

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-534225

(P2010-534225A)

(43) 公表日 平成22年11月4日(2010.11.4)

(51) Int.Cl.

**A61K 31/728** (2006.01)  
**A61P 11/04** (2006.01)  
**A61P 11/06** (2006.01)  
**A61P 11/00** (2006.01)  
**A61P 17/16** (2006.01)

F 1

A 6 1 K 31/728  
A 6 1 P 11/04  
A 6 1 P 11/06  
A 6 1 P 11/00  
A 6 1 P 17/16

テーマコード(参考)

4 B 01 8  
4 C 08 3  
4 C 08 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 27 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2010-517434 (P2010-517434)  
(86) (22) 出願日 平成20年7月4日 (2008.7.4)  
(85) 翻訳文提出日 平成22年3月23日 (2010.3.23)  
(86) 國際出願番号 PCT/FR2008/000959  
(87) 國際公開番号 WO2009/024677  
(87) 國際公開日 平成21年2月26日 (2009.2.26)  
(31) 優先権主張番号 0705349  
(32) 優先日 平成19年7月23日 (2007.7.23)  
(33) 優先権主張国 フランス(FR)

(71) 出願人 510021650  
アグロ インダストリ ルシュルシェ エ  
デベロップメント エー. アール. ディ  
ー.  
AGRO INDUSTRIE RECH  
ERCHES ET DEVELOPPE  
MENTS A. R. D.  
フランス、エフ-51110 ポマクル、  
ルート ド バザンクール(番地なし)  
Route de Bazancourt,  
, F-51110 Pomacle,  
FRANCE

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】皮膚、眼および粘膜の保護機能改善用組成物を製造するためのヒアルロン酸の使用

## (57) 【要約】

皮膚、眼および粘膜の保護機能を改善するための組成物を製造するためのヒアルロン酸の使用

本発明は、皮膚、眼および粘膜、特に上気道および下気道ならびに腸粘膜の保護機能を改善することを意図した組成物を製造するためのヒアルロン酸の使用に関する。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

物理的、化学的または微生物学的な作用物に起因するアタックの場合に、上皮細胞、特に後者の結合複合体が関与する、上気道および下気道の粘膜、腸粘膜、皮膚または眼の完全性の保護および/または回復を意図した組成物を製造するための、分子量30,000～45,000ダルトン、好ましくは40,000ダルトンの少なくとも一つのヒアルロン酸、またはその塩の使用。

**【請求項 2】**

ビタミン類、特にアスコルビン酸、ビタミンEすなわちトコフェロールから選択される化合物Bをさらに含む、請求項1に記載のヒアルロン酸の使用。 10

**【請求項 3】**

濃度0.1 g/l～4g/l、好ましくは0.2～1 g/lにおける、請求項1または2に記載のヒアルロン酸の使用。

**【請求項 4】**

組成物が、物理的、化学的または微生物学的な作用物に起因するアタックにより引き起こされる症状の治療および/または予防を意図した医薬である、請求項1～3のいずれか1つに記載のヒアルロン酸の使用。

**【請求項 5】**

組成物が化粧品または食品の組成物である、請求項1～3のいずれか1つに記載のヒアルロン酸の使用。 20

**【請求項 6】**

上皮細胞が上気道および下気道の粘膜であり、喘息、呼吸器アレルギー、呼吸困難シンドロームのような症状の予防を意図した医薬を製造するための、請求項1～4のいずれか1つに記載のヒアルロン酸の使用。

**【請求項 7】**

上皮細胞が皮膚の細胞であり、皮膚の機能的および構造的障害、特にしわ、小じわ、皮膚の緊張力および弾力の低下、皮膚の脱水に関連して、皮膚の保護機能の改善を意図した組成物を製造するための、請求項1～3および5のいずれか1つに記載のヒアルロン酸の使用。

**【請求項 8】**

上皮細胞が腸粘膜の細胞であり、消化器の障害、特に胃腸炎、局所貧血性の壊死および腸粘膜の潰瘍に関連して、腸粘膜の保護機能の改善を意図した組成物を製造するため、請求項1～3および5のいずれか1つに記載のヒアルロン酸の使用。 30

**【請求項 9】**

上皮細胞が眼、特に角膜の細胞であり、眼の障害、特に漿液ストレス、ドライアイ、角膜の障害および角膜炎に関連して、眼の保護機能を改善することを意図した組成物を製造するための、請求項1～3および5のいずれか1つに記載のヒアルロン酸の使用。

**【請求項 10】**

分子量30,000～45,000、好ましくは40,000ダルトンを有する少なくとも一つのヒアルロン酸、またはその塩を、0.1 g/l～1 g/lの濃度で、医薬的に許容される担体と組み合わせて含む医薬組成物。 40

**【請求項 11】**

医薬的に許容される担体と組み合わせて、ビタミン類、特にアスコルビン酸、ビタミンEすなわちトコフェロールから選択される化合物Bをさらに含む、請求項10に記載の医薬組成物。。

**【請求項 12】**

50 mg/d～300 mg/d、好ましくは100 mg/d～200 mg/dを含む量で局所的に投与されるよう、あるいは0.66 mg/kg/d～4 mg/kg/d、好ましくは1.33 mg/kg/d～2.66 mg/kg/dを含む量で経口的に投与されるように製剤化された、請求項10または11に記載の医薬組成物。 50

**【請求項 1 3】**

エンテリック・コーティングされた形態にある、請求項 10～12 のいずれか 1 つに記載の医薬組成物。

**【請求項 1 4】**

分子量 30,000～45,000、好ましくは 40,000 ダルトンを有するヒアルロン酸またはその塩を 0.1 g/l～1 g/l の濃度で、化粧品として許容される担体と組み合わせて含む化粧品組成物。

**【請求項 1 5】**

化粧品として許容される担体と組み合わせて、ビタミン類、特にアスコルビン酸、ビタミン E すなわちトコフェロールから選択される一般式 B の化合物をさらに含む、請求項 14 に記載の化粧品組成物。

10

**【請求項 1 6】**

1 mg/d～300 mg/d、好ましくは 4 mg/d～150 mg/d の量で局所的に適用されるように製剤化された、請求項 14 または 15 に記載の化粧品組成物。

**【請求項 1 7】**

分子量 30,000～45,000、好ましくは 40,000 ダルトンを有するヒアルロン酸またはその塩を 0.1 g/l～1 g/l の濃度で含む食品組成物。

20

**【請求項 1 8】**

ビタミン類、特にアスコルビン酸、ビタミン E すなわちトコフェロールから選択される一般式 B の化合物をさらに含む、請求項 17 に記載の食品組成物。

**【請求項 1 9】**

50 mg/d～300 mg/d、好ましくは 100 mg/d～200 mg/d の量で経口的に適用されるように製剤化された、請求項 17 または 18 に記載の食品組成物。

**【請求項 2 0】**

エンテリック・コーティングされた形態にある、請求項 17～19 のいずれか 1 つに記載の食品組成物。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0 0 0 1】**

この発明は、皮膚、眼および粘膜、特に上気道および下気道ならびに腸の粘膜の保護機能の改善を意図した組成物を製造するためのヒアルロン酸の使用に関するものである。

30

**【背景技術】****【0 0 0 2】**

気道の粘膜および腸の粘膜、皮膚ならびに眼は、連続的な内層を形成する表面の上皮でつながり、生理的な保護バリアーからなっている。このバリアーの効果は、ストレスを与えるものと、表皮に可能な多数の防御機能との間の平衡状態に依存している。

**【0 0 0 3】**

これらの機能のうち、表面の上皮は、炎症反応、免疫応答、電解質の上皮輸送 および抗感染性を有する分子の分泌のような防御機能において、重要な役割を果たしている。これらの機能の大部分は、細胞の相互作用および極性の維持を必要とする。上皮に対するいかなる改変も、これらの防御機能の機能不全となり得る。

