



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 103340

(13) C2

(51) МПК

A61K 31/047 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

A61K 31/13 (2006.01)

A61P 17/14 (2006.01)

A61P 17/16 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2011 06636

(22) Дата подання заявки: 30.10.2009

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: 10.10.2013

(31) Номер попередньої
заявки відповідно до
Паризької конвенції: 08425704.7

(32) Дата подання
попередньої заявки
відповідно до
Паризької конвенції: 03.11.2008

(33) Код держави-учасниці
Паризької конвенції,
до якої подано
попередню заявку: EP

(41) Публікація відомостей
про заявку: 11.07.2011, Бюл.№ 13

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 10.10.2013, Бюл.№ 19

(86) Номер та дата
подання міжнародної
заявки, поданої
відповідно до
Договору РСТ RСТ/EP2009/064368,
30.10.2009

(72) Винахідник(и):

Джуліані Джаммарія (ІТ),
Бенедузі Анна (ІТ),
Бароні Серджо (ІТ)

(73) Власник(и):

ДЖУЛІАНІ С.П.А.,
Via Palagi 2, I-20129, Milano, Italy (ІТ)

(74) Представник:

Шляховецький Олександр Михайлович,
реєстр. №21

(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

WO 96/10387 A 11.04.1996

WO 2008/114141 A 25.09.2008

WO 02/05776 A 24.01.2002

CN 1481804 A 17.03.2004

WO 2007/046083 A 26.04.2007

US 6218436 B1 17.04.2001

US 6649195 B1 18.11.2003

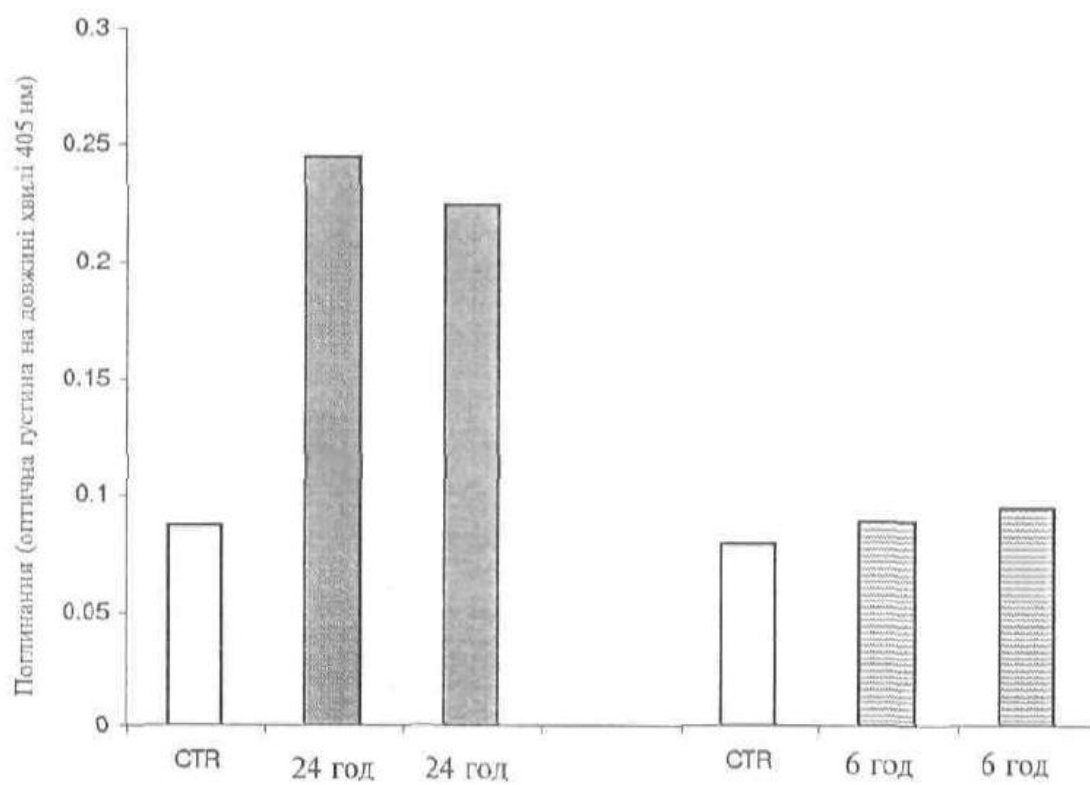
(54) ТЕРАПЕВТИЧНЕ, ДІЄТОЛОГІЧНЕ АБО КОСМЕТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ СПОЛУК ЗІ СПЕЦИФІЧНОЮ АНТИАПОПТОЗНОЮ ДІЄЮ НА КАСПАЗУ-3 ТА КОМПОЗИЦІЯ, ЯКА МІСТИТЬ ЦІ СПОЛУКИ

(57) Реферат:

Винахід стосується застосування зеаксантину або окремо, або в комбінації з рутином, або у комбінації з рутином та спермідіном, у складі фармацевтичної, дієтологічної або косметичної композиції для лікування розладів на волосистій частині шкіри голови, в тому числі спричиненої хіміотерапією алопеції, вогнищевої алопеції, андрогенетичної алопеції та телогенної алопеції.

UA 103340 C2

Індукція активності каспази-3 у присутності стауроспорину (1 мкМ)



Фіг.1

Галузь, якої стосується винахід

Цей винахід стосується застосування сполук, які виявляють активність щодо інгібування каспази-3 і, отже, є корисними для регулювання апоптозу шляхом запобігання програмованого некрозу клітин при лікуванні розладів та дисфункцій, які характеризуються дефектом регуляції фізичних механізмів апоптозу і, як наслідок, передчасним некрозом клітин.

Сучасний стан техніки

Однією з таких дисфункцій є звичайно облисіння. Життєвий цикл волосяного мішечка складається, по суті з трьох послідовних фаз: анагену (росту), катагену (дегенерації) і телогену (фази спокою). Після завершення останньої фази цикл починається знову. Біологічною основою цього явища є здатність клітин стебла волосяного мішечка виходити на різних фазах зі стану спокою. У процесі росту мішечка та продукування волосся переважає активність факторів росту, які регулюють проліферацію, диференціацію та виживання. Навпаки, фаза регресії характеризується активацією молекулярних провідних шляхів, які індукують апоптоз клітин волосяного мішечка.

Різні популяції клітин волосяного мішечка мають різну чутливість до явищ апоптозу. Зокрема, клітини епітелію та меланоцити мають найвищу чутливість, тоді як дермальні фібробласти, деякі кератиноцити та деякі меланоцити, відібрані для виживання, є більш стійкими. Життєвий цикл волосу та його розвиток залежать від факторів росту, які регулюють передавання комунікаційних сигналів між епітелієм та клітинами мезенхіми волосяного мішечка. Ці молекулярні фактори належать до таких груп протеїнів: BMP (морфогенетичний протеїн кістки), β -TGF, EGF, FGF, IGF, нейротропін, TNF та Wnt.

Апоптоз, що зветься також програмованим некрозом клітин, є комплексним біологічним процесом, який регулюється на генному рівні та відіграє вирішальну роль у гомеостазі тканин, де він протидіє проліферативній (мітотичній) активності, яка спричиняється факторами росту. З морфологічної точки зору, клітина в стані апоптозу зазнає швидкого зменшення об'єму, який супроводжується конденсацією та втратою контакту з навколишніми клітинами. На ядерному рівні спостерігається дезагрегація, розрив мембрани, та конденсація і розпад хроматину на фрагменти, які включають приблизно 200 пар основ.

Каспази, каталітичні ферменти, є протеїновим компонентом, який відіграє істотну роль як в активації, так і в здійсненні процесу апоптозу. У людини ідентифіковано 10 каспаз, які пронумеровані від 1 до 10. Ці каспази є каталітичними ферментами, які виявляють протеазну активність та діють як ефектори у клітинному розпаді, типовому для апоптозу, а також як ініціатори цього явища з подальшою активацією проапоптозних сигналів.

Одним із головних ефекторів апоптозу є каспаза-3 (відома також як CPP32, Яма (Yama) або апопаїн).

В умовах спокою каспаза-3 в більшості клітин існує в неактивній формі (проферменту), яка під дією проапоптозних чинників активується каспазою-8 або каспазою-9, залежно від типу апоптозних чинників, які сприймаються клітиною.

Отже, апоптоз вважається процесом, який відіграє центральну роль у регуляції регресії волосяного мішечка (Кін та інші, "Вплив фінастериду на апоптоз та регуляцію циклу людського волоса" - Effects of finasteride on apoptosis and regulation of the human hair cycle, Keane et al., Journal of Cutaneous Medicine and Surgery, vol. 6, no. 1, January 2002).

