

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4689393号
(P4689393)

(45) 発行日 平成23年5月25日(2011.5.25)

(24) 登録日 平成23年2月25日(2011.2.25)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 8/49 (2006.01) A 6 1 K 8/49
A 6 1 Q 5/12 (2006.01) A 6 1 Q 5/12
A 6 1 Q 5/00 (2006.01) A 6 1 Q 5/00

請求項の数 6 (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願2005-220504 (P2005-220504)	(73) 特許権者	000001959
(22) 出願日	平成17年7月29日 (2005.7.29)		株式会社資生堂
(65) 公開番号	特開2007-31405 (P2007-31405A)		東京都中央区銀座7丁目5番5号
(43) 公開日	平成19年2月8日 (2007.2.8)	(74) 代理人	100099759
審査請求日	平成19年11月15日 (2007.11.15)		弁理士 青木 篤
		(74) 代理人	100077517
			弁理士 石田 敬
		(74) 代理人	100087871
			弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100087413
			弁理士 古賀 哲次
		(74) 代理人	100117019
			弁理士 渡辺 陽一
		(74) 代理人	100082898
			弁理士 西山 雅也

最終頁に続く

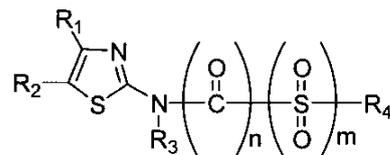
(54) 【発明の名称】 毛髪はり・こし改善剤および毛髪用化粧品

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記一般式(1)で示される2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を有効成分とする毛髪はり・こし改善剤

【化1】



(1)

(一般式(1)中、R₁、R₂、R₃及びR₄は、それぞれ独立に水素原子、直鎖または分岐の炭素数1~8のアルキル基、直鎖または分岐の炭素数2~8のアルケニル基、炭素数3~8のシクロアルキル基、炭素数7~10のアラルキル基、炭素数6~14のアリール基、5~14員のヘテロアリール基を表し、n及びmは0または1を表す。但し、nが1の

時、 m は0、 R_3 は水素原子またはメチル基であり、 m が1の時、 n は0、 R_3 は水素原子またはメチル基である。)

【請求項2】

一般式(1)中の R_2 が水素原子である、請求項1記載の毛髪はり・こし改善剤。

【請求項3】

2-アミノチアゾール誘導体が、2-アミノチアゾール、2-アセトアミドチアゾール及び2-アセトアミド-4-メチルチアゾールからなる群から選択される、請求項1又は2記載の毛髪はり・こし改善剤。

【請求項4】

2-アセトアミドチアゾール及び2-アセトアミド-4-メチルチアゾールからなる群から選択される2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を有効成分とする毛髪用化粧料。

10

【請求項5】

請求項1記載の2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を毛髪または頭皮に適用することを含んでなる毛髪はり・こし改善方法。

【請求項6】

請求項4記載の2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を水相又は油相に添加して毛髪用化粧料を製造することを特徴とする毛髪用化粧料の製造方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、毛髪のはり・こしを改善する薬剤および該薬剤を含有する毛髪用化粧料に関し、より詳しくは、毛髪・毛包の細胞を賦活化することにより、更に詳しくは、毛髪関連遺伝子の発現を上昇することにより、毛髪のはり・こしを改善する薬剤および該薬剤を含有する毛髪用化粧料に関する。

【背景技術】

【0002】

毛髪に関する悩みとしては、薄毛、抜け毛といった毛根、毛包の健康状態に関わるものと、硬い、柔らかい、はり・こしが無い、枝毛、くせ毛、パサツクといった毛髪の物性に関わるものがある。また、毛髪の物性に関わる悩みであっても、外的要素に起因するダメージ、例えばパーマ剤やブリーチ剤処理、紫外光暴露、大気汚染物質暴露、コーミング摩擦など、毛髪に対する直接的なダメージによるものと、毛幹形成における内的要素が関与する場合とが考えられる。後者の場合におけるヘアケアでは、毛髪の質の改善を図るだけでなく、毛根、毛包自体の健康状態を良好にする手当てが必要とされる。従って、一口に毛質の状態が良くないといっても、そのケア方法はその原因により様々である。

30

【0003】

毛髪自体はその表面を覆うキューティクル(毛小皮)、その内部にあって毛髪の大部分を占める毛皮質及び中心部の毛髄質から構成される。毛髪の硬さやはり・こし感にはキューティクルが大きく寄与していることが明らかにされている(曾我部敦他、J. Soc. Cosmet. Chem. Japan, Vol. 36, No. 3 (2002) pp. 207-216「毛髪物性に関する研究1-毛髪の短径・長径測定と曲げ応力評価法」)。キューティクルは酸性ヘアケラチンHa1、Ha2、塩基性ケラチンHb1、Hb2などの繊維タンパク質や修飾酵素、例えばトランスグルタミナーゼ、ペプチジルアルギニンディミナーゼ、さらには顆粒成分トリコヒアリンS100など、様々な成分から構成されることまでは知られている。しかしながら、これら各成分と毛質、例えば毛髪のはりやこしとの関係については十分に解明されていない。毛質を左右するメカニズムが生化学・分子生物学レベルにおいて十分に解明されれば、既存の毛質改善剤に比べ一層顕著な効果を奏するものの提供が可能となり得る。

40

50

【 0 0 0 4 】

毛髪にはり・こしを付与するとされる従来の毛髪用化粧品としては、例えば、特開平 1 1 - 3 0 2 1 2 9 号（特許文献 1）に記載されているような、反応性官能基が結合したシリル基を有する共重合体を配合した毛髪処理用組成物であって、毛髪上で加水分解によってシロキサン結合 Si-O-Si を形成し、これにより共重合体分子間を架橋せしめることにより、毛髪にはりとこしを付与するものがある。しかしながら、これらの従来の毛髪用化粧品は、毛髪の表面にコーティングされるものであって、毛髪に浸透し又は毛包に吸収されて毛髪・毛包の細胞を賦活化することにより毛髪のはり・こしを改善するものではない。

