

# ‘自然e世界’防脱发剂试验报告书

## 1. 试验评价养发及防脱发剂的效能

(忠北大学校 药品资源开发研究所)

## 2. 安全性试验

(使用株式会社ChemOn-对兔子做皮肤刺激试验)

# 评价养发及防脱发剂‘Dream毛’的试验效果

2004年9月15日

忠北大学校 药品资源开发研究所

# 提交文

(株)自然e世界

本材料为“评价养发及防脱发剂-Dream毛的试验效能”报告书提供给(株)自然e世界。

2004年9月15日

研究机关名：忠北大学校药品资源开发研究所

所长 Yoon, Yeo Pyo

研究负责人：忠北大学药学大学

教授 Hong, Jin Tae

最终报告书

|       |                              |                      |
|-------|------------------------------|----------------------|
| 试验委托者 | 试验委托者：(株)自然e世界               | 代表理事：Hwang, In Myung |
|       | 地址：仁川广域市 延寿区 青鹤洞 自然e世界 大厦 1层 |                      |

|      |                |
|------|----------------|
| 试验题目 | (株)自然e世界效能试验评价 |
|------|----------------|

|      |  |
|------|--|
| 试验目的 | (株)评价使用自然e世界开发的养发及防脱发剂-Dream毛产品在试验动物上产生的养发效果 |
|------|--|

|      |                       |  |
|------|-----------------------|--|
| 试验机关 | 机关名称：忠北大学校 药品资源开发研究所  |  |
|      | 地址：忠北 清州市 兴德区 开山洞 48号 |  |
|      | 试验机关长名：Yoon, Yeo Pyo  |  |

|       |                   |  |
|-------|-------------------|--|
| 试验负责人 | 负责人：Hong, Jin Tae |  |
|       | 所属：忠北大学校          |  |

|      |               |                 |
|------|---------------|-----------------|
| 主任试验 | Lee, Seung Ho | 忠北大学校 药学大学 研究教授 |
|------|---------------|-----------------|

|      |               |                   |
|------|---------------|-------------------|
| 试验担当 | Lee, Sang Min | 忠北大学校 生命科学学科4年级   |
|      | Son, Dong Joo | 忠北大学校 药学大学 专任 研究员 |
|      | Lee, Yoot Mo  | 忠北大学校 药学大学 硕士 2年级 |
|      | Park, Mi Hee  | 忠北大学校 要学大学 硕士 1年级 |

|         |                |                |
|---------|----------------|----------------|
| 病理组织负责人 | Nam, Sang Yoon | 忠北大学校 兽医科大学 教授 |
|---------|----------------|----------------|

|  |                |                      |
|--|----------------|----------------------|
|  | Baek, In Jeong | 忠北大学校 兽医科大学 博士过程 1学期 |
|--|----------------|----------------------|

|         |               |                 |
|---------|---------------|-----------------|
| 资料保管负责人 | Lee, Seung Ho | 忠北大学校 药学大学 研究教授 |
|---------|---------------|-----------------|

|      |            |                     |
|------|------------|---------------------|
| 试验日期 | 动物领养日：     | 2004年 6月 1日         |
|      | 投药前驯化开始日：  | 2004年 6月 1日 - 6月 7日 |
|      | 投药开始日：     | 2004年 6月 9日         |
|      | 试验结束日期：    | 2004年 7月 10日        |
|      | 最终报告书提交日期： | 2004年 9月 15日        |

|    |                                  |                      |
|----|----------------------------------|----------------------|
| 承认 | 忠北大学校 药品资源开发研究所 所长：Yoon, Yeo Pyo |                      |
|    | 试验委托人：(株)自然e世界                   | 代表理事：Hwang, In Myung |

# 目 录

摘要

|            |       |   |
|------------|-------|---|
| I. 绪论      | ----- | 1 |
| II. 材料及方法  | ----- | 3 |
| III. 结果及考察 | ----- | 5 |
| IV. 结论     | ----- | 7 |
| V. 参考文献    | ----- | 8 |

# 摘 要

## I. 题目

评价(株)自然e世界的养发及防脱发剂-Dream毛的试验效果。

## II. 研究目的及重要性

生发、养发、预防脱发一直以来受到很多人的关心，人们认为这些现象与遗传、生活方式、生活环境等因素有这密切的关系。从近几年来看，脱发对象几经不止发生在中年男性上，不少青少年和女性的脱发人数也在逐年增加。因此起着养发和防止脱发效能的药品和产品的社会需求在增加，随之扩大了对此研究开发的重要性。

本试验(株)对自然e世界的养发及防脱发产品-Dream毛的养发效果进行了评价。使用的评价方法与先前液状梯形评价时所使用的相一致。即用养发效果评价中广泛使用的用C57BL/6 鼠的效能评价方法评价试验效果。

## III. 研究内容及范围

把C57BL/6 雌性和雄性鼠的背脊上的毛用动物剃毛机剃除后，将试验药品(Dream毛)和上示试验药品包括溶剂及可溶化济分别在每日，6次/一周，经皮涂抹。每周的第7天，共4周照下4次其养毛效果的照片。用肉眼比较识别，并对生长部位和非生长部位进行组织学的观察。

## IV. 研究结果

试验药品研究群与对比药品研究群相比，经5天后可以看出其毛较快地生长，第三周和第四周对比研究群的养发效果差异更为明显，并且显现出毛囊的状态。

## I. 序论

人体的毛发除了有保护脑和头盖骨的自身功能之外，还在美容上起着很大的作用。因此，自古立以来对毛发生长、毛发保养和预防脱发很受关注。最近，不仅仅是中年男性，年轻人和女性对毛发保养和预防脱发的关心度也都在与日俱增。这除了男性由于遗传性重要因素脱发外，随着当今女性社会生活的增加及职业所带来的压力以及西方化的饮食习惯所产生的营养不均衡等多种社会文化因素也可以成为直接或间接的脱发原因。

虽然在很久以前就对毛发生长、毛发保养和预防脱发等方面有着很多研究，却至今还没有对毛发生长和脱落有明确的说明。但是最近世界很多大学和企业的研究所对毛发的生长与脱落从细胞学、生化学、或是分子生物、化学的角度来进行研究与分析，并在努力研发治疗脱发<sup>1)</sup>及促进毛发生长的药物<sup>2)3)</sup>。当前，在促进毛发生长的药物中，得到美国食品医药局(FDA)公认的药物只有米诺地尔和finasteride两种。Pharmacia & Upjohn公司的米诺地尔起初是以治疗高血压的血管扩张剂而开发的药品，但因为报道为引起多毛症的副作用，从而新开发成为了毛发增长剂<sup>4)</sup>。虽然到现在还未对米诺地尔的增毛作用有明确的说明，但认为因血管的扩张所带来的营养供给的增加以及敞开钾通道(Potassium channel opening)的效果促进了毛发的生长<sup>5), 6)</sup>。还有在最近Merck公司开发的Finasteride是作用于抑制男性荷尔蒙代谢的5- $\alpha$ -reductase的活性的物质<sup>8)</sup>。