Суть винаходу

Несподівано виявлено, що деякі сполуки, застосовувані як окремо, так і в комбінації, можуть пригнічувати активність каспази-3, мають значну антиапоптозну активність та можуть протидіяти втраті волосся.

Відповідно до цього винаходу головне застосування цих сполук, які мають специфічну інгібувальну активність стосовно до каспази-3, стосується розладів, пов'язаних із волосистою частиною шкіри голови, які характеризуються надлишковим перетворенням клітин, таких як спричинена хіміотерапією алопеція, вогнищева алопеція, андрогенетична алопеція та телогенна алопеція (втрата волосся в стадії телогену).

Детальний опис винаходу

В цьому аспекті цей винахід спрямований на застосування зеаксантину та/або рутину (окремо або додатково комбінованих зі спермідіном) як активного інгредієнта у фармацевтичній, дієтологічній або косметичній композиції, прийнятній для інгібування активності ферменту каспази-3 і, отже, для контролю апоптозу шляхом запобігання програмованого некрозу клітин у кожному випадку, де така інгібувальна дія є корисною. Особливо тут слід вказати на лікування алопеції у людей шляхом інгібування каспази.

Винахід стосується також фармацевтичної, дієтологічної або косметичної композиції, прийнятної для інгібування активності ферменту каспази-3 і, отже, для контролю апоптозу

шляхом запобігання програмованого некрозу клітин, яка відрізняється тим, що вона містить зеаксантин та/або рутин (окремо або додатково комбіновані зі спермідином) як активний інгредієнт, комбінований з будь-яким прийнятним наповнювачем для місцевого або системного (переважно перорального) застосування.

5 Експериментальні дослідження, описані нижче, дійсно несподівано демонструють можливість досягнення інгібування апоптозної активності каспази-3 належним способом шляхом застосування сполук за цим винаходом.

10 Фармацевтична, дієтологічна або косметична композиція за цим винаходом призначена, головним чином, для лікування розладів, пов'язаних із волосистою частиною шкіри голови, які характеризуються надлишковим перетворенням клітин, в тому числі спричиненої хіміотерапією алопеції, вогнищевої алопеції, андрогенетичної алопеції та телогенної алопеції.

Винахід стосується застосування як активних інгредієнтів зеаксантину або рутину окремо або поєднаних один з другим, кожного з них у поєднанні зі спермідином або їх обох у поєднанні зі спермідином.

15 В одному варіанті здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить зеаксантин або рутин.

В іншому варіанті здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить зеаксантин та рутин. У відповідному варіанті здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить 2 мг зеаксантину та 2,5 мг рутину.

20 В варіанті здійснення винаходу, якому віддається перевага, композиція за цим винаходом містить зеаксантин, рутин та спермідин. У одному з варіантів здійснення винаходу, якому віддається перевага, композиція за цим винаходом містить зеаксантин, рутин та спермідин у масовому співвідношенні приблизно 8:5:1, відповідно. У іншому варіанті здійснення винаходу, якому віддається перевага, композиція за цим винаходом містить зеаксантин, рутин та спермідин у масовому співвідношенні приблизно 4:5:1, відповідно.

25 В іншому варіанті здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить активний інгредієнт, який складається з рутину та спермідину. У одному з варіантів здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить рутин та спермідин у масовому співвідношенні приблизно 5:1, відповідно.

30 В іншому варіанті здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить зеаксантин та спермідин. У одному з варіантів здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить зеаксантин та спермідин у масовому співвідношенні приблизно 4:1.

35 В одному варіанті здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить наповнювачі для місцевого вживання на волосистій частині шкіри голови. Прийнятні концентрації вибрані з таких діапазонів: 0,0005-1% (мас.) зеаксантину, 0,0005-1% (мас.) рутину та 0,0001-1% (мас.) спермідину-HCl.

40 В іншому варіанті здійснення винаходу композиція за цим винаходом містить наповнювачі для системного, головним чином перорального, вживання. У варіанті здійснення цього винаходу, якому віддається перевага, композиція для перорального вживання, в тому числі таблетка, містить 2 мг зеаксантину, 2,50 мг рутину та 0,50 мг тригідрохлориду спермідину.

Наведені нижче приклади ілюструють винахід, не обмежуючи будь-яким чином його обсягу.

Приклад 1

45 Додаток до раціону у таблетках для перорального вживання із зеаксантином, рутином, спермідином, сірковмісними сполуками (сульфурованими амінокислотами, метилсульфонілметаном), вітамінами та мінералами.

Кожна таблетка містить:

Метіонін	300 мг
Спермідину тригідрохлорид	0,5 мг
Рутин	2,5 мг
Зеаксантин	2 мг
Кальцію пантотенат	9 мг
d-Біотин	0,05 мг
Хелат амінокислот із цинком	37,5 мг
	(еквівалент 7,5 мг цинку)
Хелат амінокислот із міддю	12 мг
	(еквівалент 1,2 мг міді)
Вітамін С (аскорбінову кислоту)	90 мг

Вітаміну B6 гідрохлорид	2,421 мг (еквівалент 2 мг піридоксину)
Вітаміну E ацетат (dl-α- токоферол)	15 мг
Фолієву кислоту	0,3 мг
Целюлозу мікрокристалічну	60-150 мг
Кальцію фосфату двохосновного дигідрат	60-150 мг
Гідроксипропілметилцелюло зу	50-100 мг
Камедь аравійську	2-20 мг
Магнію стеарат	5-9 мг
Кремнію діоксид	2,50-8 мг
Оксид заліза жовтий E172	0,1 -0,3 мг
Хлорофіл мідний	0,4-0,8 мг
Титану діоксид	1,5-3,5 мг
Кислоту стеаринову	1-2 мг
Етилцелюлозу	2-3 мг
Желатин гідролізований	15-17 мг.
Приклад 2	
Добавка до раціону у твердих капсулах із зеаксантином, рутином та спермідіном.	
Кожна капсула містить:	
Спермідину тригідрохлорид	0,5 мг
Рутин	2,5 мг
Зеаксантин	2 мг
Целюлозу мікрокристалічну	100-150 мг
Кальцію фосфату двохосновного дигідрат	100-150 мг
Магнію стеарат	3-6 мг
Кремнію діоксид	2,5-5 мг
Желатин природний (для упаковування)	у достатній кількості.
Приклад 3	
5	Добавка до раціону у таблетках для перорального вживання із зеаксантином, рутином, спермідіном, соєвими ізофлавонами, сухим екстрактом <i>Emblica officinalis</i> , ресвератролом, вітамінами та мінералами.
Кожна таблетка містить:	
Соєві ізофлавоони	40 мг
Кальцію пантотенат	9 мг
d-Біотин	0,5-0,15 мг
Спермідину тригідрохлорид	0,5 мг
Рутин	2,5-12 мг
Сухий екстракт <i>Emblica officinalis</i>	100 мг
Ресвератрол	0,5 мг
Зеаксантин	2 мг
Хелат амінокислот із цинком	37,5 мг (еквівалент 7,5 мг цинку)
Хелат амінокислот із міддю	12 мг (еквівалент 1,2 мг міді)
Фолієву кислоту	0,2-0,3 мг
Целюлозу мікрокристалічну	60-150 мг
Кальцію фосфату двохосновного дигідрат	100-300 мг
Гідроксипропілметилцелюлозу	40-120 мг

Декстрин тапіоки	40-100 мг
Камедь аравійську	2-20 мг
Гліцерилбегенат	5-10 мг
Кремнію діоксид	2,5-10 мг
Оксид заліза жовтий E172	0,1-0,3 мг
Оксид заліза червоний E172	0,1-0,3 мг
Титану діоксид	1,5-3,5 мг
Кислоту стеаринову	1-2 мг.

Приклад 4

Нешипучий гранульований препарат для негайного вживання з основою сірковмісної сполуки (метилсульфонілметану) та зеаксантином.

Кожна доза містить:

Метилсульфонілметан	200 мг
Зеаксантин	2 мг
Мальтит порошкоподібний	100-300 мг
Крохмалю натрієвого	
гліколят	100-300 мг
Камедь аравійську	100-500 мг
Сорбіт порошкоподібний	5-9 мг
Ацесульфам натрію	0,5-1,5 мг
Аспартам	0,25-1,25 мг
Натрію стеарилфумарат	10-30 мг
Ароматизатор	у достатній кількості.