【 0 0 0 5 】

他方、タウリンを有効成分とする細胞賦活剤が特開 2 0 0 2 - 9 7 1 1 6 号（特許文献 2）に、N - メチルタウリンを有効成分とする細胞賦活剤および毛髪はり・こし改善剤が国際公開 W O 2 0 0 2 / 0 3 4 2 5 3 号公報（特許文献 3）にそれぞれ記載されている。これらの薬剤の作用効果として、細胞増殖の活性化による、毛髪細胞コントロール、毛髪成長期延長、毛髪細胞増殖の活性化、毛髪はり・こし改善が記載されているが、ここでの毛髪はり・こし改善効果は、依然として、毛髪の物性試験（ねじりトルク）により評価されている。従って、生化学・分子生物学レベルでの活性評価に基づく新規な毛髪はり・こし改善剤が求められている。

【 0 0 0 6 】

【特許文献 1】特開平 1 1 - 3 0 2 1 2 9 号公報

【特許文献 2】特開 2 0 0 2 - 9 7 1 1 6 号公報

【特許文献 3】W O 2 0 0 2 / 0 3 4 2 5 3 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 7 】

本発明は、生化学・分子生物学レベルでの活性評価に基づく新規な毛髪はり・こし改善剤を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 8 】

本発明者は、毛髪のはり・こし（その尺度となる硬さ、より詳しくはヤング率）と毛髪関連遺伝子の発現との相関関係を調べたところ、ヘアケラチン遺伝子、特にヘアケラチン H a 2 遺伝子、ヘアケラチン H b 2 遺伝子及び / 又はケラチン関連タンパク質 K A P 5 . 1 ~ 5 の各遺伝子の発現が亢進するほど、より好ましくはヘアケラチン H a 2 遺伝子、K A P 5 . 1 遺伝子、K A P 5 . 2 遺伝子又は K A P 5 . 4 遺伝子の発現が亢進するほど、毛髪のヤング率が高くなる、即ち毛髪にはり、こし感がでることを見出して、「ヘアケラチン遺伝子を指標とした毛質評価方法」についての特許出願を行っている（特願 2 0 0 4 - 1 6 4 5 9 6 号）。

【 0 0 0 9 】

本発明者は、今般、各種の薬剤が毛髪関連遺伝子の発現に及ぼす効果を評価するためのアッセイ系を新たに構築し、このアッセイ系を用いて、種々の化合物が毛髪関連遺伝子の発現に及ぼす効果について鋭意検討したところ、特定の 2 - アミノチアゾール誘導体に毛髪関連遺伝子の発現を上昇する効果があることを見出し、本発明を完成するに至った。

【 0 0 1 0 】

即ち、本発明は、下記一般式（ 1 ）で示される 2 - アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される 1 種以上の化合物を有効成分とする毛髪はり・こし改善剤に関する。

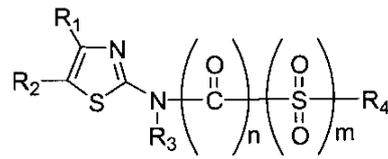
10

20

30

40

【化1】



(1)

10

(一般式(1)中、 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 は、それぞれ独立に水素原子、直鎖または分岐の炭素数1~8のアルキル基、直鎖または分岐の炭素数2~8のアルケニル基、炭素数3~8のシクロアルキル基、炭素数7~10のアラルキル基、炭素数6~14のアリール基、5~14員のヘテロアリール基を表し、 n 及び m は0または1を表す。但し、 n が1の時、 m は0、 R_3 は水素原子またはメチル基であり、 m が1の時、 n は0、 R_3 は水素原子またはメチル基である。)

【0011】

本発明はまた、上記一般式(1)(但し、 R_2 は水素原子である)で示される2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を有効成分とする毛髪用化粧料に関する。

20

【0012】

本発明はまた、2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を含んでなる毛髪用化粧料を毛髪または頭皮に適用することを含んでなる毛髪はり・こし改善方法に関する。

【0013】

本発明はまた、2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を水相又は油相に添加して毛髪用化粧料を製造することを特徴とする毛髪用化粧料の製造方法に関する。

【発明の効果】

30

【0014】

本発明の毛髪はり・こし改善剤および毛髪用化粧料の有効成分である2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩は、毛髪または頭皮に使用されることにより、毛髪に浸透し又は毛包に吸収されて、細胞内でケラチン関連タンパク質KAP5の発現を亢進し、毛髪のはり・こしを改善し得る。

【発明を実施するための最良の形態】

【0015】

本発明は、毛髪・毛包の細胞を賦活化することにより、より詳しくは毛髪関連遺伝子の発現を上昇させることにより、毛髪のはり・こしを改善する薬剤および毛髪用化粧料に関するものであり、生化学・分子生物学レベルでの活性評価に基づく、より詳しくはケラチン関連タンパク質KAP5遺伝子の発現調節効果のアッセイに基づく新規な毛髪はり・こし改善剤および毛髪用化粧料を提供するものである。

40

【0016】

本発明者は、既に出願した特願2004-164596号「ヘアケラチン遺伝子を指標とした毛質評価方法」において、毛髪の硬さと毛髪から抽出される各種遺伝子との相関性を調べるため、毛髪の硬さの指標であるヤング率を測定し、その測定結果と各種遺伝子のRT-PCRにより測定した発現量との関係をSpearmanの順位相関係数を用い、統計学的に分析した(Zar, J.H.J.Amer.Stat.Assoc.67:578~580, 1970「Significance testing of the Spearman rank correlation coefficient」)。その結果、毛髪のヤング率は、ヘアケラチンHa2、KAP5.1、KAP5.2、KAP5.4遺伝子の発現量が多いと統

50

計学的に有意に高まることを見出した。また、ヘアケラチンH b 2 遺伝子の発現量が多い場合も、統計学的に有意ではないが、毛髪のヤング率が高まることを見出した。一方で、毛皮質のその他の構成タンパク質、例えばヘアケラチンH a 1 については、毛髪の硬さとの間で相関性はなかった。従って、毛皮質と比較して、キューティクル構成タンパク質や関連遺伝子が毛髪の硬さに関与する割合が高いことが示唆された。

