

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5836128号
(P5836128)

(45) 発行日 平成27年12月24日 (2015. 12. 24)

(24) 登録日 平成27年11月13日 (2015. 11. 13)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 8/64 (2006. 01)	A 6 1 K 8/64 Z N A
A 6 1 K 8/49 (2006. 01)	A 6 1 K 8/49
A 6 1 Q 19/02 (2006. 01)	A 6 1 Q 19/02

請求項の数 44 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2011-543705 (P2011-543705)	(73) 特許権者	509168461
(86) (22) 出願日	平成21年12月28日 (2009. 12. 28)		ルバンス セラピューティックス インク.
(65) 公表番号	特表2012-514004 (P2012-514004A)		REVANCE THERAPEUTIC
(43) 公表日	平成24年6月21日 (2012. 6. 21)		S, INC.
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/069578		アメリカ国 カリフォルニア94560
(87) 国際公開番号	W02010/078244		ニューアーク ゲートウェイブルバード7
(87) 国際公開日	平成22年7月8日 (2010. 7. 8)		555
審査請求日	平成24年12月26日 (2012. 12. 26)	(74) 代理人	100107984
(31) 優先権主張番号	61/142, 094		弁理士 廣田 雅紀
(32) 優先日	平成20年12月31日 (2008. 12. 31)	(74) 代理人	100102255
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 小澤 誠次
前置審査		(74) 代理人	100096482
			弁理士 東海 裕作
		(74) 代理人	100131093
			弁理士 堀内 真

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 色素過剰を治療するための組成物及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

コウジ酸、及び

正に帯電した骨格及びそれに結合した複数の効率基を含む、正に帯電した担体分子を含み、

前記コウジ酸と前記担体分子とが、非共有的に結合し、

前記コウジ酸が、美白を引き起こすための十分な量で存在し、

前記正に帯電した担体分子が、前記コウジ酸の経皮送達を増強するための十分な量で存在し、

前記効率基が、 - (g l y) _{n 1} - (a r g) _{n 2} (配列番号1)、H I V - T A T又はその断片、アンテナペディアP T D又はその断片、(g l y) _p - R G R D D R R Q R R R - (g l y) _q (配列番号2)、(g l y) _p - Y G R K K R R Q R R R - (g l y) _q (配列番号3)、及び(g l y) _p - R K K R R Q R R R - (g l y) _q (配列番号4) からなる群より選択されるアミノ酸配列であり、下付き文字n 1が0 ~ 2 0の整数であり、下付き文字n 2が独立に5 ~ 2 5の奇数の整数であり、かつ下付き文字p及びqがそれぞれ独立に0 ~ 2 0の整数である、局所用組成物。

【請求項2】

正に帯電した骨格が、ポリアミノ酸又はポリアルキレンイミンである、請求項1に記載の局所用組成物。

【請求項3】

ポリアミノ酸が、ポリリシン、ポリアルギニン、ポリヒスチジン、及びポリオルニチンからなる群より選択される、請求項 2 に記載の局所用組成物。

【請求項 4】

皮膚の色素沈着を低減するための薬剤の調製における局所用組成物の使用であって、前記局所用組成物が、コウジ酸と正に帯電した担体分子とを含み、前記正に帯電した担体分子が、正に帯電した骨格とそれに結合した複数の効率基とを含み、

前記コウジ酸と前記正に帯電した担体分子とが、非共有的に結合し、前記正に帯電した担体分子が、前記コウジ酸の経皮送達を増強するための十分な量で前記局所用組成物中に存在し、

前記効率基が、 $-(gly)_{n_1}-(arg)_{n_2}$ (配列番号 1)、HIV-TAT 又はその断片、アンテナペディア PTD 又はその断片、 $(gly)_p-RGRDDRQR$ $R-(gly)_q$ (配列番号 2)、 $(gly)_p-YGRKKRQR$ $RR-(gly)_q$ (配列番号 3)、及び $(gly)_p-RKKRQR$ $RR-(gly)_q$ (配列番号 4) からなる群より選択されるアミノ酸配列であり、下付き文字 n_1 が 0 ~ 20 の整数であり、下付き文字 n_2 が独立に 5 ~ 25 の奇数の整数であり、かつ下付き文字 p 及び q がそれぞれ独立に 0 ~ 20 の整数である、使用。

【請求項 5】

正に帯電した骨格が、ポリアミノ酸又はポリアルキレンイミンである、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 6】

ポリアミノ酸が、ポリリシン、ポリアルギニン、ポリヒスチジン、及びポリオルニチンからなる群より選択される、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 7】

正に帯電した担体分子が、正に帯電した担体を含まない以外は同一の参照組成物のコウジ酸の経皮流動と比較して、コウジ酸の経皮流動を 2 倍増加させるのに十分な量で局所用組成物中に存在する、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 8】

正に帯電した担体分子が、正に帯電した担体を含まない以外は同一の参照組成物のコウジ酸の経皮流動と比較して、コウジ酸の経皮流動を 2 倍増加させるのに十分な量で局所用組成物中に存在する、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 9】

下付き文字 n_1 が 0 ~ 8 の整数である、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 10】

下付き文字 n_1 が 2 ~ 5 の整数である、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 11】

下付き文字 n_2 が独立に 7 ~ 17 の奇数の整数である、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 12】

下付き文字 n_2 が独立に 7 ~ 13 の奇数の整数である、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 13】

下付き文字 p 及び q がそれぞれ独立に 0 ~ 8 の整数である、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 14】

下付き文字 p 及び q がそれぞれ独立に 2 ~ 5 の整数である、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 15】

下付き文字 n_1 が 0 ~ 8 の整数である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 16】

下付き文字 n_1 が 2 ~ 5 の整数である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 17】

10

20

30

40

50

下付き文字 n が独立に 7 ~ 17 の奇数の整数である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 18】