5 Приклад 5

Добавка до раціону у таблетках для перорального вживання із зеаксантином, рутином, спермідіном, L-аргініном, *Ajuga reptans*, кверцетином, вітамінами та мінералами

Кожна таблетка містить:

Рутин	2,5 мг
Зеаксантин	2 мг
Спермідину тригідрохлорид	0,5 мг
Кальцію d-пантотенат	9 мг
d-Біотин	0,15 мг
Кверцитин	0,9 мг

Олії огірочника аптечного

(омега-6-поліненасичені жирні кислоти)

	40-100 мг
Рутин	3-12 мг
L-аргініну гідрохлорид	242 мг
Сухий екстракт <i>ajuga reptans</i>	5 мг
Хелат амінокислот із цинком	37,5 мг

(еквівалент
7,5 мг
цинку)

Хелат амінокислот із міддю	12 мг
	(еквівалент 1,2 мг міді)

Декстрин тапіоки	40-100 мг
Целюлозу мікрокристалічну	130-200 мг
Кальцію фосфату	
двохосновного дигідрат	50-200 мг
Гідроксипропілметилцелюлозу	40-100 мг
Моно- та дигліцериди жирних кислот	5-10 мг
Кремнію діоксид	5-10 мг
Кислоту стеаринову	1-2 мг
Титану діоксид	1,5-3,5 мг
Оксид заліза червоний	0,1-0,3 мг
Рибофлавін (барвник)	0,1-0,3 мг.

Приклад 6

Добавка до раціону у таблетках для перорального вживання з молочними кислотами та поживними речовинами, корисними для відновлення рівноваги злущування шкіри волосистої частини голови.

Кожна таблетка містить:

Рутин	2,5 мг
Зеаксантин	2 мг
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	10 ⁹
	колонієтворних одиниць на таблетку (1 млрд од/г)

Нерозчинні харчові

волокна	20-40 мг
Інулін	20-40 мг
Метіонін	200 мг

Вітамін B5 (кальцію
пантотенат)

9 мг

Вітаміну B6 гідрохлорид
(еквівалент 2 мг
піридоксину)

2,421 мг

Біотин

0,23 мг

Вітамін A

1200 мкг

Вітамін B2 (рибофлавін)

1,60 мг

Сухий екстракт листя

Ajuga reptans

2,5 мг

Хелат амінокислот з
цинком

37,5 мг

(еквівалент
7,5 мг цинку)

Вітамін C (аскорбінову
кислоту)

90 мг

Вітаміну E ацетат (dl- α -
токоферол)

15 мг

Дріжджі селенові

15 мг (еквівалент
30 мкг селену)

Трикальційфосфат

28-32 мг

Целюлозу

мікрокристалічну

100-200 мг

Кальцію гідрофосфат

безводний

50-100 мг

Магнію стеарат

6-10 мг

Кремнію діоксид

4-10 мг.

5 Приклад 7

Гель для укладання волосся із зеаксантином, рутином, спермідіном.

Назва інгредієнта згідно з

INCI

% (мас.)

Поліакрилат-14

0,7-2

Гідроксипропілгуар

0,5-5

Натрію

гідроксиметилгліцинат

0,1-1

Бензофенон-4

0,1-3

EDTA тетранатрієва сіль

0,1-0,8

Таурин

0,01-0,08

Кальцію пантотенат

0,01-0,05

Екстракт *Ajuga reptans* із
вмістом фенілпропаноїдів

>50%

0,001-0,1

Зеаксантин

0,001-0,1

Рутин

0,005-0,05

Спермідин HCl

0,001-0,05

Біотин

0,0001-0,05

Вода у необхідній
кількості до 100.

Приклад 8

Збагачувальний безповітряний мус із зеаксантином, рутином та спермідином.

Назва інгредієнта згідно з

INCI	% (мас.)
Спирт	9,5-20
Екстракт листя <i>Boehmeria</i>	
<i>piroponivea</i>	1-5,5
Таурин	1-5,5
Гліцерин	1-3,5
Оливкової олії амфоацетат	
натрію	0,5-2
Кальцію пантотенат	0,1-2
Токофероли (α, β, γ)	0,1-2
Полікватерніум-16	0,02-1
EDTA динатрієва сіль	0,02-0,08
Екстракт листя <i>Ajuga</i>	
<i>reptans</i>	0,02-0,05
Спермідин HCl	0,01-0,05
Рутин	0,1-0,5
Зеаксантин	0,1-0,5
Натрію метабісульфіт	0,01-0,05
<i>Vitis vinifera</i>	0,01-0,05
Біотин	0,002-0,05
Кислота лимонна	0,1-0,3
Вода	у необхідній кількості до 100.

Приклад 9

Збагачувальний лосьйон для волосся із зеаксантином, рутином та спермідином.

Назва інгредієнта згідно з

INCI	% (мас.)
Спирт	10,5-20
Екстракт <i>Juglans regia</i>	1-4,5
Рицинова олія,	
гідрогенована PEG-40	0,5-3
Кальцію пантотенат	0,1-0,5
Парфум	0,1-0,5
EDTA динатрієва сіль	0,05-0,1
Кислота лимонна	0,05-0,1
Екстракт листя <i>Ajuga</i>	
<i>reptans</i>	0,05-0,1
Спермідин HCl	0,01-0,05
Зеаксантин	0,1-0,3
Рутин	0,1-0,5
Біотин	0,003-0,05
Лецитин	0,002-0,005
Полісорбат 80	0,001-0,005
Вода	у необхідній кількості до 100.

5

Приклад 10

Реструктурувальний кондиціонер із зеаксантином, рутином та спермідином.

Назва інгредієнта згідно з

INCI	% (мас.)
Спирт цетероариловий	1,5-5,5
Диметикон	3-4,5
Гліцерилстеарат	4-5,5
C12-13-алкіллактат	1,5-3

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Цетримоніумхлорид	1-3,5
PEG-100-стеарат	1-3,5
Диметиконол	1-2,5
Ксиліт	1-2,5
Феноксіетанол	0,5-1
Пропіленгліколь	0,5-1
Гідроксіетилцелюлоза	0,5-1
Пантенол	0,5-1
Парфум	0,5-1
Триметилсиліламодиметикон	0,2-1
Метилпарабен	0,1-1
EDTA динатрієва сіль	0,1-1
Бутиленгліколь	0,1-1
Етилпарабен	0,01-0,05
Кислота молочна	0,01-0,05
Пропілпарабен	0,01-0,05
Кальцію пантотенат	0,001-0,005
Зеаксантин	0,0005-0,01
Рутин	0,0005-0,01
Спермідин HCl	0,0001-0,05
Біотин	0,00001-0,0005
Вода	у необхідній кількості до 100.

Приклад 11

Гель-маска проти втрати волосся із зеаксантином, рутином та спермідиним.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Гліцерин	1,5-4,5
"Співполімер акрилоїламонію з диметилтаруратом та VP"	1-5,5
Циклопентасилоксан	1-5,5
Феноксіетанол	0,1-0,8
Парфум	0,1-0,5
Силікон-кватерніум-15	0,1-0,5
Токоферилацетат	0,1-0,5
Диметикон	0,1-0,3
Метилпарабен	0,1-0,5
Амонію гліциризат	0,1-0,5
Етилгексилметоксицинамат	0,05-0,1
EDTA динатрієва сіль	0,05-0,1
Етилпарабен	0,02-0,05
Гліцериллаурат	0,02-0,05
Кальцію пантотенат	0,02-0,05
Пропілпарабен	0,02-0,05
Зеаксантин	0,001-0,1
Рутин	0,01-0,1
Спермідин HCl	0,001-0,005
Біотин	0,0001-0,005
Вода	у необхідній кількості до 100.

Приклад 12

Збагачувальний шампунь із зеаксантином, рутином та спермідиним.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Магнію лауретсульфат	2-8,5

Натрію лауроїлсаркозинат	2-5,5
Динатрійлауретсульфосукцинат	1-5,5
Гідрогенізований PEG-200	
гліцерилпальмат	1-5,5
Кокамід MIPA	1-5,5
Гліцерин	0,5-1
Парфум	0,5-1
Глікольдистеарат	0,5-1
Кислота лимонна	0,5-1
Лаурет-7	0,5-1
PEG-7-гліцерилкокоат	0,5-1
Бетаїн	0,5-1
Лаурилметилглюцет-10-	
гідроксипропілдимоніуму	
хлорид	0,5-1
Полікватерніум-10	0,2-0,5
Натрію гідроксиметилгліцинат	0,2-0,5
Калію ундециленоїл-пшеничний	
протеїн	0,2-0,5
EDTA тетранатрієва сіль	0,2-0,5
Пантенол	0,2-0,5
Силіконкватерніум-15	0,1-0,5
Амінокислоти шовку	0,1-0,5
C11-C15 Парет-9	0,03-0,06
Оливкової олії амфоацетат	
натрію	0,03-0,06
Кальцію пантотенат	0,01-0,05
ВНА	0,01-0,05
Зеаксантин	0,001-0,01
Рутин	0,001-0,01
Спермідин HCl	0,001-0,01
Біотин	0,0001-
	0,005
Вода	у
	необхідній
	кількості
	до 100.