【 0 0 1 7 】

ヘアケラチンH a 2 遺伝子 (NCBI GenBANK Source 「X90761」) はケラチン遺伝子ファミリーの一構成員である酸性タンパク質をコードする。ヘアケラチンH a 2 はI型ヘアケラチンであり、II型ケラチンとヘテロ二量化して毛髪や爪などを構成する。I型ヘアケラチンは染色体第17q12-q21領域に位置する。

10

【 0 0 1 8 】

ヘアケラチンH b 2 遺伝子 (NCBI GenBANK Source 「Y19207」) はケラチン遺伝子ファミリーの一構成員である塩基性タンパク質をコードする。ヘアケラチンH b 2 はII型ヘアケラチンであり、I型ケラチンとヘテロ二量化して毛髪や爪などを構成する。II型ヘアケラチンは染色体第12q13領域に位置する。

【 0 0 1 9 】

ヒトケラチン関連タンパク質 (K A P) 5 ファミリーに属するK A P 5 . 1 ~ 5 遺伝子 (配列番号 1 ~ 5) (Homo sapiens genomic DNA, chromosome 11 clone:RP11-684B2, complete sequences. ACCESSION:AP000867) は塩基配列のみ既知のヒトESTであり、機能に関する報告はされていない。K A P 5 . 1 ~ 5 遺伝子の発現の亢進と毛髪の硬さとの関係は不明であった。特に何らかの理論に拘束されるわけではないが、例えばK A P 5 . 2 遺伝子によりコードされる推定タンパク質はシステインリッチであり (約35.5%)、また低分子アミノ酸であるグリシンとセリンを豊富に含む (それぞれ18.8%及び24.2%) アミノ酸 1 8 6 個からなるため、 α -ヘリックスなどの二次構造を形成せず、ケラチン繊維の間に容易に入り込むことができ、また多数セリン残基のOH基による多数の水素結合の形成も考えられるため、毛髪の機械的強度に大きく寄与している可能性がある。他のK A P 5 遺伝子も同様にシステイン、グリシン、セリンを豊富に含み、発現生成物はK A P 5 . 2 と同様の構造を有し、毛髪の機械的強度に大きく寄与すると考えられる。下記の表 1 にK A P 5 . 1 ~ 5 遺伝子推定コードタンパク質の一部アミノ酸組成を示す。

20

【 0 0 2 0 】

30

【表 1】

ヒトKAP5.xの特性

	aa residues	MW(kDa)	pI	contents			
				Cys	Ser	Gly	Pro
KAP5.1	164	15.0	8.06	59 36.0%	35 21.3%	37 12.6%	8 4.9%
KAP5.2	186	17.4	8.30	66 35.5%	45 24.2%	35 18.8%	10 5.4%
KAP5.3	168	16.1	8.34	60 35.7%	39 23.2%	27 16.1%	10 6.0%
KAP5.4	201	17.9	8.20	66 32.8%	37 18.4%	59 29.4%	8 4.0%
KAP5.5	155	14.5	8.17	55 35.5%	35 22.6%	30 19.4%	8 5.5%

10

20

【0021】

KAP5.1～5.5 遺伝子（配列番号 1～5）はヒトケラチン関連タンパク質 KAP5 ファミリーに属する、互いに相同性の比較的高い遺伝子群である。各遺伝子によりコードされる推定タンパク質のアミノ酸配列同士の相同性の高さは、図 4 及び下記の表 2 から明らかである。

30

【0022】

【表 2】

ヒトKAP5.x-アミノ酸配列の相同性ー

	KAP5.1	KAP5.2	KAP5.3	KAP5.4
KAP5.2	86			
KAP5.3	72	74		
KAP5.4	69	68	52	
KAP5.5	81	70	72	63

10

20

【0023】

本発明者は、毛髪の硬さ（ヤング率）との相関性が認められたヘアケラチンHa2、Hb2遺伝子、ヒトケラチン関連タンパク質KAP5.1、KAP5.2、KAP5.4遺伝子のうち、特にKAP5.1遺伝子について、この毛髪関連遺伝子の発現に各種薬剤が及ぼす効果を評価するためのレポーターアッセイ系を新たに構築した。このアッセイ系を用いて、種々の化合物がKAP5.1遺伝子の発現に及ぼす効果について鋭意検討した。その結果、2-アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩にKAP5.1遺伝子の発現を上昇する効果があることを見出した。

【0024】

先に記載のとおり、KAP5.1～5.5遺伝子（配列番号1～5）はヒトケラチン関連タンパク質KAP5ファミリーに属する、互いに相同性の比較的高い遺伝子群である。また、図3から分かるように、KAP5.1遺伝子のプロモーター領域の配列と他のKAP5.2～5.5遺伝子のプロモーター領域の配列とは互いに非常に近似しており、その制御機構は同等である可能性が高い。従って、KAP5.1遺伝子の発現を亢進する薬剤は他のKAP5遺伝子の発現も亢進している可能性が非常に高いと考えられる。

30

【0025】

さらに、先に記載のとおり、KAP5.1遺伝子の発現量が多いほど毛髪のヤング率が統計学的に有意に高まることから、KAP5.1遺伝子の発現を上昇する薬剤は毛髪の硬さを向上し、毛髪のはり・こしを改善する。

40

【0026】

本発明の2-アミノチアゾール誘導体は公知の化合物で容易に入手することができる。また、容易に入手できる2-アミノチアゾール等から公知の方法により容易に合成することができる。

【0027】

本発明の2-アミノチアゾール誘導体は、硝酸化成抑制剤（特公昭46-9208）、抗菌剤または殺菌剤（W096/16650）、掻痒治療剤（特開2002-241308）及びサイクリン依存性タンパク質キナーゼ酵素cdk5、cdk2、グリコーゲンシンターゼキナーゼ酵素-3のインヒビター（特開2002-338556）の用途が知られているが、毛髪関連遺伝子の発現を上昇する効果を有すること、及び、毛髪のはり・こしを改善することは全く知られていない

