

(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2005-509610**(P2005-509610A)**

(43) 公表日 平成17年4月14日(2005.4.14)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 7/48	A 6 1 K 7/48	4 B O 1 8
A 2 3 L 1/30	A 2 3 L 1/30	4 C O 8 3
A 6 1 K 7/00	A 6 1 K 7/00	4 C O 8 6
A 6 1 K 31/568	A 6 1 K 31/568	
A 6 1 K 31/5685	A 6 1 K 31/5685	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 31 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-533891 (P2003-533891)	(71) 出願人	590003065
(86) (22) 出願日	平成14年9月24日 (2002. 9. 24)		ユニリーバー・ナームローゼ・ベンノート
(85) 翻訳文提出日	平成16年4月2日 (2004. 4. 2)		シヤープ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2002/010688		オランダ国、3 O 1 3・エイエル・ロッテ
(87) 国際公開番号	W02003/030857		ルダム、ヴェーナ 4 5 5
(87) 国際公開日	平成15年4月17日 (2003. 4. 17)	(74) 代理人	100062007
(31) 優先権主張番号	01308487.6		弁理士 川口 義雄
(32) 優先日	平成13年10月4日 (2001. 10. 4)	(74) 代理人	100113332
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 一入 章夫
		(74) 代理人	100114188
			弁理士 小野 誠
		(74) 代理人	100103920
			弁理士 大崎 勝真
		(74) 代理人	100124855
			弁理士 坪倉 道明
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 皮膚の表皮障壁発達の増進

(57) 【要約】

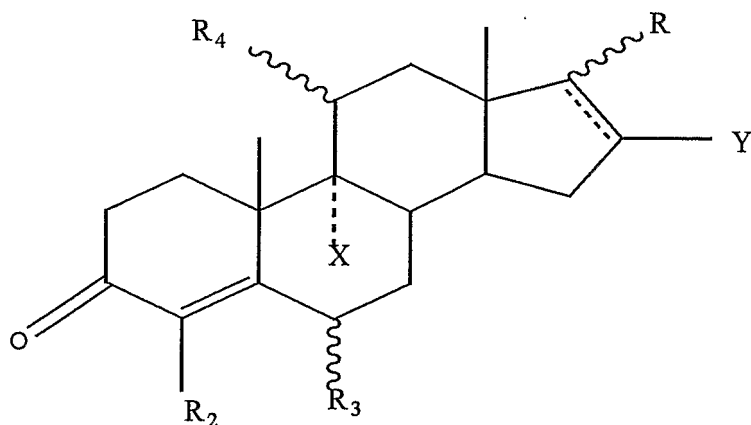
本発明は、皮膚用組成物、及び、皮膚用組成物に添加された分子の新規な効果の同定に関する。より特定的には本発明は、核受容体 L X R a の活性化を介して皮膚中で健康な表皮障壁層の発達を増進することによって多様なスキンケア効果を与えるような全身性または局所性の組成物及びそれらの使用に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

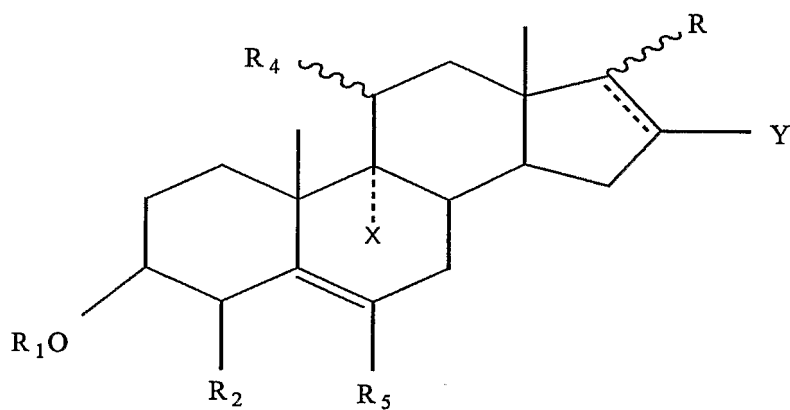
皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性または全身性組成物を製造するための、一般式；

【化 1】



(A)

or



(B)

〔式中、

R は水素、ヒドロキシル、ケト、アセチル、置換または未置換、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の C₁ - C₇ アルキル基、または、置換または未置換、分枝状または非分枝状の不飽和 C₈ アルキル基を表し、

R₁ は低級アルキル基、水素または C O R₆ を表し、

R₂ は水素、ハロゲンまたはヒドロキシル基を表し、

R₃ は水素、ヒドロキシル、ハロゲン、ケトまたは低級アルキル基を表し、

R₄ は水素、ヒドロキシルまたはケト基を表し、

R₅ は水素、ヒドロキシル、ハロゲンまたは低級アルキル基を表し、

R₆ は低級アルキル基を表し、

X は水素、メチルまたはハロゲンを表し、

Y は水素、ヒドロキシル、アセチルまたはケト基を表す。〕

で示される L X R 賦活化合物の使用。

【請求項 2】

R が、水素、ヒドロキシル、ケトまたは置換もしくは未置換の C₁ - C₄ アルキル基を

10

20

30

40

50

表すことを特徴とする請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

R が非分枝状の置換 $C_1 - C_4$ アルキル基を表すことを特徴とする請求項 2 に記載の使用。

【請求項 4】

前記賦活化合物が一般式 A で表され、式中の Y がケト基であることを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 5】

前記賦活化合物が式 B で表され、式中の R_1 が水素を表し、Y がヒドロキシル基、水素またはアセチル基を表すことを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の使用。

10

【請求項 6】

R が、 $-H$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-COCH_3$ 、 $-COHCH_3$ 、 $=CHCH_3$ 、 $=CHCH_2OH$ 及び $-OCOCH_3$ を表すことを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 7】

R が $C(CH_3)(CH_2)_2C=C(CH_3)$ を表すことを特徴とする請求項 1 に記載の使用。

【請求項 8】

前記化合物が、4 - アンドロステン - 3, 16 - ジオン、4 - アンドロステン - 3, 16 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3, 6, 16 - トリオン、4 - アンドロステン - 17 ベータ - オール - 3, 16 - ジオンアセテート、16 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5, 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5, 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5, 16 - ジエン - プレグナン - 3, 20 - ジオール、4, 16 - ジエンプレグナ - 3, 20 - ジオン、4, 17 (20) - (シス) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオン、4, 17 (20) - (トランス) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオン、4 - プレグナン - 3, 16, 20 - トリオン、4, 17 (20) - プレグナジエン - 11, 21 - ジオール - 3 - オン、5, 17 (20) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオール - ジアセテート、5, 17 (20) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ, 16 アルファ, 21 - トリオール - 20 - オン、24 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5, 24 - ジエン - 3 - オール、(3 ベータ) - 3 - ヒドロキシウルス - 12 - エン - 28 オイック酸、シス - グーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の使用。

20

30

【請求項 9】

前記 LXR 賦活化合物が 4, 17 (20) - (シス) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオンであることを特徴とする請求項 4 に記載の使用。

【請求項 10】

請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の式 (A) または (B) の LXR 賦活剤を含む局所性組成物を皮膚に塗布すること

40

を含む、乾燥肌の治療 / 予防 ; 炎症肌、赤化肌及び / または敏感肌の鎮静 ; インボルクリンレベルの増進 / 維持 ; 老化速度の減速 ; から成るグループから選択された少なくとも 1 つのスキンケア効果を与える化粧方法。

【請求項 11】

請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の式 (A) または (B) の LXR 賦活剤を含む組成物を全身性投与すること