Приклад 13

Гель для укладання волосся із зеаксантином, рутином, спермідіном та соєвими ізофлавами.

Назва інгредієнта згідно з	
INCI	% (мас.)
Поліакрилат-14	0,7-2
Гідроксипропілгуар	0,5-5
Натрію	
гідроксиметилгліцинат	0,1-1
Бензофенон-4	0,1-3
EDTA тетранатрієва сіль	0,1-0,8
Таурин	0,01-0,08
Кальцію пантотенат	0,01-0,05
Екстракт клітинних культур	
Ajuga reptans із вмістом	
фенілпропаноїдів >50%	0,001-0,1
Зеаксантин	0,001-0,1
Рутин	0,005-0,02
Спермідин HCl	0,001-0,05
Ізофлавиони соєві	0,001-0,5
Біотин	0,0001-0,001
Вода	у необхідній
	кількості до

100.

Приклад 14

Збагачувальний безповітряний мус із зеаксантином, рутином, спермідіном та соєвими ізофлавонами.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Спирт	9,5-20
Екстракт листя <i>Boehmeria</i>	
<i>piropopivea</i>	1-5,5
Таурин	1-5,5
Гліцерин	1-3,5
Оливкової олії амфоацетат	
натрію	0,5-2
Кальцію пантотенат	0,1-2
Токофероли (α, β, γ)	0,1-2
Полікватерніум-16	0,02-1
EDTA динатрієва сіль	0,02-0,08
Екстракт листя <i>Ajuga reptans</i>	0,02-0,05
Спермідин HCl	0,1-1
Зеаксантин	0,1-1
Рутин	0,1-1
Калію метабісульфіт	0,01-0,05
<i>Vitis vinifera</i>	0,01-0,05
Біотин	0,002-0,05
Ізофлавоны сої	0,001-0,5
Кислота лимонна	0,1-0,3
Вода	у
	необхідній
	кількості
	до 100.

Приклад 15

5 Збагачувальний лосьйон для волосся із зеаксантином, рутином та спермідіном.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Спирт	10,5-20
Екстракт <i>Juglans regia</i>	1-4,5
Рицинова олія, гідрогенована	
PEG-40	0,5-3
Кальцію пантотенат	0,1-0,5
Парфум	0,1-0,5
EDTA динатрієва сіль	0,05-0,1
Кислота лимонна	0,05-0,1
Екстракт листя <i>Ajuga reptans</i>	0,05-0,1
Спермідин HCl	0,01-0,05
Зеаксантин	0,1-1
Рутин	0,1-1
Біотин	0,003-0,05
Лецитин	0,002-
	0,005
Полісорбат 80	0,001-
	0,005
Ізофлавоны сої	0,001-0,5
Вода	у
	необхідній
	кількості
	до 100.

Приклад 16

Реструктурувальний кондиціонер із зеаксантином, рутином, спермідіном та соєвими ізофлавонами.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Спирт цетероариловий	1,5-5,5

Диметикон	3-4,5
Гліцерилстеарат	4-5,5
C12-13-алкіллактат	1,5-3
Цетримоніумхлорид	1-3,5
PEG-100-стеарат	1-3,5
Диметиконол	1-2,5
Ксиліт	1-2,5
Феноксіетанол	0,5-1
Пропіленгліколь	0,5-1
Гідроксіетилцелюлоза	0,5-1
Пантенол	0,5-1
Парфум	0,5-1
Триметилсиліламодиметикон	0,2-1
Фітантріол	0,1-1
Метилпарабен	0,1-1
EDTA динатрієва сіль	0,1-1
Бутиленгліколь	0,1-1
Етилпарабен	0,01-0,05
Пропілпарабен	0,01-0,05
Кальцію пантотенат	0,001-0,005
Полігліцерил-3-дистеарат	0,01-0,05
Кальцію пантотенат	0,001-0,005
Зеаксантин	0,0005-0,01
Рутин	0,0005-0,01
Ізофлавононі сої	0,001-0,5
Спермідин HCl	0,0001-0,05
Біотин	0,00001-0,0005
Вода	у необхідній кількості до 100.

Приклад 17

Гель-маска проти втрати волосся із зеаксантином, рутином, спермідіном та соєвими ізофлавононіми.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Гліцерин	1,5-4,5
Співполімер акрилоїламонію з диметилтаруратом та VP	1-5,5
Циклопентасилоксан	1-5,5
Феноксіетанол	0,1-0,8
Парфум	0,1-0,5
Силікон-кватерніум-15	0,1-0,5
Токоферилацетат	0,1-0,5
Диметикон	0,1-0,3
Метилпарабен	0,1-0,5
Амонію гліциризат	0,1-0,5
Етилгексилметоксицинамат	0,05-0,1
EDTA динатрієва сіль	0,05-0,1
Етилпарабен	0,02-0,05
Гліцериллаурат	0,02-0,05
Кальцію пантотенат	0,02-0,05
Пропілпарабен	0,02-0,05
Зеаксантин	0,001-0,1
Рутин	0,01-0,1
Ізофлавононі сої	0,001-0,5
Спермідин HCl	0,0001-0,005
Біотин	0,0001-0,005
Вода	у

необхідній
кількості
до 100.

Приклад 18

Збагачувальний шампунь із зеаксантином, рутином, спермідином та соєвими ізофлавонами.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Магнію лауретсульфат	2-8,5
Натрію лауроїлсаркозинат	2-5,5
Динатрійлауретсульфосукцинат	1-5,5
Гідрогенізований PEG-200	
гліцерилпальмат	1-5,5
Кокамід MIPA	1-5,5
Гліцерин	0,5-1
Парфум	0,5-1
Глікольдистеарат	0,5-1
Кислота лимонна	0,5-1
Лаурет-7	0,5-1
PEG-7-гліцерилкокоат	0,5-1
Бетаїн	0,5-1
Лаурилметилглюцет-10-гідроксипропілдимоніуму хлорид	0,5-1
Полікватерніум-10	0,2-0,5
Натрію гідроксиметилгліцинат	0,2-0,5
Калію ундециленоїл-пшеничний протеїн	0,2-0,5
EDTA тетранатрієва сіль	0,2-0,5
Пантенол	0,2-0,5
Силіконкватерніум-15	0,1-0,5
Амінокислоти шовку	0,1-0,5
Кальцію пантотенат	0,01-0,05
Лаурет-4	0,01-0,05
ВНА	0,01-0,05
Зеаксантин	0,001-0,01
Рутин	0,001-0,01
Спермідин HCl	0,001-0,01
Ізофлавоони сої	0,001-0,5
Біотин	0,0001-0,005

Вода у
необхідній
кількості
до 100.

Приклад 19

Збагачувальний шампунь із зеаксантином, рутином та спермідином.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Магнію лауретсульфат	2-8,5
Натрію лауроїлсаркозинат	2-5,5
Динатрійлауретсульфосукцинат	1-5,5
Епігалокатехін-3-галат	1-5,5
Гідрогенізований PEG-200	
гліцерилпальмат	1-5,5
Кокамід MIPA	1-5,5
Гліцерин	0,5-1
Парфум	0,5-1
Глікольдистеарат	0,5-1
Кислота лимонна	0,5-1
Лаурет-7	0,5-1
PEG-7-гліцерилкокоат	0,5-1
Бетаїн	0,5-1

Лаурилметилглюцет-10-гідроксипропілдимоніуму хлорид	0,5-1
Полікватерніум-10	0,2-0,5
Натрію гідроксиметилгліцинат	0,2-0,5
Калію ундециленоїл-пшеничний протеїн	0,2-0,5
EDTA тетранатрієва сіль	0,2-0,5
Пантенол	0,2-0,5
Силіконкватерніум-15	0,1-0,5
Амінокислоти шовку	0,01-0,05
Кальцію пантотенат	0,01-0,05
Лаурет-4	0,01-0,05
ВНА	0,001-0,01
Зеаксантин	0,001-0,01
Рутин	0,001-0,01
Спермідин HCl	0,001-0,05
Біотин	0,0001-0,005
Вода	у необхідній кількості до 100.

Приклад 20

Збагачувальний лосьйон для волосся із зеаксантином, рутином та спермідиним.