50

。また、脱毛、毛髪の薄化、及び禿頭の治療のためのチアゾール誘導体を含んで成る医薬組成物も開示されているが（特開2002 - 338556）、毛髪関連遺伝子の発現の亢進については何ら言及されておらず、また、当該アミノチアゾール誘導体の置換基 R_1 （本発明における置換基 R_2 に相当）は水素原子を含まない点で本発明の2 - アミノチアゾール誘導体と異なる。

【0028】

本発明の2 - アミノチアゾール誘導体の具体的な物質名を例示すれば、2 - アミノチアゾール、2 - アミノ - 4 - メチルチアゾール、2 - アミノ - 5 - メチルチアゾール、2 - アミノ - 4, 5 - ジメチルチアゾール、2 - アセトアミドチアゾール、2 - アセトアミド - 4 - メチルチアゾール、2 - アセトアミド - 5 - メチルチアゾール、2 - アセトアミド - 4, 5 - ジメチルチアゾール、2 - アセトアミド - 4, 5 - ジフェニルチアゾール、2 - プロピオニルアミノチアゾール、2 - ブチリルアミノチアゾール、2 - バレリルアミノチアゾール、2 - プロピオニルアミノ - 4 - メチルチアゾール、2 - ブチリルアミノ - 4 - メチルチアゾール、2 - バレリルアミノ - 4 - メチルチアゾール、2 - メチルアミノチアゾール、2 - ジメチルアミノチアゾール、2 - メチルスルホニルアミノ - 4, 5 - ジフェニルチアゾール、2 - ベンゼンスルホニルアミノ - 4, 5 - ジフェニルチアゾール等が挙げられる。これらの中でも、2 - アミノチアゾール、2 - アセトアミドチアゾール及び2 - アセトアミド - 4 - メチルチアゾールが好ましい。

【0029】

「薬学的に許容される塩」とは、薬剤化合物とほぼ同等の生物活性を保持し、かつ毒性でない塩をいう。このような塩の例としては、特に限定されないが、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸等のような無機酸と共に形成される付加塩、酢酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、フマル酸、マレイン酸、アスコルビン酸、安息香酸等のような有機酸と共に形成される付加塩等が挙げられる。

【0030】

本発明の2 - アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩を含む毛髪はり・こし改善剤及び毛髪用化粧料の剤形は、特に限定されず、毛髪のはり・こしを改善するために通常使用される形態のいずれでもよい。例えば、液状、乳液状、乳化クリーム状、クリーム状、ジェル状、ワックス状、霧状、泡状、エアゾール等が挙げられる。本発明の毛髪はり・こし改善剤及び毛髪用化粧料は、例えば、ヘアリキッド、ヘアトニック、ヘアクリーム、ムース、トリートメント、育毛剤、シャンプー、リンス、クリーム、乳液、パック等の製品として応用できる。

【0031】

本発明の2 - アミノチアゾール誘導体およびその薬学的に許容される塩の配合量は、毛髪化粧料の剤形にもよるが、毛髪化粧料の全量中、一般には0.001 ~ 20質量%、好ましくは0.01 ~ 5質量%である。

【0032】

本発明の毛髪はり・こし改善剤および毛髪化粧料は、本発明の効果を損なわない範囲内で、化粧品、医薬部外品、医薬品の一般配合成分を、必要に応じて配合して常法により調製することができる。一般配合成分は、例えば、粉末成分、液体油脂、固体油脂、ロウ、炭化水素油、高級脂肪酸、高級アルコール、エステル油、シリコン油、アニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤、非イオン界面活性剤、保湿剤、水溶性高分子、増粘剤、皮膜剤、紫外線吸収剤、金属イオン封鎖剤、低級アルコール、多価アルコール、糖、アミノ酸、有機アミン、高分子エマルジョン、pH調製剤、皮膚栄養剤、ビタミン、酸化防止剤、酸化防止助剤、香料、水、等である。

【0033】

具体的に配合可能な成分の例は次の通りである。毛髪はり・こし改善剤および毛髪化粧料は、必要に応じ、下記成分の一種または二種以上を配合して、目的とする剤形に応じて常法により製造される。