を含む、乾燥肌の治療 / 予防 ; 炎症肌、赤化肌及び / または敏感肌の鎮静 ; インボルクリンレベルの増進 / 維持 ; 老化速度の減速 ; から成るグループから選択された少なくとも 1 つのスキンケア効果を与える化粧方法を提供する方法。

【請求項 12】

50

前記 L X R 賦活化合物が組成物の 0 . 0 0 1 - 1 0 重量 % のレベルで存在することを特徴とする請求項 1 0 または 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

請求項 1 に記載の L X R 賦活化合物および皮膚科学的に許容されるビヒクルを含み、式中の R が - H、- OH、= O、- C O C H₃、- C O H C H₃、= C H C H₂ O H または - O C H C H₃ を表すことを特徴とする皮膚の表皮障壁機能を増強する局所性組成物。

【請求項 1 4】

(a) 4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3 , 6 , 1 6 - トリオン、4 - アンドロステン 1 7 ベータ - オール - 3 , 1 6 - ジオンアセテート、1 6 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、5 , 1 6 - ジエン - プレグナン - 3 , 2 0 - ジオール、4 , 1 6 - ジエンプレグナ - 3 , 2 0 - ジオン、4 - プレグネン - 3 , 1 6 , 2 0 - トリオン、4 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 1 1 , 2 1 - ジオール - 3 - オン、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール - ジアセテート、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ、1 6 アルファ、2 1 - トリオール - 2 0 - オン、2 4 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 2 4 - ジエン - 3 - オール、スティグマスタ - 5 , 2 2 - ジエン - 3 - オール、シス - ゲーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択される L X R 賦活剤と、および

(b) 皮膚科学的に許容されるビヒクルと、
を含む、皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性組成物。

【請求項 1 5】

(a) 4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3 , 6 , 1 6 - ジオン、4 - アンドロステン 1 7 ベータ - オール - 3 , 1 6 - ジオンアセテート、1 6 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、5 , 1 6 - ジエン - プレグナン - 3 , 2 0 - ジオール、4 , 1 6 - ジエンプレグナ - 3 , 2 0 - ジオン、4 - プレグネン - 3 , 1 6 . 2 0 - トリオン、4 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 1 1 , 2 1 - ジオール - 3 - オン、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール - ジアセテート、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ、1 6 アルファ、2 1 - トリオール - 2 0 - オン、2 4 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 2 4 - ジエン - 3 - オール、スティグマスタ - 5 , 2 2 - ジエン - 3 - オール、シス - ゲーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択される L X R 賦活剤と、および

(b) 皮膚科学的に許容される担体と、
を含む、成る皮膚の表皮障壁機能を強化する全身性組成物。

【請求項 1 6】

4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3 , 6 , 1 6 - トリオン、4 - アンドロステン - 1 7 ベータ - オール - 3 , 1 6 - ジオンアセテート、1 6 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、5 , 1 6 - ジエン - プレグナン - 3 , 2 0 - ジオール、4 , 1 6 - ジエンプレグナ - 3 , 2 0 - ジオン、4 - プレグナン - 3 , 1 6 , 2 0 - トリオン、4 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 1 1 , 2 1 - ジオール - 3 - オン、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール - ジアセテート、5 , 1 7 (2 0) - プ

レグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ , 16 アルファ , 21 - トリオール - 20 - オン、24 - ヒドロキシコロール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、スティグマスタ - 5 , 22 - ジエン - 3 - オール、シス - グーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択される L X R 賦活化合物を含む食品組成物。

【請求項 17】

前記 L X R 賦活剤が組成物の 0 . 01 - 10 重量 % の量で存在することを特徴とする請求項 12 から 16 のいずれか一項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は局所性または全身性の組成物の分野、及び、このような組成物に含ませた分子の新規な効果の同定に関する。より特定的には本発明は、これらの組成物、及び、皮膚の健康な表皮障壁層の発達を増進することによって様々なスキンケア効果を与えるためのこれらの組成物の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

表皮は層状のケラチン形成性上皮であり、その最も外側の層即ち角質層は皮膚に構造的団結性を与えて過剰な水分減少に対する障壁を形成する。ケラチノサイトは上皮の細胞の基底層を形成し、皮膚の最も外側の層に向かって移動しながら増殖かつ分化して角質層の 20 コルネオサイト（角質細胞）を形成する。角質層は角質組織化したエンベロープを形成し、このエンベロープはまた、分化した膜複合体をコルネオサイト間のスペースに含んでおり、これらの膜複合体は、表皮内部で合成された脂質に由来しており透過性障壁を維持するために必要である。

【0003】

肝の X 受容体（L X R）はヒトのケラチノサイト中に存在することが知られた核受容体であり、ヒトのケラチノサイト中で細胞の増殖及び分化並びに表皮内部の脂質代謝の調節において不可欠な役割を果たす。22 - R ヒドロキシコレステロールが、インボルクリン及びトランスグルタミナーゼ 1 をそれぞれコードする分化特異的遺伝子の協調発現を誘発し、角質組織化エンベロープの形成を増進し、細胞増殖を阻害することは当業界で公知で 30 ある（Hanley ら, Journal of Investigative Dermatology, Vol 114 No. 3 p. 545 - 553）。

【0004】

国際特許 WO 98 / 32444 は、表皮障壁機能不全の問題を扱っており、L X R の活性化を介して障壁発達を増進するために使用できるオキシステロールの特定サブセットを開示している。この文献の重要な指摘は、構造的に極めて類似したオキシステロール化合物及びコレステロール自体でさえも L X R の有効な賦活剤でないということである。これは、L X R が極めて特異的な受容体であることを当業者に印象付ける。

【0005】

グーグルステロンをその他の複数の有効成分と組み合わせて含む皮膚用組成物がセルライト（蜂巣炎）の治療に使用されることは公知である（米国特許第 6 , 120 , 779 号）。セルライトの原因は、真皮の下側にあるアジポサイト即ち脂肪細胞中で脂肪の堆積が増加することにあり、表皮の透過性障壁を維持する必要性という問題とは全く違った技術 40 的問題を提起する。

【0006】

表皮の障壁機能を改善できることは、皮膚が乾燥しているときまたは損傷されているときに特に有利である。乾燥肌または損傷肌の障壁機能が改善されると、水分減少が抑制され皮膚の質及び柔軟性が全般的に増強される。

【0007】

本発明によって解決すべき主要な技術的課題は、高度に特異的な L X R の活性化を介 50

して皮膚中の表皮障壁の発達を改善できる代替分子を見出すことである。

【 0 0 0 8 】

従来技術である国際特許 W O 9 8 / 3 2 4 4 4 は、L X R を活性化する能力は少数のオキシステロール群に限られると教示している。従って L X R を活性化する能力を有しておりこれによって皮膚中の表皮障壁特性を改善できる別の分子をここに発見したことは驚嘆に値する。