利用在对毛发生长、毛发保养和预防脱毛的研究的实验方法主要有，使用实验动物的生体内(in vivo)评价<sup>9)</sup>和利用组织培养的试验管内(in vitro)评价<sup>10)11)</sup>等两种常用方法。进入1980年代，由于开发了构成毛囊细胞的核心细胞皮肤末端细胞(dermal papilla cell)和外根鞘细胞(outer foot sheath cell)的培育方法<sup>12-14)</sup>，而激活了毛囊分化起因研究，其后开发的毛囊组织的培养方法还展示了运用在毛发生长、毛发保养和预防脱毛等研究的评价模型的可能性<sup>15)</sup>。最近利用生化学、分子生物学的实验方法，积极地进行着对与毛发生长和相关的各种成长因子或遗传因子的动静、作用原理研究及药物探索研究<sup>7)</sup>。但是利用这样的试验管内培养技法的评价，排除了在毛囊组织内细胞间的相互作用及

与包裹在毛囊组织周围的真皮组织的相互作用，还有排除血液循环等能对毛发生长起直、间接作用的很多要数而具有局限性。因此到目前为止为了验证通过各种生化学评价的药物的实际效果，也只局限于利用动物实验的效果评价及临床实验等的现状。为了评价毛发生长、毛发保养和预防脱毛效果的实验动物模型有红尾猴(stump tailed macaque)<sup>9)</sup>、兔子(rabbit)、仓鼠(hamster)<sup>16)</sup>、老鼠(mouse)<sup>3), 16)</sup>等动物。

在本实验中对液态状的养毛剂(Dream毛)的养毛功效作了评价。评价方法是使用了现有的广泛使用的方法。即，使用了在养毛效果评价中广泛使用的利用C57BL/6 mouse的功效评价方法。C57BL/6 老鼠体毛呈黑色、有发生自发性脱毛(spontaneous alopecia)现象的特征，还有 melanocyte只限量存在于毛囊内、因为黑色素的合成与毛发生长周期(hair growth cycle)相吻合，因而能用肤色来判定毛发的生长周期，所以广泛运用在毛发生理研究中<sup>17)</sup>。

在本研究中选用6周大的C57BL/6 鼠雌雄，利用动物剃毛机除毛后，把实验药及对照药每天(6次/1周)以涂抹表皮的方式，以7天为间隔共4周用肉眼观察了养毛效果并作了比较、判定，还实施了对生长部位及非生长部位的组织学观察。



## II. 实验材料及方法

### 1. 实验材料

(株)自然e世界委托的试验药-Dream毛头皮液的主要成分含有甲基，L-水杨酸，D-泛酰醇，Herbal extract(韩方提取物)等(表2)。养发实验涂抹了本产品原液。

### 2. 实验动物

#### 1) C57BL/6鼠

#### 2) 实验动物

从(株)大韩生物圈购入出生5天的雌雄C57BL6老鼠，使其在动物饲养室适应一星期。动物饲养室的温度为 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度为 $50\pm 10\%$ ，照明时间为上午7点-下午7点，12个小时为昼，12个小时为夜。照度为150-200Lux。试验群分为雌雄各个三个，共六个群，每群有10只共60只。实验动物在隔离笼中[(株)三光]饲养，饲料(三养饲料)自由使用试验动物用饲料。

#### 2) 施料处理

把6周龄的雌雄鼠的背脊毛用动物剃毛机剃掉后，从第二天到三十天，每日一次从星期一到星期六，进行施料涂抹，一次涂抹量为 $0.2\text{ml}/10\text{cm}^2$ 。所有实验先将老鼠以平均体重和分散均等分群后实施。

#### 3) 体重测定

体重测试在涂抹长毛试验物质之前开始到实验结束为止，每周在一定期间内进行测定。

#### 4) 效果判断

进入实验经过7日后开始到第四星期，用乙醚对把实验动物麻醉后拍照片。试验药和对照药的养发效果，可以根据照片上用肉眼识别出，(背脊毛除掉面积中经过施料处理后长毛的面积之比)施料涂抹部位长毛的情况(表1)。各群之间对比用student t-检验统计处理。

### 5)组织学性的分析

利用实验开始30天养发处理群和对照处理群的皮肤组织的解剖提取后用福尔马林固定。分阶段用酒精1和二甲苯进行脱水处理后用煤油，用microtome 截取5um大小的的截片后再用酒精和二甲苯去除煤油。Hematoxylin&eosin 染色后可以用光学显微镜观测到毛囊的状态。

表 1. 养发效果和判断标准

| 毛发生长程度  | 评分 |
|---------|----|
| 不长毛     | 0  |
| 不足30%   | 1  |
| 30%-70% | 2  |
| 70%以上   | 3  |

### III. 考察实验结果

C57BL/6 老鼠生后所有的毛囊进入了毛发生长周期的生长期，开始长毛。出生后大约3周后进入停止期，然后再进入第二次生长期，6-8周时所有的毛囊再次进入停止期，并持续4周以上，因此对评价实验物质效果提供了充分的时间<sup>18)</sup>。并且melanocyte只局限存在于毛囊上，melanin合成与毛发生长周期相吻合，在停止长毛期间背脊皮肤颜色为粉红色，长毛期间呈深灰色，因此可以根据皮肤的颜色来判断毛发的生长周期，所以在毛发生理研究中被广泛使用。即C57BL/6鼠初期毛发生长周期同时发生，约7周龄时老鼠的长毛停止时间变长，其间可用于药效物质对毛发成长效果的评价动物。在本试验中对6周龄的老鼠进行施料试验后，做了养发效果评价。

施料后的老鼠与其对照群相比没有发生明显的体变化。施料后的老鼠的体重变化中，雌老鼠群比起其对照群有着稍微的变化倾向，而雄老鼠群没有发生体重变化(图1和图2)。从进入毛发成长期的皮肤变化整个过程看，雌老鼠要比雄老鼠变化快一些，而雌老鼠的皮肤颜色变化要比雄老鼠的皮肤颜色变化更为明显。