40

**【0 0 0 4】**

したがって、急性または慢性の気管支炎症状の間に、多くの感染性物質（細菌、ウイルスなど）または非-感染性物質（粒子、環境もしくは作業所の汚染）の吸入に関連して、粘膜毛様体の輸送効果が改変されると、上皮バリアーの完全性が改変されて、多少なりとも呼吸器官上皮の顕著な病変を惹起し得る。これらの病変は、上皮バリアーの連結の欠損から完全な上皮剥離へと進行し得る。

**【0 0 0 5】**

病変後の呼吸器官上皮表面の再-完全化は、まず拡散の度合いに依存し、損傷部位周辺における細胞の移動である (Zahmら、Am J Respir Cell Mol Biol 1991, 5:242-248; Her

50

ardら、Am J Respir Cell Mol Biol 1996, 15: 624-632）。この再 - 完全化は、上皮バリアーの防御機能の回復を伴わなければならない。

#### 【0006】

上皮細胞の結合複合体は、上皮の完全性の維持に顕著な役割を果たしてもいる。

上皮バリアーの機能は、3つの主なタイプの結合複合体により確かなものとされている。  
。

- 1 ) 強固な結合および細胞間固定ベルトを形成する中間的結合、
- 2 ) 基底細胞と円柱状表皮細胞との間の境界に位置する癒着部、および
- 3 ) 細胞間シグナルの導入経路である連絡接合部。

#### 【0007】

10

強固な結合は、細胞間スペースを通してイオンや分子が通過するのを規制する選択的なバリアーを形成する。電子顕微鏡下で、強固な結合が2つの隣接する細胞の形質膜の外側のリーフレットの間の一連の融合点を形成しているのが認められる。

#### 【0008】

これらの膜の接触ゾーンは、結合破損により、各細胞の尖端を囲む連続的ネットワークの形態で見られる。このネットワークは、膜タンパク質ポリマーで構成され、細胞質タンパク質の中でも特に密着帯タンパク質 (ZO-1 ~ 3) に結合しているクローディンおよびオクルーディンが見出されている。

#### 【0009】

20

オクルーディン、クローディンならびにZO-1のものは、しばしば細菌毒素の標的であり、密着結合の構成および機能の変化を導く (Corrauxら、Am J Respir Cell Mol Biol 2004, 5:605-612)。

#### 【0010】

結合複合体の中でも、連絡結合は、ある細胞から他の細胞への分子の伝達に関連する。それらは、6量体で互いにグループ化するコネキシンの階層化された集合体であるコネクソンで構成される。各コネクソンは、隣接細胞のコネクソンと会合し、2 ~ 4 nmのトンネルを形成して小型分子を通過させ得る。

#### 【0011】

30

上皮の保護を確実にするこれらの結合複合体に加えて、吸入された微生物の定着および感染を防ぐために、上皮は、殺菌活性を有するペプチドおよび分子の産生により、無菌環境を維持する。気道上皮細胞により分泌されるこれらの抗菌剤の中でも、ロイコプロテイナーゼ・インヒビター (SLPI) が、グラム陰性およびグラム陽性細菌の死を誘導できることが示された。

#### 【0012】

密着結合の防御機能における変化は感染過程の初期の結果であるが、感染に伴う重大な炎症が、上皮バリアーの透過性の緩和の発端にあり得るとも考えられる。

#### 【0013】

40

サイトカインは、免疫および炎症の過程の間に極めて多数の活性化細胞により放出される低分子量の可溶性ポリペプチド分子のファミリーを示す。これらのサイトカインの中でも、インターロイキン 8 (IL-8) は、炎症および感染性疾患において増加する。

#### 【0014】

好中球に対するIL-8のケモアトラクタントの力値 (chemo-attractant power) は病的状態の大半に適応する防御機構を構成するが、好中球による過度の反応は気道上皮の防御機能の変化を悪化させ得る (Tirouvanziamら、Am J Respir Cell Mol Biol, 2000, 2:121-127)。

#### 【0015】

それゆえ、上皮におけるアタック後のこれら防御機能の回復は、上皮のバリアー機能を維持するのに重要な段階であり、したがって、この回復を促進できる分子の単離は重大な挑戦を示す。

現在、上皮での発病の治療は、気管支拡張剤、抗炎症剤、抗生物質、粘液調節剤の対症

50

療法にある上記の全てからなる。

【0016】

フランス特許FR2847 818は、ヒアルロン酸、その製造方法、および特に上気道の呼吸障害に治療活性を有する組成物におけるその適用を記述している。

この特許に記載されているヒアルロン酸は、大きくて $10^5$  Daの分子量を有している。該ヒアルロン酸は、特に上気道の呼吸障害の治療（呼吸性上皮の修復）に関連して用いられる。

【0017】

米国特許6,806,259は、分子量50,000～200,000ダルトンのヒアルロン酸の製剤を記述している。この製剤は、ヒトの皮膚を柔軟にする栄養補助食品として経口ルートで投与される。

10

【0018】

米国特許出願US 2006/166930は、ドライアイを治療するためのアシル化ヒアルロン酸を含む医薬組成物に関する。このアシル化されたヒアルロン酸の分子量は、好ましくは10,000～1,000,000ダルトンである。

20

【0019】

米国特許5,166,331は、2つのヒアルロン酸フラクションを記述しており、一つは傷の治療に用いられる分子量50,000～100,000を有するヒアラスティン（hyalastine）であり、もう一つは眼内および関節内の注射に用いられる分子量500,000～730,000を有するヒアレクチン（hyalectin）である。

【0020】

ドイツ特許出願10360425は、眼および鼻の合併症の治療用医薬組成物を製造するための、分子量50,000～10,000,000ダルトンを有するヒアルロン酸、ヒアルロン酸塩および／またはそれらの誘導体の使用に関する。

【0021】

ヒアルロン酸を用いるこれらの文献のいずれもが、上皮に対するアタック後の結合複合体の防御機能の回復を記載しておらず、今まで、例えばTGF-ベータまたはグルココルトコイド類のようなサイトカインだけが、細胞間固着分子の発現を増加し得ると記載されているに過ぎない。

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0022】

本発明の課題の一つは、物理的、化学的または微生物学的な作用物に起因するアタックの場合に、防御機能の回復に関与するメカニズムを刺激するために、呼吸器官の粘膜、腸粘膜、皮膚または眼の防御機能を保護および／または改善する活性を有する、分子量30,000～45,000ダルトンの低分子量を有するヒアルロン酸の使用にある。

【0023】

本発明のもう一つの課題は、喘息、呼吸器アレルギー、呼吸困難シンドロームのような症状の予防用医薬を製造するためのヒアルロン酸含有医薬組成物を提供することである。

40

【0024】

本発明のもう一つの課題は、皮膚の機能的および構造的障害に関連して皮膚の保護機能を改善するか、または眼の障害に関連して眼の保護機能を改善するためのヒアルロン酸を含む化粧用組成物を提供することである。

【0025】

本発明のもう一つの課題は、消化器障害に関連して腸粘膜の保護機能を改善するためのヒアルロン酸含有食品組成物を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0026】

結果として、本発明は、物理的、化学的または微生物学的な作用物に起因し、上皮細胞、特に後者の結合複合体が関与するアタックの場合に、上気道および下気道の粘膜の完全

50

性、腸粘膜、皮膚または眼の保護および／または回復を意図した組成物を製造するための、分子量30,000～45,000ダルトン、好ましくは40,000ダルトンを有する少なくとも一つのヒアルロン酸またはその塩の使用に関する。

30,000ダルトンより低いと、ヒアルロン酸は炎症性となり（米国特許5,166,331）、45,000より高いとヒアルロン酸はその活性を失う。

#### 【0027】

「塩」という表現は、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、バリウム、ストロンチウム、マグネシウム、アルミニウム、アンモニウムまたは置換アンモニウムの塩を指す。

#### 【0028】

「呼吸器官の粘膜」という表現は、偽層化され、毛細胞、粘膜細胞、基底細胞、ブラシ細胞および神経内分泌細胞により構成される上気道および下気道の上皮、ならびにきわめて血管化され多数の弾性纖維からなる絨毛膜を指す。