【 発 明 の 開 示 】

【 0 0 0 9 】

従って本発明は、L X R を活性化するという新規に同定された能力を有しており、これによって皮膚中の表皮障壁特性を改善する手段となり得る一群の化合物を提供する。

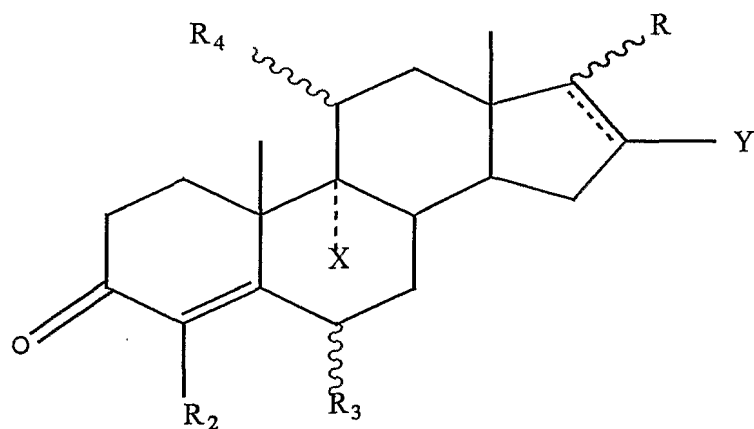
10

【 0 0 1 0 】

本発明の第一の目的は、皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性または全身性の組成物を製造するために、一般式；

【 0 0 1 1 】

【 化 1 】

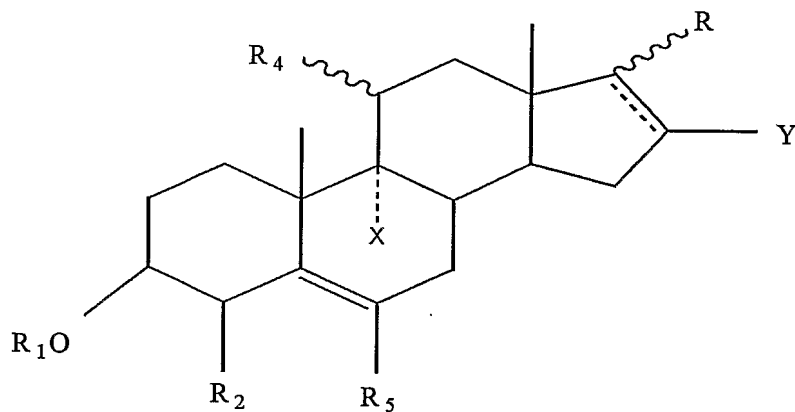


20

(A)

30

or



40

(B)

50

〔 式 中 、

R は水素、ヒドロキシル、ケト、アセチル、置換もしくは未置換、分枝状もしくは非分枝

状、飽和もしくは不飽和の $C_1 - C_7$ アルキル基、または、置換もしくは未置換、分枝状もしくは非分枝状の不飽和の C_8 アルキル基を表し、
 R_1 は低級アルキル基、水素または $CO R_6$ を表し、
 R_2 は水素、ハロゲンまたはヒドロキシ基を表し、
 R_3 は水素、ヒドロキシ基、ハロゲン、ケトまたは低級アルキル基を表し、
 R_4 は水素、ヒドロキシ基またはケト基を表し、
 R_5 は水素、ヒドロキシ基、ハロゲンまたは低級アルキル基を表し、
 R_6 は低級アルキル基を表し、
 X は水素、メチルまたはハロゲンを表し、
 Y は水素、ヒドロキシ基、アセチルまたはケト基を表す。]

で示される LXR 賦活化合物の使用を提案することである。

10

【0012】

式 (A) または (B) の化合物を場合によっては 1 種または複数の別の成分と共に含む全身性または局所性の組成物も本発明の範囲内に包含される。

【0013】

本発明の第二の目的は、乾燥肌の治療 / 予防 ; 炎症肌、赤化肌及び / または敏感肌の鎮静 ; インボルクリンレベルの増進 / 維持 ; 老化速度の減速 ; から成るグループから選択された少なくとも 1 つのスキンケア効果を与えるために、本文中に定義した式 (A) または (B) の化合物を含む局所性組成物を皮膚に塗布するかまたは全身性組成物を全身的に投与することを含む化粧方法を提供することである。

20

【0014】

本発明の第三の目的は、上記の式のいずれかで表される LXR 賦活化合物および皮膚科学的に許容されるビヒクルを含み、式中の R が $-H$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-COCH_3$ 、 $-COHCH_3$ 、 $=CHCH_2OH$ または $-OCHCH_3$ を表すことを特徴とする皮膚の表皮障壁機能を強化する全身性組成物を提供することである。

【0015】

本発明の第四の目的は、上記の式のいずれかで表される LXR 賦活化合物および皮膚科学的に許容される担体を含み、式中の R が $-H$ 、 $-OH$ 、 $=O$ 、 $-COCH_3$ 、 $-COHCH_3$ 、 $=CHCH_2OH$ または $-OCHCH_3$ を表すことを特徴とする皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性組成物を提供することである。

30

【0016】

表皮障壁機能は、皮膚表皮内部に存在し透過性障壁を維持するために必要な健康な角質細胞化表皮の発達に関与する細胞の増殖及び分化によって決定される。

【0017】

本発明では表皮障壁機能の改善を 2 つの手段によって測定した。第一の手段では、 LXR を活性化するリポーター遺伝子アッセイを使用し、第二の手段では、本発明によって治療した細胞中で検出されたフィラグリン発現レベルを測定する。フィラグリンは表皮分化のマーカーとして十分に認知されており、フィラグリンの増加は角質細胞化した上皮の発達によって皮膚内部の障壁機能が強化されたことを示す指標となる (Kornuves LG. ら, 1999 Journal of Investigative Dermatology 112: 203-9)。

40

【0018】

伝統的に受け容れられていた学説に反して、 LXR を活性化し得る分子のグループが従来技術で主張されていたような少数のオキシステロール群に限られていないことが知見された。更に、本発明の 1 つの特徴によれば、本発明で同定されたグループを構成する分子は従来技術で同定されたオキシステロールよりも大きい LXR 活性化能力を有しており、これによって表皮の障壁特性を強化するためのより有効な成分を提供することが証明された。

【0019】

R 基を 17 位の炭素原子に連結する結合は、 R 基の種類に依存するであろう (波形結合

50

によって表す)。Rが水素またはヒドロキシル基またはアセチル基であるときには結合は飽和結合であろうが、Rがケト基であるときには結合は不飽和結合であろう。Rがアルキル基であるとき、この基は、飽和または不飽和の結合を介して17位の炭素に連結されるが、好ましくは不飽和結合である。

【0020】

本発明の目的に適うためにはRはヒドロキシル、ケトまたはアセチル基を表すことができる。

【0021】

また、Rは置換または未置換、飽和または不飽和、分枝状または非分枝状の $C_1 - C_7$ (即ち、 C_1 、 C_2 、 C_3 、 C_4 、 C_5 、 C_6 及び C_7 を含む)アルキル基を表してもよい。好ましくは、この $C_1 - C_7$ アルキル基は、ヒドロキシル、ケト及びアセチル基から選択された少なくとも1つの置換基を含んでおり、より特定的にはRは2個及び3個の上記のような置換基を有している置換アルキル基を表す。より好ましくはこのアルキル基は1つまたは複数のケト基またはヒドロキシル基によって置換されている。更に好ましくはアルキルR基は図7に示す C_{20} 、 C_{21} 、 C_{22} 及び C_{23} に対応するかまたは等価の1つまたは複数の位置で置換されている。置換がケト基による置換であるときは、この基は C_{20} に結合するのが最も好ましく、置換がヒドロキシル基による置換であるときは、この基は C_{21} 及び/または C_{22} で炭素に結合するのが最も好ましい。

10

【0022】

アルキルR基は非分枝状であるのが好ましい。これによって有利な直鎖状配置 (conformation) を維持し易いからである。しかしながらアルキル基が分枝であるときは、これらの分枝が好ましくは2個の炭素、より好ましくは1個の炭素を有している。