试验群和对照群相比，雌雄都在涂抹实验药的10-15天后，在其部位很快地变灰色，再过几天后可以看到老鼠的背脊的部分地方变成绿色并在短内时间开始长毛。毛的生长速度依然是雌性鼠比雄鼠快，但没有发生明显的差异。试验群和对照群相比雌雄1/2以上的老鼠在实验开始20天后，长出黑色体毛。但对比群的老鼠体毛省长要比他慢得多(图3和4)。将此在表1为基准评分结果比较其养毛效果，Dream毛实验群与阳性对照群相比皮肤颜色变化和毛的成长期的到来多少有些慢，与阴性对照群相比雌雄都明显促进了毛的生长。各实验群与其对照群像比从统计上都有由意义( $p < 0.001$ )，因此养毛效果优秀。

为了观测对照群和试验群的毛囊的形态变化，开始实验后第30天，将老鼠颈椎屠杀后得到的皮肤组织hematoxylin&emsin染色后，用光学显微镜观察毛囊情况。其结果所有试验药处理群的皮肤层厚度比对照群厚，毛囊组织的长度也较长，且深入皮肤组织。组织截片上的毛囊的长度和位置是在毛囊生长周期内判断毛囊状况的重要因素<sup>3)</sup>。此结果表明，处理群的毛囊比对照群的毛囊进入生长期的速度要快。(图5和图6)

脱发曾经是中年男性中常见的遗传疾病，但在现代社会中随着女性的社会活动的增加和学生考试压力，工作压力等，西方式的饮食文化形成的营养不均衡等，这些社会文化因素直接或间接的造成了脱发原因。现在促使毛发生长的药品有得到美国的美国食品医药局(FDA)公认的米诺地尔和finasteride两种。

对米诺地尔的生发效果目前为止没有明确的说明。但大多数专家认为，通过扩张血管增加营养供给及potassium channel opening 效果促使毛发生长。<sup>5,6)</sup> 最近，由Merck

社开发研制的finaster可以抑制对男性激素代谢有阻碍影响的5-a reductast的活性。Dream毛液为民间药，作为生药被人们广泛使用的，且以没有毒性的甘草、当归、川弓、何首乌、意苡仁等作为保湿剂(表2)。依据传统的，科学性的医学这些药材的效能中大部分有预防抑制胆固醇产生的动脉硬化、溶解血栓、强化血压、扩张末梢血管等效能。Dream毛液含有这些提取物，所以预计可以给毛细血管提供营养、提供氧气，这有助与发根细胞生长。Dream毛液中用于保湿的成分中含有的意苡仁是脂肪油的主要成分主成分是肉豆蔻酸和B-谷脂醇, camperol, stigmastero所构成。报告中指出这些主要成分中的肉豆蔻酸和B-谷脂醇可以抑制5-a-reductase。<sup>20)</sup> 甘草的主要化学成分terpenoid中含有甘草次酸, 甘草酸和 flavonoid等, 这些化合物中的甘草次酸和甘草酸也具有抑制5-a-reductase的作用。这些报告可以有力地说明Dream毛液可以通过调节形成男性和女性脱发主要原因的男性激素分泌来实现养发效果。此试验中, 通过考察许多文献报告和试验结果为, Dream毛液被证明为具有养发效果的产品。

#### IV. 结论

为了评价(株)自然e世界所开发的养发济(Dream毛)的效能, 使用养发济效果评价中被广泛使用的C57BL/6鼠, 将此鼠的背脊上的毛用剃毛机剔除后, 用试验药(Dream毛)经皮涂抹四个星期后, 试验药处理群与对照群相比, 处理后15天左右开始可以观测到毛发较快地生长。三~四周后与对照群相比可看出明显的养毛效果。Dream毛适用群与阳性对照群米诺地尔相比皮肤颜色变化和毛的成长期的到来多少有些慢, 但与阴性对照群相比雌雄都明显促进了毛的生长。各实验群与其对照群像比从统计上都有由意义( $p < 0.001$ ), 因此显示出优秀的养毛效果。将涂抹30日后老鼠的皮肤组织冻结后观察结果可以看出, 试验药处理群比对照群的皮肤层厚、毛囊组织的长、而且毛囊深入皮肤的形态。