Назва інгредієнта згідно з

INCI	% (мас.)
Спирт	10,5-20
Екстракт <i>Juglans regia</i>	1-4,5
Епігалокатехін-3-галат	0,5-3
Рицинова олія, гідрогенована	
PEG-40	0,1-0,5
Кальцію пантотенат	0,1-0,5
Парфум	0,1-0,5
EDTA динатрієва сіль	0,05-0,1
Кислота лимонна	0,05-0,1
Екстракт листя <i>Ajuga reptans</i>	0,05-0,1
Спермідин HCl	0,1-0,3
Зеаксантин	0,1-0,5
Рутин	0,003-0,05
Біотин	0,002-0,05
Лецитин	0,001-0,05
Полісорбат 80	0,001-0,005
Ізофлавіони сої	0,001-0,5
Вода	у необхідній кількості до 100.

Приклад 21

Збагачувальний шампунь із зеаксантином та спермідиним.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Магнію лауретсульфат	2-8,5
Натрію лауроїлсаркозинат	2-5,5
Динатрійлауретсульфосукцинат	1-5,5
Гідрогенізований PEG-200	
гліцерилпальмат	1-5,5
Кокамід MIPA	1-5,5
Гліцерин	0,5-1
Парфум	0,5-1
Глікольдистеарат	0,5-1
Кислота лимонна	0,5-1

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Лаурет-7	0,5-1
PEG-7-гліцерилкокоат	0,5-1
Бетаїн	0,5-1
Лаурилметилглюцет-10-гідроксипропілдимоніуму хлорид	0,5-1
Полікватерніум-10	0,2-0,5
Натрію гідроксиметилгліцинат	0,2-0,5
Калію ундециленоїл-пшеничний протеїн	0,2-0,5
EDTA тетранатрієва сіль	0,2-0,5
Пантенол	0,2-0,5
Силіконкватерніум-15	0,1-0,5
Амінокислоти шовку	0,1-0,5
Кальцію пантотенат	0,01-0,05
Лаурет-4	0,01-0,05
ВНА	0,01-0,05
Зеаксантин	0,001-0,01
Спермідин HCl	0,001-0,01
Ліналоол	0,001-0,01
Біотин	0,001-0,005
Вода	у необхідній кількості до 100.

Приклад 22

Збагачувальний безповітряний мус із рутином та спермідіном (без зеаксантину).

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Спирт	9,5-20
Екстракт листя <i>Boehmeria pironoviae</i>	1-5,5
Таурин	1-5,5
Гліцерин	1-3,5
Оливкової олії	
амфоацетат натрію	0,5-2
Кальцію пантотенат	0,1-2
Токофероли (α, β, γ)	0,1-2
Полікватерніум-16	0,02-1
EDTA динатрієва сіль	0,02-0,08
Екстракт листя <i>Ajuga reptans</i>	0,02-0,05
Спермідин HCl	0,01-0,5
Рутин	0,1-1
Калію метабісульфіт	0,1-0,5
<i>Vitis vinifera</i>	0,01-0,05
Біотин	0,002-0,05
Кислота лимонна	0,1-0,3
Вода	у необхідній кількості до 100.

Приклад 23

Збагачувальний лосьйон для волосся із зеаксантином та рутином.

Назва інгредієнта згідно з INCI	% (мас.)
Спирт	10,5-20
Екстракт <i>Juglans regia</i>	1-4,5
Рицинова олія, гідрогенована	
PEG-40	0,5-3

Кальцію пантотенат	0,1-0,5
Парфум	0,1-0,5
EDTA динатрієва сіль	0,05-0,1
Кислота лимонна	0,05-0,1
Екстракт листя <i>Ajuga reptans</i>	0,05-0,1
Зеаксантин	0,01-0,5
Рутин	0,1-0,3
Біотин	0,001-0,05
Лецитин	0,002-0,005
Полісорбат 80	0,002-0,005
Ізофлавоної сої	0,001-0,5
Вода	у необхідній кількості до 100.

Короткий опис фігур

Нижче описано експериментальне дослідження ефективності винаходу з посиланнями на діаграми Фіг. 1-4, що додаються.

На фігурах показані графіки зміни (у відсотках) апоптозної активності каспази-3 у присутності активних інгредієнтів за цим винаходом, як описано нижче. Аббревіатури на графіках відповідають визначенням, наведеним нижче у Таблиці А.

Експериментальне дослідження

Матеріали та методи

Дослідження активності каспази-3

Активність каспази-3 оцінювали, застосовуючи колориметричний тест ApoTarget™ Caspase-3/CPP32 з використанням DEVD-pNA як субстрату (BioSource International, Camarillo, CA). DEVD-pNA складається з хромофорної групи (p-нітроаніліду (p-NA) та синтетичного тетрапептиду (DEVD-Asp-Glu-Val-Asp), який представляє повну послідовність, яка відповідає протеолітичному розпаду, який каталізується каспазою-3. Тест виконували, застосовуючи детальні технічні вказівки виробника, з використанням рівної кількості загального протеїну (200 мкг) для кожної проби.

Для кожної проби виконували два паралельні досліді. Активність оцінювали шляхом вимірювання поглинання на довжині хвилі 405 нм (на графіках ABS 405 нм) із застосуванням автоматичного спектрометра для 96-лункових планшетів (MPT Reader DV990 BVG), який виконує подвійне сканування для кожної лунки.

Лізис клітин

Лізис клітин являє собою спосіб, який застосовується для добування всіх протеїнів із вироблених клітин для аналізу. Існують різні методики лізису: методика, застосована в розглянутих у цьому описі експериментальних тестах, полягає у використанні буфера, який спричинює сильне денатурування (лізисний буфер, який постачається з набором для тесту на активність каспази-3). Після інкубування з різними активними інгредієнтами лізисний буфер вміщували на клітинні пластини, після чого використовували вискрібання клітинного шару для збирання максимальної можливої кількості. Екстракцію протеїнів потім посилювали шляхом інкубування на льоду (4°C) протягом 10 хв. Зруйновані клітини осаджували шляхом центрифугування при 10000×g протягом 1 хв. Лізати відділяли та заморожували при -80°C.

Проба на протеїн: метод Лаури-Чокальто (Lowry-Ciocalteau)

Для визначення концентрації протеїнів використовується вимірювання поглинальної здатності речовини щодо монохроматичного світла за допомогою спектрометра. Ця величина є функцією кількості молекул, з якими зустрічається світловий промінь, яка, у свою чергу, залежить від двох чинників: оптичного шляху променя (звичайно застосовують кювету товщиною 1 см) та концентрації досліджуваної речовини. Для виконання визначення будують калібраційну лінію, яка відповідає зміні поглинальної здатності як функції відомої кількості протеїну в стандартних умовах вимірювання. Експериментальні точки мають у межах похибки спостережень лежати на лінії, яка проходить через початок координат. Відкладаючи значення поглинальної здатності для невідомої проби на осі у цієї стандартної кривої, можна визначити відповідну концентрацію речовини у досліджуваній пробі на осі x. Подвійні паралельні проби застосовують як для досліджуваних зразків, так і для стандартної кривої. Стандартна крива будується із застосуванням BSA (бичачого сироваткового альбуміну).

Спектрофотометричний відлік поглинальної здатності виконують на довжині хвилі 605 нм для продукту реакції між реагентом Фолен-Чокальто - розчином вольфрамислової, молібденової та фосфорної кислот - та спиртовими групами протеїнового тирозину у присутності іонів Cu^{2+} .

Хімічною основою утворення кольору є відновлення реагента Фолен-Чокальто під впливом іонів міді.

Оцінювання антиапоптозної активності зеаксантину, рутину та спермідину: інгібування активації каспази-3

5 Антиапоптозний вплив активних інгредієнтів за цим винаходом - зеаксантину, рутину та спермідину - досліджували у клітинах HFDPC-с (випускаються фірмою PromoCell®) у культурі у присутності дермального середовища росту папіл волосяного мішечка (Follicle Dermal Papilla Growth Medium) згідно із вказівками виробника (PromoCell®).

10 Активність каспази-3 оцінювали шляхом застосування колориметричного тесту ApoTargetTMCaspase-3/ CPP32, а концентрацію протеїну оцінювали із застосуванням методу Лаурі-Чокальто та стандартної кривої для BSA, як описано вище.

Результати

15 Індукції апоптозу у клітинах HFDPC-с, про яку свідчить підвищення активності каспази-3, досягали шляхом 24-годинного інкубування клітин зі стауроспорином (1 мкМ), як показано на Фіг. 1.

Активність різних активних інгредієнтів за цим винаходом визначали шляхом їх додання до культури клітин у різних концентраціях, як показано нижче в Таблиці А, безпосередньо після додання стауроспорину (1 мкМ). В цих випадках інкубування виконували також протягом 24 год.

20 Наприкінці інкубування планшети, в яких культивувалися клітини, укладали на шар льоду, промивали один раз PBS, та інкубували в лізисному буфері. Після лізису виконували пробу на протеїн та тест на активність каспази-3.