下付き文字 n が独立に 7 ~ 13 の奇数の整数である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 19】

下付き文字 p 及び q がそれぞれ独立に 0 ~ 8 の整数である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 20】

下付き文字 p 及び q がそれぞれ独立に 2 ~ 5 の整数である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 21】

組成物が、メラニン生成又はメラニンに関連する皮膚の色素沈着を低減する、請求項 1 に記載の局所用組成物。

10

【請求項 22】

組成物が、メラニン生成の上昇に伴う状態を治療する、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 23】

状態が、過剰色素、日焼け又はその組合せである、請求項 22 に記載の局所用組成物。

【請求項 24】

皮膚科学的、化粧品用、又は薬学的に許容される担体、媒体、ビヒクル、又は賦形剤をさらに含む、請求項 1 に記載の局所用組成物。

【請求項 25】

組成物が、水溶液、エマルジョン、マイクロエマルジョン、懸濁液、クリーム、ローション、ジェル、又は粉末の形状である、請求項 1 に記載の局所用組成物。

20

【請求項 26】

ゲル化剤、粘度修正剤、又はその組合せをさらに含む、請求項 25 に記載の局所用組成物。

【請求項 27】

ゲル化剤が、セルロース系である、請求項 26 に記載の局所用組成物。

【請求項 28】

ゲル化剤が、ヒドロキシプロピルセルロース (HPC) である、請求項 27 に記載の局所用組成物。

【請求項 29】

HPC が、組成物全体の $2 \sim 4 \frac{W}{V} \%$ の量で組成物中に存在する、請求項 28 に記載の局所用組成物。

30

【請求項 30】

粘度修正剤が、ポリエチレングリコール (PEG) 又は保湿剤である、請求項 26 に記載の局所用組成物。

【請求項 31】

抗菌剤、保湿剤、水和剤、浸透剤、保存剤、乳化剤、天然油、合成油、溶媒、界面活性剤、洗剤、皮膚軟化剤、酸化防止剤、香料、充填剤、増粘剤、ワックス、臭気吸収剤、染料、着色剤、粉末、及びその組合せから選択される添加剤をさらに含む、請求項 25 に記載の局所用組成物。

【請求項 32】

40

麻酔剤、かゆみ止め添加剤、植物抽出物、品質改良剤、美白剤、グリッター、保湿剤、マイカ、ミネラル、ポリフェノール、シリコン、サンブロック、ビタミン、植物由来薬品及びその組合せから選択される添加剤をさらに含む、請求項 25 に記載の局所用組成物。

【請求項 33】

薬剤が、メラニン生成の上昇に伴う状態を治療する、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 34】

状態が、過剰色素、日焼け又はその組合せである、請求項 33 に記載の使用。

【請求項 35】

ポリアルキレンイミンが、ポリエチレンイミンである、請求項 2 に記載の局所用組成物。

【請求項 36】

50

ポリアミノ酸が、ポリリシンである、請求項 3 に記載の局所用組成物。

【請求項 37】

正に帯電した骨格が、100～1,500,000D、250～1,200,000D 及び 1000～1,000,000D から選択される分子量を有する、請求項 3 に記載の局所用組成物。

【請求項 38】

ポリリシンが、100～1,500,000D、250～1,200,000D、1000～1,000,000D 及び 1000～3000D から選択される分子量を有する、請求項 36 に記載の局所用組成物。

【請求項 39】

ポリリシンが、70,000D 超、70,000～150,000D、150,000～300,000D 及び 300,000D 超から選択される分子量を有する、請求項 36 に記載の局所用組成物。

【請求項 40】

ポリアルキレンイミンが、ポリエチレンイミンである、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 41】

ポリアミノ酸が、ポリリシンである、請求項 6 に記載の使用。

【請求項 42】

正に帯電した骨格が、100～1,500,000D、250～1,200,000D 及び 1000～1,000,000D から選択される分子量を有する、請求項 6 に記載の使用。

【請求項 43】

ポリリシンが、100～1,500,000D、250～1,200,000D、1000～1,000,000D 及び 1000～3000D から選択される分子量を有する、請求項 41 に記載の使用。

【請求項 44】

ポリリシンが、70,000D 超、70,000～150,000D、150,000～300,000D 及び 300,000D 超から選択される分子量を有する、請求項 41 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2008年12月31日出願の米国特許仮出願第61/142,094号の優先権の利益を主張するものであり、これは参照によりその全体を本明細書に組み込まれているものとする。

【0002】

本発明は、色素過剰及びその他の好ましくない皮膚の色素沈着の治療に関する。本発明は、色素過剰及びその他の好ましくない皮膚の色素沈着を治療するための組成物及び薬剤の改善した送達方法に関する。

【背景技術】

【0003】

メラニンは、動物、植物及び原生生物界に存在する化合物群の一般的な用語である。ヒトにおいては、メラニンは、表皮の最も低い層、表皮基底層、及び基底細胞に位置するメラニン細胞 (melanocyte) と呼ばれる細胞にある細胞構造であるメラノソームで生成される。メラニンは、表皮のケラチン生成細胞を介して皮膚の角質層の角質細胞に送達され、皮膚の角質層に茶色っぽい色素を与える。皮膚の角質層に存在することにより、メラニンはヒトの皮膚の色素沈着の原因となる。

【0004】

メラニンは、紫外線照射を吸収することが可能で、それによって人体、特に皮膚を日光や紫外線照射の他の環境要因によるダメージや潜在的な発癌効果から保護する重要な役割を

10

20

30

40

50

果たしている。紫外線照射に暴露されると、人体の防御機構として、皮膚の露出部においてメラニンの生成が自然に増加する。この増加したメラニンの生成によって、露出した皮膚が黒くなる。この現象は通常日焼けとして知られている。文化によっては、日焼けした黒い皮膚は好ましく、見て美しいと考えられている。