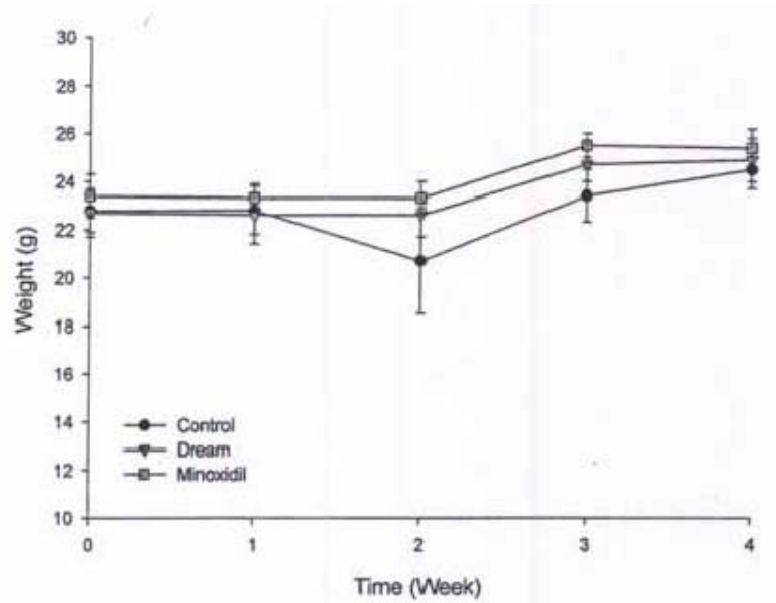


图1. 对C57BL/6脱毛雄性鼠的对照群, Dream毛液涂抹群, 3%的米诺地尔使用群等的体重变化分布图, 分别检测4个星期。

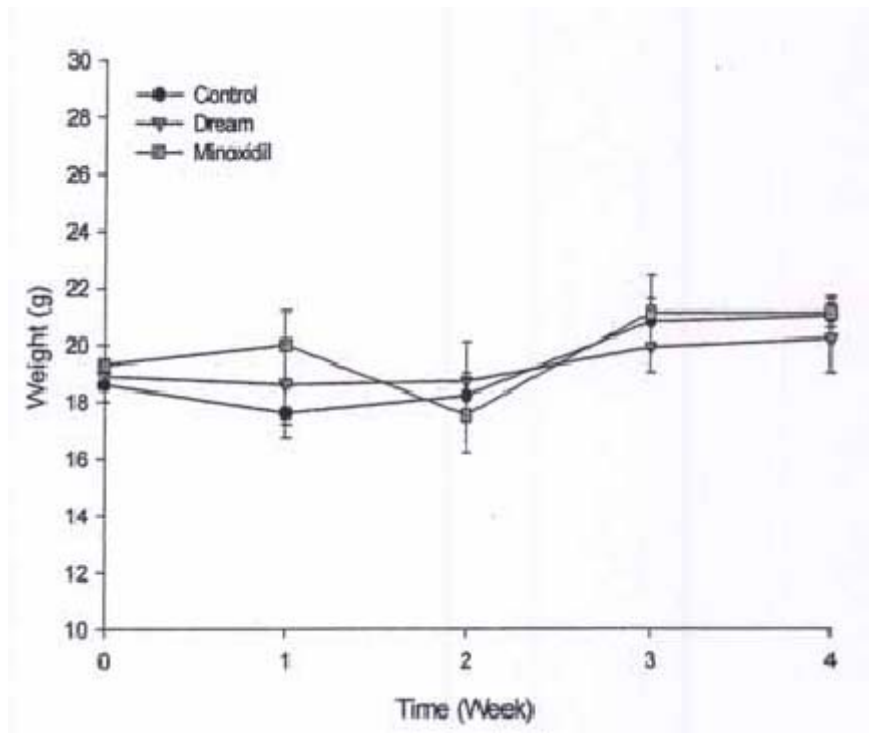


图2. 对C57BL/6脱毛雌性鼠的对照群, Dream毛液涂抹群, 3%的米诺地尔使用群等的体重变化分布图, 分别检测4个星期。

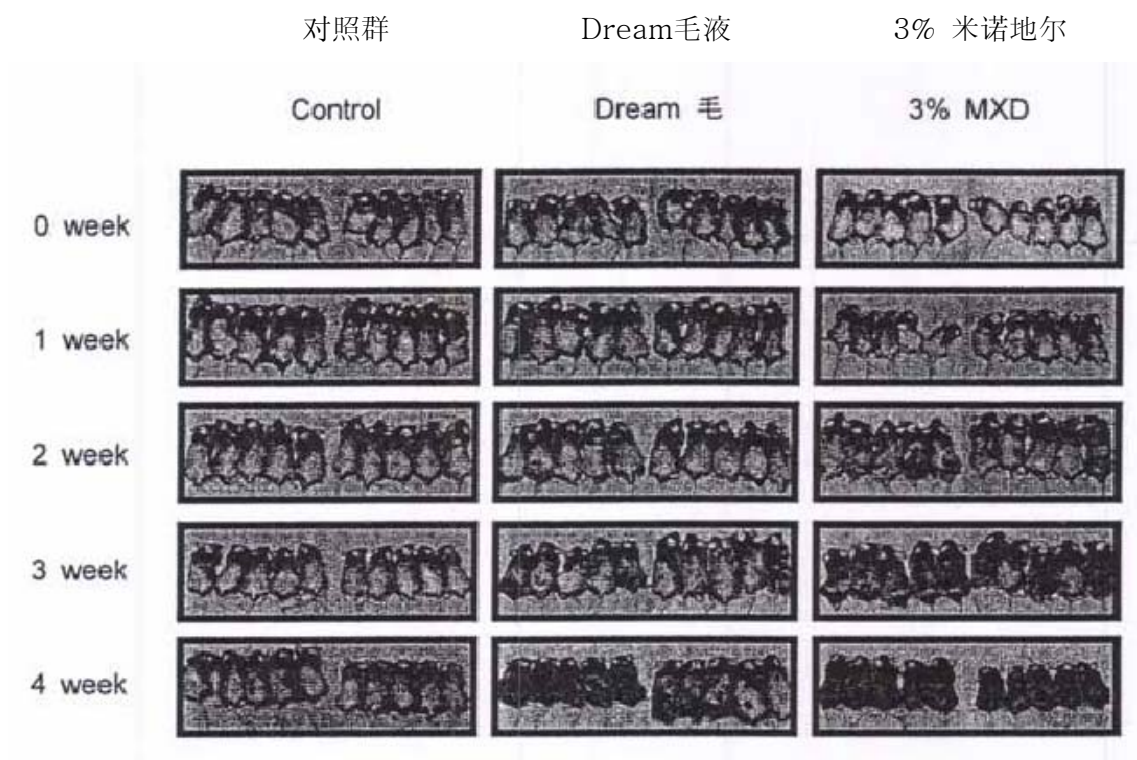


图3. C57BL/6脱毛雄性鼠的长毛变化，涂膜Dream毛液四个星期过程图。





图4. C57BL/6脱毛雌性鼠的长毛变化，涂膜Dream毛液四个星期过程图。

表1. 秃毛雄鼠C57BL/6 (n=10) 毛发生长评分

|    | 对照标准 | Dream毛 | 米诺地尔 |
|----|------|--------|------|
| 0周 | 0    | 0      | 0    |
| 1周 | 0    | 0      | 0.8  |
| 2周 | 0    | 0.7    | 2.5  |
| 3周 | 0    | 1.4    | 2.8  |
| 4周 | 0    | 2.5    | 3.0  |

\* 养发判断基准：不长毛发；0， 不满30%；1, 30%- 70%；2, 70%以上；3

\* 肉眼识别评分/个体数=判定分数

表2. 秃毛雌鼠C57BL/6 (n=10) 毛发生长评分

|    | 对照标准 | Dream毛 | 米诺地尔 |
|----|------|--------|------|
| 0周 | 0    | 0      | 0    |
| 1周 | 0    | 0.1    | 0.6  |
| 2周 | 0    | 0.4    | 1.9  |
| 3周 | 0.1  | 1.6    | 2.9  |
| 4周 | 1.5  | 2.6    | 3.0  |

