

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2007年12月27日 (27.12.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/148803 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 38/00 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
 A61K 8/34 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
 A61K 8/64 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)
 A61K 31/07 (2006.01) C07K 5/103 (2006.01)
 A61P 17/16 (2006.01) C07K 7/06 (2006.01)
 A61P 19/02 (2006.01) C07K 7/08 (2006.01)
 A61P 29/00 (2006.01)

大阪府大阪市生野区巽西1丁目8番1号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 佐伯 憲生, 外 (SAEKI, Norio et al.); 〒1030027 東京都中央区日本橋三丁目15番8号 アミノ酸会館ビル4階 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2007/062635

(22) 国際出願日:

2007年6月22日 (22.06.2007)

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(30) 優先権データ:

特願2006-174622 2006年6月23日 (23.06.2006) JP

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): ロート製薬株式会社 (ROHTO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5448666 大阪府大阪市生野区巽西1丁目8番1号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 瀧口 久美子 (TAKIGUCHI, Kumiko) [JP/JP]; 〒5448666 大阪府大阪市生野区巽西1丁目8番1号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP). 本間 陽一 (HONMA, Yoichi) [JP/JP]; 〒5448666 大阪府大阪市生野区巽西1丁目8番1号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP). 菊地 数晃 (KIKUCHI, Kazuaki) [JP/JP]; 〒5448666 大阪府大阪市生野区巽西1丁目8番1号 ロート製薬株式会社内 Osaka (JP). 常次 修一 (TSUNETSUGU, Shuichi) [JP/JP]; 〒5448666

添付公開書類:

— 国際調査報告書
 — 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: COMPOSITION CAPABLE OF PROMOTING THE PRODUCTION OF HYALURONIC ACID

(54) 発明の名称: ヒアルロン酸産生促進能を有する組成物

(57) Abstract: Disclosed is a novel composition capable of remarkably promoting the production of hyaluronic acid. The composition comprises (A) at least one member selected from the group consisting of retinol and a derivative thereof and (B) at least one member selected from the group consisting of a peptide represented by Leu-Glu-His-Ala (Formula I), a derivative thereof and a salt of the peptide or the derivative. Alternatively, the composition comprises (A) at least one member selected from the group consisting of retinol and a derivative thereof and (B) at least one member selected from the group consisting of a peptide having the conservative substitution, deletion and/or addition of at least one amino acid residue in the amino acid sequence: Leu-Glu-His-Ala (Formula I) and capable of promoting the production of hyaluronic acid in a cell, a derivative thereof and a salt of the peptide or the derivative.

(57) 要約: 本発明は、顕著なヒアルロン酸産生促進能を有する新規組成物を提供することを目的とし、(A) レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B) Leu-Glu-His-Ala (式I) で表されるペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種とを含有する組成物を提供する。本発明はさらに、(A) レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B) Leu-Glu-His-Ala (式I) のアミノ酸配列において1個以上のアミノ酸の保存的置換、欠失および/または付加を有し且つ細胞におけるヒアルロン酸産生促進能を有するペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種とを含有する組成物を提供する。

WO 2007/148803 A1

明 細 書

ヒアルロン酸産生促進能を有する組成物

技術分野

- [0001] 本発明は、ヒアルロン酸産生促進能を有する有用な新規組成物ならびにそれに関連する発明に関する。

背景技術

- [0002] 従来より、動物の結合組織には、その主要成分として、コラーゲン、ヒアルロン酸、エラスチン、コンドロイチン硫酸、ヘパラン硫酸、デルマタン硫酸、ラミニンなどが含まれていることが分かっている。なかでもヒアルロン酸は、結合組織において後述のような重要な役割を果たしている。
- [0003] ヒアルロン酸は、皮膚、軟骨、関節液、臍帯、眼硝子体、その他の結合組織に存在する酸性ムコ多糖の一種である。ヒアルロン酸は生体内において多様な役割を担っていることで知られ、例えば、ヒアルロン酸は関節液の主成分として、関節においてクッションの役目を果たしたり、磨耗した軟骨を修復する機能を有することが知られている。またヒアルロン酸は、生体内において抗炎症作用を有することも知られている。
- [0004] さらに皮膚表皮では、基底層から顆粒層まで広くヒアルロン酸が分布しており、表皮細胞外空間の構造を支え、表皮基底層から角層への栄養分・老廃物などの物質輸送に関与したり、表皮細胞のターンオーバーを促進するトリガーとして働いたりすることが知られている。また、ヒアルロン酸は、わずか1gで約6Lもの水分を保持できるという強力な保水作用を有し、その作用により、細胞間隙に水分を保持する役割を担っていることも知られている。ヒアルロン酸は、加齢により徐々に減少することが知られ、この減少が、皮膚のシワやタルミの形成、皮膚の弾力性やハリ低下、または皮膚の乾燥や肌荒れといった皮膚の老化を招く一因となっている。
- [0005] 以上のような理由から、加齢等の原因により減少したヒアルロン酸の量を補充・増大させることが望まれているが、ヒアルロン酸は高分子化合物であるため、皮膚の外側から生体内に供給することは容易ではない。従って、生体内(例えば、表皮細胞間)などにヒアルロン酸を供給するためには、生体内におけるヒアルロン酸の生合成の促

進が重要とも言われている。

- [0006] ヒアルロン酸の減少による状態を改善するために、種々のヒアルロン酸合成促進物質が見出されている。例えば、アロエ抽出物、オクラ抽出物、水溶性 β -1, 3-グルカン誘導体、酵母抽出物(特許文献1)、ツカサノリ科トサカモドキ属に属する海藻の抽出物(特許文献2)、ラベンダー抽出物(特許文献3)、ダービリア科ダービリア属に属する海藻の抽出物(特許文献4)、レチノイン酸等が知られている。

特許文献1:特開2004-051533号公報

特許文献2:特開2000-136147号公報

特許文献3:特開平10-182402号公報

特許文献4:特開平09-176036号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0007] 上述のような生体におけるヒアルロン酸の果たす役割の重要度に鑑み、顕著なヒアルロン酸産生促進能を有する更なる有用な新規組成物の開発が望まれている。本発明はかかる従来の問題に鑑み、顕著なヒアルロン酸産生促進能を有する有用な新規組成物を提供することを目的とする。また本発明は、細胞におけるヒアルロン酸産生を促進する方法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

- [0008] 本発明者らは、前記課題を解決するために鋭意検討した結果、レチノール類と特定の amino 酸配列を有する特定ペプチド類とを併用して用いることにより、レチノール類を単独で用いるよりも細胞におけるヒアルロン酸産生促進能が顕著に促進されることを見出し、本発明を完成するに至った。

- [0009] 従って、本発明は以下を提供する。

(1) (A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B)Leu-Glu-His-Ala(式I)で表されるペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種とを含有する組成物。

(2) (A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B)Leu-Glu-His-Ala(式I)の amino 酸配列において1個以上の amino 酸の保存的置

換、欠失および／または付加を有し且つ細胞におけるヒアルロン酸産生促進能を有するペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種とを含有する組成物。

(3) 前記ペプチドが3～10残基のアミノ酸長を有する、項目(2)記載の組成物。

(4) 細胞におけるヒアルロン酸産生を促進するために使用され得る、項目(1)～(3)のいずれか一項に記載の組成物。

(5) 外用組成物である、項目(1)～(4)のいずれか一項に記載の組成物。

(6) (A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B)Leu-Glu-His-Ala(式I)で表されるペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種とを用いて、細胞におけるヒアルロン酸産生を促進する方法。

(7) (A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B)Leu-Glu-His-Ala(式I)のアミノ酸配列において1個以上のアミノ酸の保存的置換、欠失および／または付加を有し且つ細胞におけるヒアルロン酸産生促進能を有するペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種とを用いて、細胞におけるヒアルロン酸産生を促進する方法。

(8) 細胞におけるヒアルロン酸産生を促進するための組成物の製造のための、(A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B)Leu-Glu-His-Ala(式I)で表されるペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種との使用。

(9) 細胞におけるヒアルロン酸産生を促進するための組成物の製造のための、(A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B)Leu-Glu-His-Ala(式I)のアミノ酸配列において1個以上のアミノ酸の保存的置換、欠失および／または付加を有し且つ細胞におけるヒアルロン酸産生促進能を有するペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種との使用。

発明の効果

[0010] 本発明により、顕著なヒアルロン酸産生促進能を有する有用な新規組成物が提供される。本発明の組成物は、細胞におけるヒアルロン酸産生を促進するために使用

することができ、例えば、抗シワ用組成物、抗タルミ用組成物、関節障害の予防又は治療用組成物、炎症性疾患の予防又は治療用組成物などとして有益に使用することができる。さらに本発明により、細胞におけるヒアルロン酸産生を促進する方法などもまた提供される。