【0005】

しかし、上昇したメラニンの生成は、常に好ましいと考えられてはいない。例えば、文化によっては、白い肌の方が日焼けした肌より魅力的であると考えられている。さらに、特定の皮膚疾患によって、皮膚にむらのあるメラニンの生成が導かれ、むらのある皮膚沈着を引き起こすことがある。例えば、色素過剰による疾患は、局所的な高レベルのメラニンによって起きる局所的な肌の黒ずみによって特徴付けられる。(例えば、Voet D.、Voet J.G.、Pratt CW. *Fundamentals of Biochemistry*. New York: Von Hoffmann Press, 2001: 657 参照)。色素過剰は、存在するメラニン細胞によるメラニン生成の増加、或いは活性メラニン細胞の増殖によって起こりうる。

10

【0006】

色素過剰及びその他のむらのある皮膚の色素沈着は、通常好ましくない、かつ魅力的でないとして見られる。例えば、座瘡、発疹、引っかき傷、又は皮膚の損傷が発生すると、顔やその他の身体の部分に好ましくない黒いしみによって特徴づけられる、炎症後の色素過剰が引き起こされることがある。妊娠、経口避妊薬の摂取、又は閉経によるホルモン変化に伴う、メラニン沈着 (melasma) と呼ばれる状態は、表皮の表面或いは表皮のさらに深いところの色素沈着によって隠れていることが多い。肝斑としても知られる黒子は、老人に典型的に表れる日焼けによるダメージによる黒い変色である。そばかすとしてよく知られている斑点 (ephelis) は、太陽に暴露されると日焼けする傾向にある皮膚の色が白い若い人によく見られる小さな斑点である [Caye KA and Feldman ST. *Hyperpigmentation: A review of common treatment options*. *J. Drugs Dermatol*. 2004; 3:668-678]。

20

【0007】

色素過剰や日焼けに伴う皮膚の変色は、漂白剤であるハイドロキノンを経局的に塗布することによって低減することができる。ハイドロキノンは、皮膚の黒い変色を段階的に退色させるとして、アメリカ食品医薬品局 (FDA) に承認され、店頭 (OTC) では最大2%の濃度、処方剤としては3~4%の濃度で皮膚美白剤として購入可能である。近年、しかしながら、ハイドロキノンの安全性を問題視して研究が行われている。これらの研究は現在FDAによって検討中であるが、動物において毒性と発癌性、及びヒトにおいて外因性組織褐変症を発生することを示している。FDAが、過剰色素を治療するためのハイドロキノンの使用を禁止する可能性もある。

30

【0008】

ハイドロキノンの使用による潜在的な危険性を鑑みて、ハイドロキノンを伴わずに過剰色素又は日焼け後の皮膚の色を白くする組成物や方法を開発することが望ましい。しかし、現在までにハイドロキノンの代替案として同定されている皮膚美白剤は、効果が低いか、或いは毒性又は皮膚炎等の好ましくない副作用を有する、のどちらかである。例えば、コウジ酸は、皮膚美白剤としての使用が見い出されたが、過剰色素を治療する従来のコウジ酸製剤には、いくつかの欠点がある。コウジ酸はヒトの皮膚に容易に浸透しないため、従来のコウジ酸製剤は、皮膚美白効果を発揮するために、十分な経皮量を提供するための比較的高い濃度のコウジ酸を含んでいる。高濃度のコウジ酸は、潜在的感作を刺激し、接触性皮膚炎を誘発することが知られている。さらに、いくつかの研究が高い用量のコウジ酸が変異原性である、及び/又は腫瘍形成を促進する可能性を示しているため、従来の局所用コウジ酸含有製剤における、皮膚美白効果を発揮するための高濃度のコウジ酸が深刻な健康危害を引き起こす可能性がある。これらの欠陥により国によっては、過剰メラニンに伴う皮膚の色素沈着を低減するための既存のコウジ酸製剤の使用を一部禁止している。

40

【0009】

したがって、過剰色素を治療するための、新しい安全な製剤が必要である。

【先行技術文献】

50

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Voet D.、Voet J.G.、Pratt CW. Fundamentals of Biochemistry. New York: Von Hoffmann Press、2001: 657

【非特許文献2】Caye KA and Feldman ST. Hyperpigmentation: A review of common treatment options. J. Drugs Dermatol. 2004; 3:668-678

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明は、メラニンに関連する皮膚の色素沈着の強度を減らす組成物及び方法を提供する。本発明の組成物及び方法は、過剰色素及び日焼けを含むメラニン生成の上昇に伴うあらゆる状態を治療するために使用することができる。

10

【0012】

本発明の1つの実施形態は、過剰色素を治療するための局所用組成物を提供する。組成物は、皮膚美白剤と、皮膚美白剤の経皮送達を増強するための十分な量の正に帯電した担体とを含む。好ましい実施形態において、皮膚美白剤は、コウジ酸又はコウジ酸の誘導体である。

【0013】

本発明の別の態様は、皮膚の色素沈着を低減する方法を提供する。方法は、治療する皮膚の領域を特定し、選択した領域の皮膚の色素沈着を低減させるために組成物を塗布することを含む。組成物は、皮膚美白剤と、皮膚美白剤の経皮送達を増強する量の正に帯電した担体とを含む。より好ましい態様では、皮膚美白剤は、コウジ酸又はコウジ酸の誘導体を含む。