#### 【0029】

「上気道」という表現は鼻腔、咽頭および喉頭を含み、「下気道」という表現は気管、気管支および細気管支を含む。

#### 【0030】

「腸粘膜」という表現は、消化管の内側部分を指し、次のものを含む：

- 胃から出発し、先端の表面の端のレベルで閉塞性結合により相互に結合した単層細胞により形成されている上皮；内腔中に粘液を分泌する外分泌細胞、および血中にホルモン類を放出する内分泌細胞が上皮層に含まれる、

- 血液中に極めて豊富な結合組織の固有層、弛緩層、ロイコサイト中の毛細リンパ管、ならびに上皮を通して得る微生物に対する防御システムのその他の細胞、

- 筋肉の粘膜、収縮により上皮の層を変動させ得る平滑筋細胞の単層。

#### 【0031】

「物理的な作用物」という表現は、一般に病変または疾病を引き起こし得るエネルギー源を指す。それらは、具体的には、騒音、振動、放射線（X線およびガンマ線のようなイオン化された、または紫外線、レーザー光線および赤外ランプのような光線）、波（例えばマイクロ波またはラジオ波）および極端な温度および圧力である。

#### 【0032】

「化学的な作用物」という表現は、化学物質（危険でない、危険な、非CMR（発癌性、突然変異性および生殖毒性）、危険化学品、危険なCMR）、ならびに環境汚染物中に含まれる化合物（ダスト、SO<sub>2</sub>、NO<sub>x</sub>、CO、重金属、揮発性有機化合物、フッ素、塩酸など、CO<sub>2</sub>、CH<sub>4</sub>、N<sub>2</sub>O、CFC類、HFC類、PFC類およびSF<sub>6</sub>などのグリーンハウス・ガス、オゾンのような他の物質、有機塩化物（ダイオキシンおよびフラン類）、PAH類（多環性芳香族炭化水素類）などを指す。

#### 【0033】

「生物学的な作用物」という表現は、空気、食品および飲料水中に存在する作用物、特にバクテリア、原生動物、ウイルスおよびカビを指し、種々の疾病を引き起こし得る。

好ましい態様によれば、上記に定義されたヒアルロン酸は、ビタミン類、特にアスコルビン酸、ビタミンEすなわちトコフェロールから選択される化合物Bをさらに含む。

#### 【0034】

好ましい態様によれば、上記で用いられるヒアルロン酸の濃度は、0.1 g/l～4g/lであり、好ましくは0.2～1 g/lである。この濃度より低くても、高くてもヒアルロン酸は不活性となる。

#### 【0035】

もう一つ的好ましい態様によれば、本発明は、物理的、化学的または生物学的な作用物に起因するアタックにより引き起こされる症状の治療および／または予防を意図した医薬を製造するための、上記で定義された少なくとも一つのヒアルロン酸の使用に関する。

#### 【0036】

10

20

30

40

50

特に好ましい態様によれば、本発明は、化粧品および食品組成物を製造するための、上記で定義されたヒアルロン酸の使用に関する。

【0037】

もう一つの態様によれば、上記で定義されたヒアルロン酸は、喘息、呼吸器アレルギー、呼吸困難シンドロームのような症状の予防用医薬を製造するために用いられ、そこで関与する上皮細胞は上気道および下気道の粘膜の細胞である。

【0038】

喘息は、危機のときには肺への吸気および呼気を困難にする気管支の疾病である。そのような危機は、身体的な労苦、湿気または環境汚染物のような他のアレルゲンのような異なった因子が引き金となる。

10

【0039】

呼吸器のアレルギーは、小児においてアレルギー性喘息の70~80%の要因である微細なダストのようなアレルゲンにより引き起こされる疾病である。

屋内環境における他の呼吸アレルゲン（呼吸経路により有機体を侵入させるアレルゲン類）のうち、室内動物（猫、犬、ウサギ）、ゴキブリおよびカビは、しばしば呼吸アレルギーの要因となる。

【0040】

室外の環境では、大気汚染および大気中のカビも関係し得る。

作業所のアレルゲンは、感作および呼吸器アレルギーの要因ともなり得る。最も頻度の高い源は、穀粉、研究動物、ラテックスなどである。

20

【0041】

呼吸困難シンドロームは、急性の肺障害による、生命を脅かす呼吸器疾患である。それは、炭化水素類の吸入、刺激性の化合物（塩素、NO<sub>2</sub>、煙、オゾン、高濃度の酸素、金属の蒸気、マスタードガス）、パラコートのような除草剤または麻薬（ヘロイン、モルヒネ、デキストロプロポキシフェンもしくはメサドンのような）の吸入のような、異なった因子により引き起こされる。

【0042】

下記の実施例1は、本発明のヒアルロン酸が、連絡結合の機能の増強を誘引し、特に大気汚染により引き起こされる疾患を予防し得ることを示している。

30

【0043】

もう一つの態様によれば、上記で定義されたヒアルロン酸は、皮膚の機能的および構造的な障害、特にしわ、小じわ、皮膚の緊張力および弾力の低下、関与する上皮細胞が皮膚の細胞であるような障害に関連して、皮膚の保護機能を改善することを意図した組成物を製造するために用いられる。

【0044】

皮膚の機能的および構造的な障害は、ゆっくりした、進行性の、遺伝的にプログラムされたプロセス、および皮膚の老化をもたらす日常的に皮膚が被るアタックの結果である。

40

【0045】

しわは、表皮および真皮のひだに起因する皮膚表面の線状の溝である。

小じわは、しわほども際立っていない溝であり、目のふちに生じるしわ（目じりのしわ）を指し、顔に現れる他のしわより浅い。

【0046】

「皮膚の緊張力」という表現は、緩んで垂れ下がった皮膚を指す。

「皮膚の弾力」という表現は、引きつった皮膚を指す。

「皮膚の乾燥」という表現は、十分な水分を保持していない皮膚を指し、皮膚の構造的損傷の原因となる。

【0047】

もう一つの態様によれば、上記で定義されたヒアルロン酸は、消化器官の障害、特に胃腸炎、局所貧血性の壞死および腸粘膜の潰瘍に関連して、腸粘膜の保護機能の改善を意図した組成物を製造するために用いられる。

50

## 【0048】

消化器官の障害は、消化管のあらゆる器官に影響し得る多くの徴候を含む。消化器官の障害は、これらの器官の機能不全に端を発している。

胃腸炎は、液状のおびただしい糞便の急激で頻繁な排泄を特徴とする炎症性の感染である。

## 【0049】

局所貧血性の壊死は、細胞エレメントのミイラ化に至る脈管形成により引き起こされる凝固壊死である。

腸粘膜の潰瘍は、腸管上皮の侵襲による腸粘膜の破滅へとつながる。

## 【0050】

もう一つの態様によれば、上記で定義されたヒアルロン酸は、眼の障害、特に漿液ストレス、ドライアイ、関与する上皮細胞が眼の細胞、特に角膜の細胞である角膜の障害および角膜炎に関連して、眼の保護機能を改善することを意図した組成物の製造に用いられる。

## 【0051】

「漿液ストレス」という表現は、眼球中の漿液の欠乏を指す。

皮脂腺分泌物のような、ある重要な構成要素中に涙液が不足するか、またはそれらの生成が不十分であると、涙の膜が崩壊することもある。角膜上に生じた乾燥箇所は、眼の乾燥徴候：搔痒疹、激烈な感覚、異物感および不快感を引き起こす。

## 【0052】

「角膜の障害」という表現は、通常、外傷もしくは眼中の異物に起因する擦過傷または摩擦により引き起こされる角膜上皮表面の欠陥を指す。

「角膜炎」という用語は、外傷性、化学物質、感染性もしくは遺伝由来の、角膜に関連するあらゆる疾患を指す。角膜の疾患は極めて多く、原因および損傷の部位によって、多少なりとも、完全で永久的に視力を失うことにもなり得る透明性の欠乏をもたらす。

## 【0053】

もう一つの観点において、本発明は、物理的、化学的または微生物学的な作用物に由来するアタックにより引き起こされ、上皮細胞、特に後者の結合複合体が関与している症状の治療および/または予防を意図した医薬を製造するための、次の一般式(1)：

(A, B) (1)