20

【0023】

上述のようにR基がアルキル基である場合、この基はある程度の不飽和を有しているのが好ましい。好ましくは不飽和が1つまたは複数の置換ケト基の形態である。

【0024】

Rが不飽和の $C_1 - C_8$ アルキル基を表す場合、この基は式 - $C(CH_3)(CH_2)_2C=C(CH_3)_2$ を有しているのが最も好ましい。

【0025】

いかなる理論に制約されることも望んでいないが、出願人らは、LXRの活性部位との正しい相互作用を決定し従ってLXRの活性化を決定するのは、本文中に提示した一般式で示される分子のR基のコンホメーションであると考えている。より特定的には、分子構造のコンピューターモデル化から、R基が炭素鎖である場合には活性部位との正しい相互作用を生じさせるためにR基は図4に示すような実質的に直鎖状のコンホメーションを有しているのが好ましいと考えられる。このようなコンホメーションは、R基が実質的に直鎖状の炭素鎖であり及び/または少なくとも1つの不飽和C-C結合を有しているような分子で得られる。

30

【0026】

また、LXRの最も有効な活性化剤は小さいR基を含んでいると考えられる。従って好ましい実施態様では、LXR賦活化合物のR基は水素、ヒドロキシル、ケトまたは未置換の $C_1 - C_4$ アルキル基を表すか、または、より好ましくは置換 $C_1 - C_4$ アルキル基を表す。好ましくは置換がこのアルキル基内部の C_{20} または C_{21} で生じる。R基がアルキル基の場合、この基は環構造の C_{17} と不飽和結合を形成しているのが好ましい。

40

【0027】

好ましい実施態様で、Rは水素、ヒドロキシル、ケトまたは置換/未置換 $C_1 - C_4$ アルキル基を表す。適当な未置換基としてはメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチルまたはter-ブチルがある。

【0028】

極めて好ましい実施態様では、Rは-H、-OH、=O、-COCH₃、-COHCH

50

$_3$ 、 $=CHCH_3$ 、 $=CHCH_2OH$ 、 $-OCOCH_3$ 及び $C(CH_3)(CH_2)_2C$
 $=C(CH_3)_2$ から成るグループから選択される。

【0029】

本文中で使用された“低級アルキル”という用語は、4個以下の炭素原子を有している直鎖状及び分枝状の双方のラジカルを包含する。適当な基の例は上述した。好ましい実施態様では R_1 が水素である。

【0030】

R_2 は水素、ハロゲン好ましくは塩素、または、ヒドロキシル基を表し、 R_2 は好ましくは水素を表す。

【0031】

R_3 は水素、ハロゲン好ましくはフッ素もしくは塩素、ケト基または低級アルキル基を表す。 R_3 は好ましくはケト基または水素である。最も好ましい実施態様では R_3 は水素である。

【0032】

R_4 及び R_5 は好ましくはヒドロキシル基または水素を表し、最も好ましくはこれらの基は水素を表す。

【0033】

R_6 は低級アルキル基、好ましくはメチル基を表す。

【0034】

X は好ましくは水素、フッ素または塩素を表し、最も好ましくは X は水素である。

【0035】

Y は好ましくは水素、ヒドロキシル基またはケト基を表す。

【0036】

Y が水素のとき一般式 A の化合物中の二重結合が C_{16} と C_{17} との間で形成され得る。

【0037】

式 B の化合物中では Y が水素のとき、 R_1 は好ましくは水素または $-COR_6$ である。Y がケト基のとき賦活分子は一般式 A で表されるのが好ましいが、Y がヒドロキシル基のとき賦活分子は好ましくは一般式 B で表される。

【0038】

最も好ましい実施態様では賦活化合物が式 A で表され、式中の Y はケト基である。

【0039】

R が水素またはヒドロキシル基である場合、式 A の賦活化合物中の Y は好ましくはケト基である。

【0040】

R が $-COCH_3$ である場合、式 A または式 B 好ましくは式 A の賦活化合物中の Y は好ましくは水素またはケト基である。

【0041】

R が $=CHCH_3$ または $-OCOCH_3$ である場合、式 A の賦活化合物中の Y は極めて好ましくはケト基である。

【0042】

R が $=CHCH_2OH$ である場合、Y は好ましくは、式中の R_4 が好ましくはヒドロキシル基を表す一般式 A の賦活化合物中の水素であるか、または、式中の R_1 が水素を表す式 B の賦活化合物中のヒドロキシル基である。

【0043】

R が $C(CH_3)(CH_2)_2C=C(CH_3)_2$ である場合、Y は好ましくは式中の R_1 もまた水素を表す式 B の賦活化合物中の水素である。

【0044】

本発明による使用の好ましい実施態様では、望ましい LXR の活性化は、4 - アンドロステン - 3, 16 - ジオン、4 - アンドロステン - 3, 16 - ジオン、アンドロスト -

10

20

30

40

50

4 - エン - 3 , 6 , 16 - トリオン、4 - アンドロステン 17 ベータ - オール - 3 , 16 - ジオンアセテート、16 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5 , 16 - ジエン - プレグナン - 3 , 20 - ジオール、4 , 16 - ジエンプレグナ - 3 , 20 - ジオン、4 , 17 (20) - (シス) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオン、4 , 17 (20) - (トランス) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオン、4 - プレグナン - 3 , 16 , 20 - トリオン、4 , 17 (20) - プレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、5 , 17 (20) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオール - ジアセテート、5 , 17 (20) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ、16 アルファ、21 - トリオール - 20 - オン、24 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、シス - グーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択された化合物によって行われる。

【 0045 】

極めて好ましい実施態様では、本発明は、皮膚の表皮障壁機能を強化する組成物を製造するための、4 , 17 (20) - (シス) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオンの使用に関する。

【 0046 】

すべての化合物の製造に関しては文献に記載されており及び / またはこれらの化合物が例えば Sigma Chemical Company から市販されている。

【 0047 】

本発明の組成物を製造するためには、リポーター遺伝子発現レベルの検出可能な増加を惹起でき、それによって皮膚の障壁発達の改善を果たし得る有効量の L X R 賦活分子を組成物に含有させる。本発明の最終組成物中に存在する L X R 賦活分子またはその混合物の量は、典型的には組成物の重量の 0 . 001 - 50 重量 %、好ましくは 0 . 01 - 10 重量 %、最も好ましくは 0 . 1 - 1 重量 % の範囲であろう。賦活分子の濃度は典型的には約 1 - 10 μ M であろう。

【 0048 】

本発明の好ましい実施態様では、皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性組成物は：

(a) 4 - アンドロステン - 3 , 16 - ジオン、4 - アンドロステン - 3 , 16 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3 , 6 , 16 - トリオン、4 - アンドロステン - 17 ベータ - オール - 3 , 16 - ジオンアセテート、16 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5 , 16 - ジエン - プレグナン - 3 , 20 - ジオール、4 , 16 - ジエンプレグナ - 3 , 20 - ジオン、4 - プレグネン - 3 , 16 , 20 - トリオン、4 , 17 (20) - プレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、5 , 17 (20) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオール - ジアセテート、5 , 17 (20) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ、16 アルファ、21 - トリオール - 20 - オン、24 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、ステイグマスタ - 5 , 22 - ジエン - 3 - オール、シス - グーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択された有効量の L X R 賦活剤と、および
(b) 皮膚科学的に許容されるビヒクルと、を含む。