発明を実施するための最良の形態

- [0011] 以下、本発明を詳細に説明する。なお、本明細書中において使用される用語は、特に他に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられていることが理解されるべきである。
- [0012] 本発明は、(A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B) Leu-Glu-His-Ala (式I) で表されるペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種とを含有する組成物である。
- [0013] 本発明はまた、(A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、(B) Leu-Glu-His-Ala (式I) のアミノ酸配列において1個以上のアミノ酸の保存的置換、欠失および／または付加を有し且つ細胞におけるヒアルロン酸産生促進能を有するペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種とを含有する組成物である。
- [0014] 本発明に用いられる、レチノール及びその誘導体〔以下、本明細書においてこれらを総称して「レチノール類」ということがある〕は、医薬品、医薬部外品、化粧品または食品の分野において用いられ得るものであれば特に限定されない。
- [0015] レチノール誘導体としては、レチノイン酸；レチナール；レチノール、レチノイン酸、又はレチナールの異性体；レチノール又はその異性体のエステル誘導体；レチノール又はその異性体のエーテル誘導体；レチノイン酸又はその異性体のエステル誘導体；レチノール、レチノイン酸、レチナール又はそれらの異性体のエポキシ誘導体；レチノール、レチノイン酸、レチナール又はそれらの異性体の水素原子が脱離又は水素原子が付加した誘導体；等が挙げられる。
- [0016] レチノール、レチノイン酸又はレチナールの異性体としては、幾何異性体(シストランス異性体、又はE, Z異性体)が挙げられ、二重結合の結合位置や数、その立体構造は特に限定されない。

レチノール、レチノイン酸、又はレチナールの異性体の具体例としては、レチノール、レチノイン酸又はレチナールの、全トランス体、13-シス体、11-シス体、9-シス体、7-シス体、7, 9-ジ-シス体、7, 13-ジ-シス体、11, 13-ジ-シス体、9, 13-ジ-シス体、9, 11, 13-トリ-シス体などがそれぞれ挙げられる。これら異性体の中でも、全トランス体または13-シス体が好ましく、全トランス体が特に好ましい。

[0017] レチノール又はその異性体のエステル誘導体としては、レチノール又はその異性体と、脂肪族カルボン酸、芳香族カルボン酸等の酸類とのエステルが挙げられる。

[0018] 脂肪族カルボン酸としては、飽和又は不飽和の炭素数1~22の脂肪族カルボン酸が挙げられ、好ましくは飽和又は不飽和の炭素数2~18の脂肪族カルボン酸である。具体例としては、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、吉草酸、イソ吉草酸、ピバル酸、ヘキサン酸、ヘプタン酸、オクタン酸、オクチル酸、ノナン酸、デカン酸、ウンデカン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、イソパルミチン酸、ヘプタデカン酸、ステアリン酸、イソステアリン酸、ベヘン酸、アクリル酸、プロピオール酸、メタクリル酸、クロトン酸、イソクロトン酸、ウンデシレン酸、ミリストレイン酸、パルミトレイン酸、オレイン酸、リシノレン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸、イコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、シクロペンタンカルボン酸、シクロヘキサンカルボン酸などの脂肪族モノカルボン酸；シュウ酸、マロン酸、コハク酸、グルタル酸、アジピン酸、ピメリン酸、スベリン酸、アゼライン酸、セバシン酸、フマル酸、マレイン酸などの脂肪族ジカルボン酸又はそのモノエステル（例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、s-ブチル、t-ブチル、イソブチル、ペンチル、ヘキシル等の炭素数1~6のアルキルエステル等）；レチノイン酸等が挙げられる。また、脂肪族カルボン酸は置換されていても良く、その置換基としては、炭素数1~6のアルコキシ基（例、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、s-ブトキシ基、t-ブトキシ基、イソブチルオキシ基、ペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基等）、ハロゲン原子（例、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子）、アミノ基、ヒドロキシ基等が挙げられる。

芳香族カルボン酸としては、炭素数7~12の芳香族カルボン酸が挙げられ、好まし

くは炭素数7～10の芳香族カルボン酸である。具体例としては、安息香酸、ナフトエ酸、桂皮酸等の芳香族モノカルボン酸；フタル酸、イソフタル酸、テレフタル酸等の芳香族ジカルボン酸；等が挙げられる。また、芳香族カルボン酸は置換されていても良く、その置換基としては、炭素数1～6のアルキル基(例、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、s-ブチル基、t-ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、ヘキシル基等)、炭素数1～6のアルコキシ基(例、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、s-ブトキシ基、t-ブトキシ基、イソブチルオキシ基、ペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基等)、ハロゲン原子(例、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子)、アミノ基、ヒドロキシ基等が挙げられる。

[0019] レチノール又はその異性体のエステル誘導体の具体例としては、酢酸レチノール、プロピオン酸レチノール、酪酸レチノール、ピバル酸レチノール、ヘプタン酸レチノール、オクチル酸レチノール、ノナン酸レチノール、ラウリン酸レチノール、ミリスチン酸レチノール、パルミチン酸レチノール、ステアリン酸レチノール、ヘプタデカン酸レチノール、オレイン酸レチノール、リノレン酸レチノール、リノール酸レチノール、シクロペンタンカルボン酸レチノール、コハク酸レチノール、L-乳酸レチノール等やそれらの異性体が挙げられる。

[0020] レチノール又はその異性体のエーテル誘導体としては、レチノール又はその異性体のヒドロキシ基の水素原子がアルキル基、アルケニル基、アリール基、糖残基等で置換されたものが挙げられる。

アルキル基としては、炭素数1～22のアルキル基が挙げられ、好ましくは炭素数1～6のアルキル基である。具体例としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、s-ブチル基、t-ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、ヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基、ノニル基、デシル基、ウンデシル基、ドデシル基、トリデシル基、テトラデシル基、ペンタデシル基、ヘキサデシル基、ヘプタデシル基、オクタデシル基等が挙げられる。

アルケニル基としては、炭素数2～12のアルケニル基が挙げられ、好ましくは炭素数2～6のアルケニル基である。具体例としては、ビニル基、アリル基、ブテニル基(例、1-ブテニル、2-ブテニル)等が挙げられる。

これらアルキル基及びアルケニル基は置換されていても良く、その置換基としては、炭素数1～6のアルコキシ基(例、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、s-ブトキシ基、t-ブトキシ基、イソブチルオキシ基、ペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基等)、ハロゲン原子(例、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子)、アミノ基、ヒドロキシ基、オキシ基、フェニル基等が挙げられる。

[0021] アリール基としては、炭素数6～12のアリール基が挙げられる。具体例としては、フェニル基、ナフチル基(1-ナフチル基、2-ナフチル基)等が挙げられる。また、アリール基は置換されていても良く、その置換基としては、炭素数1～6のアルキル基(例、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、s-ブチル基、t-ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、ヘキシル基等)、炭素数1～6のアルコキシ基(例、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、s-ブトキシ基、t-ブトキシ基、イソブチルオキシ基、ペンチルオキシ基、ヘキシルオキシ基等)、ハロゲン原子(例、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子)、アミノ基、ヒドロキシ基等が挙げられる。

糖残基としては、単糖残基、オリゴ糖残基等が挙げられる。単糖残基の具体例としては、グルコース残基、フラクトース残基、ガラクトース残基、マンノース残基、タロース残基、イドース残基、アルトロース残基、アロース残基、グロース残基、キシロース残基、リボース残基、アラビノース残基、ラムノース残基、フコース残基、グルクロン酸残基等が挙げられる。オリゴ糖残基としては、2～10の単糖からなるオリゴ糖残基が挙げられる。オリゴ糖残基の構成単糖としては、グルコース、フラクトース、ガラクトース、マンノース、タロース、イドース、アルトロース、アロース、グロース、キシロース、リボース、アラビノース、ラムノース、フコース、グルクロン酸等が挙げられ、これらは同一又は異なってもよい。糖残基のヒドロキシ基の水素原子は置換されていても良く、その置換基としては、炭素数1～7のアシル基(例、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、バレリル基、イソバレリル基、ピバロイル基等)、炭素数1～6のアルキル基(例、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、s-ブチル基、t-ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、ヘキシル基等)等が挙げられる。

[0022] レチノール又はその異性体のエーテル誘導体の具体例としては、15-デオキシ-15-メトキシレチノール、15-デオキシ-15-エトキシレチノール、O-(β -D-グルコピラノシル)レチノール、O-(β -D-グルクロノピラノシル)レチノール、O-(β -D-マルトシル)レチノール等やそれらの異性体が挙げられる。