\* 养发判断基准：不长毛发；0， 不满30%；1, 30%- 70%；2, 70%以上；3

\* 肉眼识别评分/个体数=判定分数

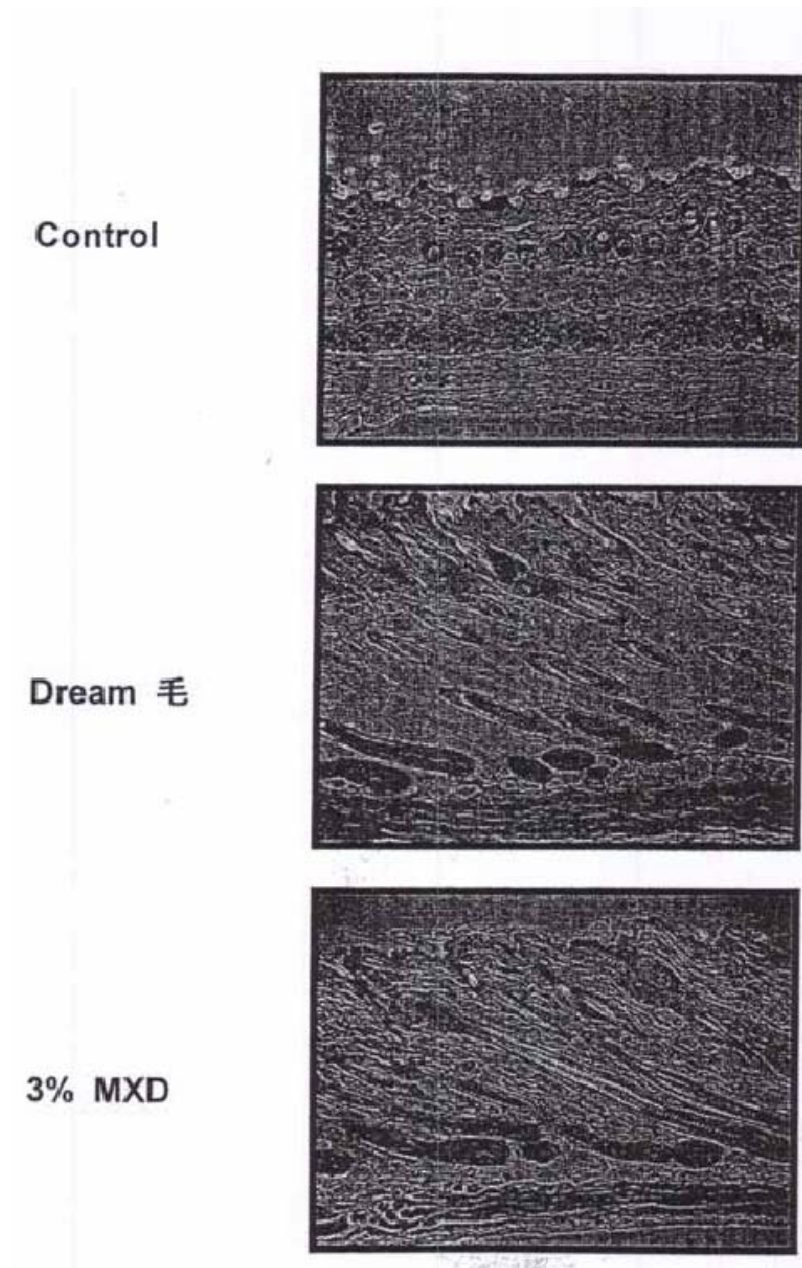
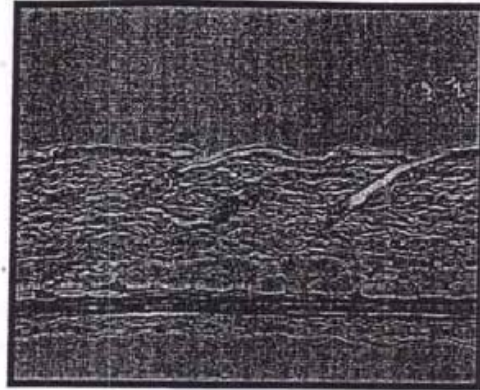
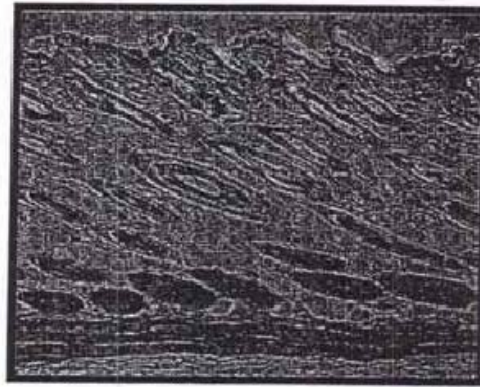


图5. 组织学观察C57BL/6脱毛雄性鼠的长毛情况，截取各处理群测试四个星期的分布。  
H&E x 40. 对照群， Dream毛液涂抹群， 3%的米诺地尔使用群。

Control



Dream 毛



3% MXD

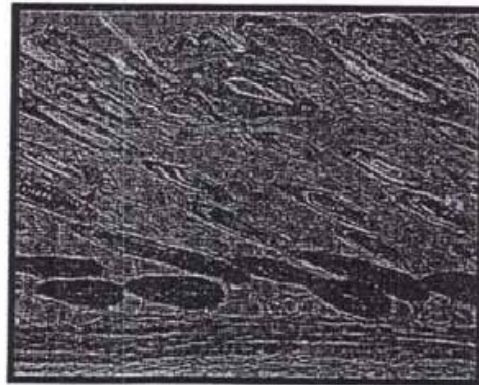


图6. 组织学观察C57BL/6脱毛雌性鼠的长毛情况，截取各处理群测试四个星期的分布。  
H&E x 40. 对照群， Dream毛液涂抹群， 3%的米诺地尔使用群。

最终报告书2005.01.31

## Dream毛液对兔子进行皮肤刺激试验

试验负责人 Lee, Jeong Sook

试验机关 株式会社 Chemon 前临床研究中心

试验序号 04-BL-313

试验时间 2004. 12. 24 ~ 2005. 01. 31

试验委托人 (株) Seoul化妆品 (产品技术员及销售员: (株)自然e世界)

委托负责人 Han, Kwang Seok

**Chemon** Tel 031)329-9900 / Fax 031)329-9901

Email jslee@chemon.co.kr

# 陈 述 书

试验序号：04-BL-313

试验题目：Dream毛液对兔子进行皮肤刺激试验

以上试验是食品医药厅安全告示第1999-61号(1999年12月22日)‘医药品等的毒性试验基准’及食品医药品安全厅告示第2000-63号(2000年12月11日)‘非临窗试验管理基准’为准所实施的。

2005年1月31日  
株式会社ChemOn 前临床研究中心  
运营负责人 Park, Chan Koo (印)

# 信赖性保证确认书

试验序号： 04-BL-313

试验题目： Dream毛液对兔子进行皮肤刺激试验

试验时间： 2004.12.24 ~ 2005.01.31

试验委托： (株)Seoul化妆品

| 检测内容                     | 测试日期            | 试验负责人<br>通报日 | 运营负责人<br>报告日 |
|--------------------------|-----------------|--------------|--------------|
| 试验计划书                    | 2004. 12. 27    | 2004. 12. 27 | 2004. 12. 27 |
| 动物取入及检疫                  | 2004. 12. 28/30 | 2004. 12. 29 | 2004. 12. 31 |
| 试验物质/对照物质 保管             | 2005. 01. 04    | 2005. 01. 05 | 2005. 01. 05 |
| 试验物质/对照物质 调剂             | 2005. 01. 04    | 2005. 01. 05 | 2005. 01. 05 |
| 投药及饲育动物                  | 2005. 01. 04    | 2005. 01. 05 | 2005. 01. 05 |
| 观测及检查动物饲育室内<br>(观测一般症状等) | 2005. 01. 05    | 2005. 01. 06 | 2005. 01. 06 |
| 评价皮肤反应                   | 2005. 01. 05    | 2005. 01. 06 | 2005. 01. 06 |
| 最终报告书(案)及<br>试验基础资料      | 2005. 01. 20-28 | 2005. 01. 21 | 2005. 01. 28 |
| 最终报告书                    | 2005. 01. 31    | -            | -            |