【 0049 】

本発明の別の好ましい実施態様は、皮膚の表皮障壁機能を強化する全身性組成物を提供し、該組成物は、

(a) 4 - アンドロステン - 3 , 16 - ジオン、4 - アンドロステン - 3 , 16 - ジオ

ン、アンドロスト - 4 - エン - 3 , 6 , 16 - トリオン、4 - アンドロステン - 17 ベータ - オール - 3 , 16 - ジオンアセテート、16 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5 , 16 - ジエン - プレグナン - 3 , 20 - ジオール、4 , 16 - ジエンプレグナ - 3 , 20 - ジオン、4 - プレグネン - 3 , 16 , 20 - トリオン、4 , 17 (20) - プレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、5 , 17 (20) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオール - ジアセテート、5 , 17 (20) - プレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ , 16 アルファ , 21 - トリオール - 20 - オン、24 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、スティグマスタ - 5 , 22 - ジエン - 3 - オール、シス - ゲーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択された L X R 賦活化合物と、および

10

(b) 皮膚科学的に許容されるビヒクルと、
を含む。

【 0 0 5 0 】

皮膚科学的に許容されるビヒクルは、組成物中の新規に同定された L X R 賦活剤の希釈剤、分散剤または担体として作用し、組成物を局所使用したときに組成物の分布を促進する。

【 0 0 5 1 】

20

水以外の皮膚科学的に許容されるビヒクルとしては液体または固体の皮膚緩和剤、溶媒、保湿剤、増粘剤及び粉末がある。単独使用することもできまたは 1 種もしくは複数のビヒクルの混合物として使用することもできるこれらの種類のビヒクルの各々について実例を以下に示す：

皮膚緩和剤、例えば、ステアリルアルコール、グリセロールモノリシノレエート、グリセロールモノステアレート、ミンクオイル、セチルアルコール、イソプロピルイソステアレート、ステアリン酸、イソブチルパルミテート、イソセチルステアレート、オレイルアルコール、イソプロピルラウレート、ヘキシルラウレート、デシルオレエート、オクタデカン - 2 - オール、イソセチルアルコール、エイコサニルアルコール、ベヘニルアルコール、セチルパルミテート、ジメチルポリシロキサンのようなシリコン油、ジ - n - ブチルセバケート、イソプロピルミリステート、イソプロピルパルミテート、イソプロピルステアレート、ブチルステアレート、ポリエチレングリコール、トリエチレングリコール、ラノリン、カカオ脂、トウモロコシ油、綿実油、牛脂、豚脂、オリーブ油、パーム核油、ナタネ油、ベニバナ種油、マツヨイグサ油、ダイズ油、ヒマワリ種油、アボカド油、オリーブ油、ゴマ種油、ココヤシ油、ピーナツ油、ヒマシ油、アセチル化ラノリンアルコール、石油ゼリー、鉱油、ブチルミリステート、イソステアリン酸、パルミチン酸、イソプロピルリノレエート、ラウリルラクテート、ミリスチルラクテート、デシルオレエート、ミリスチルミリステート；

30

噴射剤、例えば、トリクロロフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、モノクロロジフルオロメタン、トリクロロトリフルオロエタン、プロパン、ブタンイソブタネムデメチルエーテル、二酸化炭素、一酸化二窒素；

40

溶媒、例えば、エチルアルコール、メチレンクロリド、イソプロパノール、アセトン、エチレングリコール、モノエチルエーテル、ジエチレングリコールモノブチルエーテル、ジエチレングリコールモノエチルエーテル、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン；

粉末、例えば、白亜、滑石、酸性白土、カオリン、デンプン、ガム、コロイドシリカ、ポリアクリル酸ナトリウム、テトラアルキル及び/またはトリアルキルアリアルアンモニウムスメクタイト、化学的に改質されたマグネシウムアルミニウムシリケート、有機的に改質されたモンモリロナイトクレイ、水和アルミニウムシリケート、ヒュームドシリカ、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチレングリコー

50

ルモノステアレート。

【0052】

皮膚科学的に許容されるビヒクルは通常は、消費者がそのまま使用できる最終組成物の10 - 99.99重量%、好ましくは50 - 99重量%を構成するであろう。

【0053】

組成物はまた、上記のような最終組成物の通常は98容量%以下、好ましくは5 - 80容量%の水を含んでもよい。

【0054】

本発明の組成物は、ヒトの皮膚に局所使用する製品として、より特定のには皮膚が特別に乾燥または損傷しているときに皮膚の透水性抑制剤として、皮膚の水分減少を抑制し皮膚の質及び柔軟性を全般的に強化する目的で使用される。このような表皮障壁機能の強化は多くの美容的スキンケア効果を個人に与えることができる。従って1つの実施態様は、乾燥肌の治療/予防;炎症肌、赤化肌及び/または敏感肌の鎮静;インボルクリンレベルの増進/維持;から成るグループから選択された少なくとも1つのスキンケア効果を与える化粧方法から成り、方法は、上述のような局所性組成物を皮膚に塗布することから成る。

10

【0055】

本発明の皮膚用組成物は、4,000 - 10,000 mPa sの粘度を有しているローション、10,000 - 20,000 mPa sの粘度を有している流体、または、温度20で20,000 - 100,000 mPa sまたはそれ以上の粘度を有しているクリームとして配合できる。組成物はその粘度及び所期の消費者用途に適した容器に包装され得る。例えば、ローションまたは流体状クリームは、ビン、ロールボールアプリケーション、噴射剤に推進されるエアロゾルデバイス、または、適当な指操作ポンプの付いた容器に包装できる。組成物がクリームであるとき、組成物は、非変形性のビン、または、チューブのような絞り出し容器、または、蓋付きジャーに簡単に収容できる。

20

【0056】

全身性投与するための本発明の組成物は例えば、経口投与に適した形態、例えば、錠剤、ドロップ剤、カプセル剤、液剤(例えばシロップまたは舐剤)の形態でもよく、または、注射剤(例えば、皮下注射又は筋肉内注射)、浸剤または座薬剤として投与されてもよい。

30

【0057】

典型的なこのような配合技術及び薬理学的に許容される適当な担体は当業者に公知である。適当な経口投与組成物としてはまた、徐放性になるように調製されたもの及び/または下部胃腸管で放出するように調製されたものがある。

【0058】

別の全身性投与手段としては、上記組成物のいずれかを食品に入れて投与する方法がある。この場合には薬理学的に許容される担体を必ずしも使用する必要がない。

【0059】

従って本発明はまた、本文中に定義した美容的に許容される組成物を収容している閉鎖容器を提供する。

40

【実施例1】

【0060】

リポーター遺伝子アッセイ

LXRの活性化は、Kliewerら(Nature 358 771 - 774 1992)によって記載されたアッセイに基づくリポーター遺伝子アッセイによって判定した。このアッセイでは、cos-7細胞(ECACC No. 87021302)を24ウェルプレートに 5×10^4 細胞/ウェルの密度で播種した。10% FCS、2 mM L-グルタミン、100 iu/ml ペニシリン及び100 g/ml ストレプトマイシンを含有するDMEM中の細胞を37 / 5% CO₂中で一夜増殖させた。

【0061】

50

リポーター遺伝子構築物の作製

市販のベクター - pNFkB-Luc (Clontech) を基本のリポータープラスミドとして使用した。このプラスミドがチミジンキナーゼプロモーター要素の下流にホタルのルシフェラーゼ遺伝子を含んでいたからである。NFkBコンセンサス配列を制限酵素MluI及びBglIIを使用して切除し、LXR核リポーター用のDNAレスポンス要素配列の3つの順方向反復配列を挿入した。