20

【0014】

本発明の別の態様は、皮膚の色素沈着を低減するキットを提供する。キットは、皮膚美白剤と、皮膚美白剤の経皮送達を増強するための十分な量の正に帯電した担体とを含む。皮膚美白剤と正に帯電した担体は、キット成分として別個に保管して、使用の直前に組み合わせてもよいし、事前に混合して使用してもよい。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本発明は、過剰色素と関連する色素沈着又は日焼け等による望ましくない肌黒さ等の、皮膚の望ましくない色素沈着を低減するための組成物に関する。好ましい態様では、本発明の組成物は、皮膚美白剤と局所塗布後に皮膚美白剤の経皮送達を増強し得る送達分子とを含む。本発明は、皮膚美白剤と、皮膚美白剤の経皮送達を増強し得る送達分子とを局所的に塗布することによって、過剰色素と関連した皮膚の変色を低減する方法も提供する。

30

【0016】

本発明が意図する皮膚美白剤は、特に限定されず、過剰なメラニンと関連する変色を低減することができる、合成された化合物及び自然起源の化合物の両方を含む。本発明の意図する皮膚美白剤としては、コウジ酸、アゼライン酸、アスコルビン酸、トレチノイン(レチノール)、局所用グルココルチコイド、リノール酸、ナイアシンイミド(niacinimide)、4-t-ブチルカテコール、トラネキサム酸、及びリコリスエキスを含むが、これに限定されない。皮膚美白剤の組合せも本発明の意図に含まれる。

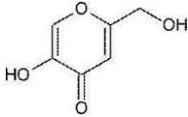
40

【0017】

好ましい実施態様では、皮膚美白剤は、コウジ酸又はコウジ酸の誘導体である。コウジ酸($C_6H_6O_4$; 5-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)-4-ピロン)は以下の構造を有し、

【0018】

【化 1】



【0019】

日本で麹 (*Aspergillus oryzae*) として知られる菌の種類から入手することができる。コウジ酸は、メラニンの形成と関連するインピボの化学反応を触媒する酵素であるチロシナーゼの活性を阻害してメラニンの形成をブロックする。コウジ酸は、メラニンの合成を防止して皮膚美白剤として作用する。本発明のいくつかの好ましい実施態様においては、皮膚美白剤はコウジ酸誘導体である。本明細書中では、『コウジ酸誘導体』なる用語は、1
10
又は2以上の化学的又は機能的変化を経たが、望ましくない高レベルのメラニンによって引き起こされる皮膚変色を軽減する可能性のあるコウジ酸に関する。皮膚変色を軽減できるコウジ酸誘導体は、以前に報告されている(例えば、米国特許番号第5,486,624号; 米国特許番号第5,523,421号; 米国特許番号第5,824,327号; 及び米国特許番号第5,968,487号参照; これらは参照によりその全体が本明細書に援用される)。本発明が意図するコウジ酸誘導体としては、2-(2-ヒドロキシベンゾイル)オキシメチル-5-ヒドロキシ-4H-ピラン-4-オン、2-(3-ヒドロキシベンゾイル)オキシメチル-5-ヒドロキシ-4H-ピラン-4-オン、2-(4-ヒドロキシベンゾイル)オキシメチル-5-ヒドロキシ-4H-ピラン-4-オン、2-(2,3-ジヒドロキシベンゾイル)オキシメチル-5-ヒドロキシ-4H-ピラン-4-
20
オン、及び2-(3,4-ジヒドロキシベンゾイル)オキシメチル-5-ヒドロキシ-4H-ピラン-4-オンが含まれるが、これに限定されない。

【0020】

本発明の1つの態様は、コウジ酸が、メラニン生成を抑制する必要な皮膚関連構造に容易に達しないと認識である。論理に縛られることなく、コウジ酸を関連する皮膚関連構造に運搬することが難しいので、特定のコウジ酸製剤におけるコウジ酸が高濃度となったと考えられている。したがって、本発明の好ましい実施態様は、コウジ酸の経皮量を増強、及び/又はコウジ酸を関連する皮膚関連構造に指向させることができる正に帯電した担体分子を提供する。運搬は、皮膚漂白剤をコバレントに修飾することなく行われる。

【0021】

『正に帯電した』とは、担体が、少なくともいくつかの溶液相の条件下で、好ましくは、少なくともいくつかの生理学的な互換条件下で、正の帯電を有することを意味する。より具体的には、本明細書中の『正に帯電した』とは、問題の基が、全てのpH条件下で帯電される官能基例えば四級アミンを含むか、或いは例えば一級アミンの場合のpH変化等の一定の溶液相条件下で正の帯電を得ることができる官能基を含むことを意味する。より好ましくは、本明細書中の『正に帯電した』は、生理学的な互換条件下でアニオンと関連する反応(behavior)を有する基に関する。複数の正に帯電した部分を有するポリマーは、ホモポリマーである必要はなく、それは当業者にとって明らかなことである。正に帯電した部分の他の例は、先行技術においてよく知られており、容易に使用することができ、それは当業者にとって明らかなことである。

【0022】

一般的に、正に帯電した担体は、典型的に原子鎖である、生理学的pHで正の帯電を有する鎖の基、或いは骨格から伸長する側鎖に結合した正に帯電した基を有する、正に帯電した骨格を含む。好ましくは、正に帯電した骨格自体は、定義された酵素的又は治療的生物学的活性を有さない。直線状骨格(linear backbone)は、いくつかの実施態様で、窒素、酸素、硫黄、シリコン及びリンから選択されるヘテロ原子によって遮断される炭化水素骨格である。骨格鎖の原子の大部分は、通常炭素である。さらに、骨格は、しばしば繰り返しユニットのポリマー(例えば、アミノ酸、ポリ(エチレンオキシ)、ポリ(プロピレンアミン)、ポリアルキレンイミン、等)であるが、ヘテロポリマーであってもよい。ある実施態様では、正に帯電した骨格は、複数のアミン窒素原子が正の帯電を有するアンモ
40
50