30

(式中、

Aは上記で定義されたヒアルロン酸であり、

Bはビタミン類、特にアスコルビン酸およびビタミンEすなわちトコフェロールから選択される)

を有する化合物の組合せの使用に関する。

## 【0054】

ビタミン類は、ビタミンB<sub>1</sub>(チアミン)、B<sub>2</sub>(リボフラビン)、B<sub>3</sub>(ニコチンアミド)、B<sub>5</sub>(パントテン酸)、B<sub>6</sub>(ピリドキシン)、B<sub>8</sub>(ビオチン)、B<sub>9</sub>(葉酸)、B<sub>12</sub>(コバラミン)、C(アスコルビン酸)、PP(ニコチン酸)のような水溶性のビタミン類、ならびにビタミンA(レチノール)、D(カルシフェロール)、E(トコフェロール)、K<sub>1</sub>(フィロキノン)およびK<sub>2</sub>(メナキノン)のような油溶性のビタミン類を含む。

ビタミンCおよびビタミンEは、特に皮膚のトリートメント用に意図された処方物に関連して、抗酸化剤の役割を果たす。

## 【0055】

さらなる観点において、本発明は、分子量30,000~45,000、好ましくは40,000ダルトンを有する少なくとも一つのヒアルロン酸またはその塩を、0.1 g/l~1 g/lの濃度で、医薬的に許容される担体と組み合わせて含む医薬組成物に関する。

## 【0056】

好ましい態様によれば、上記で定義された医薬組成物は、医薬的に許容される担体と組み合わせて、ビタミン類、特にアスコルビン酸、ビタミンEすなわちトコフェロールから

40

50

選択される化合物Bをさらに含む。

【0057】

もう一つの観点によれば、本発明は、上記で定義された一般式(A, B)の化合物を、医薬的に許容される担体と組み合わせて含む医薬組成物に関する。

好ましい態様において、上記で定義された医薬組成物は、50 mg/d ~ 300 mg/d、好ましくは100 mg/d ~ 200 mg/dを含む量で局所的に投与されるように、あるいは0.66 mg/kg/d ~ 4 mg/kg/d、好ましくは1.33 mg/kg/d ~ 2.66 mg/kg/dを含む量で経口的に投与されるよう、製剤化される。

【0058】

もう一つの態様によれば、上記で定義された医薬組成物は、エンテリック・コーティングされた形態で提供される。

「エンテリック・コーティングされた形態」という表現は、腸溶性に被覆された担体の形態にある組成物、すなわちヒアルロン酸が胃の酸性から保護されている組成物をいう。

【0059】

生理学的に安定なエンテリック・コーティングされた担体は、腸溶性の細粒、フィルムコーティングされた腸溶性の細粒、腸溶性のナノ粒子もしくはナノ球体、腸溶性の小球、腸溶性のマイクロカプセル、腸溶性の顆粒、フィルムコーティングされた腸溶性の顆粒、腸溶性のリポソーム、フィルムコーティングされた腸溶性のリポソーム、腸溶性の凍結乾燥された錠剤、フィルムコーティングされた腸溶性の凍結乾燥された錠剤、腸溶性の皮膜を有する浸透性のポンプ、ガム、腸溶性の長球、腸溶性の小球体、フィルムコーティングされた腸溶性の長球、フィルムコーティングされた腸溶性の小球体、フィルムコーティングされた腸溶性の錠剤、フィルムコーティングされた腸溶性のゼラチンカプセルから選択される。

【0060】

もう一つの観点によれば、本発明は、分子量30,000 ~ 45,000、好ましくは40,000ダルトンを有するヒアルロン酸またはその塩を0.1 g/l ~ 1 g/lの濃度で、化粧品として許容される担体と組み合わせて含む化粧品組成物に関する。

【0061】

好ましい態様によれば、上記で定義された化粧品は、化粧品として許容される担体と組み合わせて、ビタミン類、特にアスコルビン酸、ビタミンEすなわちトコフェロールから選択される一般式Bの化合物をさらに含む。

【0062】

さらなる観点によれば、本発明は、上記で定義された一般式(A, B)の化合物を、化粧品として許容される担体と組み合わせて含む化粧品組成物に関する。

好ましい態様において、上記で定義された化粧品組成物は、1 mg/d ~ 300 mg/d、好ましくは4 mg/d ~ 150 mg/dの量で局所的に適用されるように製剤化される。

化粧品組成物の一例は、下記の実施例3に示されている。

【0063】

もう一つの観点において、本発明は、分子量30,000 ~ 45,000、好ましくは40,000ダルトンを有するヒアルロン酸またはその塩を0.1 g/l ~ 1 g/lの濃度で含む食品組成物に関する。

好ましい態様によれば、上記で定義された食品組成物は、ビタミン類、特にアスコルビン酸、ビタミンEすなわちトコフェロールから選択される一般式Bの化合物をさらに含む。

【0064】

もう一つの観点によれば、本発明は、上記で定義された一般式(A, B)の化合物を含む食品組成物に関する。

好ましい態様において、上記で定義された食品組成物は、50 mg/d ~ 300 mg/d、好ましくは100 mg/d ~ 200 mg/dの量で経口的に適用されるように製剤化される。

食品組成物の一例は、実施例5に示されている。

好ましい態様において、上記で定義された食品組成物は、エンテリック・コーティング

10

20

30

40

50

された形態で提供される。

エンテリック・コーティングされた食品組成物は、錠剤、ゼラチンカプセル、サシェット、または腸溶性の顆粒の形態で提供される。

**【図面の簡単な説明】**

**【0065】**

【図1】図1は、結合プロテインZO-1の免疫局在を表す。コンフルエント細胞のゾーンにおいて、ZO-1の局在は、細胞がヒアルロン酸とともに培養されたか、培養されなかつたによって違いはないが、細胞がヒアルロン酸(A,B)とともに培養されたときに、ZO-1により形成されるネットワークはより密である。他方、脱分化されている培地の周囲に位置する細胞のレベルでは、細胞がヒアルロン酸とともに培養されたとき(D)は、ヒアルロン酸とともに培養されなかつた細胞(C)に比べて、ZO-1の発現がより顕著であり、より連続的であることが観察される。同じ発現プロフィールが結合蛋白オクルーディンについて観察される。

【図2】図2は、ZO-1蛋白のメンプラン発現およびオクルーディン(y-軸)に対するヒアルロン酸の濃度(x-軸)の効果を表す。白色のカラムはオクルーディンに対応し、灰色のカラムはZO-1に対応する。星印は、ヒアルロン酸なしの対照に関して統計的に顕著な差異( $p<0.05$ )を示す。

【図3】図3は、連絡結合の機能(y-軸)に対するヒアルロン酸の効果(x-軸)を表す。白色のカラムはヒアルロン酸なしの対照に対応し、灰色のカラムはヒアルロン酸5 mg/mlに対応する。星印は、対照に関して統計的に顕著な差異( $p<0.05$ )を示す。

【図4】図4は、経上皮抵抗(transepithelial resistance)(y-軸)に対する、ヒアルロン酸の濃度および呼吸器上皮細胞の培養時間の効果(x-軸)を表す。経上皮抵抗における顕著な増加( $p<0.02$ )が、時間およびヒアルロン酸濃度の相関として観察される。

【図5】図5は、皮膚の細胞のオクルーディン蛋白の発現(y-軸)に対するヒアルロン酸濃度(x-軸)の効果を表す。ダイアグラムは、ペルオキシダーゼ活性発現強さの測定値に対応する。値は3点の平均である。

【図6】図6は、皮膚の細胞のZO-1蛋白の発現(y-軸)に対するヒアルロン酸濃度(x-軸)の効果を表す。ダイアグラムは、ペルオキシダーゼ活性発現強さの測定値に対応する。値は3点の平均である。

【図7】図7は、腸細胞のオクルーディン蛋白の発現(y-軸)に対するヒアルロン酸濃度(x-軸)の効果を表す。ダイアグラムは、ペルオキシダーゼ活性発現強さの測定値に対応する。値は3点の平均である。