从以上检测中可以看出本报告书的试验方法是依据食品医药品安全厅告示第1999-61号(1999年12月22日)‘医药品等的毒性试验基准’进行的。本报告书正确地反应了相关试验实施过程中的试验基础资料。证明本试验是依据食品医药品安全厅告示第2000-63号(2000年 12月11日)‘非临窗试验管理基准’为基准所实施。

2005年 01月31日

株式会社 Chemon 前临床研究中心  
信赖性保证负责人 Lee, Hyun Geol (印)

# 试验概要

|        |   |
|--------|---|
| 试验题目   | Dream毛液对兔子进行皮肤刺激试验  |
| 试验序号   | 04-BL-313   |
| 试验目的   | 为调查Dream毛液对兔子进行皮肤刺激后的反应而实施。   |
| 试验方法   | 上述试验以食品医药品安全厅告示第1999-61号(1999年12月22日)‘医药品等毒性试验基准’为依据进行。   |
| 试验日程   | 1) 试验开始日: 2004年12月24日<br>2) 动物收购日: 2004年12月28日(实验开始日)<br>3) 驯化期间: 2004年12月28日~2005年01月03日<br>4) 适用日: 2005年01月04日<br>5) 评价日: 2005年01月05日~2005年01月7日(实验结束日)<br>6) 最终报告书(案)提交日: 2005年01月31日<br>7) 最终报告书 提交日: 2005年01月31日 |
| 试验委托人  | 名称: (株)Seoul化妆品[产品技术员及销售员: (株)自然e世界]<br>所在地: 仁川广域市南东区古棧洞718-8<br>委托负责人: Han, Kwang Seok<br>联系方式: 02-6671-0707(电话), 02-6671-0706(传真)   |
| 试验机关   | 名称: (株)Chemon前临床研究中心<br>所在地: 京畿道龍仁市阳智面第一里334号<br>运营负责人: Park, Chan Koo<br>联系方式: 031-329-9900(电话), 031-329-9901(传真)  |
| 动物饲育室  | 第一动物饲育区 7号室   |
| 保管试验动物 | 本试验所使用的试验物品是在常温中保管的。  |
| 保管试验资料 | 本试验的试验基础材料及相关材料在登记许可后5年内由株式会社Chemon的前临床研究中心中央资料保管室收藏。最终报告书提交后要保管的资料如下<br><br>1) 试验计划书及相关文件, 试验基础材料(文件, 磁盘, 检测体)<br>2) 最终报告书及相关资料  |



试验管理者

| 部 门      | 负 责 人            | 担 当             |
|----------|------------------|-----------------|
| 动物实验     | Gil, Ki Hyun     | Choi, Jin Seong |
| 投入实验物质操作 | Lee, Jeong Sook  | Kang, Jeong Hye |
| 保管资料     | Hwang, Young Eun |                 |

## 试验相关人签名

试验物质调剂

\_\_\_\_\_  
Lee, Jeong Sook, MS, DVM  
试验物质调剂/保管负责人

\_\_\_\_\_  
日期

动物实验

\_\_\_\_\_  
Gil, Ki Hyun, 动物实验技术师  
动物实验负责人

\_\_\_\_\_  
日期

保管资料

\_\_\_\_\_  
Hwang, Young Eun  
资料保管负责人

\_\_\_\_\_  
日期

试验负责人

\_\_\_\_\_  
Lee, Jeong Sook, MS, DVM

\_\_\_\_\_  
日期

# 目 录

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| 陈述书                           | 1  |
| 信赖性保证确认书                      | 2  |
| 试验概要                          | 3  |
| 试验管理者 签名                      | 5  |
| 1. 摘要                         | 7  |
| 2. 试验物质                       | 8  |
| 3. 材料及方法                      | 9  |
| 4. 结果                         | 13 |
| 5. 考察及结论                      | 14 |
| 6. 参考文献                       | 15 |
| 7. 图表(组概括)                    |    |
| 表1. 死亡率和雄性兔应用Dream毛液后临床迹象     | 16 |
| 表2. 雄性兔应用Dream毛液后的体重变化        | 16 |
| 表3. 雄性兔应用Dream毛液后出现红斑和产生痂皮现象  | 17 |
| 表4. 雄性兔应用Dream毛液后出现浮肿现象       | 17 |
| 表5. 雄性兔应用Dream毛液后刺激性数值        | 18 |
| 8. 附录(个体数据)                   |    |
| 附录1. 死亡率和雄性兔应用Dream毛液后临床迹象    | 19 |
| 附录2. 雄性兔应用Dream毛液后的体重变化       | 19 |
| 附录3. 雄性兔应用Dream毛液后出现红斑和产生痂皮现象 | 20 |
| 附录4. 雄性兔应用Dream毛液后出现浮肿现象      | 21 |
| 附录5. 雄性兔应用Dream毛液后刺激性数值       | 22 |
| 9. 图片                         |    |
| 图1. 擦伤处使用试验物质涂抹后24小时时的皮肤的反应   | 23 |
| 图2. 对照区24小时时皮肤的反应             | 23 |
| 图3. 擦伤处使用试验物质涂抹后72小时时的皮肤的反应   | 24 |
| 图4. 对照区72小时时皮肤的反应             | 25 |
| 10. 附加资料                      |    |
| 参考资料1. 试验物质成绩书                |    |
| 参考资料2. 试验系的医院体检擦成绩书           |    |
| 参考资料3. 动物饲育室环境证明书(供给处资料)      |    |
| 参考资料4. 饲料成分分析成绩书              |    |
| 参考资料5. 水质检测成绩书                |    |
| 参考资料6. 试验计划书(副本)              |    |

## 1. 摘要

本试验为调查Dream毛液的皮肤刺激性，对新西兰系白色兔子的健康皮肤和擦伤皮肤，使用试验物质之后和不使用试验物质时的反应情况互相对比后进行的评价。

- 1) 一般状态下，没有观察到因试验物质的投入使用而产生的异常现象。
- 2) 体重变化也没发生异常。
- 3) 使用试验物质后，正常部位无异常变化。擦伤部位有微弱的红斑，但过了一段时间之后，可见大部分恢复了正常。在皮肤刺激性评价中，本试验一次皮肤刺激指数为0.46，属非刺激性物质。