ニア基（テトラ置換）として存在する、ポリプロピレンアミンである。別の実施態様では、正に帯電した骨格は、非ペプチジルポリマーであり、ポリアルキレンイミン等のヘテロ又はホモポリマーであってもよく、例えば約100～約2,500,000D、好ましくは約250～約1,800,000D、そして最も好ましくは約1000～約1,400,000Dの分子量を有するポリエチレンイミン又はポリプロピレンイミンである。別の実施態様では、骨格は、正に帯電した基（例えば、アンモニア基、ピリジニウム基、ホスホニウム基、スルホニウム基、グアニジン基、又はアミジニウム基）を含む複数の側鎖部分を結合している。この実施態様の側鎖部分は、分離又は変数と一致している骨格に沿った空間に配置される。さらに、側鎖の長さは同一でも異なってもよい。例えば、ある実施態様において、側鎖は、1～20の炭素原子を有する、直鎖又は分岐した炭化水素鎖であってもよく、上記正に帯電した基の1つの遠位末端（骨格から離れた）で終了してもよい。本発明の全ての態様で、担体と生物学的な活性剤との結合は、非共有相互作用によるものであり、例えばイオン相互作用、水素結合、ファンデルワールス力又はその組合せを含むがそれに限定されない。

【0023】

ある実施態様では、正に帯電した骨格は、複数の正に帯電した側鎖基（例えば、リシン、アルギニン、オルニチン、ホモアルギニン、等）を有するポリペプチドである。好ましくは、ポリペプチドは、約100～約1,500,000D、好ましくは約250～約1,200,000D、最も好ましくは約1000～約1,000,000Dの分子量を有する。当業者は、本発明のこの範囲内でアミノ酸が使用される時に、側鎖が、結合の中心に側鎖はD型又はL型（R又はS配置）を有することを理解するだろう。いくつかの好ましい実施態様で、ポリペプチドは、約500～約5000D、より好ましくは1000～約4000D、より好ましくは2000～約3000Dの分子量を有する。他の実施態様では、ポリペプチドは少なくとも約10,000Dの分子量を有する。

【0024】

別の実施態様では、骨格部分は、ポリリシンであり、本明細書中の効率基が、ポリリシンに結合している。ポリリシンは、約100～約1,500,000D、好ましくは約250～約1,200,000D、最も好ましくは約1000～約3000Dの分子量を有してもよい。例えば70,000D超のMWを有するポリリシン、70,000～150,000DのMWを有するポリリシン、150,000～300,000DのMWを有するポリリシン、300,000D超のMWを有するポリリシンである、市販（Sigma Chemical Company 社製）のあらゆるポリリシンであってもよい。適切なポリリシンの選択は、組成物の残りの成分に依存し、組成物に全体的な正味の正の帯電を提供するのに十分であり、負に帯電した成分を組み合わせた長さの好ましくは1～4倍の長さを提供する。

【0025】

若しくは、骨格はペプチド等のポリペプチドのアナログであってもよい（例えば、Kessler, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 32:543 (1993); Zuckermann et al. Chemtracts--Macromol. Chem. 4:80 (1992);及び Simon et al. Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 89:9367 (1992)参照）。要約すると、ペプチドは、側鎖がアルファ炭素原子よりも骨格窒素原子に結合しているポリグリシンである。上記のように、側鎖の部分は、典型的に、正に帯電した基で終了し、正に帯電した骨格成分を提供する。ペプチドの合成は、例えば、その全体が参照により援用される米国特許第5,877,278号に記載されている。本明細書中に使用される、ペプチド骨格構造を有する正に帯電した骨格は、アルファ炭素の位置に、天然発生する側鎖を有するアミノ酸で構成されていないため、『非ペプチド』であるとみなされる。

【0026】

ペプチドのアミド結合が、例えばエステル結合、チオアミド（- - C S N H - - ）、逆チオアミド（- - N H C S - - ）、アミノメチレン（- - N H C H 2 - - ）又は逆アミノメチレン（- - C H 2 N H - - ）基、ケトメチレン（- - C O C H 2 - - ）基、ホスフィン酸塩（- - P O 2 R C H 2 - - ）、ホスホアミデート、及びホスホアミデートエステル（

10

20

30

40

50

- - P O₂ R N H - -)、逆ペプチド (- - N H C O - -)、トランス - アルケン (- - C R = C H - -)、フルオロアルケン (- - C F = C H - -)、ジメチレン (- - C H₂ C H₂ - -)、チオエーテル (- - C H₂ S - -)、ヒドロキシエチレン (- - C H (O H) C H₂ - -)、メチレンオキシ (- - C H₂ O - -)、テトラゾール (C N₄)、スルホンアミド (- - S O₂ N H - -)、メチレンスルホンアミド (- - C H R S O₂ N H - -)、逆スルホンアミド (- - N H S O₂ - -) 及びマロン酸エステル及び / 又はゲム - ジアミノ - アルキルサブユニットを有する骨格等のサロゲートで置換されている、ポリペプチドの立体的又は電子的な模倣物を用いることによって、様々な他の骨格を使用することができる (Fletcher et al ((1998) Chem. Rev. 98:763) により検討され、その引用文献により詳述されている)。前述の置換の多くは、アルファアミノ酸から形成される骨格に対して、およそ等比体積のポリマー骨格となる。

10

【 0 0 2 7 】

上記に記載した各骨格において、側鎖基は、正に帯電した基を担持すると付加することができる。例えば、スルホンアミド - 結合骨格 (- - S O₂ N H - 及び - - N H S O₂ - -) は、窒素原子に結合した側鎖基を有してもよい。同様に、ヒドロキシエチレン (- - C H (O H) C H₂ - -) 結合は、ヒドロキシ置換基に結合した側鎖基を有してもよい。当業者は、通常の合成方法を用いて、正に帯電した側鎖基を提供するために、他の結合化学 (linkage chemistries) を容易に用いることができる。