[0023] レチノイン酸又はその異性体のエステル誘導体としては、レチノイン酸と脂肪族又は芳香族アルコール、トコフェロール類等とのエステルが挙げられる。

脂肪族アルコールとしては、炭素数1~22の脂肪族アルコールが挙げられ、好ましくは炭素数1~18の脂肪族アルコールである。具体例としては、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、s-ブタノール、t-ブタノール、イソブタノール、ペンタノール、ヘキサノール等が挙げられる。また、脂肪族アルコールは置換されていても良く、その置換基としては、炭素数1~6のアルコキシ基(例、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、s-ブトキシ基、t-ブトキシ基、イソブチルオキシ基、n-ペンチルオキシ基、n-ヘキシルオキシ基等)、ハロゲン原子(例、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子)、アミノ基、フェニル基等が挙げられる。

芳香族アルコールとしては、炭素数6~12の芳香族アルコールが挙げられ、具体例としては、ベンジルアルコール、1-フェニルエチルアルコール、2-フェニルエチルアルコール等が挙げられる。また、芳香族アルコールは置換されていても良く、その置換基としては、炭素数1~6のアルキル基(例、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、s-ブチル基、t-ブチル基、イソブチル基、n-ペンチル基、n-ヘキシル基等)、炭素数1~6のアルコキシ基(例、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、s-ブトキシ基、t-ブトキシ基、イソブチルオキシ基、n-ペンチルオキシ基、n-ヘキシルオキシ基等)、ハロゲン原子(例、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子)、アミノ基、ヒドロキシ基等が挙げられる。

トコフェロール類としては、 α -トコフェロール、 β -トコフェロール、 δ -トコフェロール等が挙げられる。

[0024] レチノイン酸又はその異性体のエステル誘導体の具体例としては、レチノイン酸メ

チル、レチノイン酸エチル、 α -トコフェリルレチノエート、 β -トコフェリルレチノエート、 δ -トコフェリルレチノエート等やそれらの異性体が挙げられる。

- [0025] レチノール、レチノイン酸、レチナール又はそれらの異性体のエポキシ誘導体としては、レチノール、レチノイン酸、レチナール又はそれらの異性体の二重結合がエポキシ化されているものが挙げられ、エポキシ化の位置や数は特に限定されない。また、レチノール、レチノイン酸、レチナール又はそれらの異性体のエポキシ誘導体は、それぞれ、さらにエステル化、エーテル化されていてもよい。

具体例としては、5, 6-ジヒドロ-5, 6-エポキシレチノール、5, 6-エポキシ-5, 6-ジヒドロレチノールアセテート、5, 8-ジヒドロ-5, 8-エポキシレチノール、11, 14-エポキシ-11, 14-ジヒドロレチノール、5, 6;11, 14-ジエポキシ-5, 6, 11, 14-テトラヒドロレチノール、5, 6-ジヒドロ-5, 6-エポキシレチノイン酸等やそれらの異性体が挙げられる。

- [0026] レチノール、レチノイン酸、レチナール又はそれらの異性体の水素原子が脱離した誘導体において、脱離する水素原子の位置や数は特に限定されない。また、レチノール、レチノイン酸、レチナール又はそれらの異性体に水素原子が付加した誘導体において、付加する水素原子の位置や数は特に限定されない。また、レチノール、レチノイン酸、レチナール又はそれらの異性体の水素原子が脱離又は水素原子が付加した誘導体は、それぞれ、さらにエステル化、エーテル化されていてもよい。

具体例としては、3, 4-ジデヒドロレチノール、7, 8-ジデヒドロレチノール、7, 8-ジデヒドロレチノールアセテート、5, 6-ジヒドロレチノールアセテート、5, 6-ジヒドロレチノール、3, 4-ジデヒドロレチナール、5, 6-ジヒドロレチナール、7, 8-ジヒドロレチナール、9, 10-ジヒドロレチナール、3, 4-ジデヒドロレチノイン酸等やそれらの異性体が挙げられる。

- [0027] また、本発明のレチノール誘導体はさらに置換基を有していても良く、置換位置や置換基の数は特に限定されない。その置換基としては、炭素数1~6のアルキル基(例、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、*s*-ブチル基、*t*-ブチル基、イソブチル基、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基等)、炭素数1~6のアルコキシ基(例、メトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、イソプロポキシ基、*n*-

ーブトキシ基、s-ブトキシ基、t-ブトキシ基、イソブチルオキシ基、n-ペンチルオキシ基、n-ヘキシルオキシ基等)、ハロゲン原子(例、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子)、アミノ基、ヒドロキシ基、カルボキシ基、オキシ基等が挙げられる。

[0028] レチノール誘導体は塩であってもよく、このような塩としては、薬理的・生理的に許容される塩が好ましい。具体例としては、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩;マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩;アンモニウム塩;モノエタノールアミン塩等のアルカノールアミン塩;等を挙げることができる。

[0029] 本発明では、レチノール及びその誘導体として、好ましくは、全トランスレチノール、酢酸レチノール、パルミチン酸レチノール、 δ -トコフェリルレチノエートが用いられる。

[0030] 本発明において、上記のレチノール及びその誘導体は、1種単独で使用しても、また2種以上を任意に組み合わせて混合物の状態で使用してもよい。また例えば、本発明ではレチノール及びその誘導体として、レチノールやその誘導体を含有する水産動物の組織から得た脂肪油や抽出液(ビタミンA油など)等も用いられ得る。

[0031] 本発明の組成物に配合するレチノール類の配合量は、本願効果を奏し得る限り特に制限されないが、通常は、組成物100gあたり0.1IU~500万IU、より好ましくは50IU~150万IU、さらに好ましくは300IU~100万IU、1000IU~50万IUのレチノール類を含むように配合される。

[0032] ここでIUとは、当業者に通常理解され得る通り、ビタミンA類等の脂溶性ビタミン類の量に関する国際単位である。例えば、レチノールの場合1IU=約0.30 μ gのレチノールに対応し、酢酸レチノールの場合1IU=約0.34 μ gの酢酸レチノールに対応し、パルミチン酸レチノールの場合1IU=約0.55 μ gのパルミチン酸レチノールに対応し、 δ -トコフェリルレチノエートの場合1IU=約0.72 μ gの δ -トコフェリルレチノエートに対応する。

[0033] 本発明にはさらに、Leu-Glu-His-Ala(式I)で表されるペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種、或いはLeu-Glu-His-Ala(式I)のアミノ酸配列において1個以上のアミノ酸の保存的置換、欠失および/または付加を有し且つ細胞におけるヒアルロン酸産生促進能を有するペプチド、その

誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種が用いられる〔以下、本明細書においてこれらを総称して「特定ペプチド類」ということがある〕。

[0034] 本明細書中において、「ペプチドの誘導体」とは、例えば、ペプチドをアセチル化、パルミトイル化、ミリスチル化、アミド化、アクリル化、ダンシル化、ビオチン化、リン酸化、サクシニル化、アニリド化、ベンジルオキシカルボニル化、ホルミル化、ニトロ化、スルホン化、アルデヒド化、環状化、グリコシル化、モノメチル化、ジメチル化、トリメチル化、グアニジル化、アミジン化、マレイル化、トリフルオロアセチル化、カルバミル化、トリニトロフェニル化、ニトロトロポニル化、またはアセトアセチル化した誘導体等をいう。この中でもパルミトイル化は、細胞への浸透性が高くなることが期待されるので好ましく、またN末端のアセチル化、C末端のアミド化、C末端のメチル化は、末端からペプチドを分解するエキソペプチダーゼに対する抵抗性が付与され、生体中における安定性が高くなることが期待されるので好ましい。

[0035] 本明細書において、ペプチドまたはその誘導体の塩とは、ペプチドまたはその誘導体の薬理学的に許容される任意の塩（無機塩および有機塩を含む）をいい、例えば、ペプチドまたはその誘導体のナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、アンモニウム塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、有機酸塩（酢酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、リンゴ酸塩、シュウ酸塩、乳酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、プロピオン酸塩、蟻酸塩、安息香酸塩、ピクリン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩等）等が挙げられ、好ましくは、アンモニウム塩、塩酸塩、硫酸塩および酢酸塩であり、より好ましくはアンモニウム塩および酢酸塩である。

[0036] 本明細書において用語「アミノ酸の保存的置換」とは、以下の表1の各群内におけるアミノ酸間の置換をいう。

[0037] [表1]

酸性アミノ酸	アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)
塩基性アミノ酸	アルギニン (R)、リジン (K)、ヒスチジン (H)
親水性アミノ酸	セリン (S)、トレオニン (T)、アスパラギン (N)、グルタミン (Q)
疎水性アミノ酸	トリプトファン (W)、フェニルアラニン (F)、バリン (V)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、メチオニン (M)、プロリン (P)、アラニン (A)
芳香族アミノ酸	チロシン (Y)、トリプトファン (W)、フェニルアラニン (F)
ヒドロキシアミノ酸	セリン (S)、トレオニン (T)
含硫アミノ酸	システイン (C)、シスチン、メチオニン (M)
小型アミノ酸	グリシン (G)、アラニン (A)、セリン (S)、メチオニン (M)、トレオニン (T)