【0062】

LXRレスポンス要素の作製

レスポンス要素はWilly, P.ら(1995)から(マウスの乳腫瘍ウイルスのプロモーター領域から)採取し、3回繰り返し、クローニング中のフラグメントを配向するために各末端に制限酵素部位MluI及びBglII部位を組み込んだ(図5)。この長いオリゴヌクレオチドを合成し、クレノウ埋め込みによって二重鎖DNA鋳型を産生するようにアニーリングプライマーを設計した。

10

【0063】

このdsDNA鋳型をベクターpNFkB-Lucと同じく制限酵素MluI及びBglIIによって切断して該ベクターにインサートをクローニングできるようにした。インサートとベクターとを結合させ、次いで熱ショックを加えて大腸菌(JM109株)を形質転換させ、次いで、LB寒天+アンピシリン(100µg/ml)の上で組換え体を選択した。生じた各コロニーの液状ミニ培養物を樹立させ、ミニプラスミド調製物を作製し(Quiagenプロトコルに準拠)、更に制限消化して組換えインサートの寸法を検証した。これらのベクターがLXRレスポンス要素配列を正しい配向で含むことを証明するために、これらのベクターをDNA配列決定によって最終的に検証した。

20

【0064】

LXRレスポンス要素; 5' GGTTTA aata AGTTCA 3' (ID配列1)

LXRレスポンス要素オリゴ;

【0065】

【化4】

MluI 部位

30

5' gcatt cagcgt ccag GGTTTA aata AGTTCA gttcacag

GGTTTA aata AGTTCA gttcacag GGTTTA aata AGTTCA

ggcaac agatct tacgcatg 3'

BglII 部位 (ID配列2)

40

LXRレスポンス要素のアニーリングプライマー; 5' catg cgt aag atct gt t g c c 3' (ID配列3)。

【0066】

RXR 発現ベクターの作製

pRSV/hRXR をCollingwood TNら, 1997, J Biol Chem. 272: 13060-5の方法によって調製した。上述のようにして形質転換を実施し、100mlの一夜培養物からバルクプラスミド調製を行った。このベクターの選択抗生物質は100µg/mlのアンピシリンであった。

【0067】

50

リポフェクトアミン (Gibco Brl) を製造業者の指示通りに使用して細胞のトランスフェクションを行った。トランスフェクトした細胞を 37 / 5 % CO₂ で 5 時間インキュベートし、次いで血清を最終濃度 2 % まで加えた。次に細胞をリガンドの存在下または非存在下で更に 24 時間インキュベートした。24 時間後、細胞溶解液を調製し、Dual Luciferase アッセイ系 (Promega) 及び MLX マイクロタイタープレートルミノメーター (Dynex) を使用してホタル及びウミシイタケ (renilla) のルシフェラーゼのレベルを測定した。

【0068】

トランスフェクション培地 (DMEM) で細胞を洗浄し、次いで 4 つのプラスミド、即ち、LXR 反応性ホタルルシフェラーゼリポーター遺伝子 (pLXRE-luc)、ヒトの LXR 及び RXR の cDNA をそれぞれ含む哺乳類発現プラスミド (pcDNA3.1 / LXRE 及び pRSV / hRXR)、及び、ウミシイタケのルシフェラーゼ遺伝子を構成的に発現する対照プラスミド (pRLTK, Promega) に一過性にトランスフェクトした。

10

【0069】

トランスフェクトした細胞を 37 / 5 % CO₂ で 5 時間インキュベートし、次いで血清を最終濃度 2 % に添加した。次に細胞をリガンドの存在下または非存在下で更に 24 時間インキュベートした。24 時間後、細胞溶解液を調製し、Dual Luciferase アッセイ系 (Promega) 及び MLX マイクロタイタープレートルミノメーター (Dynex) を使用してホタル及びウミシイタケのルシフェラーゼのレベルを測定した。(対照となるウミシイタケのルシフェラーゼに対して標準化した) ホタルのルシフェラーゼのレベルがリポーター遺伝子活性の測定値を与える。これはまた LXR の活性化レベルを表す。

20

【0070】

(対照となるウミシイタケのルシフェラーゼに対して標準化した) ホタルのルシフェラーゼのレベルはリポーター遺伝子活性の測定値を与え、これはまた LXR の活性化レベルを表す。

【0071】

【表 1】

表1.LXRの活性化に対する試薬の効果

抽出物	リポーター遺伝子活性 (ビヒクルに比した誘発の倍数)	
	平均	標準誤差
シス-グーグルステロン		
16 μ M	3.9	0.16
32 μ M	8	0.6
64 μ M	17.3	0.78
22R-ヒドロキシコレステロール(35 μ M)	6	2.0
22R-ヒドロキシコレステロール(50 μ M)	6.59	1.8
デスモステロール		
26 μ M	9.27	0.55
22R-ヒドロキシコレステロール(32 μ M)	4.8	1.9

10

20

陽性対照実験の各々では22R-ヒドロキシコレステロールが記載の濃度で存在していた。

【0072】

活性リガンドの存在はリポーター遺伝子活性を用量依存的に刺激する。リポーター遺伝子発現はLXRによってコントロールされ、従ってLXRの活性化レベルを表す。従って、これらのデータは、特許請求の範囲に記載の物質がLXR賦活剤として作用することを示す。

30

【実施例2】

【0073】

RNA発現分析

市販のヒト表皮培養物をSkin EthicTMから入手した。グーグルステロン(濃縮)を補充したDMEM中またはビヒクル単独(X%エタノール)中で培養物をX日間インキュベートした。培地を毎日交換した。

【0074】

次にQiagen RNeasyTMミニキットを製造業者の指示通りに使用して培養物からRNAを抽出した。次いでRNAをDNアーゼで処理し、260nm及び280nmのODを分光光度計で測定することによって定量した。

40

【0075】

次に、Research GeneticsのIntegridermアレイを使用して遺伝子発現レベルを測定した。以下に概略的に説明するように製造業者の指示に従って、グーグルステロン処理した培養物中のRNA発現をビヒクル単独処理した培養物中のRNA発現に比較した。

【0076】

(i) 膜の調製及びプレハイブリダイズ処理

プレハイブリダイズさせるために、DNA塗抹面を内側にして膜の各々を個別の回転瓶に入れた。5.0mlのMicroHyb(Research Genetics #H

50

Y B 1 2 5 . G F) を以下のブロッキング剤と共に各瓶に加えた ;

(a) 9 9 で 6 分間変性し氷冷した 5 . 0 μ g のヒト C o t - 1 D N A (1 μ g / μ l 、 L i f e T e c h n o l o g i e # 1 5 2 7 9 - 0 1 1)

(b) 5 . 0 μ g のポリ d A (R e s e a r c h G e n e t i c s P O L Y A . G F , 1 μ g / μ l) 。

【 0 0 7 7 】

回転オープン中でプレハイブリダイゼーションを 4 2 で少なくとも 2 時間行った。

【 0 0 7 8 】

(i i) 標識 c D N A プローブの調製

m R N A のアニーリング / プライミング :

0 . 5 m l の P C R 管で以下の材料を混合した :

全量 8 μ l の D E P C H 2 O 中の 1 μ g の全 R N A

2 . 0 μ l のオリゴ d T (R e s e a r c h G e n e t i c s # P O L Y T . G F 1 0 - 2 0 m e r 、 1 μ g / μ l)

7 0 で 1 0 分間インキュベートした後、管を 2 分間氷冷した。

【 0 0 7 9 】

伸長 :