【 0 0 2 8 】

本発明の 1 つの実施態様では、正に帯電した効率基を有する正に帯電した担体のみが、皮膚美白剤の経皮送達に必要である。いくつかの実施態様において、正に帯電した骨格は、複数の上記のような正に帯電した側鎖基を有するポリペプチド (例えば、リジン、アルギニン、オルニチン、ホモアルギニン等) である。別の実施態様において、正に帯電した担体は、約 1 0 0 ~ 1, 5 0 0, 0 0 0 D の分子量を有する、複数の正に帯電した側鎖基を有するポリアルキレンイミン等の非ペプチジルポリマーを含む。かかるポリアルキレンイミンは、ポリエチレン - 及びポリプロピレンイミンである。

20

【 0 0 2 9 】

好ましい実施態様において、正に帯電した担体は、複数の結合した効率基を有する正に帯電した骨格を有する。本明細書中で、『効率基 (efficiency group)』は、組織又は細胞膜を介した正に帯電された骨格の転移 (translocation) を促進する効果があるあらゆる剤である。効率基としては、 - (g l y)_{n 1} - (a r g)_{n 2}、H I V - T A T 又はその断片、アンテナペディアのタンパク質形質導入ドメイン又はその断片 (下付数字 n 1 は、0 ~ 2 0 の整数、好ましくは 0 ~ 8、さらに好ましくは 2 ~ 5 であり、下付数字 n 2 は、独立して約 5 ~ 約 2 5 の奇数の整数、好ましくは約 7 ~ 約 1 7、より好ましくは約 7 ~ 約 1 3 である) を例示することができるが、これに限定されない。より好ましくは、これらの実施態様において H I V - T A T 断片が、(g l y)_p - R G R D D R R Q R R R - (g l y)_q、(g l y)_p - Y G R K K R R Q R R R - (g l y)_q 又は (g l y)_p - R K K R R Q R R R - (g l y)_q (下付文字 p 及び q が、それぞれ独立して 0 ~ 2 0 の整数) の式を有し、断片が、断片の C 末端又は N 末端のいずれかを介して骨格に結合している。好ましい H I V - T A T 断片は、下付文字 p 及び q が、それぞれ独立して 0 ~ 8 の整数、より好ましくは 2 ~ 5 の整数のものである。別の好ましい実施態様において、効率基は、アンテナペディア (A n t p) タンパク質形質導入領域 (P T D) 又は活性を保持するその断片である。これらは、例えば、Console et al., J. Biol. Chem. 278:35109 (2003) により知られており、本発明の A n t p P T D としては、S G R Q I K I W F Q N R R M K W K K C が含まれるが、これに限定されない。好ましくは、正に帯電した担体は、担体の全重量に対する割合で少なくとも約 0 . 0 5 %、好ましくは約 0 . 0 5 ~ 約 4 5 重量%、最も好ましくは約 0 . 1 ~ 約 3 0 重量%の量で効率基を含む。 - (g l y)_{n 1} - (a r g)_{n 2} の式を有する正に帯電した効率基にとって、最も好ましい量は、約 0 . 1 ~ 約 2 5 % である。好ましい正に帯電した効率基は、例えば、 - g l y - g l y - g l y - a r g - a r g - a r g - a r g - a r g - a r g - a r g (- G l y₃ A r g

30

40

50

7)、H I V - T A T又はその断片、及びアンテナペディアP T D又はその断片を含む。

【0030】

本発明の別の実施態様では、正に帯電した担体は、比較的短いポリリシン又はポリエチレンイミン(P E I)骨格(直鎖又は分岐鎖)であり、正に帯電した効率基を有する。かかる担体の例としては、アミノ酸配列R K K R R Q R R R G - (K)₁₅ - G R K K R R Q R R Rを含むがこれに限定されない。好ましい実施態様において、かかる担体は、治療用組成物の骨格及び皮膚美白剤の運搬効率を著しく低減させる、無制御の凝集を低減させるのに有用である。いくつかの実施態様において、担体が比較的短いポリリシン又はP E I骨格である場合、骨格は、75, 000D未満の分子量、好ましくは30, 000D未満、最も好ましくは25, 000D未満の分子量を有する。例えば、いくつかの実施態様において、担体は比較的短い分岐鎖の、分子量が60, 000D未満、より好ましくは55, 000D未満、最も好ましくは50, 000D未満のポリリシン又はP E I骨格である。

10

【0031】

本発明の組成物は、好ましくは対象又は患者、すなわち特別な治療を必要とするヒト又は他の哺乳類の皮膚に適用される製品の形状を有する。『必要とする』なる用語は、薬学的な必要性又は健康に関する必要性の両方、さらに美顔用及び主観的な必要性、例えば顔の組織の外観を変更或いは改善するための必要性も含む。一般的に、組成物は、皮膚美白剤と正に帯電した担体、及び任意で1又は2以上の薬学的に許容される担体又は賦形剤と混合して調製される。もっとも簡単な形態では、緩衝食塩水(例えば、リン酸緩衝生理食塩水)等の単一の水性の薬学的に許容される担体又は賦形剤を含んでもよい。しかし、組成物は、皮膚科学的又は薬学的に許容される担体、ビヒクル又は媒体(すなわち、適用される組織に適合する担体、ビヒクル又は媒体)を含む、局所用の薬学的又は化粧品用の組成物に典型的な他の成分を含んでもよい。『皮膚科学的又は薬学的に許容される』なる表現は、本明細書中では、そのように記載される組成物又はその成分がかかる組織と接触しての使用に適切であるか、又は過度の毒性、不適合、不安定度、アレルギー反応等なしで一般的な患者への使用に適切であることを意味する。必要に応じて、本発明の組成物は、検討中の分野、特に化粧品及び皮膚科で従来から使用されているあらゆる成分を含んでもよい。組成物は、小アニオン、好ましくは多価アニオン、例えばリン酸塩、アスパルギン酸塩、又はクエン酸塩を含んでもよい。