ポリエチレン粉末、ポリメタクリル酸メチル粉末、ナイロンパウダー等の粉末類。二酸

10

20

30

40

50

化チタン、酸化亜鉛、合成マイカ、タルク、カオリン、セリサイト、窒化ホウ素等の無機顔料。赤色 226 号、赤色 228 号、青色 404 号等の有機顔料。ツバキ油、マカデミアナツ油、オリーブ油、ヒマシ油等の油脂。ホホバ油、ミツロウ、カンデリラロウ、カルナウバロウ、ラノリン等のロウ。流動パラフィン、スクワラン、パラフィン、セレシン、ワセリン、マイクロクリスタリンワックス等の炭化水素油。ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、イソステアリン酸等の高級脂肪酸。セチルアルコール、ステアリルアルコール、イソステアリルアルコール、オクチルドデカノール等の高級アルコール。ミリスチン酸イソプロピル、リンゴ酸ジイソステアリル等のエステル油。メチルポリシロキサン等のシリコーン油。高級脂肪酸セッケン、高級アルキル硫酸エステル塩、N - アシルサルコシネート、POE - アルキルエーテル硫酸塩等のアニオン界面活性剤。塩化アルキルトリメチルアンモニウム、塩化ジアルキルジメチルアンモニウム、塩化ベンザルコニウム等のカチオン界面活性剤。アルキルジメチルアミノ酢酸ベタイン、アルキルアミドプロピルジメチルアミノ酢酸ベタイン等の両性界面活性剤。ポリオキシエチレン型、多価アルコールエステル型、エチレンオキシド・プロピレンオキシドブロック共重合体等の非イオン界面活性剤。ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、グルセリン、1,3 - ブチレングリコール、ソルビトール、ヒアルロン酸ナトリウム、ピロリドンカルボン酸ナトリウム等の保湿剤。クインシードガム、キサンタンガム、カルボキシメチルセルロース、カルボキシビニルポリマー等の水溶性高分子。ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ニトロセルロース、高分子シリコーン等の皮膜剤。PABA系、桂皮酸系、サリチル酸系、ベンゾフェノン系、ベンゾトリアゾール系、ジベンゾイルメタン系等の紫外線吸収剤。エチレンジアミン四酢酸(EDTA)のナトリウム塩等の金属イオン封鎖剤。4,5 - ジモルホリノピリダジノン等の光安定化剤。エタノール、プロパノール、イソプロパノール、イソブチルアルコール、t - ブチルアルコール等の低級アルコール。1,3 - ブチレングリコール、キシリトール、ソルビトール、ジエチレングリコール、ポリグリセリン等の多価アルコール。三炭糖、四炭糖、五炭糖、六炭糖、デオキシ糖、アミノ糖、ウロン酸等の単糖。トレハロース等のオリゴ糖。セルロース、コンドロイチン硫酸等の多糖。グリシン、セリン、リシン、シスチン、システイン、メチオニン、グルタミン酸、プロリン等のアミノ酸及びその誘導体。モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン等の有機アミン。乳酸 - 乳酸ナトリウム、クエン酸 - クエン酸ナトリウム等のpH調製剤。ビタミンA、ビタミンB₁、ビタミンB₂、ビタミンC、ビタミンE、ピオチン、ニコチン酸アミド等のビタミン及びその誘導体。ジブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソール、没食子酸エステル、ヒポタウリン、チオタウリン等の酸化防止剤。パラオキシ安息香酸エステル類、フェノキシエタノール等の防腐剤。各種の液化石油ガス(LPG)、窒素ガス、炭酸ガス等の噴射剤。グリチルリチン酸誘導体、グリチルレチン酸誘導体、ヒノキチオール、酸化亜鉛等の消炎剤。トラネキサム酸等のプロテアーゼ阻害剤。アルブチン、アスコルビン酸グルコシド、4 - メトキシサリチル酸塩、エラグ酸、ルシノール等の美白剤。レチノール、 α - ヒドロキシ酸等の抗しわ剤。ローヤルゼリー、感光素、コレステロール誘導体等の賦活剤。センブリエキス、 α - オリザノール、セファランチン、ビタミンE及びその誘導体、ニコチン酸ベンジルエステル、アデノシン、ミノキシジル等の血行促進剤。カプサイシン、トウガラシチンキ、ショウキョウチンキ、カンタリスチンキ、ノバル酸ワニルアミド等の局所刺激剤。エストラジオール、エチニルエストラジオール等の抗男性ホルモン作用剤。パントテン酸およびその誘導体。アラントイン、感光素301等の毛包賦活剤。サリチル酸、イオウ、レゾルシン、硫化セレン等の角質剥離・溶解剤。ビタミンB₆及びその誘導体等の抗脂漏剤。塩酸ジフェンヒドラミン、マレイン酸クロルフェニラミン、カンファー、メントール等の鎮痒剤。オウバク、オウレン、シコン、シャクヤク、パーチ、セージ、ビワ、ニンジン、アロエ、ゼニアオイ、アイリス、ブドウ、ヨクイニン、ヘチマ、ユリ、サフラン、センキュウ、ショウキョウ、オトギリソウ、オノニス、ニンニク、トウガラシ、チンピ、トウキ、海藻等の各種抽出物。

【0034】

10

20

30

40

50

以下、具体例を挙げて、本発明を更に具体的に説明する。なお、本発明はこれにより限定されるものではない。

【実施例】

【0035】

例1

KAP5.1レポータープラスミドの構築

毛髪の硬さ(ヤング率)と相関性が認められたKAP5.1について、PCR法により転写調節領域を増幅した後、レポータープラスミドの構築を行った。

【0036】

A. DNA断片のPCR増幅

KAP5.1遺伝子とKAP5.2遺伝子を含む約15kbのDNA断片を、5'末端に制限酵素NotIおよびMluIの認識サイトを付加したNM-F1プライマー(配列番号6)とR2プライマー(配列番号7)を用いて、市販のヒトゲノムDNA(Promegaより入手)を鋳型としてPCR法により増幅した(図1-A)。

【0037】

なお、PCR反応の条件は下記の表に示す通りである。

【0038】

【表3】

94°C 2分		
94°C 10秒	} 10サイクル	
65°C 30秒		
68°C 8分		
94°C 10秒		
65°C 30秒	} 20サイクル	
68°C 8分+10秒(1サイクルにつき10秒ずつ増加)		
68°C 8分		

【0039】

NM-F1プライマー(配列番号6)とR2プライマー(配列番号7)は下記の表に示す通りである。なお、表に示す番号はHomo sapiens genomic DNA, chromosome 11 clone: RP11-684B2, complete sequences. ACCESSION:AP000867.5の配列番号の位置を表示する。

【0040】

10

20

30

【表4】

配列6:

TTTGC~~CGCCGCACGCGT~~TTTCAGTAATGTGCCCTCTTATGCT

NotI サイト MluI サイト KAP5.1 遺伝子 5' 上流領域の特異的配列

51039 TTTTCAGTAATGTGCCCTCTTATGCT 51064

10

配列7:

66762 AGGTTGAAGTGATGAGGTCAGGAAAG 66737

KAP5.2 遺伝子 3' 下流領域の特異的配列

【0041】

B. DNA断片のベクターへのクローニング

増幅したDNA断片を制限酵素MluIとNheIで二重消化して、アガロースゲル電気泳動により分離してから約4.9kbのDNA断片を回収した。このDNA断片を、ホタルルシフェラーゼ(firefly luciferase)をコードする遺伝子を有するレポーターベクターpGL-3basic(Promegaより入手)のMluIとNheIサイトの間にクローニングした(図1-B)。サブクローニング[ステップ1: SacI/NcoI断片(154bp, 図2)をpGL-3basicにサブクローニング。ステップ2: 得られたプラスミドにSacI断片(約4.0kbp, 図2)を挿入]により、KAP5.1の5'上流領域(配列番号8)を含むレポータープラスミドpGL-3-KAP5.1を構築した(図2)。