[0038] この中で、好ましいアミノ酸の保存的置換としては、アスパラギン酸(D)とグルタミン酸(E)との間での置換、アルギニン(R)とリジン(K)とヒスチジン(H)との間での置換、トリプトファン(W)とフェニルアラニン(F)との間での置換、フェニルアラニン(F)とバリン(V)との間での置換、ロイシン(L)とイソロイシン(I)とアラニン(A)との間での置換、グリシン(G)とアラニン(A)との間での置換等が挙げられる。

[0039] 1個以上のアミノ酸の保存的置換とは、好ましくは1個または数個のアミノ酸の保存的置換をいい、より好ましくは1～3個、さらに好ましくは1～2個、さらにより好ましくは1個のアミノ酸の保存的置換をいう。

[0040] 1個以上のアミノ酸の欠失とは、好ましくは1個のアミノ酸の欠失である。

[0041] 1個以上のアミノ酸の付加とは、好ましくは1～6個、より好ましくは1～4個、さらに好ましくは1～3個、さらにより好ましくは1～2個、さらに好ましくは1個のアミノ酸の付加をいう。

[0042] Leu-Glu-His-Ala(本明細書では、ペプチド配列をアミノ酸の一文字略号により表記する場合があり、例えば本ペプチドをLEHAという場合がある)において1個以上のアミノ酸の保存的置換、欠失および／または付加を有するペプチドとしては、例えば、LEHA配列に1個以上のアミノ酸の保存的置換を含むもの(例えば、IEHA、L

DHA、LDKA、LEKA等)、LEHA配列に1個以上のアミノ酸の欠失を含むもの(例えば、LEH、EHA、LHA、LEA等)、およびLEHA配列に1個以上のアミノ酸を付加したもの(例えば、LEHAW、LEHAF、LEHAV、LEHAL、LEHAI、LEHAM、LEHAG、LEHAS、LEHAT、ALEHA、GLEHA、SLEHA、MLEHA、TLEHA、FLEHA、GLEHAL、DLEHAL、QLEHAK、SLEHAD、QLEHAR、EFLEHA、LEHAVV、DPELEHA、HLEHAAS、LEHASVD等)等が挙げられるが、これらに限定されない。この中で好ましいペプチドとしては、IEHA、LDHA、LDKA、LEKA、LEH、LEHAF、FLEHA、GLEHAL、DLEHAL、QLEHAK、SLEHAD、QLEHAR、EFLEHA、LEHAVV、DPELEHA、HLEHAAS、LEHASVD等が挙げられ、より好ましくはLEKA、LDHA、LEH、LEHAFである。

[0043] さらに例えば、LEHAペプチドにおいてアミノ酸の保存的置換および付加を有するペプチドとしては、特に限定されないが、IEHAF、LDHAF、LDKAF、LEKAF等が好適な例として挙げられる。

[0044] 本明細書において用語「細胞におけるヒアルロン酸産生促進能を有する」とは、被験物を細胞に作用させた場合に、当該被験物を細胞に作用させない場合と比較して、細胞におけるヒアルロン酸の産生量が増加することを意味する。特定の態様では、当該用語における細胞とは角化細胞を意味し、さらに特定の態様では表皮角化細胞を意味する。

[0045] 本発明に用いられるペプチドは、当該分野で公知の方法により作製され得る。例えば、本発明のペプチドは、化学合成方法(例えば、固相法(例えば、Fmoc法)、液相法等)により合成されてもよく、また遺伝子組換え発現等の方法により作製されてもよい。なお本発明のペプチドを構成するアミノ酸は、L体であってもD体であってもよいが、好ましくはL体である。

[0046] さらに本発明のペプチドは、目的のアミノ酸配列を含むタンパク質のアミノ酸配列中から、目的のアミノ酸配列からなるペプチドをプロテアーゼ処理等の公知の手段によって切り出すことによっても調製され得る。例えば、LEHA配列を含むタンパク質としては、以下の表2に示すようなタンパク質が挙げられる。

[0047] [表2]

起源生物	タンパク質名	LEHA 配列を含む箇所	配列
ニンジン (<i>Daucus carota</i>)	β -fructofuranosidase (EC3.2.1.26) isozyme I class 3 precursor, soluble	12-15 残基	LPSRD <u>LEHA</u> SSYTP
トマト (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	3 β -hydroxylase	134-137 残基	IFQSP <u>LEHA</u> RQLWP
ジャガイモ (<i>Solanum tuberosum</i>)	Chaperonin-60 beta subunit precursor	560-563 残基	VVRC <u>LEHA</u> ASVAK
イネ (<i>Oryza sativa</i>)	Putative chaperonin 60 beta	562-565 残基	VVRC <u>LEHA</u> ASVAK
ダイズ (<i>Glycine max</i>)	glycinin G3 precursor	228-231 残基	FAPEF <u>LEHA</u> FVVDR
インゲンマメ (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Serine threonine kinase homolog COK-4	334-337 残基	EVEVQ <u>LEHA</u> LSMQE
キャッサバ (<i>Manihot esculenta</i>)	Flavonol 3-O- glucosyltransferase 7 (EC 2.4.1.91) (UDP-glucose flavonoid 3-O- glucosyltransferase 7) (Fragment)	168-171 残基	PQVEI <u>LEHA</u> ALGVF
モモ (<i>Prunus persica</i>)	MADS6	93-96 残基	TGSWT <u>LEHA</u> KLKAR
イチゴ (<i>Fragaria × ananassa</i>)	UDP-glucose glucosyltransferase	304-307 残基	EIANAL <u>LEHA</u> GHRFL
ムラサキウニ (<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>)	Hyperpolarization-activated (Ih) channel	406-409 残基	VAINGL <u>LEHA</u> HWWEQ
カワヤツメ (<i>Lethenteron japonicum</i>)	Homeoprotein LjEMX	193-196 残基	SQLLR <u>LEHA</u> FEKNH
イガイ (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Paramyosin	618-621 残基	DARSL <u>LEHA</u> ERARK

[0048] 当業者は、プロテアーゼの配列特異性等を考慮して、目的のアミノ酸配列を含むタンパク質のアミノ酸配列中から、目的のアミノ酸配列からなるペプチドを切り出すために適切なプロテアーゼを適宜選択し得る。例えば、上記ニンジン由来の配列からLEHA配列を切り出すためには、サーモリシン(*Bacillus thermoproteolyticus*由来)とキモトリプシン(ウシ膵臓由来)とを併用することなどが挙げられる。また、例えば、上記ジャガイモ由来の配列からLEHA配列を切り出すためには、プロテアーゼM「アマノ」G(*Aspergillus oryzae* 由来:天野エンザイム(株)製)と前記サーモリシンとを併用することなどが挙げられる。また、例えば、上記イネ由来の配列からLEHA配列を切り出

すためには、前記プロテアーゼM「アマノ」Gと前記サーモリシンとを併用することなどが挙げられる。また、例えば、上記ダイズ由来の配列からLEHA配列を切り出すためには、前記サーモリシンを使用することなどが挙げられる。また、例えば、上記インゲンマメ由来の配列からLEHA配列を切り出すためには、前記キモトリプシンと前記サーモリシンとを併用することなどが挙げられる。また、例えば、上記キャッサバ由来の配列からLEHA配列を切り出すためには、前記キモトリプシンと前記サーモリシンとを併用することなどが挙げられる。また、例えば、上記カワヤツメ由来の配列からLEHA配列を切り出すためには、トリプシン(ブタ膵臓由来)と前記サーモリシンとを併用することなどが挙げられる。目的のアミノ酸配列を含むタンパク質とプロテアーゼの組合せは、上記の組合せに限定されないが、好ましい組合せとしては、ダイズタンパク質とサーモリシンの組合せが挙げられる。

[0049] タンパク質をプロテアーゼで加水分解する場合に用いられる反応条件は、特に制限されず、技術常識に従って当業者により適宜選択され得る。例えば、市販のプロテアーゼを使用する場合には、その使用説明書に従って反応条件を選択することができる。一般的には、30～80℃、好ましくは40～70℃、より好ましくは50～60℃の反応温度が使用され得る。また一般的には、2～30時間、好ましくは3～24時間、より好ましくは10～20時間、特に好ましくは12～18時間の反応時間が使用され得る。反応pHとしては、使用するプロテアーゼの至適pH付近であることが好ましい。反応の停止手段についても、特に制限はなく、公知の手段を用いることができる。かかる手段としては、例えば、85℃で15分間加熱や100℃で5分間加熱等の加熱処理等が挙げられる。

[0050] プロテアーゼによる加水分解処理後には、当該分野で公知の手段によって精製することにより、目的のペプチドを得ることができる。かかる公知の手段としては、例えば、強酸性イオン交換樹脂やオクタデシルシリカ(ODS)樹脂などが利用され得る。例えば、プロテアーゼ処理後のペプチド水溶液をODS樹脂に吸着させて任意の濃度の有機溶媒(例えば、アセトニトリル等)で溶出することにより、目的のペプチドを精製することができる。あるいは、例えば、プロテアーゼ処理後のペプチド水溶液を強酸性イオン交換樹脂に吸着させて、約0.18M～0.25M塩濃度の溶出液(例えば、塩