【図8】図8は、腸細胞のZO-1蛋白の発現に対するヒアルロン酸濃度(x-軸)の効果を表す。ダイアグラムは、ペルオキシダーゼ活性発現強さの測定値に対応する。値は3点の平均である。

**【実施例】**

**【0066】**

実施例1：本明細書に記載のヒアルロン酸の使用による、上皮の完全性の維持に関連するタンパク質の発現の気道上皮細胞における増加の実施例

気道上皮細胞を、抗生物質および増殖因子を補ったDMEM/F12培地を含む制限リング(restriction rings)中で、異なる濃度のヒアルロン酸(0.1、1.5もしくは10 mg/ml)の存在下、またはヒアルロン酸の非存在下で培養する。コンフルエントのときに、該制限リングを取り除いて、培養ゾーンの周縁部での細胞の移動を可能にする。そして、該細胞を固定し、引き続いて抗ZO-1抗体または抗オクルーディン抗体とインキュベートし、そしてビオチン化抗体とインキュベートし、最後にストレプトアビシンを連結したAlexa Fluorine 488 (Invitrogen)とインキュベートする。この調製物を、フォトブリーチを防ぐことができる溶液中のガラス・スライドに載せ、蛍光顕微鏡を用いて40倍の倍率で観察し、ZO-1タンパク質およびオクルーディンの細胞での局在を視覚化する。

**【0067】**

別の一連の実験では、細胞培養物について2つの異なる抽出を行った：ウェスタンプロ

10

20

30

40

50

ット技術によりZO-1およびオクルーディンの発現を評価するための全タンパク質の抽出および膜タンパク質の抽出。

密着結合の機能性を、経上皮抵抗の測定により評価した：気道上皮細胞を、上皮抵抗を測定できる二重の区画を有する培養皿中で培養する。この測定は、培養チャンバの上部の培地と底部の培地との間に確立されるべき一定電位を与え得る二重の電極を用いて24時間ごとに行われる。誘導電流の測定により、細胞の層の抵抗を計算できる。経上皮抵抗の増加は、機能的な密着結合の存在に帰着する。

連絡結合の機能性を、ビデオ顕微鏡およびFRAP（フォトブリーチ後の蛍光回復（fluorescence recovery after photobleaching））技術を用いて評価した：連絡結合を介する蛍光プローブの拡散の測定（Abaci Mら, Biotechnol J, 2007.2: 50-61; Tedelind S, Eur J Endocrinol 2003, 149:215-221）。

#### 【0068】

結果：

防御タンパク質の発現に対するヒアルロン酸の効果

免疫細胞化学により評価したZO-1およびオクルーディンの発現

コンフルエントの細胞のゾーンにおいて、ZO-1の局在は、該細胞がヒアルロン酸とインキュベートされたか否かに依存して拡散しない。他方、培養物の周縁部にあり、かつ脱分化している細胞のレベルでは、該細胞がヒアルロン酸とインキュベートされた場合、ヒアルロン酸とインキュベートされなかった細胞と比べて、ZO-1の発現がより有意であり、より連続的であることが観察される（図1）。

同じ発現プロフィールが、結合タンパク質オクルーディンで観察される。

#### 【0069】

ウェスタンプロットにより評価したZO-1およびオクルーディンの発現

次第に増加する濃度のヒアルロン酸の存在下での結合タンパク質ZO1およびオクルーディンの膜のレベルでの発現の割合を図2に示す。ヒアルロン酸の存在下で測定されたタンパク質の量を、ヒアルロン酸の非存在下で測定されたタンパク質の量の相関として表す。値は、4回の実験の平均値±標準誤差を示した。

1および5 mg/mlの濃度のヒアルロン酸の存在下で細胞がインキュベートされる場合に、タンパク質ZO1の発現の有意な増加（p<0.05）が観察される。1 mg/mlの濃度のヒアルロン酸の存在下で細胞がインキュベートされた場合に、オクルーディンの発現の有意な増加（p<0.05）も注目される。

#### 【0070】

連絡結合の機能性の解析

連絡結合の機能性を、蛍光分子の細胞間拡散の測定により評価した。図3は、ヒアルロン酸（5 mg/ml）の存在下での気道上皮細胞のインキュベーションにより、拡散指標（diffusion index）中の有意な増加（p<0.05）が誘導されることを示し、これは連絡結合の機能性の増大となる。

#### 【0071】

実施例2：本発明に記載のヒアルロン酸の使用による、細胞接触の維持に関連するタンパク質の発現の皮膚細胞における增加の実施例

形成手術からの外植片に由来する正常ヒトケラチノサイト（正常ヒト表皮ケラチノサイト；NHEK類）を、EGF（上皮増殖因子）0.25 ng/mlのような増殖因子、脳下垂体抽出物25 μg/ml（Invitrogen 37000015）、ゲンタマイシン25 μg/ml（Sigma G1397）を補ったSFM培地（Invitrogen 17005075）中、37 ℃および5 %CO<sub>2</sub>下で24時間インキュベートする。そして培地を除いて、該細胞を本発明のヒアルロン酸分子の存在下または非存在下（対照）に置く。試験されるヒアルロン酸濃度は、0.1 mg/ml、1 mg/mlおよび5 mg/mlである。

37 ℃および5 %CO<sub>2</sub>で72時間の培養後、培養培地を除いて、細胞をリン酸緩衝液でリンスして、-80 ℃で直ちに凍結させる。

#### 【0072】

該細胞が発現する全タンパク質を抽出し、これをペルオキシダーゼをコンジュゲートし

10

20

30

40

50

た2次抗体を含む検出系と連結した抗Z01抗体(Cliniscience 33-9100)および抗オクルーディン抗体(Cliniscience 33-1500)と接触させる。ペルオキシダーゼの基質の存在下での着色の発現により、Z01およびオクルーディンのマーカーの発現についての情報が、培地中に存在するHAの量の相関として提供される。

【0073】

図4および5において、細胞が本発明のヒアルロン酸とインキュベートされる場合に、結合タンパク質オクルーディンおよびZ0-1の発現の増加が観察される。オクルーディンでは0.1 mg/ml、Z0-1タンパク質では1 mg/mlの濃度にて、最大の発現が得られることに注目すべきである。

環境による複数の攻撃に最も曝される器官の1つである皮膚は、細胞間の密着を増加できる低分子量のHAにZ0-1が接触している場合、大気汚染のような種々の攻撃に耐え得るより良いものになり得る。

【0074】

実施例3：本発明の分子を含む皮膚用の化粧品組成物を、以下の処方により示す：

【表1】

乳化剤	4%
保存料	0.5%
グリセロール	5%
本発明のポリマー	0.01%~0.1%
NaCl	0.5%
水	QS 100

【0075】

実施例4：本発明に記載のヒアルロン酸の使用による、細胞接触の維持に関連するタンパク質の発現の腸細胞における増加の実施例

ヒト結腸細胞（上皮ヒトコーカサス結腸腺癌R51、Caco-2）を、非必須アミノ酸(Invitrogen 11140-035)、グルタミン2 mM(Invitrogen 25030024)、ペニシリン50 IU/ml、ストレプトマイシン50 µg/ml(Invitrogen 15070063)、10%ウシ胎仔血清(FCS、Invitrogen 10270098)を補ったMEM培地(Invitrogen 21090-022)中、37 および5 %CO<sub>2</sub>下で24時間インキュベートする。培地を除いて、該細胞を本発明のヒアルロン酸分子の存在下または非存在下（対照）に置く。試験されるヒアルロン酸の濃度は、0.1 mg/ml、1 mg/mlおよび5 mg/mlである。

37 および5 %CO<sub>2</sub>で72時間の培養後、培養培地を除いて、細胞をリン酸緩衝液でリンスして、-80°で直ちに凍結させる。

【0076】

該細胞が発現する全タンパク質を抽出し、これをペルオキシダーゼをコンジュゲートした2次抗体を含む検出系と連結した抗Z01抗体(Cliniscience 33-9100)および抗オクルーディン抗体(Cliniscience 33-1500)と接触させる。ペルオキシダーゼの基質の存在下での着色の発現により、Z01およびオクルーディンのマーカーの発現についての情報が、培地中に存在するHAの量の相関として提供される。