各 d N T P (d A T P を除く) (P h a r m a c i a # 2 7 - 2 0 3 5 - 0 2 、 1 0 0 m M の予製液) の 2 0 m M のプールを、 2 0 μ l の D E P C H 2 O 、 1 0 μ l の各 d C T P 、 d G T P 、 d T T P を混合することによって調製した (- 2 0 で保存) 。

【 0 0 8 0 】

2 つの R N A サンプルのマスターミックスは以下の材料を混合することによって調製した :

1 4 . 4 μ l の 5 \times 第一ストランド用バッファ (L i f e T e c h # 1 8 0 6 4 - 0 1 4) ;

2 . 4 μ l の D T T (0 . 1 M 、 L i f e T e c h # 1 8 0 6 4 - 0 1 4) ;

3 . 6 μ l の d C T P 、 d G T P 、 d T T P のプール (上記参照) ;

3 , 6 μ l の逆転写酵素 (2 0 0 U / μ l 、 S u p e r s c r i p t I I 、 L i f e T e c h # 1 8 0 6 4 - 0 1 4) ;

2 4 μ l の 3 3 P d A T P (A m e r s h a m B F 1 0 0 1 - 2 5 0 C i , 1 0 m C i / m l) 。

【 0 0 8 1 】

2 0 μ l のマスターミックスを R N A 及びオリゴ d T を収容している管の各々に加え、反応混合物を 3 7 または 4 2 で 9 0 分間インキュベートした。次に B i o - S p i n 6 カラム (B i o - R a d # 7 3 2 - 6 0 0 2) を製造業者の指示通りに使用して取り込まれなかったヌクレオドを除去した。

【 0 0 8 2 】

2 μ l のサンプルを取り出して、活性をシンチレーションカウンティング (3 2 P チャンネル) によって点検し、各サンプルの画分 ($\sim 1 0 0 \mu$ l) の全活性を計算した。

【 0 0 8 3 】

(i i i) ハイブリダイゼーション

c D N A を 9 9 で 3 分間加熱することによって変性し、 2 分間氷冷した。回転オープン中、 4 2 で 1 6 - 2 0 時間ハイブリダイゼーションを行った。

【 0 0 8 4 】

(i v) 膜の洗浄

回転オープン中、 $\sim 3 0$ m l の洗浄溶液 1 (2 \times S S C , 1 % S D S) によって 5 0 で毎回 2 0 分間の洗浄を 4 回、引き続いて、回転オープン中、 $\sim 3 0$ m l の洗浄溶液 2 (0 . 5 \times S S C , 1 % S D S) によって 5 0 で毎回 1 5 分間の洗浄を 4 回行うサイクルで膜を洗浄した。

【 0 0 8 5 】

10

20

30

40

50

(v) 燐光イメージの現像

膜のイメージは、走査中に100uのピクセルサイズを使用するホスファイメージャー(Molecular Dynamics)を使用して得られた。PathwaysTM 2.01ソフトウェア(Research Genetics)を使用してイメージを分析可能な“TIF”ファイルに変換し、RNA発現の変化を示す点の強度を比較した。各アレイはフィラグリンDNAの独立の3点を含み、各アレイ毎に3点全部の強度の平均を計算した。この強度をアレイ上の全部の点の平均強度に標準化した。

【0086】

結果

フィラグリンは表皮分化のマーカーであると広く認識されており、フィラグリンレベルの上昇は皮膚内部の障壁機能の改善に顕著に関連すると考えられている。我々はここに(表2)、シスグーグルステロンによる表皮培養物の処理の結果としてフィラグリンmRNAのレベルが上昇したことを示すが、これは表皮内部の障壁機能の改善に至る経路を表す。

【0087】

【表2】

表2:表皮培養物中のフィラグリンの発現に対するグーグルステロンの効果を表すデータ

トリートメント	点の強度	標準誤差	ビヒクルに比べた遺伝子発現の変化
ビヒクル	1865	119	-
シスグーグルステロン	2885	447	1.54(+/-0.17)