化ナトリウム、塩化カリウム等)、より好ましくは約0.20M~0.23M塩濃度の溶出液で溶出することにより、目的のペプチドを精製することができる。

[0051] このように、天然のタンパク質をプロテアーゼで加水分解して得られるペプチドは、化学合成方法で製造する場合よりもコスト面から有利となる。さらに、天然のタンパク質をプロテアーゼで加水分解して得られるペプチドは、生体に対してより安全であると考えられる。従って、このようにして得られたペプチドは、生体への適用に対しより高い安全性が求められる内服剤や食品、敏感肌用化粧品、飼料などに好適に使用され得る。

[0052] 本発明のペプチドの誘導体は、Fmoc法による固相合成法(L.A.Carpino, G.Y.Han, J.Am.Chem.Soc., 92, 5748 (1970))等に従って、当該分野で公知の方法により作製され得る。

[0053] 本発明のペプチドの塩もまた、当該分野で公知の任意の方法により、当業者によって作製され得る。

[0054] 本発明において、上述のような特定ペプチド類は、1種単独で使用しても、また2種以上を任意に組み合わせて使用してもよい。

[0055] 本発明の組成物に配合する特定ペプチド類の配合量は、本願効果を奏し得る限り特に制限されないが、通常は組成物全体に対して0.00001~70重量%程度とするのがよい。特に本願組成物が外用組成物である場合には、上記配合量は少なくともよく、例えば、0.00001~5重量%、より好ましくは0.0001~1重量%、さらに好ましくは0.0001~0.1重量%、特に好ましくは0.001~0.1重量%としても十分な本願効果が得られる。

[0056] 一態様において、本発明の組成物は、前記特定ペプチド類が、例えば0.05重量%以上、好ましくは0.08重量%以上、より好ましくは0.1重量%以上、さらに好ましくは0.12重量%以上となるようにいったん精製されたものを、前記配合量になるように配合することにより調製され得る。

[0057] また、本発明の組成物における特定ペプチド類とレチノール類との配合比は、本願効果を奏し得る限り特に制限されないが、通常は、特定ペプチド類100 μ gあたり 1×10^{-8} IU~ 1×10^8 IU、好ましくは 1×10^{-7} IU~ 1×10^7 IU、より好ましくは 1×10^{-6} IU

U $\sim 1 \times 10^6$ IU、さらに好ましくは 1×10^{-5} IU $\sim 1 \times 10^5$ IU、特に好ましくは 1×10^{-4} IU $\sim 1 \times 10^{-3}$ IUの範囲内とするのがよい。

[0058] 本発明の組成物には、前述したようなレチノール類及び特定ペプチド類に加えて、レチノール類又は特定ペプチド類の作用を増強または補足する目的で、あるいは本願組成物に他の有用な作用を付加するため、美白成分、抗炎症成分、抗菌成分、細胞賦活化成分、収斂成分、抗酸化成分、ニキビ改善成分、コラーゲン等の生体成分合成促進成分、血行促進成分、保湿成分、老化防止成分等の各種成分を1種または2種以上組み合わせて配合することができる。好ましくは美白成分、抗炎症成分、抗菌成分、細胞賦活化成分、収斂成分、抗酸化成分、老化防止成分または保湿成分の1種または2種以上の成分である。これらの各成分としては、医薬品、医薬部外品、食品または化粧品分野において使用され得るものであれば特に制限されず、任意のものを適宜選択し使用することができる。

[0059] 例えば、美白成分としては、プラセンタ；アルブチン；コウジ酸；エラグ酸；フィチン酸；ルシノール；カモミラET、パントテン酸又はその誘導体等のビタミン類等が挙げられる。このうち、好ましいものとしては、パントテン酸又はその誘導体、エラグ酸、フィチン酸を挙げることができる。これらの美白成分は1種または2種以上を用いてもよい。

[0060] 美白作用を有する植物成分を美白成分として用いてもよく、かかる植物成分としては、イリス(アイリス)、アーモンド、アロエ、イチョウ、ウーロン茶、エイジツ、オウゴン、オウレン、オトギリソウ、オドリコソウ、海藻、カッコン、クチナシ、クジン、クロレラ、ゴバイシ、コムギ、コメ、コメハイガ、オリザノール、コメヌカ、サイシン、サンショウ、シソ、シヤクヤク、センキュウ、ソウハクヒ、ダイズ、納豆、茶、トウキ、トウキンセンカ、ニンニク、ハマメリス、ベニバナ、ボタンピ、ヨクイニン、アメジスト、アセンヤク、アセビワラビ、イヌマキ、エノキ、カキ(Diospyros kaki)、キササゲ、クロマメ、ゲンチアナ、ゲンジン、サルサ、サヤインゲン、ショクマ、ジュウロウ、セージ、ゼンコ、ダイコン、ツツジ、ツクシハギ、トシン、ニガキ、パセリ、ヒイラギ、ホップ、マルバハギ、チョウジ、カンゾウ等の植物に由来する成分が挙げられる。好ましくは、イリス(アイリス)、アロエ、イチョウ、ウーロン茶、エイジツ、オウゴン、オウレン、オトギリソウ、オドリコソウ、海藻、カッコン、クチナシ、クジン、ゴバイシ、コムギ、コメ、コメヌカ、サイシン、サンショウ、シソ、シヤクヤク、セ

ンキュウ、ソウハクヒ、茶、トウキ、トウキンセンカ、ハマメリス、ベニバナ、ボタンピ、ヨクイニン、アメジスト、アセンヤク、エノキ、カキ(Diospyros kaki)、キササゲ、クロマメ、ゲンチアナ、サルサ、サヤインゲン、ジュウロウ、セージ、ゼンコ、ダイコン、ツツジ、ツクシハギ、トシン、ニガキ、パセリ、ヒイラギ、ホップ、チョウジ及びカンゾウの植物由来成分であり、より好ましくは、イリス(アイリス)、アロエ、イチョウ、エイジツ、オウゴン、オウレン、オトギリソウ、クチナシ、クジン、コメ、コメヌカ、サイシン、シャクヤク、センキュウ、ソウハクヒ、茶、トウキ、トウキンセンカ、ハマメリス、ベニバナ、ボタンピ、アメジスト、アセンヤク、エノキ、カキ(Diospyros kaki)、セージ、ダイコン、ツツジ、パセリ、ホップ、カンゾウ及びヨクイニンの植物由来成分が挙げられる。これらの植物成分を本発明の組成物に用いる場合、植物成分の形態は特に制限されないが、通常は植物エキス(植物抽出物)や精油などの態様で使用する事ができる。なお、上記植物成分中に記載の()内は、その植物の学名、別名または生薬名である。

- [0061] 上記美白成分を用いる場合、本願組成物に配合する割合は、好ましくは0.0003～10重量%であり、より好ましくは0.01～5重量%である。
- [0062] 美白成分として美白作用のある植物成分を用いる場合は、目的に応じて1種もしくは2種以上を任意に組み合わせて使用することができる。上記植物成分を美白成分として用いる場合、本願組成物への配合割合は、エキスや精油などの抽出物換算で、通常0.00001～20重量%、好ましくは0.0001～15重量%、より好ましくは0.001～10重量%である。
- [0063] 抗炎症成分としては、アラントイン、カラミン、グリチルリチン酸又はその誘導体、グリチルレチン酸又はその誘導体、酸化亜鉛、グアイアズレン、酢酸トコフェロール、塩酸ピリドキシン、メントール、カンフル、テレピン油、インドメタシン、サリチル酸又はその誘導体等が挙げられる。好ましくはアラントイン、グリチルリチン酸又はその誘導体、グリチルレチン酸又はその誘導体、グアイアズレン、メントールである。
- [0064] 上記抗炎症成分を用いる場合、本願組成物に配合する割合は、好ましくは0.0003～10重量%であり、より好ましくは0.01～5重量%である。
- [0065] 抗菌成分としては、クロルヘキシジン、サリチル酸、塩化ベンザルコニウム、アクリノール、エタノール、塩化ベンゼトニウム、クレゾール、グルコン酸及びその誘導体、ポ

ピドンヨード、ヨウ化カリウム、ヨウ素、イソプロピルメチルフェノール、トリクロカルバン、トリクロサン、感光素101号、感光素201号、パラベン、フェノキシエタノール、1, 2-ペンタンジオール、塩酸アルキルジアミノグリシン等が挙げられる。好ましくは、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、グルコン酸及びその誘導体、イソプロピルメチルフェノール、トリクロカルバン、トリクロサン、感光素101号、感光素201号、パラベン、フェノキシエタノール、1, 2-ペンタンジオール、塩酸アルキルジアミノグリシン等が挙げられる。さらに好ましくは、塩化ベンザルコニウム、グルコン酸及びその誘導体、塩化ベンゼトニウム、イソプロピルメチルフェノールである。