【0077】

図6および7において、結合タンパク質オクルーディンおよびZ01の発現が、本発明のヒアルロン酸の存在により調節されることが明らかである。

オクルーディンは、高濃度のヒアルロン酸でより多く発現するが、Z01タンパク質については、0.1 mg/mlの濃度で最大の発現が観察される。

10

20

30

40

50

低分子量のヒアルロン酸の摂取による消化管の細胞間の接触は、例えば上皮バリアーにより行われる防御機能の強化となる結合細胞の発現を増加し得る。

【0078】

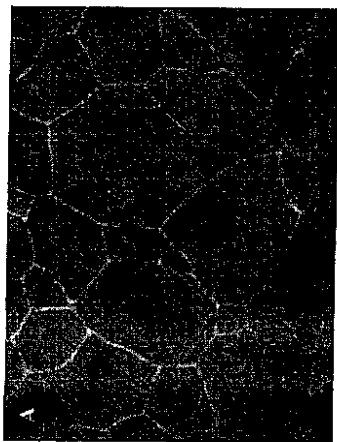
実施例5：本発明の分子を含む腸粘膜用の食品組成物を、以下の処方により示す：

【表2】

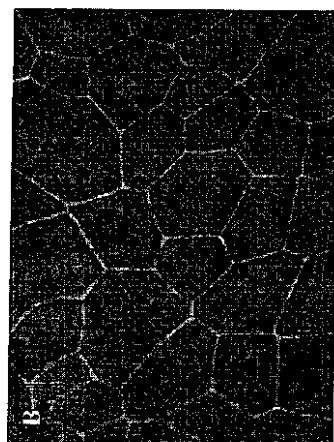
本発明のポリマー	0.01%～0.1%
ステアリン酸マグネシウム	0.1%
賦形剤：コメデンプン	QS 1グラム
カプセル	ゼラチン

10

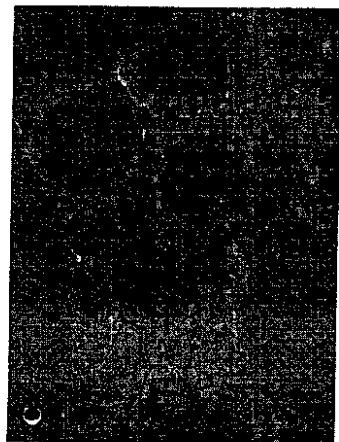
【図1A】



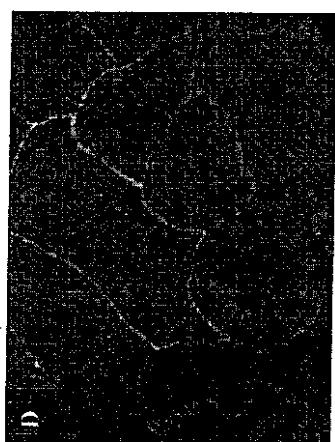
【図1B】



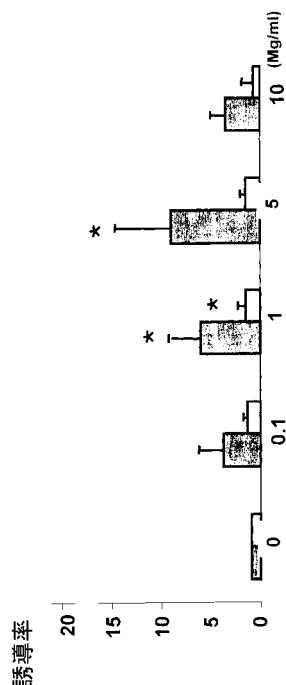
【図 1 C】



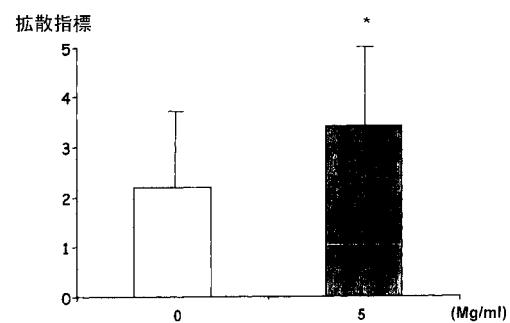
【図 1 D】



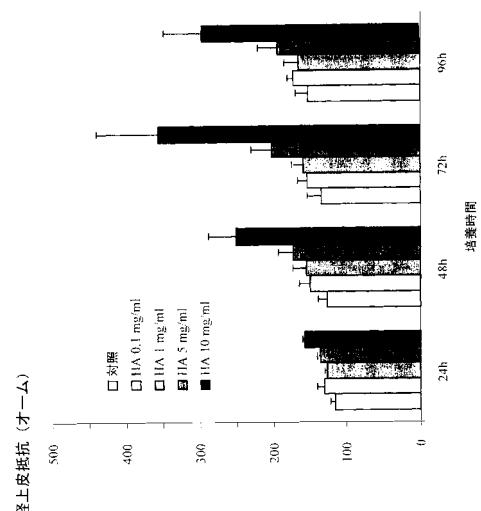
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【図5】

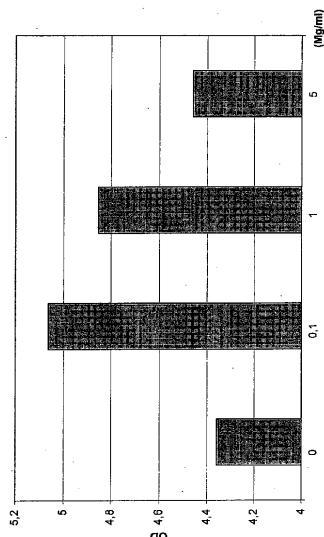


Figure 5

【図6】

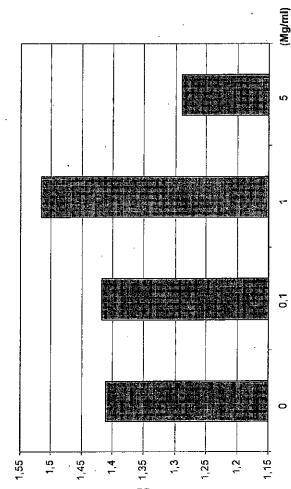


Figure 6

【図7】

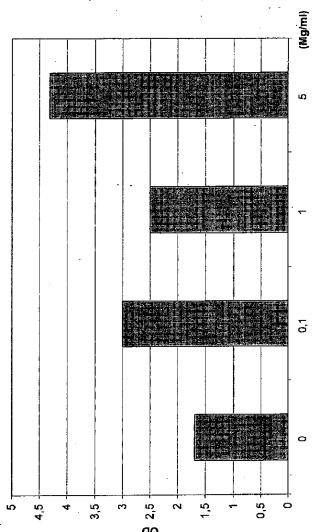


Figure 7

【図8】

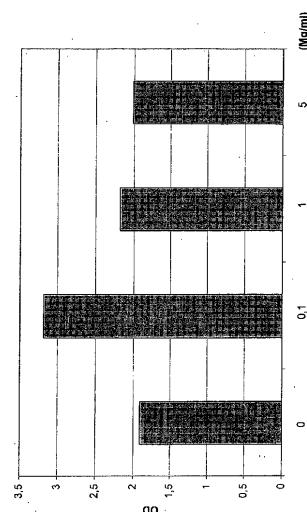


Figure 8

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				
				International application No PCT/FR2008/000959
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K31/728 A61K45/06 A61P1/04 A61P17/00 A61P27/02 A61P27/04 A61P11/00 A61P11/06 A61K8/67 A61K8/73 A61Q17/00 A61Q19/00 A61Q19/08				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <b>A61K</b>				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) <b>EPO-Internal, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS, WPI Data</b>				
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages			Relevant to claim No.
X	FR 2 847 818 A (AGRO IND RECH S ET DEV ARD [FR]; INST NAT SANTE RECH MED [FR]) 4 June 2004 (2004-06-04) page 2, lines 34,35 page 6, line 3 - line 27 page 5, line 7 - page 6, line 2 page 5, line 20 - page 6, line 2			1,3-6, 10,14,17
Y				2-9, 11-13, 15,16, 18-20
Y	WO 00/01394 A (FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS SRL [IT]; CALLEGARO LANFRANCO [IT]; AMBROSI) 13 January 2000 (2000-01-13) claim 1 page 3, lines 3-15			1,3-10, 12-14, 16,17, 19,20
				-/-
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.			<input checked="" type="checkbox"/> 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 document 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  <b>2 octobre 2009</b>		Date of mailing of the International search report  <b>21/10/2009</b>		
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer  <b>Kerkmann, Miren</b>		