Таблиця А

Активні інгредієнти, використані у тестах на активність каспази-3

Активний інгредієнт	[мкМ]	[мкг/мл]
Спермідин * (S)	0,1	0,026
	1	0,264
Рутин (R)	2	1,34
	20	13,42
Зеаксантин (Z)	0,4	4,54
	4	45,44
	2	22,72
	1	11,36

* використаний як спермідину тригідрохлорид

25 Вплив на активність каспази-3 оцінювали після інкубування активними інгредієнтами, використаними окремо по одному, як показано на Фіг. 2, та у різних комбінаціях один з одним, як показано на Фіг. 3 (парами) та на Фіг. 4 (триадами).

У Таблиці В наведені дані щодо відсоткової зміни активності каспази-3, досягнутої для індивідуальних активних інгредієнтів та для їх комбінацій, віднесені до 100% активності, для 1 мкМ стауроспорину.

30 У стовпчику для активного інгредієнта, наприклад, для R2, наведені дані для рутину в концентрації 2,2 мкМ; у стовпчику для R20 наведені дані для рутину в концентрації 22 мкМ, і так далі, як вказано вище у Таблиці А, наприклад, R2+S1+Z4 вказує на потрібну комбінацію, в якій рутин присутній у концентрації 2,2 мкМ; спермідин присутній у концентрації 1 мкМ; зеаксантин присутній у концентрації 80 мкМ. Комбінація R2+S1+Z4 відповідає рутину в кількості 2,5 мг чистого активного інгредієнта; спермідину в кількості 0,5 мг чистого активного інгредієнта; зеаксантину в кількості 4 мг чистого активного інгредієнта, з масовим співвідношенням R:S:Z=5:1:8. Аналогічно, S1+R2+Z2 відповідає рутину в кількості 2,5 мг чистого активного інгредієнта; спермідину в кількості 0,5 мг чистого активного інгредієнта; зеаксантину в кількості 2 мг чистого активного інгредієнта, з масовим співвідношенням R:S:Z=5:1:4.

40

Таблиця В

% інгібування активності каспази-3

	Стауроспорин	Активні інгредієнти [мкМ]	Відповідає кількості, мг	% активності каспази-3	% інгібування активності каспази
1	ST 1 мкМ	//	//	100	0
2	ST 1 мкМ	S0,1	0,05	78,36	21,64
3	ST 1 мкМ	S1	0,5	63,10	36,90
4	ST 1 мкМ	R2	2,5	67,90	32,10
5	ST 1 мкМ	R20	25	53,73	46,27
6	ST 1 мкМ	Z0,4	0,4	71,00	29,00
7	ST 1 мкМ	Z4	4	86,80	13,20
8	ST 1 мкМ	R2+Z0,4	2,5+0,4	71,67	28,33
9	ST 1 мкМ	R2+S0,1	2,5+0,05	57,68	42,32
10	ST 1 мкМ	R20+Z0,4	25+0,4	65,87	34,13
11	ST 1 мкМ	R20+Z4	25+4	40,95	59,05
12	ST 1 мкМ	S0,1+Z0,4	0,05+0,4	64,84	35,16
13	ST 1 мкМ	S0,1+Z4	0,05+4	54,61	45,39
14	ST 1 мкМ	S1+R20	0,5+25	75,09	24,91
15	ST 1 мкМ	S1+Z0,4	0,5+0,4	71,67	28,33
16	ST 1 мкМ	S1+Z4	0,5+4	62,11	37,89
17	ST 1 мкМ	R2+Z4	2,5+4	54,89	45,11
18	ST 1 мкМ	R20+S0,1	25+0,05	60,14	39,86
19	ST 1 мкМ	R2+S0,1+Z0,4	2,5+0,05+0,4	48,25	51,75
20	ST 1 мкМ	R2+S0,1+Z4	2,5+0,05+4	51,70	48,30
21	ST 1 мкМ	R20+S0,1+Z0,4	25+0,05+0,4	49,60	50,40
22	ST 1 мкМ	R20+S0,1+Z4	25+0,05+4	40,21	59,79
23	ST 1 мкМ	R2+S1+Z0,4	2,5+0,5+0,4	44,70	55,30
24	ST 1 мкМ	R2+S1+Z4	2,5+0,5+4	46,80	53,20
25	ST 1 мкМ	R20+S1+Z0,4	25+0,5+0,4	68,53	31,47
26	ST 1 мкМ	R20+S1+Z4	25+0,5+4	61,53	38,47
27	ST 1 мкМ	R2+S1+Z2	2,5+0,5+2	48,40	51,60
28	ST 1 мкМ	R2+S1+Z1	2,5+0,5+1	47,30	52,70

Примітки:

ST - стауроспорин

Z - зеаксантин

R - рутин

S - спермідину тригідрохлорид

Обговорення

З розгляду поданої вище Таблиці В та діаграм для детального оцінювання активності впливає таке:

5 - Деякі пари активних інгредієнтів (наприклад, пара S0,1+Z4) мають вищу ефективність і переважають за антиапоптозною активністю індивідуальні активні інгредієнти у тих самих концентраціях, виявляючи тим самим синергію.

10 - Серед випробуваних пар найвищий відсоток (%) інгібування зареєстрований для пари зеаксантин + рутин (дивись R20+Z4, яка забезпечує інгібування 59,05%).

- У варіанті потрібних комбінацій особливо вирізняється активність триади R+S+Z, оскільки зеаксантин, доданий до пари R+S, підвищує відсоток (%) активності інгібування каспази порівнянню мірою навіть у низьких концентраціях, дивись, наприклад, варіант Z0,4 (50,4% інгібування) та Z4 (59,79% інгібування) у потрібних комбінаціях з парою R20+S0,1.

15 - Таким чином, серед активних інгредієнтів спостерігається синергія навіть незалежно від їх підвищених концентрацій.

Клінічне дослідження для лікування андрогенетичної алопеції та телогенної алопеції (telogen

effluvium)

Обґрунтування

Виходячи з оцінок, поданих вище, композицію за цим винаходом піддали клінічному дослідженню з метою оцінювання її здатності до регулювання старіння клітин та процесів апоптозу у волосяних мішечках, які індукують втрату волосся у людей.

При трихологічних захворюваннях, таких як андрогенетична алопеція, телогенна алопеція та вогнищева алопеція, різні клітинні компоненти, які складають волосяний мішечок, зазнають процесу апоптозу, індукованого зміною механізмів клітинної регуляції, в тому числі систем міжклітинного обміну сигналами (щільних контактів) та ініціації каспазного каскаду всередині ДНК.

Це передчасне старіння дермальних папіл волосяного мішечка, провоковане оксидативним стресом, комбінується з різними специфічними чинниками, зокрема, із взаємодією з фолікулярними андрогенними рецепторами при андрогенній алопеції у чоловіків та жінок.

Матеріали та методи

Було проведено відкрите клінічне дослідження на 50 особах (26 жінок, 24 чоловіки), які страждали на телогенну алопецію та чоловічу та жіночу андрогенетичну алопецію.

До дослідження залучали здорових добровольців у віці 20-45 років, які страждали на андрогенетичну алопецію та телогенну алопецію, обраних відповідно до стандартизованих критеріїв залучення та виключення з досліджень цього типу (відсутність внутрішніх та ендокринних захворювань, вагітності, припущень застосування ендокринологічних лікарських засобів або ендокринологічних методів терапії, одночасної системної або місцевої трихологічної терапії менш ніж за 6 місяців до початку дослідження).

Дослідження проводили за відкритою методикою шляхом вживання таблеток композиції за цим винаходом із вмістом R2+S1+Z2, що відповідало кількості чистого активного інгредієнта рутину 2,5 мг; кількості чистого активного інгредієнта спермідину тригідрохлориду 0,5 мг; чистого активного інгредієнта зеаксантину 2 мг при масовому співвідношенні R:S:Z=5:1:4.

Кожний учасник дослідження одержував композицію в дозі, необхідній для лікування протягом 3 місяців.

Характеристики учасників на момент початкового відбору показані в Таблиці С.