20

【0042】

例2

KAP5.1レポーターアッセイ

不死化外毛根鞘細胞(IORS)(特開2000-89より入手)を75cm² フラスコに80万細胞播種し、37.5%CO₂の条件下で6日間培養する。培地はKeratinocyte-SFM培地(Gibco)を用いる。

1日目: プラスミドDNA導入(一過性)。培養したIORS細胞を、Effected Transfection Reagent(QIAGEN)のマニュアルに従って、上記の構築したレポータープラスミドpGL3-KAP5.1(firefly luciferase)と、市販の内部標準プラスミドpRL-TK(renilla luciferase)で、Dualに形質転換した。

40

2日目: 形質転換した細胞を24ウェルのマルチウェルプレートに1ウェル当たり10~16万細胞となるように播き直し、37.5%CO₂の条件下で一晩培養する。

3日目: 各ウェルの培地を、各種薬剤を溶解させた基礎培地と交換し、37.5%CO₂の条件下で一晩培養する。

4日目: アッセイ。デュアル・ルシフェラーゼ・レポーター・アッセイ系(Dual-Luciferase Reporter Assay System)(Promega)を用い、該製造者のマニュアルに従って各ウェルごとのルシフェラーゼ活性を測定する。ルミノメーターはAutoLumat LB953(BERTHOLD)を用いる。

【0043】

ネガティブコントロールとして、薬剤を含有しないことを除いて同じ条件のアッセイを

50

行った (K-SFM(-))。アッセイ結果を表5に示した。遺伝子発現を亢進する効果は亢進率 (ネガティブコントロールを100とした時の比) として表した。

【0044】

【表5】

薬剤名	亢進率
100 ppm 2-アセトアミドチアゾール	180
10 ppm 2-アセトアミドチアゾール	130
100 ppm 2-アセトアミド-4-メチルチアゾール	150
10 ppm 2-アセトアミド-4-メチルチアゾール	110
100 ppm 2-アミノチアゾール	140
10 ppm 2-アミノチアゾール	110
ネガティブコントロール[K-SFM(-)]	100

10

【0045】

表5に示したように本発明の2-アミノチアゾール誘導体はKAP5.1の遺伝子発現を亢進する効果が認められた。

20

【0046】

本例ではKAP5.1についてのみアッセイ結果を示したが、先に述べたように、KAP5.1遺伝子のプロモーター領域の配列と他のKAP5.2-5.5遺伝子のプロモーター領域の配列が互いに非常に近似しており(図3)、その制御機構は同等である可能性が高いことから、KAP5.1の発現を亢進する薬剤は他のKAP5遺伝子の発現も亢進し、はり、こし感を改善している可能性が非常に高い。

【0047】

例3

毛髪用化粧料の調製

本発明の毛髪用化粧料の処方例を以下に示す。なお、配合量は質量%である。ワックスの硬度は(株)アイテクノエンジニアリング製カードメーター・マックスME-415で測定した(径:5.6mm;速度:7sec/インチ;荷重:200g;温度:37)。粘度は芝浦システム株式会社製単一円筒型回転粘度計1287温度30で測定した。尚、ジェル、トリートメント等の高粘度のものはVS-H1型(ローターNo.6/10rpm)、ミスト、ヘアリキッド、ムース、ヘアトニック、育毛剤等の低粘度のものはVS-A1型(ローターNo.1/60rpm)を使用した。

30

【0048】

例3.1 ワックス

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有するワックスを調製した。乳化ワックス状、硬度20。このワックスは使用感もよく、はり、こし感の向上がみられた。

40

2-アセトアミドチアゾール 0.1

流動パラフィン 10

マイクロクリスタリンワックス 10

ジメチルポリシロキサン 4

ステアリルアルコール 4

プロピレングリコール 10

カルナウバロウ 3

イソステアリン酸 0.5

ステアリン酸 4.5

テトラ-2-エチルヘキサン酸ペンタエリスリット 2

50

ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 3
 ポリオキシエチレンオレイルエーテルリン酸 2
 自己乳化型モノステアリン酸グリセリン 3
 トリエタノールアミン 1
 パラオキシ安息香酸エステル 適量
 ポリアクリル酸ナトリウム 適量
 精製水 残余
 香料 適量。

【0049】

例 3.2 ミスト

10

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有するミストを調製した。霧状（エアゾール）、粘度5。このミストは使用感も良く、はり、こし感の向上がみられた。

2 - アセトアミドチアゾール 1
 アクリル樹脂アルカノールアミン液 1 2
 ラウリン酸ジエタノールアミド 0.5
 エタノール 5 7
 ポリオキシエチレンオレイルエーテル 0.5
 精製水 残余

【0050】

例 3.3 ジェル

20

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有するジェルを調製した。透明固形状（ジェル）、粘度30000。このジェルは使用感もよく、はり、こし感の向上が見られた。

2 - アセトアミドチアゾール 1
 ベヘニルアルコール 1
 グリセリン 5
 1, 3 - ブチレングリコール 5
 ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油コハク酸（50E.O.） 4 0
 水酸化カリウム 1
 パラメトキシ桂皮酸 2 - エチルヘキシル 0.1

30

精製水 残余

香料 適量。

【0051】

例 3.4 ヘアリキッド

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有するヘアリキッドを調製した。透明固形状、粘度8。このヘアリキッドは使用感もよく、はり、こし感の向上がみられた。

2 - アセトアミドチアゾール 3
 エタノール 5 5
 プロピレングリコール 5
 ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレン・ペンタエリスリトールエーテル（5EO） 2 5
 パラメトキシ桂皮酸 2 - エチルヘキシル 0.5

40

色素 適量

精製水 残余

香料 適量。

【0052】

例 3.5 トリートメント

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有するトリートメントを調製した。乳化クリーム状、粘度25000。このトリートメントは使用感もよく、はり、こし感の向上がみられた。