从以上结果可以看出，在本次试验条件下，Dream毛液对新西兰系白色兔的皮肤一次刺激指数为0.46，属非刺激性。

## 2. 试验物质

- (1) 名称: Dream毛液(附加资料1)
- (2) 批号: Pilot1
- (3) 收入量: 120ml
- (4) 收入日: 2004年12月23日
- (5) 外观及性状: 浅褐色的液体
- (6) 纯度: L-甲基; 109.31%, 水杨酸; 103.41%, D-泛酰醇; 106.20%
- (7) 保管条件: 实温保管
- (8) 安全性: 不提供给委托人
- (9) 注意事项: 无特殊事项
- (10) 供给者: (株)Seoul化妆品

### 3. 材料和方法

#### 1) 试验系

##### (1) 种及系统

新西兰系统无特定病原体动物(SPF)兔子(Sam(NZW)fBR)

##### (2) 供应者: (株)Samtako Bio Korea(京畿道烏山市西朗洞 77-1)

##### (3) 选择试验系的理由

本试验的兔子是在皮肤刺激试验中被广泛使用的实验动物。并且有着丰富的试验基础材料, 在试验结果的解析和评价中可以使用这些材料。

##### (4) 周龄及体重范围

收养时动物的数: 雄8只

收养时体重: 1.884kg - 2.033kg

使用时动物的数: 雄6只

使用时动物的数: 2.121kg - 2.302kg

##### (5) 检疫及驯化(附加资料2)

参考收养动物时供应处提供的试验系病原体检查成绩书, 对收养动物实施检疫。动物收养后7天内在动物实验室进行驯化。驯化期间中, 观察一般症状, 只选择健康的个体为实验对象。

#### 2) 饲养环境

##### (1) 环境条件

本试验所进行的室内环境指标为温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度为 $55 \pm 15\%$ , 换气次数为10-20次/hr。设定照明时间为12小时(上午8点开灯-下午8点息灯)及照明度为150-300Lux 的株式会社ChemOn的前临床研究中心第一动物饲养区7号室进行试验。试验者必需穿灭菌消毒的工作服和配备保护装备后进行操作。

##### (2) 饲养环境监测(参考资料3)

试验期间中动物室的温度和湿度使用电脑系统每小时自动测试温度和湿度, 定期测试换气次数和照明等环境条件。对环境测试结果超出上述环境范围四小时以上的异常情况不做观察。

##### (3) 饲养箱, 饲养密度及识别方法

在不锈钢所制的网状饲养箱(405W x 650L x 320H mm)中分别饲养一只。

#### (4) 饲料及水的供应方法(参考资料4-5)

饲料为成土用固形饲料，自由摄取。地下水经过紫外线杀菌及微细过滤装置消毒后，利用水瓶自由摄取。

### 3) 使用量及识别方法

#### (1) 适用量

依据Draize方法在每个部位使用一般对皮肤刺激试验所使用的量0.5 ml。

#### (2) 动物识别

个体识别在驯化期间中在左侧耳圈内，用红色油性笔；试验期间中在右侧耳圈内，用黑色的油性笔标上序号。在饲养箱上贴上标有试验序号及动物序号的个体识别卡来识别。在所使用的动物室的门的入口处，贴上标有试验序号，试验题目，动物室使用时间，试验负责人名以及试验者名单的动物室使用纪录日志。

### 4)使用试验物质

#### (1) 试验物质调剂法

不需另加调剂，只需使用委托人提供的试验物质。

#### (2) 适用部位及使用方法

在试验进行24小时前，使用电子除毛机在兔子身上横竖分别大约10cm 的毛踢掉，注意不要使兔子的皮肤受伤，露出健康的皮肤。除毛后皮肤分为左右两部分，左侧为使用试验物质区，右侧作为对比区。使用试验物质区和对比区的正常皮肤和擦伤皮肤互为对角线方向分布。用油性笔分别标出两个2.5cm x 2.5cm大小的正常皮肤区和两个擦伤区。擦伤皮肤的表皮虽受伤但不要使真皮受伤，不出血的程度上使其擦伤。使用试验物质的方法是在两个2.5cm x 2.5cm的适用区内，在皮肤上用0.5ml的试验物质后，拿纱布盖上使其充分地皮肤接触。为了使试验物质不易蒸发，用无透性、刺激性较低的胶布缠上。

#### (3) 使用次数及使用时间

一次使用后维持24小时。

## 5)使用方法和试验项目

### (1) 观察一般症状

对所有的动物每天进行症状观察一次以上。

### (2) 测试体重

使用试验物质和判段日的时候，进行体重检查。

### (3) 判断皮肤反应

试验物质经过24小时后拿掉，为了清除残留试验物质，用蒸馏水或盐水轻轻清洗。使用试验物质24小时后(去除试验物质30分后)和72小时时，用肉眼观察涂抹部位红斑、浮肿、出血、形成痂皮等变化。红斑和痂皮形成及浮肿等依据炎症反应判断，红斑用肉眼，浮肿可并用轻轻的触诊一起判断。皮肤反应程度在试验物质投入24小时和72小时时，依据皮肤反应基准来打分纪录。

#### \* 皮肤反应评价基准

##### ① 红斑和痂皮的形成

| 反 映                         | 程 度 |
|-----------------------------|-----|
| 完全没有红斑                      | 0   |
| 有轻微的红斑(用肉眼勉强识别)             | 1   |
| 有鲜明的红斑                      | 2   |
| 稍微严重的红斑                     | 3   |
| 严重的红斑(发赤为胡萝卜色)和形成轻微痂皮(深层受伤) | 4   |

##### ② 浮肿

| 反 映                          | 程 度 |
|------------------------------|-----|
| 没有浮肿                         | 0   |
| 非常轻微的浮肿 (用肉眼勉强识别)            | 1   |
| 轻微的浮肿 (明显可以看出浮肿，与边缘部位可以区分开来) | 2   |
| 普通浮肿(大约肿了1mm高的程度)            | 3   |
| 严重浮肿 (肿了1mm以上，且范围扩大到其周围)     | 4   |

### (4) 评价皮肤反应成绩

根据皮肤反应打分情况，使用试验物质24小时和72小时后，计算红斑评分和浮肿评分的平均值，利用此数据对试验物质的皮肤刺激性进行评价。此时试验物质的刺激性的评价除1次皮肤刺激外，还考虑了试验期间所观察的一般症状等进行的评价。



\* 皮肤一次刺激表

| 一次皮肤刺激指数 | 区分    |
|----------|-------|
| 0.0-0.5  | 非刺激性  |
| 0.6-2.0  | 弱刺激性  |
| 2.1-5.0  | 中等刺激性 |
| 5.1-8.0  | 强刺激性  |

P.I.I.(Primary Irritation Index: 一次刺激指数, 个体平均和除4的值)