Таблиця С

Кількість учасників	50
Вік (середня кількість років)	34±0,3
Вік, в якому учасник починав втрачати волосся (середня кількість років)	22±0,5
% учасників, в родині яких в минулому мала місце андрогенетична алопеція	28

Клінічне оцінювання

Для визначення діагнозу та ступеня андрогенної та телогенної алопеції та уточнення оцінки погіршення стану було виконано клінічне оцінювання, починаючи з моменту залучення, або базового рівня, до проміжного моменту та кінцевого моменту контролю, за такими критеріями:

T₀ - базовий рівень;

T₁ - проміжний контроль

T₂ - кінцевий контроль

Оцінювання проводили за стандартною шкалою оцінок, застосовуваною в більшості клінічних досліджень цього типу:

Сильне погіршення (-3)

Сильне покращення (+3)

Помірне погіршення (-2)

Помірне покращення (+2)

Незначне погіршення (-1)

Незначне покращення (+1)

Без змін (0)

Параметрами, застосованими для клінічного оцінювання, були: оцінка відсотка анагену, визначеного дерматоскопією, діаметр стрижня волоса та тест на виривання для оцінювання ступеня відділення волоса з волосистої частини шкіри голови. Відсоток фолікулів у фазі анагену визначали методом дерматоскопії, який вважається найбільш надійним та найменш інвазивним. Діаметр стрижня волоса вимірювали в моменти часу T₀, T₁ та T₂. Діаметр стрижня вказує на клінічний стан розвитку андрогенетичної алопеції, і його зменшення є одним із характерних для цього захворювання симптомів. Діаметр стрижня волоса є також показником стану

захворювання волосяного мішечка, який вказує на апоптозний процес у дермальній папілі та епітеліальних компонентах матриці.

Збільшення фази анагену: у присутності трихологічної патології фаза анагену у волосяних мішечках має тенденцію до скорочення внаслідок модифікації механізмів регулювання тривалості фаз циклу розвитку волоса. Скорочення анагену визначає більш швидкий перехід волосяного мішечка у прогресивні фази некрозу клітин (катаген, телоген), які індукуються процесами апоптозу клітин (головним чином, через індукцію каспазного каскаду).

З цієї причини збільшення фази анагену під час трихологічної терапії є явним індикатором позитивного впливу речовин, які вживають для подовження життя клітин волосяного мішечка.

Нарешті, оцінка тесту на виривання характеризує інтенсивність втрати волосся за визначенням кількості волосся, зібраного після витягання оператором з певним зусиллям волосся, яке втратило адгезію з дермальним та епідермальним шарами. Що більшою є кількість волосся, видаленого після кожного виривання, то сильнішою є інтенсивність втрати волосся. Зменшення кількості волос, вирваних у тесті, вказує на зменшення втрати волосся.

Нарешті, проводилося оцінювання впливу на шкіру або системних побічних ефектів шляхом дерматологічного випробування та інші дослідження, які вважалися необхідними.

Результати

Усереднені дані, одержані на базовий момент часу (T_0), наведені нижче в Таблиці D.

Таблиця D

Діаметр стрижня волоса (середній, мм)	0,5
Анаген (в середньому)	65%
Клінічна оцінка (% покращення)	=
Тест на виривання (середня оцінка)	3

Усереднені дані, одержані на проміжний момент часу (T_1), наведені нижче в Таблиці E.

Таблиця E

Діаметр стрижня волоса (середній, мм)	0,7
Анаген (в середньому)	72%
Клінічна оцінка (% покращення)	70%
Збільшення діаметра волоса (кількість учасників)	35 (70%)
Тест на виривання (середня оцінка)	1

Усереднені дані, одержані на кінцевий момент часу (T_2), наведені нижче в Таблиці F.

Таблиця F

Діаметр стрижня волоса (середній, мм)	0,8
Анаген (в середньому)	84%
Клінічна оцінка (% покращення)	88%
Збільшення діаметра стрижня волоса (кількість учасників)	43 (86%)
Тест на виривання (середня оцінка)	0

Ці дані посвідчують покращення всіх оцінюваних параметрів у пацієнтів, підданих лікуванню композицією за цим винаходом.

Зокрема:

Збільшення діаметра стрижня волоса є статистично значущим, змінюючись від середнього значення 0,5 мм (на середині волоса) у момент часу T_0 до 0,8 мм (на середині волоса) у момент часу T_2 , що є показником впливу подовження фази анагену дермальних папіл (62% збільшення діаметра стрижня). Цей результат був досягнутий у 86% осіб, яких лікували композицією за цим винаходом. Цікаво також зазначити, що позитивна реакція була досить швидкою: 70% оцінки клінічного покращення та 35 осіб з 50 (70%) вже у момент часу T_1 .

У цьому зв'язку середня тривалість фази анагену у пацієнтів, яких піддавали лікуванню, була 65% у момент T_0 , змінюючись на 72% у момент T_1 (+6,9%) і на 84% у момент T_2 (+22,6%).

Кінцевий висновок дерматологічного клінічного оцінювання відображає одержані результати. Загальне покращення за оцінками визначається як значне, і помірне покращення

досягнуто у 86% пацієнтів. Якщо незначне покращення також вважати позитивним результатом, то відсоток осіб, які одержали корисний результат від лікування композицією за цим винаходом, досягає 92%. Результати клінічного покращення наведені нижче в Таблиці G.

Таблиця G

	Кількість осіб
Значне покращення	27
Помірне покращення	16
Незначне покращення	3
Без змін	1
Незначне погіршення	2
Значне погіршення	1

5

Тест на виривання: дані свідчать про різке зменшення втрати волосся у 43 з 50 тестованих осіб (86%). Середні результати тестів наведені нижче в Таблиці H:

Таблиця H

Тест на виривання	T ₀	T ₁	T ₂
Оцінка	3	1	0

- 0 - нема втрати
- 1 - мінімальна втрата
- 2 - значна втрата
- 3 - сильна втрата

10

Обговорення

Дані, одержані з клінічного дослідження, наведені вище, свідчать про помітне покращення параметрів, які вважаються значущими для оцінювання трихологічного захворювання, а саме:

- збільшення діаметра волоссяного стрижня;
- зміну тривалості фази анагену;
- клінічне покращення дерматологічних характеристик;
- покращення результатів тесту на виривання.

15

Збільшення діаметра волоссяного стрижня було значущим у 86% осіб яких піддавали лікуванню, що свідчить про покращення стану волоссяного мішечка та подовження фази анагену, а також про збільшення відсотка волоссяних мішечків у стані анагену наприкінці лікування.

20

Покращення результатів тесту на виривання також є очевидним, про що свідчить зменшення середньої оцінки від 3 в момент T₀ до середньої оцінки 0 у момент T₂ у 86% осіб, тестованих під час дослідження.

25

Нарешті, у пацієнтів, яких піддавали лікуванню, не виявлені будь-які системні побічні ефекти.

Таким чином, композиція за цим винаходом є цінним терапевтичним засобом при андрогенетичній алопеції та телогенній алопеції.

30

Для доповнення клінічних результатів, одержаних та описаних вище, нижче наведена Таблиця L для порівняння з вищезазначеними даними для композиції за винаходом (R2+S1+Z2) з відповідними результатами, одержаними в аналогічному клінічному дослідженні з застосуванням відомої композиції (EP 1469843 тих самих заявників), що містить як активний інгредієнт лише 0,5 мг на таблетку спермідину, позначеного як S1 в Таблиці L.

Таблиця L

	T ₀	T ₁	T ₂
% волосяних мішечків у фазі анагену			
S1	59%	64%	71%
R2+S1+Z2	65%	72%	84%
Тест на виривання			
S1	1,8	0,1	0,2
R2+S1+Z2	3	1	0
Зміна анагену			
S1	=	+8%	+20%
R2+S1+Z2	=	+11%	+29%
Зміна тесту на виривання			
S1	=	-94%	-89%
R2+S1+Z2	=	-67%	-100%

T₀ - базовий рівень

T₁ - проміжний контроль

T₂ - кінцевий контроль

Це порівняння свідчить про значне покращення усіх згаданих параметрів, описаних вище, при застосуванні композиції за цим винаходом.