20

【0032】

本発明の組成物の形状としては、水溶液、エマルジョン(マイクロエマルジョンを含む)、懸濁液、クリーム、ローション、ジェル、粉末、又は組成物が使用される皮膚又は他の組織に適用するのに使用される典型的な固形又は液体組成物を含むことができる。かかる組成物は、皮膚美白剤と担体の他に、かかる製品に典型的に使用される他の成分、例えば抗菌剤、保湿剤及び水和剤、浸透剤、保存剤、乳化剤、天然又は合成油、溶媒、界面活性剤、洗剤、皮膚軟化剤、酸化防止剤、香料、充填剤、増粘剤、ワックス、臭気吸収剤、染料、着色剤、粉末、任意で麻酔剤、かゆみ止め添加剤、植物抽出物、品質改良剤、美白剤、グリッター、保湿剤、マイカ、ミネラル、ポリフェノール、シリコーン又はその誘導体、サンブロック、ビタミン及び植物由来薬品(phytomedicine)を含んでもよい。

30

【0033】

特に好ましい実施態様において、組成物はゲル化剤及び/又は粘度修正剤を含む。かかる薬剤は一般的に、組成物の粘度を増強し、より簡単及びよりの確に組成物を適用できるようにする。さらに、かかる薬剤は、皮膚美白剤の活性を低減する傾向がある、水性の皮膚美白剤/担体水溶液が乾燥するのを防ぐ。特に好ましい薬剤は、帯電されていなく、皮膚を通過する皮膚美白剤の活性、又は毒担体複合体の効率を妨げないものである。ゲル化剤は、一定のセルロース系ゲル化剤、例えばヒドロキシプロピルセルロース(H P C)である。いくつかの実施態様では、皮膚美白剤/担体複合体は、2~4%のH P Cを有する組成物に製剤化される。若しくは、皮膚美白剤/担体複合体を含む水溶液の粘度は、ポリエチレングリコール(P E G)を添加することによって変更することができる。他の実施態様では、皮膚美白剤/担体水溶液は、プレミックスされた粘性のある薬剤、例えばCetaph

40

50

i) (登録商標)保湿剤と組み合わせてもよい。

【0034】

本発明は、本発明の1又は2以上の皮膚美白剤と正に帯電した担体とを含むキットも包含する。1又は2以上の皮膚美白剤と正に帯電した担体は、事前に混合されてもよいし、投与前に混合されるように、キット中に別個の成分として含まれてもよい。キットには、1又は2以上の皮膚美白剤と正に帯電した担体を運搬するための装置が含まれてもよい。かかる装置は、スキンパッチ及びカスタムアプリケーターを含むがこれに限定されない。

【0035】

以下の実施例及び本明細書中に記載される実施態様は、例示目的のためであり、当業者に提案される様々な修正、変更は、本出願及び請求項に含まれることを理解されたい。本明細書中に引用される全ての刊行物、特許、及び特許出願はあらゆる目的のために参照により援用される。

10

[実施例]

【実施例1】

【0036】

インビトロ試験 - チロシナーゼ阻害活性

【0037】

この実施例では、ブタの皮膚を介したコウジ酸製剤の経皮流動(transdermal flux)を(本発明で例示された正に帯電された担体分子と共に或いは無しに)測定した。以下に詳細に示すように、結果は、コウジ酸の経皮流動が、本発明で例示された正に帯電された分子と共に用いた場合、正に帯電された担体分子を含まない以外は同一のコウジ酸製剤で観察された経皮流動と比較して2倍であることを示した。

20

【0038】

この実施例で報告される分析は、酵素チロシナーゼの、チロシン等のフェノールを酸化する活性が、コウジ酸により阻害されていることを利用している。ブタの皮膚に浸透したコウジ酸によってチロシナーゼ活性が低減することをモニターすることにより、様々なコウジ酸製剤に対応するコウジ酸の経皮流動の測定を行うことができる。これらの研究における高レベルのチロシナーゼ阻害は、ブタの皮膚を介したコウジ酸の高レベルの経皮流動を示している。チロシンとチロシナーゼとの酵素反応が、チロシナーゼの濃度と比例して、475 nmの光学濃度で測定してモニターできる色の変化を伴うので、阻害反応を光学測定法を用いてモニターした。

30

【0039】

本実施例で報告される研究において、全ての試薬はSigma-Aldrich (St. Louis MO)より入手した。1.8 mMのL-チロシン溶液及び1.25 U/μLのマッシュルームチロシナーゼ酵素溶液を、pH 6.8の67 mMのリン酸カリウム緩衝液を用いて調製した。ポリアスパラギン酸流動緩衝液(濃度: 77 ng/ml)を、1%のBSAと共にPBSで調製した。RKKRRQRRRG-(K)₁₅-GRKKRRQRRRの式を有する正に帯電した担体分子(以下『RTP004』)は、10 μg/μLの濃度で0.9%のNaClで調製した。RTP004は、tBOC及び/又はFmoc固相化学を用いて合成した。0.625 mMのコウジ酸溶液(分子量142 g/mol)を、リン酸カリウム緩衝液及びポリアスパラギン酸流動緩衝液の両方で調製した。コウジ酸のIC₅₀値は、30 μM(4.26 μg/mL)で計算した。したがって、以下に示すように、ブタの皮膚を通過するコウジ酸の回収中に起こる緩衝液との希釈を計上するために、2000倍濃縮されたコウジ酸溶液(すなわち、200 μlの緩衝液中約4260 μgのコウジ酸)を使用した。