[0066] 上記抗菌成分を用いる場合、本願組成物に配合する割合は、好ましくは0.0003～10重量%であり、より好ましくは0.01～5重量%である。

[0067] 細胞賦活化成分としては、 γ -アミノ酪酸、 ϵ -アミノカプロン酸などのアミノ酸類:チアミン、リボフラビン、塩酸ピリドキシン、パントテン酸類などのビタミン類:グリコール酸、乳酸などの α -ヒドロキシ酸類:タンニン、フラボノイド、サポニン、アラントイン、感光素301号などが挙げられる。好ましくは、 γ -アミノ酪酸、 ϵ -アミノカプロン酸などのアミノ酸類:チアミン、リボフラビン、塩酸ピリドキシン、パントテン酸類などのビタミン類である。

[0068] 上記細胞賦活化成分を用いる場合、本願組成物に配合する割合は、好ましくは0.0003～10重量%であり、より好ましくは0.01～5重量%である。

[0069] 収斂成分としては、ミョウバン、クロロヒドロキシアルミニウム、塩化アルミニウム、アラントインアルミニウム塩、硫酸亜鉛、硫酸アルミニウムカリウム等の金属塩;タンニン酸、クエン酸、乳酸、コハク酸などの有機酸を挙げることができる。好ましくは、ミョウバン、クロロヒドロキシアルミニウム、塩化アルミニウム、アラントインアルミニウム塩、硫酸アルミニウムカリウム、タンニン酸である。

[0070] 収斂成分を用いる場合、本願組成物に配合する割合は、通常0.0003～10重量%、好ましくは0.01～5重量%、より好ましくは0.01～5重量%である。

[0071] 抗酸化成分としては、ブチルヒドロキシアニソール、ジブチルヒドロキシトルエン、亜硫酸水素ナトリウム、エリスルビン酸及びその塩、フラボノイド、グルタチオン、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ、カタラーゼ、スーパー

一オキサイドジスムターゼ、チオレドキシン、タウリン、チオタウリン、ヒポタウリンなどが挙げられる。好ましくは、チオタウリン、ヒポタウリン、チオレドキシン、フラボノイドである。

[0072] 抗酸化成分を用いる場合、本願組成物に配合する割合は、通常0.00001～10重量%、好ましくは0.0001～5重量%、より好ましくは0.001～5重量%である。

[0073] 老化防止成分としては、パンガミン酸、カイネチン、ウルソール酸、ウコンエキス、スフィンゴシン誘導体、ケイ素、ケイ酸、N-メチル-L-セリン、メバロノラクトン等が挙げられる。好ましくは、カイネチンである。

[0074] 上記老化防止成分を用いる場合、本願組成物に配合する割合は、好ましくは0.0003～10重量%であり、より好ましくは0.01～5重量%である。

[0075] 保湿成分としては、アラニン、セリン、ロイシン、イソロイシン、スレオニン、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリン、グルコサミン、テアニンなどのアミノ酸及びその誘導体；グリセリン、1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなどの多価アルコール；ソルビトールなどの糖アルコール；レシチン、水素添加レシチン等のリン脂質；ヒアルロン酸プロピレングリコール、ヘパリン、コンドロイチン等のムコ多糖；乳酸、ピロリドンカルボン酸ナトリウム、尿素などのNMF由来成分等が挙げられる。好ましいものは、アラニン、セリン、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリン、グルコサミン、テアニン、コラーゲン、コラーゲンペプチド、グリセリン、1,3-ブチレングリコール、水素添加レシチン、ヒアルロン酸プロピレングリコール、ヘパリン、コンドロイチン、乳酸、ピロリドンカルボン酸ナトリウムである。

[0076] 保湿成分を用いる場合、本願組成物に配合する割合としては、通常0.1～10重量%、好ましくは0.5～7.5重量%、より好ましくは0.5～5重量%を挙げることができる。

[0077] 本発明の組成物は、上記各成分に加えて組成物の用途あるいは剤形に応じて、医薬品、医薬部外品、化粧品または食品の分野に通常使用される成分を適宜配合しても良い。配合できる成分としては、特に制限されないが、例えば、アミノ酸類、アルコール類、多価アルコール類、糖類、ガム質、多糖類などの高分子化合物、界面活性剤、可溶化成分、油脂類、経皮吸収促進成分、防腐・抗菌・殺菌剤、pH調整剤、

キレート剤、抗酸化剤、酵素成分、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、流動化剤、清涼化剤の他、ミネラル類、細胞賦活剤、滋養強壮剤、賦形剤、増粘剤、安定化剤、保存剤、等張化剤、分散剤、吸着剤、崩壊補助剤、湿潤剤または湿潤調節剤、防湿剤、着色料、着香剤または香料、芳香剤、還元剤、可溶化剤、溶解補助剤、発泡剤、粘稠剤または粘稠化剤、溶剤、基剤、乳化剤、可塑剤、緩衝剤、光沢化剤などをあげることができる。特に界面活性剤、可溶化成分または油脂類を配合することによって、製剤中におけるレチノール類の安定性を高めることができ、また外用組成物とする場合にはその製剤の使用感をより向上させることができる。また発明の組成物が外用組成物である場合には、さらに経皮吸収促進成分を配合するのが好ましい。

[0078] ここで用いられる界面活性剤としては、ポリオキシエチレン(以下、POEという)－オクチルドデシルアルコールやPOE－2－デシルテトラデシルアルコール等のPOE－分岐アルキルエーテル；POE－オレイルアルコールエーテルやPOE－セチルアルコールエーテル等のPOE－アルキルエーテル；ソルビタンモノオレエート、ソルビタンモノイソステアレート及びソルビタンモノラウレート等のソルビタンエステル；POE－ソルビタンモノオレエート、POE－ソルビタンモノイソステアレート、及びPOE－ソルビタンモノラウレート等のPOE－ソルビタンエステル；グリセリンモノオレエート、グリセリンモノステアレート、及びグリセリンモノミリステート等のグリセリン脂肪酸エステル；POE－グリセリンモノオレエート、POE－グリセリンモノステアレート、及びPOE－グリセリンモノミリステート等のPOE－グリセリン脂肪酸エステル；POE－ジヒドロコレステロールエステル、POE－硬化ヒマシ油、及びPOE－硬化ヒマシ油イソステアレート等のPOE－硬化ヒマシ油脂肪酸エステル；POE－オクチルフェニルエーテル等のPOE－アルキルアリールエーテル；モノイソステアリルグリセリルエーテルやモノミリスチルグリセリルエーテル等のグリセリンアルキルエーテル；POE－モノステアリルグリセリルエーテル、POE－モノミリスチルグリセリルエーテル等のPOE－グリセリンアルキルエーテル；ジグリセリルモノステアレート、デカグリセリルデカステアレート、デカグリセリルデカイソステアレート、及びジグリセリルジイソステアレート等のポリグリセリン脂肪酸エステル、等の各種非イオン界面活性剤：あるいはレシチン、水素添加レシチン、サポニン、サーファクチンナトリウム、コレステロール、胆汁酸などの天然由来の界面活

性剤等を例示することができる。これらの界面活性剤は、1種単独で使用してもまた2種以上を任意に組み合わせて使用してもよい。

[0079] 界面活性剤を使用する場合、本願組成物への配合割合としては、本発明の効果を妨げないことを限度として特に制限されず、通常は本願組成物中に0.01～30重量%の割合で含まれるような範囲で適宜選択して使用することができる。本願組成物中の有効成分の安定性等の観点からは、好ましくは0.1～20重量%、より好ましくは0.5～10重量%の範囲を挙げることができる。

[0080] 可溶化成分としては、例えば、エタノール等の低級アルコール、グリセリン、エチレングリコール等の多価アルコール、水素添加大豆リン脂質、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンラノリンアルコール、ポリオキシエチレンヒマシ油、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレンステロール、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル等を挙げることができる。好ましくは、エタノール、グリセリン、エチレングリコール、ジエチレングリコール、ジプロピレングリコール、水素添加大豆リン脂質、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンラノリンアルコール、ポリオキシエチレンヒマシ油、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレンアルキルエーテルであり、より好ましくは、エタノール、グリセリン、エチレングリコール、ジエチレングリコール、ジプロピレングリコール、水素添加大豆リン脂質である。これらの可溶化成分は、1種単独で使用しても、または2種以上を任意に組み合わせて用いてもよい。

[0081] これらの可溶化成分を使用する場合、本願組成物への配合割合としては、本発明の効果を妨げないことを限度として特に制限されず、通常は本願組成物中に0.01～70重量%の割合で含まれるような範囲で適宜選択して使用することができる。本願組成物中の有効成分の安定性等の観点からは、好ましくは0.1～50重量%、より好ましくは0.1～30重量%の範囲を挙げることができる。