5

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- Застосування зеаксантину або окремо, або в комбінації з рутином або спермідіном, або в комбінації з рутином та спермідіном, для лікування розладів на волосистій частині шкіри голови, в тому числі спричиненої хіміотерапією алопеції, вогнищевої алопеції, андрогенної алопеції та телогенної алопеції.
- Застосування зеаксантину або окремо, або в комбінації з рутином або спермідіном, або в комбінації з рутином та спермідіном, для виготовлення фармацевтичної або косметичної композиції для перорального або місцевого застосування для лікування розладів на волосистій частині шкіри голови, в тому числі спричиненої хіміотерапією алопеції, вогнищевої алопеції, андрогенної алопеції та телогенної алопеції.
- Застосування за п. 2, яке відрізняється використанням у згаданій композиції зеаксантину та рутину.
- Застосування за п. 3, яке відрізняється використанням у згаданій композиції зеаксантину у кількості від 0,2 мг до 10 мг та рутину в кількості від 0,5 мг до 25 мг.
- Застосування за п. 2, яке відрізняється використанням у згаданій композиції зеаксантину, рутину та спермідину.
- Застосування за п. 5, яке відрізняється використанням у згаданій композиції зеаксантину у кількості від 0,2 мг до 10 мг, рутину в кількості від 0,5 мг до 25 мг та спермідину у кількості від 0,05 до 0,5 мг.
- Застосування за п. 5, яке відрізняється використанням у згаданій композиції зеаксантину, рутину та спермідину у масовому співвідношенні 4:5:1, відповідно.
- Застосування за п. 2, яке відрізняється застосуванням у згаданій композиції зеаксантину та спермідину.
- Застосування за п. 8, яке відрізняється застосуванням у згаданій композиції зеаксантину у кількості від 0,2 мг до 10 мг та спермідину у кількості від 0,05 до 0,5 мг.
- Фармацевтична або косметична композиція для лікування розладів на волосистій частині шкіри голови, в тому числі спричиненої хіміотерапією алопеції, вогнищевої алопеції, андрогенної алопеції та телогенної алопеції, яка **відрізняється** тим, що вона містить як активний інгредієнт зеаксантин (або окремо, або в комбінації з рутином чи спермідіном, або в

комбінації з рутином та спермідином), а також наповнювачі для місцевого нанесення на волосисту частину шкіри голови.

11. Композиція за п. 10, яка **відрізняється** тим, що вона містить 0,0005-1 % (мас.) зеаксантину.

12. Композиція за п. 10, яка **відрізняється** тим, що вона містить 0,0005-1 % (мас.) зеаксантину та 0,0001-1 % (мас.) спермідину тригліцеролу.

13. Композиція за п. 10, яка **відрізняється** тим, що вона містить 0,0005-1 % (мас.) зеаксантину, 0,0005-1 % (мас.) рутин та 0,0001-1 % (мас.) спермідину тригліцеролу.

14. Фармацевтична, дієтологічна або косметична композиція для перорального або місцевого застосування для лікування розладів на волосистій частині шкіри голови, в тому числі спричиненої хіміотерапією алопеції, вогнищевої алопеції, андрогенної алопеції та телогенної алопеції, яка **відрізняється** тим, що вона містить як активний інгредієнт лише зеаксантин.

15. Фармацевтична, дієтологічна або косметична композиція для перорального або місцевого застосування для лікування розладів на волосистій частині шкіри голови, в тому числі спричиненої хіміотерапією алопеції, вогнищевої алопеції, андрогенної алопеції та телогенної алопеції, яка **відрізняється** тим, що вона містить як активний інгредієнт зеаксантин у комбінації або зі спермідином, або з рутином та спермідином.

16. Композиція за п. 15, яка **відрізняється** тим, що вона містить зеаксантин у кількості від 0,2 мг до 10 мг, рутин у кількості від 0,5 мг до 25 мг та спермідин у кількості від 0,05 мг до 0,5 мг.

17. Композиція за п. 15, яка **відрізняється** тим, що вона містить зеаксантин, рутин та спермідин у масовому співвідношенні 4:5:1, відповідно.

18. Композиція за п. 15, яка **відрізняється** тим, що вона містить зеаксантин та спермідин.

19. Композиція за п. 18, яка **відрізняється** тим, що вона містить зеаксантин у кількості від 0,2 мг до 10 мг та спермідин у кількості від 0,05 мг до 0,5 мг.

20. Композиція за п. 15, яка **відрізняється** тим, що вона включає на одиницю для перорального застосування 2 мг зеаксантину, 2,5 мг рутину та 0,285 мг спермідину (що відповідає 0,5 мг спермідину тригліцеролу).

Індукція активності каспази-3 у присутності стауроспорину (1 мкМ)

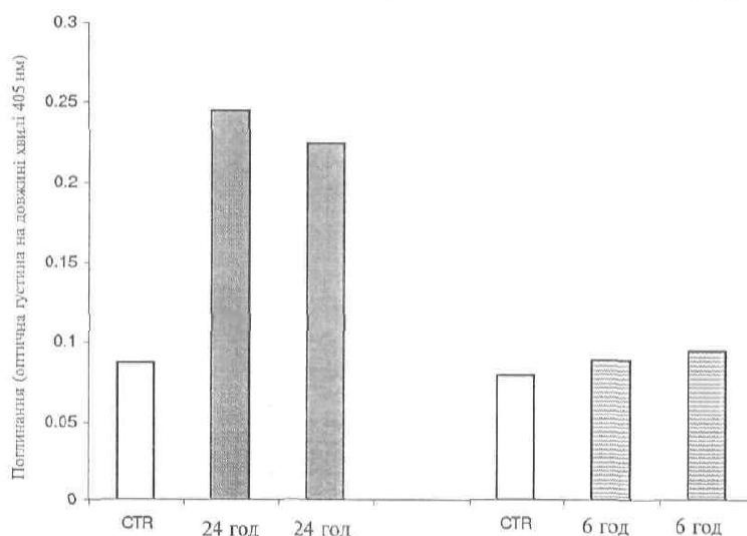
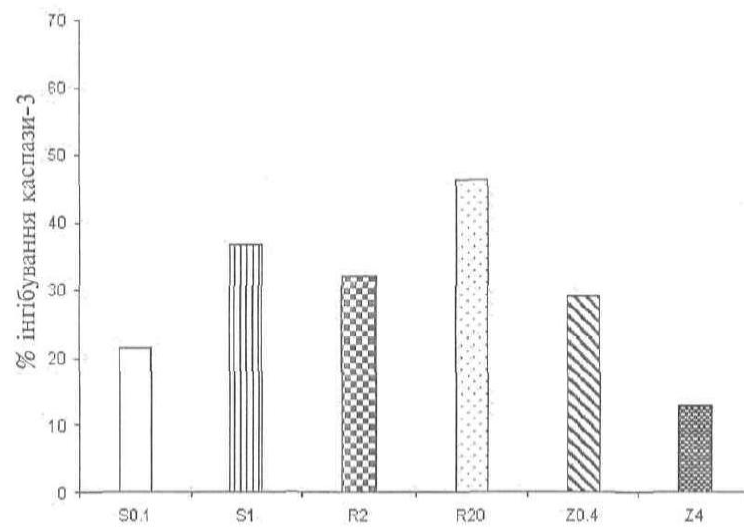


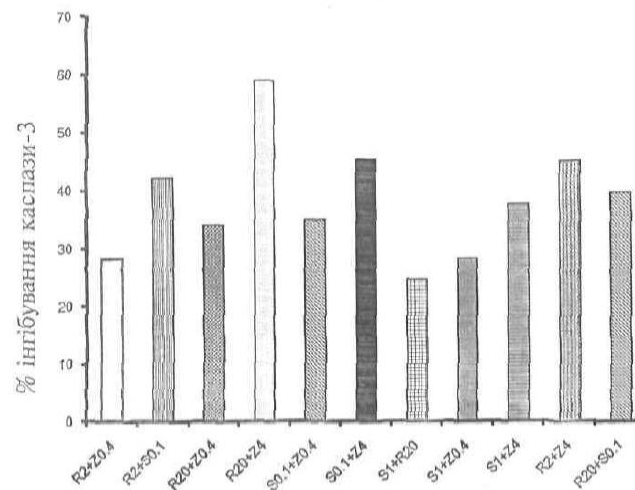
Fig. 1

Антиапоптозна дія активних інгредієнтів, застосовуваних окремо



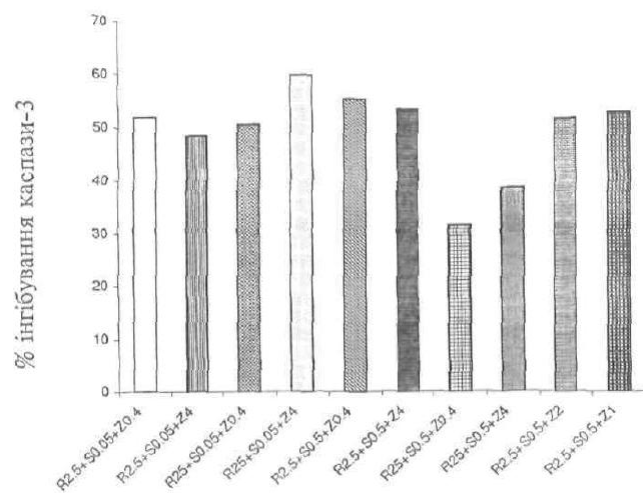
Фіг.2

Антиапоптозна дія активних інгредієнтів, застосовуваних у подвійних комбінаціях



Фіг.3

Антиапоптозна дія активних інгредієнтів, застосовуваних у потрібних комбінаціях



Фіг.4

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601