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2008/000959

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2006/072243 A (NOVOZYMES BIOPOLYMER AS [DK]; SCHWACH-ABDELLAOUI KHADIJA [DK]; HALBYE) 13 July 2006 (2006-07-13)  claim 1 page 3, line 3 - line 20	1,3-10, 12-14, 16,17, 19,20
Y	US 5 166 331 A (DELLA VALLE FRANCESCO [IT] ET AL) 24 November 1992 (1992-11-24)  claims 1,14 column 3, lines 43-69 column 4, lines 19-54	1,3-10, 12-14, 16,17, 19,20
A	NAKAMURA M ET AL: "Recent developments in the use of hyaluronan in wound healing" EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, ASHLEY PUBLICATIONS LTD., LONDON, GB, vol. 4, no. 3, 1 January 1995 (1995-01-01), pages 175-188, XP008097254 ISSN: 1354-3784	1,3-10, 12-14, 16,17, 19,20
Y	WO 02/069984 A (KNOELL HANS FORSCHUNG EV [DE]; UNIV SCHILLER JENA [DE]; MUELLER PETER-) 12 September 2002 (2002-09-12)  example 4	2-9, 11-13, 15,16, 18-20
Y	"Martindale" 1999, PHARMACEUTICAL PRESS , LONDON, UK 32 , XP002548563  page 1365 - page 1366 page 1369 - page 1370	2-9, 11-13, 15,16, 18-20
A	MORGANTI P ET AL: "Biweekly in-office injectable treatment of striae distensae vs a long-term daily use of topical vitamin C" JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY 200110 IT, vol. 19, no. 4, October 2001 (2001-10), pages 107-112, XP008112941 ISSN: 0392-8543	2-9, 11-13, 15,16, 18-20
A	DI PIETRO A ET AL: "Role of hyaluronic acid and vitamin C in photoaging" JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY 1998 IT, vol. 16, no. 4, 1998, pages 125-133, XP008112939 ISSN: 0392-8543	2-9, 11-13, 15,16, 18-20

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/FR2008/000959
--

## 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.: 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:
  
  
  
  
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:

**see supplemental sheet**

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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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 additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the 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/FR2008/000959

The International Searching Authority has found that the international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims: 1 (entirely),  
3 to 9 (in part),  
10 (entirely),  
12 and 13 (in part),  
14 (entirely),  
16 (in part),  
17 (entirely),  
19 to 20 (in part).

A pharmaceutical/cosmetic or food composition that includes a hyaluronic acid having a mole weight of 30 000 to 45 000 Daltons, preferably 40 000 Daltons, or the corresponding salts thereof and the use thereof for protecting and/or restoring the integrity of the mucous membranes of the upper and lower respiratory tracts, the skin, the eye or the intestine, for treating respiratory illnesses (such as asthma, respiratory allergies, respiratory distress syndrome), functional and structural disorders of the skin (such as wrinkles), eye disorders (such as dry eye, corneal lesions and keratopathies) or digestive disorders (such as gastroenteritis, ischemic necrosis and ulcerations of the mucous membranes of the intestine).

- 
2. Claims: 2 (entirely),  
3 to 9 (in part),  
11 (entirely),  
12 and 13 (in part),  
15 (entirely),  
16 (in part),  
18 (entirely),  
19 to 20 (in part).

A pharmaceutical/cosmetic or food composition that includes a hyaluronic acid having a mole weight of 30 000 to 45 000 Daltons, preferably 40 000 Daltons, or the corresponding salts thereof, and a compound B selected from among the vitamins, in particular ascorbic acid and vitamin E or tocopherol, and the use thereof for protecting and/or restoring the integrity of the mucous membranes of the upper and lower respiratory tracts, the skin, the eye or the intestine, for treating respiratory illnesses (such as asthma, respiratory allergies, respiratory distress syndrome), functional and structural disorders of the skin (such as wrinkles), eye disorders (such as dry eye, corneal lesions and keratopathies) or digestive disorders (such as gastroenteritis, ischemic necrosis and ulcerations of the mucous membranes of the intestine).

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No
PCT/FR2008/000959

Patent document cited in search report	Publication date		Patent family member(s)	Publication date
FR 2847818	A 04-06-2004	AU WO	2003294100 A1 2004050187 A1	23-06-2004 17-06-2004
WO 0001394	A 13-01-2000	AT AU CA DE DE EP IT JP	235909 T 4905399 A 2336443 A1 69906532 D1 69906532 T2 1096940 A1 PD980168 A1 2002519381 T	15-04-2003 24-01-2000 13-01-2000 08-05-2003 08-04-2004 09-05-2001 07-01-2000 02-07-2002
WO 2006072243	A 13-07-2006	CA CN EP JP US	2592860 A1 101123942 A 1835942 A1 2008526693 T 2008274999 A1	13-07-2006 13-02-2008 26-09-2007 24-07-2008 06-11-2008
US 5166331	A 24-11-1992	NONE		
WO 02069984	A 12-09-2002	DE EP	10111165 A1 1408990 A2	10-10-2002 21-04-2004

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Demande Internationale n°  
PCT/FR2008/000959

<b>A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE</b> INV. A61K31/728 A61K45/06 A61P1/04 A61P17/00 A61P27/02 A61P27/04 A61P11/00 A61P11/06 A61K8/67 A61K8/73 A61Q17/00 A61Q19/00 A61Q19/08				
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB				
<b>B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE</b> Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) <b>A61K</b>				
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche				
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) <b>EPO-Internal, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS, WPI Data</b>				
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERÉS COMME PERTINENTS</b>				
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées		
X	FR 2 847 818 A (AGRO IND RECH S ET DEV ARD [FR]; INST NAT SANTE RECH MED [FR]) 4 juin 2004 (2004-06-04) page 2, ligne 34,35 page 6, ligne 3 - ligne 27 page 5, ligne 7 - page 6, ligne 2 page 5, ligne 20. - page 6, ligne 2	1,3-6, 10,14,17		
Y		2-9, 11-13, 15,16, 18-20		
Y	WO 00/01394 A (FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS SRL [IT]; CALLEGARO LANFRANCO [IT]; AMBROSI) 13 janvier 2000 (2000-01-13)  revendication 1 page 3, ligne 3-15	1,3-10, 12-14, 16,17, 19,20		
		-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant fixer une date sur une revendication de priorité ou citer pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée				
"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets				
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale			
2 octobre 2009	21/10/2009			
Norme et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé  Kerkmann, Mirella			

