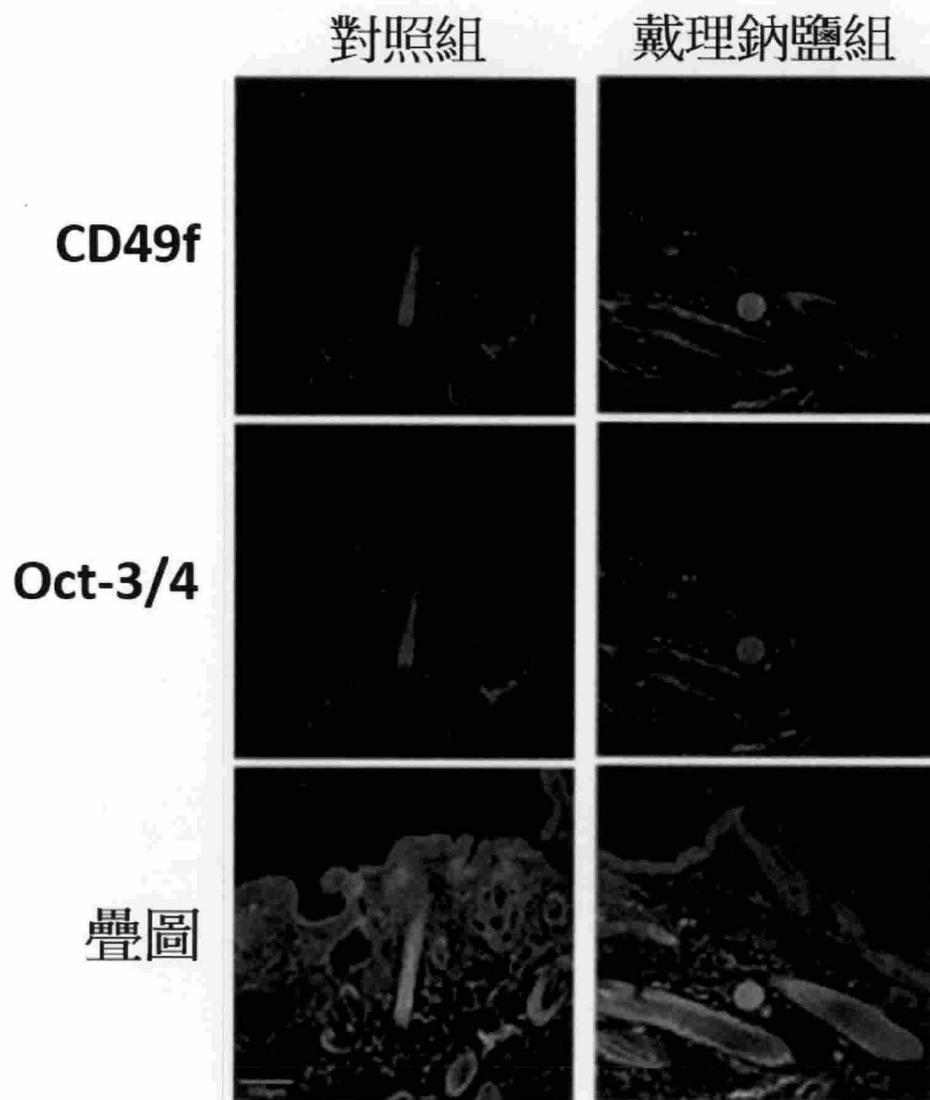


圖 6A

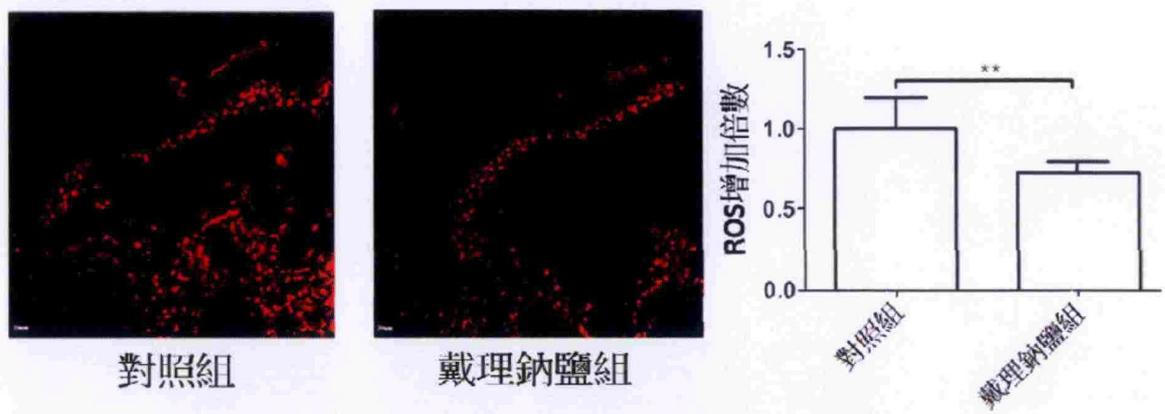


圖 6B