[0082] 油脂類としては、例えば、中鎖脂肪酸トリグリセリド等の合成油脂；大豆油、米油、菜種油、綿実油、ゴマ油、サフラワー油、ヒマシ油、オリーブ油、カカオ油、椿油、ヒマワリ油、パーム油、アマ油、シソ油、シア油、サル油、ヤシ油、木ロウ、ホホバ油、グレー

プシード油、及びアボガド油等の植物油脂；ミンク油、卵黄油、牛脂、乳脂、及び豚脂等の動物油脂；ミツロウ、鯨ロウ、ラノリン、カルナウバロウ、キャンデリラロウ等のロウ類；流動パラフィン、スクワレン、スクワラン、マイクロクリスタリンワックス、セレスインワックス、パラフィンワックス、ワセリン等の炭化水素類；ラウリン酸、ミリスチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、イソステアリン酸、ベヘニン酸等の天然及び合成脂肪酸；セタノール、ステアリルアルコール、ヘキシルデカノール、オクチルデカノール、ラウリルアルコール等の天然及び合成高級アルコール；ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、ミリスチン酸オクチルドデシル、オレイン酸オクチルドデシル、コレステロールオレート等のエステルやエーテル類；シリコーン油等が挙げられる。これらの油脂類は、1種単独で使用しても、または2種以上を任意に組み合わせて用いてもよい。

[0083] これらの油脂類を使用する場合、本願組成物への配合割合としては、本発明の効果を妨げないことを限度として特に制限されず、通常は本願組成物中に0.01～70重量%の割合で含まれるような範囲で適宜選択して使用することができる。本願組成物中の有効成分の安定性等の観点からは、好ましくは0.1～60重量%、より好ましくは0.1～50重量%の範囲を挙げることができる。

[0084] 本発明の組成物は、その用途に応じて、医薬品、医薬部外品、化粧品又は食品に通常使用される剤形をとることができ、通常、固形剤、半固形剤または液剤である。具体的には、錠剤（口腔内速崩壊錠、咀嚼可能錠、発泡錠、トローチ剤、ゼリー状ドロップ剤などを含む）、丸剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、硬カプセル剤、軟カプセル剤、ドライシロップ剤、液剤（ドリンク剤、懸濁剤、シロップ剤を含む）、ゲル剤、リポソーム剤、エキス剤、チンキ剤、レモネード剤、軟膏剤、ゼリー剤などの公知の形態をとることができる。また、必要に応じてその他の溶媒や通常使用される基剤等を配合することによって、ペースト状、ムース状、ジェル状、液状、乳液状、クリーム状、シート状（基材担持）、エアゾール状、スプレー状などの各種所望の形態に調製することができる。

[0085] これらの剤形は当該分野の通常の方法にて製造することができる。例えば、半固形剤であれば、上述のようなレチノール類と特定ペプチド類に加えて必要に応じて上記各任意成分を配合混合し、さらに必要に応じてその他の溶媒や通常使用される外用

組成物の基剤等を配合することによって、ペースト状、ムース状、ジェル状、液状、乳液状、クリーム状、シート状(基材担持)、エアゾール状、スプレー状などの各種所望の形態に調製することができる。

- [0086] 本発明の組成物は、本発明の効果を奏すれば特に限定されないが、例えば医薬品、医薬部外品、食品[菓子、健康食品、栄養補助食品(バランス栄養食、サプリメントなど)を含む)、栄養機能食品、特定保健用食品を含む]などとしてすることができ、また化粧品ではファンデーション、口紅、マスカラ、アイシャドウ、アイライナー、眉墨及び美甲料等のメーキャップ化粧料;乳液、クリーム、ローション、オイル及びパックなどの基礎化粧料;洗顔料やクレンジング、ボディ洗浄料などの洗浄料、入浴剤などとしてすることができる。
- [0087] 本発明の組成物は内服用組成物として用いられても外用組成物として用いられてもよいが、外用組成物として使用されることが好ましい。
- [0088] 本発明の組成物は顕著なヒアルロン酸産生促進能を有するので、細胞におけるヒアルロン酸産生を促進するために好適に使用され得る。例えば、本発明の組成物は、ヒアルロン酸の減少や変性などに伴う各種障害(リュウマチ、関節炎、変形性関節炎、骨関節炎などの関節障害、炎症性障害等)の治療又は予防用組成物、美容上の問題を予防又は治療するための組成物(例えば、紫外線曝露や加齢等による皮膚のシワもしくはタルミの予防および／または改善のための組成物、皮膚の弾力性もしくはハリ低下に対する予防および／または改善のための組成物等)として好適に用いることができる。
- [0089] 本発明はさらに、上述のような(A)レチノール類と(B)特定ペプチド類とを用いて、細胞におけるヒアルロン酸産生を促進する方法を提供する。一態様において、本発明の方法は、(A)レチノール類と(B)特定ペプチド類とを皮膚に適用する工程を含んでいてもよい。
- [0090] 本発明の方法において、(A)レチノール類と(B)特定ペプチド類としては、前述の組成物において用いられるものと同様のものが用いられ得る。(A)レチノール類と(B)特定ペプチド類との使用量は、細胞におけるヒアルロン酸産生促進効果が得られる有効量以上用いればよい。

[0091] 本発明はさらに、細胞におけるヒアルロン酸産生を促進するための組成物の製造のための、好ましくは外用組成物として使用される組成物の製造のための、上述のような(A)レチノール類と(B)特定ペプチド類との使用を提供する。

[0092] (A)レチノール類と(B)特定ペプチド類としては、前述の組成物において用いられるものと同様のものが用いられ得る。(A)レチノール類と(B)特定ペプチド類との使用量は、前記組成物中の含有量となるように使用すればよい。

実施例

[0093] 以下に、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

[0094] 実施例1

LEHAペプチドの調製

ペプチドを、ペプチド自動合成装置(島津製作所社製:PSSM8)を用いて、Fmoc法による固相合成法により合成した。次いで、分取HPLCで未反応物を除去して精製することにより、LEHAペプチドを得た。

得られた精製物を分析用逆相高速液体クロマトグラフィー[カラム: μ Bondasphere 5 μ C18-100 Å (内径: 3.9mm、長さ: 150mm)、Waters社製、;移動相: 溶媒A (0.1%トリフルオロ酢酸) および溶媒B (0.1%トリフルオロ酢酸、90%アセトニトリル) のグラジエント (0分 (溶媒B=12%) ~ 20分 (溶媒B=17%)); 流速: 1 ml/分; 検出法: 波長 220nmにおける吸光度] に付したところ、12.8分に単一の鋭いピークが示され、純度は99%であった。

[0095] 実施例2

表皮角化細胞におけるヒアルロン酸産生検定

ヒト正常表皮角化細胞 (NHEK/B-3、倉敷紡績株式会社製) を48ウェルカルチャープレート中で培養した。より詳細には、 0.8×10^4 細胞/ウェルの密度でプレートに播種し、37°Cで、5%炭酸ガスおよび95%空気的环境下で4日間培養を行なった。培養液は、HuMedia KG-2 (倉敷紡績株式会社製) を各ウェル400 μ Lずつ使用した。その後、培養液を除去して、下記の表3に示す被験薬をそれぞれの濃度で溶解した400 μ lの培地に交換して培養した。一方、レチノールもLEHAペプチドも

添加しない培地を400 μ L添加したものをコントロールとして用いた。2日間培養した後、培養液を採取し、培養液中に分泌されたヒアルロン酸濃度を、酵素結合免疫測定法(ヒアルロン酸測定キット;生化学工業株式会社製)で定量した。定量結果をもとにコントロール培養液中のヒアルロン酸量を100%として、各被験培養液中のヒアルロン酸量を算出した。この結果を表3に纏める。

[0096] [表3]

	被験薬		ヒアルロン酸産生量 (%)
	全トランスレチノール (μ g/ml)	LEHAペプチド (μ g/ml)	
コントロール	0	0	100
被験培養液1	2.86×10^{-4} (9.55×10^{-4} IU/ml)	0	218
被験培養液2	0	100	170
被験培養液3	0	1000	180
被験培養液4	2.86×10^{-4} (9.55×10^{-4} IU/ml)	100	355
被験培養液5	2.86×10^{-4} (9.55×10^{-4} IU/ml)	1000	354

[0097] この結果から、レチノールとLEHAペプチドとを併用した培養液で培養した細胞では、レチノール単独の培養液で培養した場合よりもヒアルロン酸産生量が顕著に増加し、LEHAペプチドがレチノールのヒアルロン酸産生促進能を飛躍的に増強し得ることが実証された。