40

【0040】

フラックス緩衝液中の動態アッセイ

【0041】

ブタの皮膚を通過したコウジ酸製剤の経皮流動を測定するための動態アッセイを使用する前に、コウジ酸によるチロシナーゼ阻害を検出するアッセイの感度を確認するために、動

50

態アッセイの正当性を確認した。アッセイの評価は、チロシナーゼ活性の阻害、及び様々な時点及び連続的な段階希釈での用量依存的なコウジ酸によるチロシナーゼ活性の阻害を測定して行った。具体的には、0.625 mM コウジ酸 140 μ L、1.8 mM の L - チロシン 35 μ L、及び 1.25 U / μ L のマッシュルームチロシナーゼ酵素 25 μ L を、96 ウェルプレートに添加し、37 °C でインキュベートした。動態アッセイは、475 nm の光学濃度 (OD) 測定値で 1、2、3 及び 4 時間の時点で 30 分間行われ、結果を 1 分間隔で回収した (SpectraMax M5, Molecular Devices, Sunnyvale, CA)。96 ウェルプレートのいくつかのウェルは、チロシナーゼ又は L - チロシンなしに、フラックス緩衝液が添加されたコントロールウェルであった。様々な反応ウェルに存在するコウジ酸の量を標準化するために、毎時コントロールウェルからフラックス緩衝液に測定された量のコウジ酸を入れた。この値は、チロシナーゼ、チロシン、及びコウジ酸の混合物を含む反応ウェル中のコウジ酸の量を予測するためのポジティブコントロールを提供するために用いた。

10

【0042】

経皮流動のためのフランツチャンバーアッセイ

【0043】

以下の3つの製剤の酸の経皮流動を測定した。(1) 正に帯電した担体分子を含まない、フラックス緩衝液 200 μ L 中に 4 mg のコウジ酸を含む製剤；(2) フラックス緩衝液 200 μ L 中に 12 マイクログラムの RTP004 と 4 mg のコウジ酸とを含む製剤；(3) 200 μ L のフラックス緩衝液中にコウジ酸又は RTP004 を含まないコントロール製剤。

20

【0044】

これらの3つの製剤に関連するコウジ酸の経皮流動をフランツチャンバー (PermeGear, Bethlehem, PA; Isco Retriever IV, Lincoln, NE) を用いて測定した。要約すると、フランツチャンバーとは、膜 (ここではブタの皮膚) を通過した化合物の流動を測定することができる装置である。研究対象の各製剤を、ブタに皮膚の一方の側に配置し、4時間他方の側へと拡散させた。ブタの皮膚を通過する溶液 (すなわち、流入溶液 (flow-through solution)) は、最終的に回収され、連続的に 0.9% NaCl 緩衝液を循環するストリームに入り、動態アッセイで分析される。

【0045】

より具体的には、インライン細胞は、フランツチャンバーに集められ、循環容器 (circulator reservoir) は 0.9% NaCl で充填した。ブタの皮膚 (厚さ 0.45 mm) は、インライン細胞に添加し、3つの製剤をそれぞれ 200 μ L 各セルに添加した。フランツチャンバーは、1グループ当たり合計5個のサンプルに1時間に1回シャトルチェンジを行い (1サンプル当たり合計 480 μ L)、8 μ L / 分で4時間運転した。3つの異なるフラックスサンプルは、合計用量 200 μ L / 細胞 (サンプル当たり N = 5) でテストした。サンプルは、それぞれの対応するフランツ細胞に添加する前に5分間室温でインキュベートした。

30

【0046】

3つの製剤で得られた流入溶液を回収し、動態アッセイに供した。動態アッセイにおいて、96 ウェルプレートの各ウェルに、1.8 mM の L - チロシン 35 μ L、1.25 U / μ L のマッシュルームチロシナーゼ酵素 25 μ L、及びサンプル 140 μ L を添加した。サンプル溶液は、回収された状態の流入溶液か、表3に示す段階的2倍希釈に供した流入溶液から得た溶液であった。(各濃度 n = 5)。コウジ酸 + ペプチド送達は、流入溶液に示される適用された添加率で測定した。ポジティブコントロールには、コウジ酸は添加されなかった。

40

【0047】

その結果、コウジ酸及び RTP004 の両方を含む溶液は、コウジ酸を含むが RTP004 を含まない溶液と比較して、より高いコウジ酸の膜通過性が示された。より具体的には、ブタの皮膚を通過したコウジ酸の割合は、添加されたコウジ酸に対して、コウジ酸及び

50

R T P 0 0 0 4 を含む溶液では 1 2 . 2 8 % であったが、コウジ酸のみを含む溶液では 5 . 6 2 % であった。予想通り、コントロール溶液では、コウジ酸流動は観察されなかった。

【 0 0 4 8 】

したがって、この実施例は、コウジ酸の経皮流動が本発明の正に帯電した担体分子を使用することによって増強されうることを示している。この結果により、本発明の局所製剤は、局所用組成物中の皮膚美白剤が低濃度でも、コウジ酸等の皮膚美白剤の同等の経皮流動が可能であることが示された。本発明の組成物は、したがって、コウジ酸の局所的高濃度によって引き起こされる副作用を回避するのに有用かもしれない。

【 配列表 】

0005836128000001.app

フロントページの続き

(74)代理人 100150902

弁理士 山内 正子

(74)代理人 100141391

弁理士 園元 修一

(74)復代理人 100198074

弁理士 山村 昭裕

(72)発明者 ウォー ジェイコブ エム .

アメリカ国 カリフォルニア94105 サンフランシスコ #1801 ファーストストリート
425

審査官 吉岡 沙織

(56)参考文献 特表2007-526340(JP, A)

米国特許出願公開第2004/0043463(US, A1)

ファルマシア, 2008年 4月 1日, Vol.44, No.4, P.321-325

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 8/, 38/

A61P

A61Q

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)