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°  
PCT/FR2008/000959

C(suite). DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 2006/072243 A (NOVOZYMES BIOPOLYMER AS [DK]; SCHWACH-ABDELLAOUI KHADIJA [DK]; HALBYE) 13 juillet 2006 (2006-07-13)  revendication 1 page 3, ligne 3 - ligne 20	1,3-10, 12-14, 16,17, 19,20
Y	US 5 166 331 A (DELLA VALLE FRANCESCO [IT] ET AL) 24 novembre 1992 (1992-11-24)  revendications 1,14 colonne 3, ligne 43-69 colonne 4, ligne 19-54	1,3-10, 12-14, 16,17, 19,20
A	NAKAMURA M ET AL: "Recent developments in the use of hyaluronan in wound healing" EXPERT OPINION ON INVESTIGATIONAL DRUGS, ASHLEY PUBLICATIONS LTD., LONDON, GB, vol. 4, no. 3, 1 janvier 1995 (1995-01-01), pages 175-188, XP008097254 ISSN: 1354-3784	1,3-10, 12-14, 16,17, 19,20
Y	WO 02/069984 A (KNOELL HANS FORSCHUNG EV [DE]; UNIV SCHILLER JENA [DE]; MUELLER PETER-) 12 septembre 2002 (2002-09-12)  exemple 4	2-9, 11-13, 15,16, 18-20
Y	"Martindale" 1999, PHARMACEUTICAL PRESS , LONDON, UK 32 , XP002548563  page 1365 - page 1366 page 1369 - page 1370	2-9, 11-13, 15,16, 18-20
A	MORGANTI P ET AL: "Biweekly in-office injectable treatment of striae distensae vs a long-term daily use of topical vitamin C" JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY 200110 IT, vol. 19, no. 4, octobre 2001 (2001-10), pages 107-112, XP008112941 ISSN: 0392-8543	2-9, 11-13, 15,16, 18-20
A	DI PIETRO A ET AL: "Role of hyaluronic acid and vitamin C in photoageing" JOURNAL OF APPLIED COSMETOLOGY 1998 IT, vol. 16, no. 4, 1998, pages 125-133, XP008112939 ISSN: 0392-8543	2-9, 11-13, 15,16, 18-20

<b>RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE</b>	Demande internationale n° <b>PCT/FR2008/000959</b>
<b>Cadre n°. II Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 2 de la première feuille)</b>	
<p>Le rapport de recherche internationale n'a pas été établi en ce qui concerne certaines revendications conformément à l'article 17.2(a) pour les raisons suivantes :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <input type="checkbox"/> Les revendications n°<sup>es</sup> se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration chargée de la recherche internationale n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir :</li>     <li>2. <input type="checkbox"/> Les revendications n°<sup>es</sup> parce qu'elles se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier :</li>     <li>3. <input type="checkbox"/> Les revendications n°<sup>es</sup> parce qu'elles sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).</li> </ol>	
<b>Cadre n°. III Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 3 de la première feuille)</b>	
<p>L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:</p> <p style="text-align: center;"><b>voir feuille supplémentaire</b></p>	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <input checked="" type="checkbox"/> Comme toutes les taxes additionnelles exigées ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.</li>   <li>2. <input type="checkbox"/> Comme toutes les revendications qui se prêtent à la recherche ont pu faire l'objet de cette recherche sans effort particulier justifiant des taxes additionnelles, l'administration chargée de la recherche internationale n'a sollicité le paiement d'aucunes taxes de cette nature.</li>   <li>3. <input type="checkbox"/> Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°<sup>es</sup>:</li>     <li>4. <input type="checkbox"/> Aucunes taxes additionnelles demandées n'ont été payées dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°<sup>es</sup>.</li> </ol>	
<p><b>Remarque quant à la réserve</b></p> <p><input type="checkbox"/> Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant et, le cas échéant, du paiement de la taxe de réserve.</p> <p><input type="checkbox"/> Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant mais la taxe de réserve n'a pas été payée dans le délai prescrit dans l'invitation.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.</p>	

Demande internationale No. PCT/FR2008 /000959

**SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1 (entièrement), 3-9 (partiellement), 10 (entièrement), 12, 13 (partiellement), 14 (entièrement), 16 (partiellement), 17 (entièrement), 19-20 (partiellement)

Composition pharmaceutique/cosmétique ou alimentaire comprenant un acide hyaluronique de 30 000 à 45 000 Daltons de poids moléculaire, préférentiellement 40 000 Daltons, ou de ses sels correspondants et son utilisation pour la protection et/ou la restauration de l'intégrité de la muqueuse des voies aériennes supérieures et inférieures, de la peau, de l'oeil ou la muqueuse intestinale, qui est utilisée pour le traitement des maladies respiratoires (comme l'asthme, des allergies respiratoires, le syndrome de détresse respiratoire), des désordres fonctionnels et structuraux de la peau (comme des rides), des troubles oculaires (comme la sécheresse de l'oeil, des lésions de la cornée et des kératopathies) ou des troubles digestifs (comme des gastro-entérites, des nécroses ischémiques et des ulcérations de la muqueuse intestinale).

2. revendications: 2 (entièrement), 3-9 (partiellement), 11 (entièrement), 12-13 (partiellement), 15 (entièrement), 16 (partiellement), 18 (entièrement), 19-20 (partiellement)

Demande internationale No: PCT/FR2008 /000959

**SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210**

Composition pharmaceutique/cosmétique ou alimentaire comprenant un acide hyaluronique de 30 000 à 45 000 Daltons de poids moléculaire, préférentiellement 40 000 Daltons, ou de ses sels correspondants, et un composé B choisi parmi les vitamines, en particulier l'acide ascorbique et vitamine E ou tocophérol

et son utilisation pour

la protection et/ou la restauration de l'intégrité de la muqueuse des voies aériennes supérieures et inférieures, de la peau, de l'oeil ou la muqueuse intestinale, qui est utilisée pour le traitement des maladies respiratoires (comme l'asthme, des allergies respiratoires, le syndrome de détresse respiratoire), des désordres fonctionnels et structuraux de la peau (comme des rides), des troubles oculaires (comme la sécheresse de l'oeil, des lésions de la cornée et des kératopathies) ou des troubles digestifs (comme des gastro-entérites, des nécroses ischémiques et des ulcérations de la muqueuse intestinale).

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n° PCT/FR2008/000959
--

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2847818	A	04-06-2004	AU WO	2003294100 A1 2004050187 A1	23-06-2004 17-06-2004
WO 0001394	A	13-01-2000	AT AU CA DE DE EP IT JP	235909 T 4905399 A 2336443 A1 69906532 D1 69906532 T2 1096940 A1 PD980168 A1 2002519381 T	15-04-2003 24-01-2000 13-01-2000 08-05-2003 08-04-2004 09-05-2001 07-01-2000 02-07-2002
WO 2006072243	A	13-07-2006	CA CN EP JP US	2592860 A1 101123942 A 1835942 A1 2008526693 T 2008274999 A1	13-07-2006 13-02-2008 26-09-2007 24-07-2008 06-11-2008
US 5166331	A	24-11-1992		AUCUN	
WO 02069984	A	12-09-2002	DE EP	10111165 A1 1408990 A2	10-10-2002 21-04-2004

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 8/73 (2006.01)	A 6 1 K 8/73	
A 6 1 Q 19/00 (2006.01)	A 6 1 Q 19/00	
A 6 1 Q 19/08 (2006.01)	A 6 1 Q 19/08	
A 6 1 K 31/375 (2006.01)	A 6 1 K 31/375	
A 6 1 K 31/355 (2006.01)	A 6 1 K 31/355	
A 6 1 K 8/67 (2006.01)	A 6 1 K 8/67	
A 2 3 L 1/30 (2006.01)	A 2 3 L 1/30	Z
A 2 3 L 1/302 (2006.01)	A 2 3 L 1/302	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,SK,T  
R),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,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,JP,KE,K  
G,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,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(71)出願人 500488225

アンスティテュ ナシオナル ド ラ サント エ ド ラ ルシュルシェ メディカル(アンセルム)  
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)  
フランス、エフ-75654 パリ セデックス 13、リュ ド トルビアック、101  
101, rue de Tolbiac, F-75654 Paris Cedex 13 France

(74)代理人 100065248

弁理士 野河 信太郎

(72)発明者 ブレシン, アンソニー

フランス、エフ-54490 サン マスメ、リュ ニコラ ルッシー、16

(72)発明者 プシェル, エディス

フランス、エフ-33710 トーリアック、リュ ドウ スタッド、24

(72)発明者 ザーム, ジャン-マリー

フランス、エフ-51100 ランス、リュ アレクサンドル ノル、8

(72)発明者 ミリヨ, マガリ

フランス、エフ-51100 ランス、プレース モーリス ユトリロ、14

F ターム(参考) 4B018 MD25 MD26 MD27 ME07 ME14

4C083 AB332 AC122 AD331 AD332 AD641 AD661 CC02 EE12 EE13

4C086 AA01 AA02 BA09 BA18 BC73 MA01 MA02 MA04 MA37 MA52

MA63 NA05 NA14 ZA59 ZA89