50

2 - アセトアミドチアゾール 0.5
 流動パラフィン 10
 ワセリン 3
 ジメチルポリシロキサン 2
 プロピレングリコール 10
 ポリオキシプロピレン(40)ブチルエーテル 2
 テトラ2 - エチルヘキサン酸ペンタエリスリット 3
 ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 2
 水酸化カリウム 0.1
 カルボキシビニルポリマー 0.3 10
 精製水 残余
 香料 適量。

【0053】

例3.6 ムース

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有するムースを調製した。原液/噴射剤90/10。泡状(エアゾール)、粘度5。このムースは使用感も良く、はり、こし感の向上がみられた。

原液：

2 - アセトアミドチアゾール 0.5
 揮発性イソパラフィン 0.5 20
 エタノール 10
 ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 0.5
 ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレンデシルエーテル 0.5
 ビワ葉エキス 0.1
 ユカフォーマーSM 10
 精製水 残余。

噴射剤：

LPG

【0054】

例3.7 ヘアトニック 30

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有するヘアトニックを調製した。透明液状、粘度7。このヘアトニックは使用感も良く、はり、こし感の向上がみられた。

2 - アセトアミドチアゾール 3
 エタノール 60
 ジプロピレングリコール 2
 ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 0.5
 乳酸 適量
 乳酸ナトリウム液 適量
 グリチルリチン酸モノアンモニウム 0.1
 ニコチン酸アミド 0.1 40
 酢酸DL - - トコフェロール 0.1
 L - メントール 0.2
 色素 適量
 精製水 残余
 香料 適量。

【0055】

例3.8 ヘアトニック

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有するヘアトニックを調製した。透明液状、粘度7。このヘアトニックは使用感も良く、はり、こし感の向上がみられた。

2 - アセトアミド - 4 - メチルチアゾール 2 50

エタノール 60
 ジブropilengリコール 2
 ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 0.5
 乳酸 適量
 乳酸ナトリウム液 適量
 グリチルリチン酸モノアンモニウム 0.1
 ニコチン酸アミド 0.1
 酢酸DL - - トコフェロール 0.1
 L - メントール 0.2
 色素 適量
 精製水 残余
 香料 適量。

10

【0056】

例3.9 育毛剤

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有する育毛剤を調製した。透明液状、粘度7。この育毛剤は使用感も良く、はり、こし感の向上がみられた。

2 - アセトアミドチアゾール 2
 エタノール 80
 イソステアリルアルコール 2
 1, 3 - ブチレングリコール 3
 ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 1
 ラウリル硫酸ナトリウム 0.3
 DL - リンゴ酸 適量
 - グリチルレチン酸 0.2
 パントテニルエチルエーテル 0.1
 ニコチン酸ベンジル 0.1
 ニコチン酸アミド 0.1
 酢酸DL - - トコフェロール 0.5
 デシルテトラデシルジメチルアミンオキシド液(20%) 5
 L - メントール 1

20

30

【0057】

例3.10 育毛剤

以下の処方に従い、常法により本発明の薬剤を含有する育毛剤を調製した。透明液状、粘度7。この育毛剤は使用感も良く、はり、こし感の向上がみられた。

2 - アセトアミド - 4 - メチルチアゾール 3
 エタノール 80
 イソステアリルアルコール 2
 1, 3 - ブチレングリコール 3
 ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 1
 ラウリル硫酸ナトリウム 0.3
 DL - リンゴ酸 適量
 - グリチルレチン酸 0.2
 パントテニルエチルエーテル 0.1
 ニコチン酸ベンジル 0.1
 ニコチン酸アミド 0.1
 酢酸DL - - トコフェロール 0.5
 デシルテトラデシルジメチルアミンオキシド液(20%) 5
 L - メントール 1

40

【産業上の利用可能性】

【0058】

50

本発明の毛髪はり・こし改善剤および毛髪用化粧品は、毛髪または頭皮に使用されることにより、毛髪に浸透し又は毛包に吸収されて、毛髪のはり・こしを改善し得るものであり、美容方法として有用である。

【図面の簡単な説明】

【0059】

【図1】 KAP5.1レポータープラスミドの構築および構成を示す概略図である。図1-AはKAP5.1遺伝子とKAP5.2遺伝子を含むDNA断片のPCR増幅を示す図であり、図1-Bは増幅したDNA断片のレポータープラスミドベクターpGL3basicへのクローニングを示す図である。

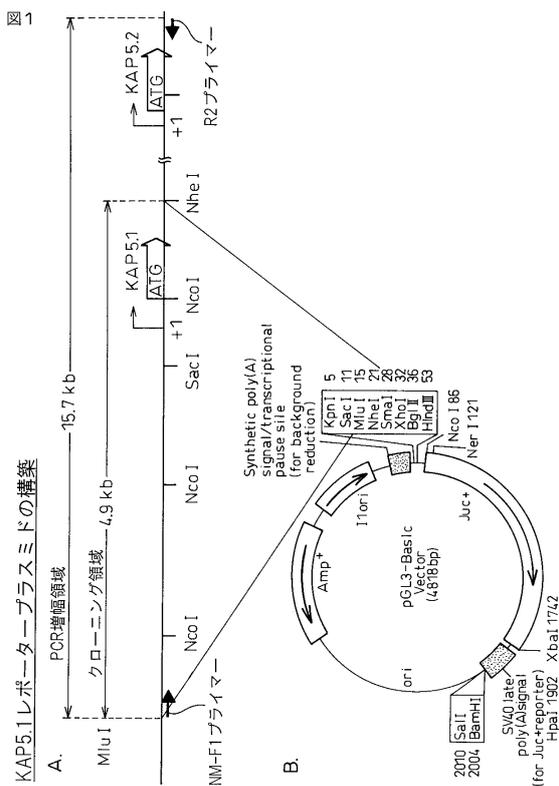
【図2】 図1に続くKAP5.1レポータープラスミドの構築図であり、サブクローニングによるKAP5.1遺伝子翻訳領域（開始コドン以降）の削除を示す図である。