## 4. 结果

### 1) 观察一般症状(表1和附录1)

整个试验过程中不观察死亡的动物。

### 2) 体重变化(表2和附录2)

在体重变化中，使用试验物质后第一天，可以观测到所有的动物的体重一致减少第三天可观测到恢复正常成长。

### 3) 皮肤反应(表3, 4和附录3, 4)

#### (1) 形成红斑、痂皮

使用试验物质24小时后，观测使用区域的正常部位，6例都没有发现有任何异常现象。擦伤部位4例微有红斑，2例有轻微的红斑。对照区6例在擦伤部位可以看到轻微的红斑。

使用试验物质72小时后，使用区正常部位没有任何异常现象。擦伤部位1例有轻微的红斑，对照区6例都无任何异常现象。

#### (2) 浮肿

整个观测过程中对照区和使用区域的正常部位和擦伤部位都没有发现任何浮肿现象。

### 4) 对刺激性的判断(表5和附录5)

以皮肤刺激为依据的刺激性判断结果，一次皮肤刺激指数(P.I.I)是对照区域的情况为0.25 非刺激性，使用区域的情况为0.46，也属非刺激性。

## 5. 考察及结论

本试验目的是调查试验物质-Dream毛液的皮肤刺激性。在新西兰系白色兔的健康皮肤和擦伤皮肤上使用试验物质后和不使用试验物质时的健康皮肤和擦伤皮肤反应进行了对比评价。

试验结果没有观测到一般症状的变化。

体重变化中，第一日使用试验物质时，所有的动物在闭塞的空间开始紧张，出现了一时性体重减少现象。在观测第三日，恢复了正常生长。

使用试验物质后，皮肤反应主要表现为红斑，经过一段时间后，红斑逐渐减少。正常部位没有因使用试验物质产生异常反应。擦伤部位24小时时，出现了轻微的红斑及微弱的红斑，经过72小时后，只有1例有轻微的红斑其余都恢复了正常。浮肿没有在擦伤部位或正常部位发现。

皮肤刺激性评价中，本试验物质的一次皮肤刺激指数为0.46，属非刺激性物质。

# Dream毛 产品介绍

## 产品概念

头发是扎根于头皮，通过血液供给所需的营养和其他构成成分而成长，经过一定的周期成长，退化，脱落，然后再长出。是有着一定生长周期的一个生命体。

脱发会因为多种多样的因素而产生。例如毛细血管缩小，使血液供给营养受到阻碍、发根制做毛发的过程不顺利、一根头发的寿命已尽生长新发的功能退化等。这样就会在不知不觉地开始进行脱发。

如果发现头顶或额头的头发开始变细且无弹性容易段时，其寿命开始变短且开始脱落。一天所掉的头发数增加后渐渐的经过一定时间，头皮的厚度变薄，毛细血管缩小，直至头发无法生长。

本产品利用中医学，使用有助于头发头皮健康的生药草提取物，制成便于人们使用的洗发水和喷雾液形态的产品。生药草所固有的效能综合地作用于头皮，使其从更本上得到改善，从而可以医治脱发、产生头皮屑、发痒等各种头皮疾病。

甲基 - 扩张毛孔，扩张毛细血管

水杨酸 - 减少发痒的症状，杀菌

泛酰醇 - 保湿

当归 - 稳定、清洁

川弓 - 扩张毛细血管、加强血压促进血液循环

何首乌 - 强壮、保血

(第一次发现的人用此洗头后发现头发变黑了，由此得来的名)

菖蒲 - 稳定/镇静作用，杀菌，杀虫

意苡仁 - 主成分是肉豆蔻酸和B-谷脂醇，能预防由于男性激素引起的脱发

甘草 - 抗炎，抗溃疡

主成分是甘草次酸和甘草酸，可以预防由男性激素引起的脱发

## 特 征

本产品便于消费者在家里使用，可以轻易地改善、管理头发与头皮。

脱发或头皮疾病较严重者，请同时使用洗发水和Dream毛液。使用本公司产品后得到一定改善的人为维持现况可以单独使用本公司的洗发水。

### Dream毛 洗发水(Shampoo)

1. 生药草提取物的功能可以对改善头皮状况起到综合性作用，使头皮更加健康的洗发水。
2. 去除头皮上的异物、皮脂、角质等有着杀菌、消炎效果使头皮维持稳定，清洁。
3. 扩大毛细血管和毛孔，使Dream毛液的效果更好，因此请在使用Dream毛液之前使用该洗发水。
4. 水杨酸甲醇成分使人感到清爽，不痒。
5. 硅树脂乳剂使发质维持柔和。
6. 本产品适用于预防脱发，或因头皮屑、头皮痒、油性/干性等因素引起的各种头皮疾病苦恼的人使用。持续使用会使头皮健康，增加头发并使发质变得光滑。

### Dream毛液(Scalp Lotion)

1. 韩方提取物给头皮和发根供给营养，促使头发生长。
2. Panthenol, Protein等成份可使头发维持韧性，起到保湿作用。
3. 韩方提取物可以对头皮起到综合作用，从本质上改善头皮的健康情况，从而成为解决脱发的根本对策。
4. 激活发根，使头发长得粗而结实。
5. 脱发现象在一定程度上得到改善之后，只使用洗发水也可以起到维持作用。

## 使用方法

### Dream毛 洗发水(Shampoo)

- \* 不要与其他产品混合使用
- \* 每天以温水使用本产品洗发一次以上。
- \* 将本产品涂抹后使其充分产生泡沫后，用手指慢慢按摩5分钟左右。
- \* 用清水洗净后，使用棉毛巾按住头发，使毛巾充分吸收头发上的谁。 ，

### Dream毛液(Scalp Lotion)

- \* Dream毛液至少一日使用一次以上，若一日使用一次时，请在睡觉前先用Dream毛洗发水洗发，然后在头发充分干之后再使用。
- \* Dream毛液不是喷在头发上，而是要喷在头皮上。因此要先喷在头发上使头发变湿后用手指涂抹于头皮上使其渗透。

## 头皮按摩方法

- \* 使用本产品过程中结合头皮按摩其效果会更好。
- \* 头皮按摩是用物理方法促进头皮的血液循环，从而改善头皮健康。
- \* 用两手的指尖按头的两侧，使头皮和头盖骨分别形成运动的方式晃动头皮。这个运动从耳朵上端，头的两侧开始到头顶方向或者从前额开始向头顶移动数次(约5分钟)左右即可。

## 期待效果

- \* 使用1个月内
  - 停止托法
  - 头皮屑减少
  - 止痒、消炎等 缓解头皮疾病
  
- \* 3个月内
  - 开始长新头发
  - 小而细的头发长得可以用肉眼看到
  - 先前的头发变粗而结实
  
- \* 6个月后
  - 使新长出的头发养发、育发，变得更结实。