また、レチノールとLEHAペプチドとを組み合わせることにより得られるヒアルロン酸産生促進作用は、相乗効果的なものであることも同時に認められた。

[0098] さらに培養液を採取した後の細胞についてWST-1法により生細胞数を計測した。より詳細には、400 μ l培地中10 μ lの割合でWST-1試薬を添加したものに培地交換し、次いで45分間培養後、その上清を200 μ l分取し吸光度を測定した。その結果、レチノールとLEHAペプチドとを併用した培養液で培養されることによる生細胞数の有意な減少は認められず、生体に対して安全に使用できるものであることが確認された。

[0099] 以下に製剤実施例を挙げるが、本発明はこれらの実施例に限られるものではない。

[0100] 製剤実施例1:乳液

[成分]

[比率]

全トランスレチノール

0.07g

LEHAペプチド	0. 01g
スクワラン	2. 0g
ダイズ油	0. 6g
流動パラフィン	5. 0g
セタノール	0. 5g
モノステアリン酸グリセリル	2. 0g
POE (25) セチルエーテル	2. 0g
グリセリン	4. 0g
1,3-ブチレングリコール	6. 0g
pH調整剤	適量
防腐剤	適量
香料	適量
精製水	適量
	100. 0g

[0101] 製剤実施例2:クリーム

[成分]	[比率]
パルミチン酸レチノール	0. 14g
LEHAペプチド	0. 05g
ワセリン	1. 0g
スクワラン	5. 0g
ヒマワリ油	0. 1g
流動パラフィン	10. 0g
ステアリン酸	1. 5g
ステアリルアルコール	2. 0g
モノステアリン酸グリセリル	2. 0g
POE(20)セチルエーテル	3. 0g
グリセリン	6. 0g
1,3-ブチレングリコール	8. 0g

ジブチルヒドロキシトルエン	0. 1g
pH調整剤	適量
防腐剤	適量
香料	適量
精製水	適量

100. 0g

[0102] 製剤実施例3:クリーム

[成分]	[比率]
δ -トコフェリルレチノエート	0. 1g
LEHAペプチド	0. 2g
グリセリン	6. 0g
トリ(カプリル酸／カプリン酸)グリセリル	0. 9g
カルボキシビニルポリマー	0. 8g
ポリオキシエチレンセチルエーテル	3. 5g
モノステアリン酸グリセリン	3. 5g
セタノール	3. 0g
ジブチルヒドロキシトルエン	0. 03g
pH調整剤	適量
防腐剤	適量
香料	適量
精製水	適量

100. 0g

[0103] 製剤実施例4:内服用錠剤(1錠中)

[成分]	[比率]
全トランスレチノール	0. 05mg
LEHAペプチド	5. 0mg
ビタミンB1	1. 0mg
ビタミンB2	0. 5mg

香料	0. 625mg
甘味料	0. 625mg
ショ糖脂肪酸エステル	3. 75mg
マルチトール	113. 45mg
	125. 0mg

[0104] 製剤実施例5:クリーム

[成分]	[比率]
δ -トコフェリルレチノエート	0. 25g
LEHAペプチド	0. 2g
グリセリン	6. 0g
トリ(カプリル酸／カプリン酸)グリセリル	2. 25g
カルボキシビニルポリマー	0. 8g
ポリオキシエチレンセチルエーテル	3. 5g
モノステアリン酸グリセリン	3. 5g
セタノール	3. 0g
ジブチルヒドロキシトルエン	0. 03g
pH調整剤	適量
防腐剤	適量
香料	適量
精製水	適量
	100. 0g

産業上の利用の可能性

- [0105] 本発明の組成物は、抗シワ用組成物、抗タルミ用組成物、関節障害の予防又は治療用組成物、炎症性疾患の予防又は治療用組成物などとして使用することができる。

配列表フリーテキスト

- [0106] 配列番号1は、本発明に使用され得るペプチドである。
配列番号2は、本発明に使用され得るペプチドである。

配列番号3は、本発明に使用され得るペプチドである。

配列番号4は、本発明に使用され得るペプチドである。

請求の範囲

- [1] (A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、
(B)Leu-Glu-His-Ala(式I)で表されるペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種
とを含有する組成物。
- [2] (A)レチノール及びその誘導体からなる群より選択される少なくとも一種と、
(B)Leu-Glu-His-Ala(式I)のアミノ酸配列において1個以上のアミノ酸の保守的置換、欠失および／または付加を有し且つ細胞におけるヒアルロン酸産生促進能を有するペプチド、その誘導体及びそれらの塩からなる群より選択される少なくとも一種
とを含有する組成物。
- [3] 前記ペプチドが3～10残基のアミノ酸長を有する、請求の範囲第2項記載の組成物。
- [4] 細胞におけるヒアルロン酸産生を促進するために使用され得る、請求の範囲第1項～第3項のいずれか一項に記載の組成物。
- [5] 外用組成物である、請求の範囲第1項～第4項のいずれか一項に記載の組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/062635

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K38/00, A61K8/34, A61K8/64, A61K31/07, A61P17/16, A61P19/02, A61P29/00, A61P43/00, A61Q19/00, A61Q19/08, C07K5/103, C07K7/06, C07K7/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PubMed, Science Direct, JMEDPlus (JDream2), JST7580 (JDream2), JSTPlus (JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2006/101187 A1 (Rohto Pharmaceutical Co., Ltd.), 28 September, 2006 (28.09.06), Page 20, line 23 to page 21, line 1; page 37, line 9 to page 38, line 16 & JP 2007-145795 A	1, 4, 5
Y	WO 2002/049656 A1 (Yakult Honsha Co., Ltd.), 05 July, 2002 (05.07.02), Page 17, lines 1 to 11; Fig. 3 & JP 2002-187838 A & EP 1344528 A1 & BR 116679 A & US 2004/0029829 A1	1, 4, 5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
20 August, 2007 (20.08.07)

Date of mailing of the international search report
11 September, 2007 (11.09.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/062635

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

A61K38/00(2006.01)i, A61K8/34(2006.01)i, A61K8/64(2006.01)i,
A61K31/07(2006.01)i, A61P17/16(2006.01)i, A61P19/02(2006.01)i,
A61P29/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, A61Q19/00(2006.01)i,
A61Q19/08(2006.01)i, C07K5/103(2006.01)i, C07K7/06(2006.01)i,
C07K7/08(2006.01)i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national
classification and IPC)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/062635

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 2, 3
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
In claims 2 and 3, a peptide having the conservative substitution, deletion and/or addition of at least one amino acid residue in a tetrapeptide having a specific amino acid sequence is used as one of the components. However,
(continued to extra sheet)

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/062635

Continuation of Box No.II-2 of continuation of first sheet (2)

in such a short peptide, it is quite unclear as to what amino acid residue is essential for achieving the desired property. Therefore, these claims are remarkably unclear and do not satisfy the requirement of clearness in the meaning within PCT Article 6.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. 特別ページ参照

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. A61K38/00, A61K8/34, A61K8/64, A61K31/07, A61P17/16, A61P19/02, A61P29/00, A61P43/00, A61Q19/00, A61Q19/08, C07K5/103, C07K7/06, C07K7/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 7 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 7 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 7 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

PubMed, Science Direct, JMEDPlus(JDream2), JST7580(JDream2), JSTPlus(JDream2)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 2006/101187 A1（ロート製薬株式会社）2006. 09. 28, 第 2 0 頁第 2 3 行－第 2 1 頁第 1 行、第 3 7 頁第 9 行－第 3 8 頁第 1 6 行 & JP 2007-145795 A	1, 4, 5
Y	WO 2002/049656 A1（株式会社ヤクルト本社）2002. 07. 05, 第 1 7 頁第 1 行－第 1 1 行、第 3 図 & JP 2002-187838 A & EP 1344528 A1 & BR 116679 A & US 2004/0029829 A1	1, 4, 5

C 欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 0 . 0 8 . 2 0 0 7

国際調査報告の発送日

1 1 . 0 9 . 2 0 0 7

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官（権限のある職員）

大宅 郁治

4 C

3 9 5 5

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（P C T 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☒ 請求の範囲 2, 3 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
請求の範囲 2, 3 は、特定のアミノ酸配列を有するテトラペプチドにおいて、1 個以上のアミノ酸の保存的置換、欠失及び／又は付加したものを成分の 1 つとするものであるが、この様な短鎖ペプチドでは、所望の性質を示すために、いずれのアミノ酸が必須であるかが全く不明であることから、当該請求の範囲は著しく不明確であり、P C T 第 6 条における明確性の要件を欠いている。
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって P C T 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。

発明の属する分野の分類

A61K38/00(2006.01)i, A61K8/34(2006.01)i, A61K8/64(2006.01)i, A61K31/07(2006.01)i,
A61P17/16(2006.01)i, A61P19/02(2006.01)i, A61P29/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i,
A61Q19/00(2006.01)i, A61Q19/08(2006.01)i, C07K5/103(2006.01)i, C07K7/06(2006.01)i,
C07K7/08(2006.01)i