【図3】 KAP5遺伝子群の発現調節を示す図である。

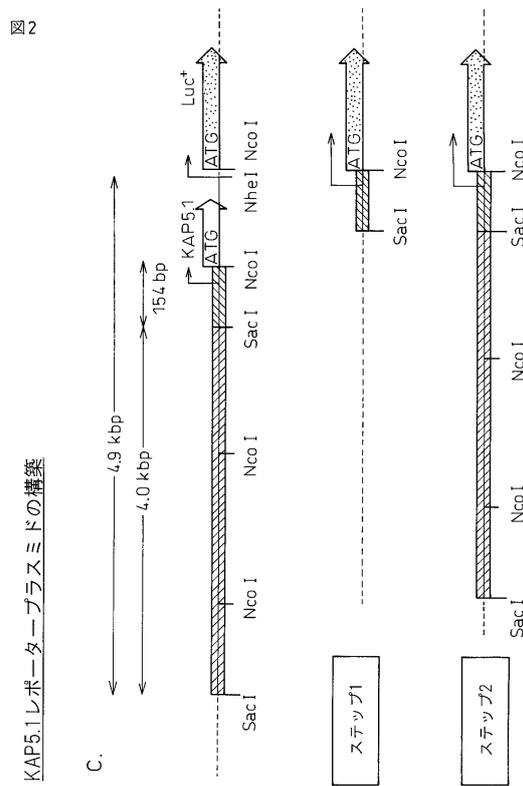
【図4】 ヒトKAP5.1~5.5遺伝子の推定コードタンパク質のアミノ酸配列比較を示す図である。

10

【図1】



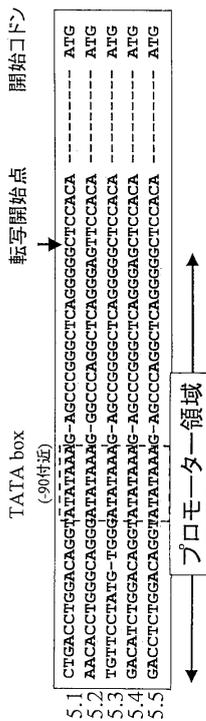
【図2】



【 図 3 】

図 3

KAP5遺伝子群の発現調節



【 図 4 】

図 4

ヒトKAP5.x-アミノ酸配列の比較

KAP5.1	MGCCCSREGC	SSGCGGCGG	CGGCGGCGG	-----CGS	SCCVFVCCK	FVCCVFPACS	CSSCGSCGGS
KAP5.2	MCCCGSGGC	SSGCGGCGG	CGGCGGSCR	-----	---VFICCK	FVCCVFPACS	CSSCGSCGGS
KAP5.3	MCCCGSGGC	SSGCGGCGS	CGGCGGSCR	-----	---VFICCK	FVCCVFPACS	CSSCGSCGGS
KAP5.4	MCCCGSGGC	SSGCGGCGG	CGGCGGCGG	-----	---CGF	SCCAFVCK	FVCCVFPACS
KAP5.5	MCCCGSGGC	SSGCGGCGG	CGGCGGCGG	-----	---CGS	SCCVFVCCK	FVCCVFPACS
Consensus	MCCCGSGGC	SSGCGGCGG	CGGCGGCGG	-----	---CGS	SCCVFVCCK	FVCCVFPACS
				cg,	scvP!cCKK	FVCCVFPACS
KAP5.1	KGCGSCGGS	KGCGSCGGS	KGCGSCGGS	QSCYKPKCC	SSGCGSSCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCS
KAP5.2	KGGRSGCGS	KGCGSCGGS	KGCGSCGGS	QSCCKFPCC	SSGCGSSCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCS
KAP5.3	-----	RRGCGSCGS	KGCGSCGGS	QSCCKFPCC	SSGCGSSCCQ	CSCKRPY	-----CS
KAP5.4	KGDCSCGGS	KGCGSCGGS	KGCGSCGGS	QSNCKFPCC	SSGCGSSCCQ	SSCKFPCC	-----
KAP5.5	KG-----	---CESGSS	KGCGSCGGS	QSNCKFPCC	SSGCGSSCCQ	SSCKFPCC	-----
Consensus	kg..gscggs	KggCGSCGS	KGCGSCGGS	qsCckpccc	saGcgsScq	.scCkpc...	.c.c.c.CS
KAP5.1	S-G-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
KAP5.2	S-GCGSSCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ	SSGCGSSCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ
KAP5.3	QSCCKFPCCS	SSGGSSCCQ	SSCKFPCCS	SSGCGSSCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ
KAP5.4	QCNCKFPCC	SSGGSSCC-Q	SSCKFPCCQ	SSGCGSSCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ
KAP5.5	---CGSSCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ	SSGCGSSCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ
Consensus	.c.Cckpcc.	SSggscc.Q	SSCKFPCCc.	SSGgsccQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ	SSCKFPCCQ

【 配列表 】

0004689393000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 未継 勝
神奈川県横浜市都筑区早渕2 - 2 - 1 株式会社資生堂 リサーチセンター(新横浜)内
- (72)発明者 福西 宏忠
神奈川県横浜市都筑区早渕2 - 2 - 1 株式会社資生堂 リサーチセンター(新横浜)内
- (72)発明者 飯野 雅人
神奈川県横浜市都筑区早渕2 - 2 - 1 株式会社資生堂 リサーチセンター(新横浜)内
- (72)発明者 八巻 悟史
神奈川県横浜市都筑区早渕2 - 2 - 1 株式会社資生堂 リサーチセンター(新横浜)内
- (72)発明者 相馬 勤
神奈川県横浜市都筑区早渕2 - 2 - 1 株式会社資生堂 リサーチセンター(新横浜)内

審査官 高岡 裕美

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2003/0078252(US, A1)
国際公開第01/080813(WO, A1)
国際公開第02/024189(WO, A1)
特表2007-522134(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 8/00 - 8/99
A61Q 1/00 - 99/00
CA/REGISTRY(STN)