【図面の簡単な説明】

【0088】

【図1】シス-グーグルステロン(シス-4,17(20)-プレグナジエン-3,16-ジオール)によるLXRの活性化に伴うリポーター遺伝子活性を示す。

【図2】デスモステロール(コレスタ-5,24-ジエン-3-オール)によるLXRの活性化に伴うリポーター遺伝子活性を示す。

【図3】試験によってLXRを活性化することが証明された分子の分子モデルを示す。

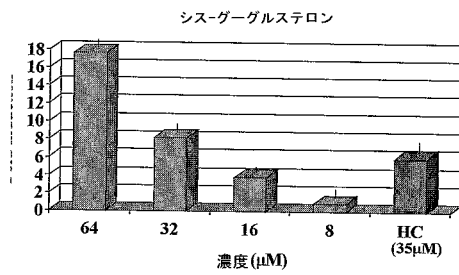
【図4】LXRを活性化しないことが証明された分子の分子モデルを示す。

【図5】pNFkB-Lucのプラスミドマップを示す。

【図6】コレステロール型分子の慣用の炭素番号系を示す。

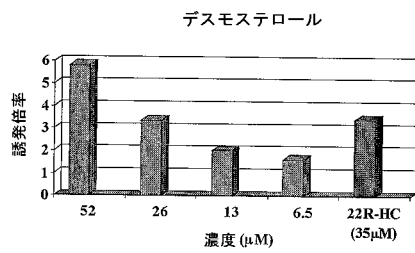
【 図 1 】

Figure 1



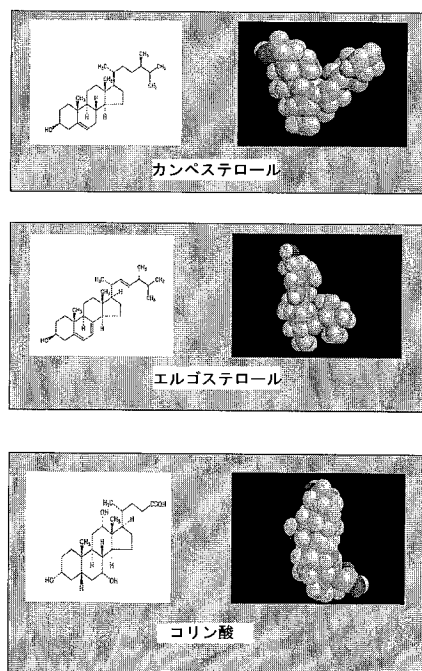
【 図 2 】

Figure 2



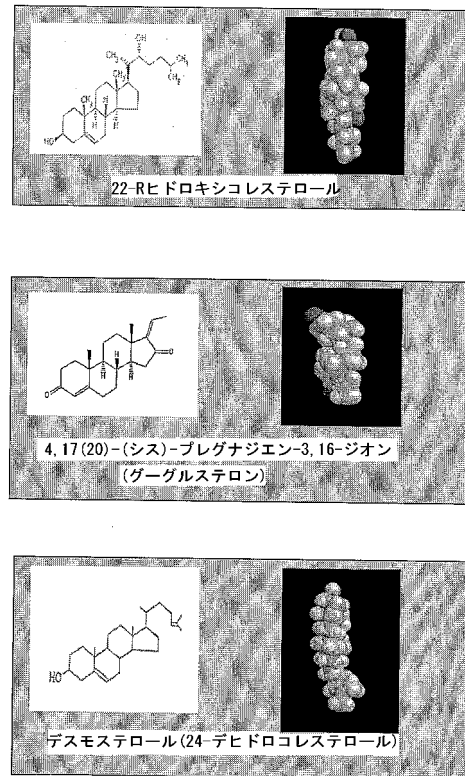
【 図 4 】

Figure 4



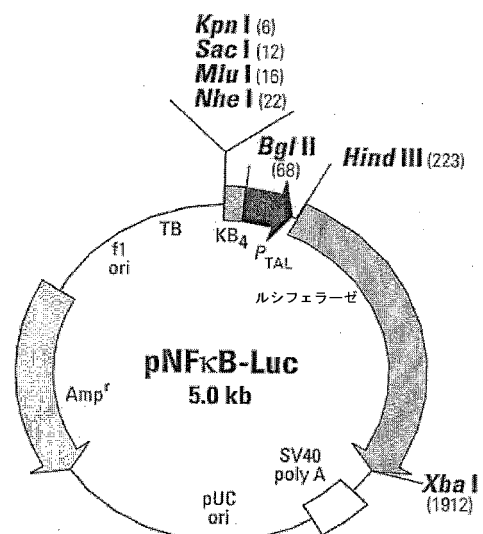
【 図 3 】

Figure 3



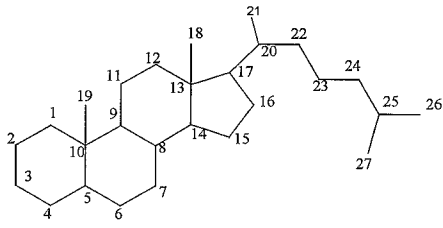
【 図 5 】

Figure 5



【 図 6 】

Figure 6



【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成15年8月5日 (2003.8.5)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

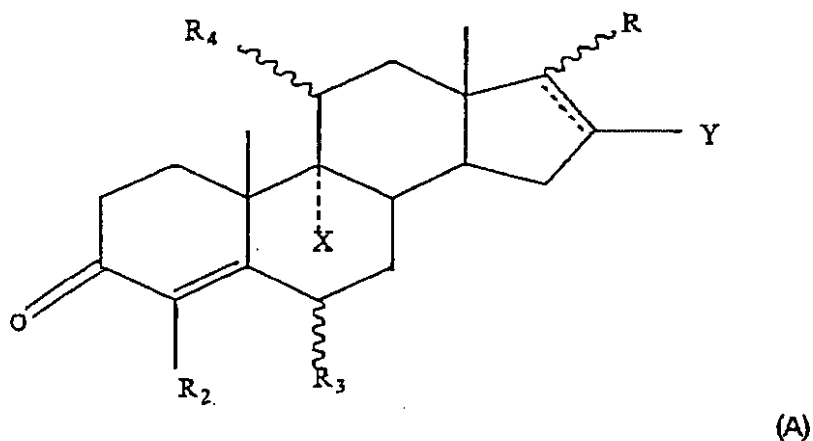
【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

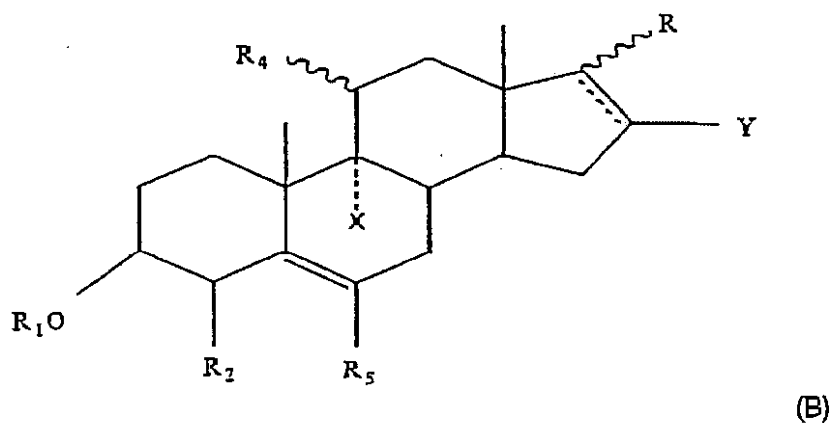
【 請求項 1 】

皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性または全身性組成物を製造するための、一般式；

【化 1】



or



〔式中、

R は水素、ヒドロキシル、ケト、アセチル、置換または未置換、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の $C_1 - C_7$ アルキル基、または、置換または未置換、分枝状または非分枝状の不飽和 C_8 アルキル基を表し、

R_1 は低級アルキル基、水素または $CO R_6$ を表し、

R_2 は水素、ハロゲンまたはヒドロキシル基を表し、

R_3 は水素、ヒドロキシル、ハロゲン、ケトまたは低級アルキル基を表し、

R_4 は水素、ヒドロキシルまたはケト基を表し、

R_5 は水素、ヒドロキシル、ハロゲンまたは低級アルキル基を表し、

R_6 は低級アルキル基を表し、

X は水素、メチルまたはハロゲンを表し、

Y は水素、ヒドロキシル、アセチルまたはケト基を表す。〕

で示される LXR 賦活化合物の使用。

【請求項 2】

R が、水素、ヒドロキシル、ケトまたは置換もしくは未置換の $C_1 - C_4$ アルキル基を表すことを特徴とする請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

R が非分枝状の置換 $C_1 - C_4$ アルキル基を表すことを特徴とする請求項 2 に記載の使用。

【請求項 4】

前記賦活化合物が一般式 A で表され、式中の Y がケト基であることを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 5】

前記賦活化合物が式 B で表され、式中の R₁ が水素を表し、Y がヒドロキシル基、水素またはアセチル基を表すことを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 6】

R が、- H、- OH、= O、- COCH₃、- COHCH₃、= CHCH₃、= CHCH₂OH 及び - OCOCH₃ を表すことを特徴とする請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 7】

R が C(CH₃)(CH₂)₂C=C(CH₃) を表すことを特徴とする請求項 1 に記載の使用。

【請求項 8】

前記化合物が、4 - アンドロステン - 3, 16 - ジオン、4 - アンドロステン - 3, 16 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3, 6, 16 - トリオン、4 - アンドロステン - 17 ベータ - オール - 3, 16 - ジオンアセテート、16 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5, 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5, 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5, 16 - ジエン - プレグナン - 3, 20 - ジオール、4, 16 - ジエンプレグナ - 3, 20 - ジオン、4, 17(20) - (シス) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオン、4, 17(20) - (トランス) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオン、4 - プレグナン - 3, 16, 20 - トリオン、4, 17(20) - プレグナジエン - 11, 21 - ジオール - 3 - オン、5, 17(20) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオール - ジアセテート、5, 17(20) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ, 16 アルファ, 21 - トリオール - 20 - オン、24 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5, 24 - ジエン - 3 - オール、(3 ベータ) - 3 - ヒドロキシウルス - 12 - エン - 28 オイック酸、シス - グーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の使用。

【請求項 9】

前記 LXR 賦活化合物が 4, 17(20) - (シス) - プレグナジエン - 3, 16 - ジオンであることを特徴とする請求項 4 に記載の使用。

【請求項 10】

請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の式 (A) または (B) の LXR 賦活剤を含む局所性組成物を皮膚に塗布することを含む、乾燥肌の治療 / 予防 ; 炎症肌、赤化肌及び / または敏感肌の鎮静 ; インボルクリンレベルの増進 / 維持 ; 老化速度の減速 ; から成るグループから選択された少なくとも 1 つのスキンケア効果を与える化粧方法。

【請求項 11】

請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の式 (A) または (B) の LXR 賦活剤を含む組成物を全身性投与することを含む、乾燥肌の治療 / 予防 ; 炎症肌、赤化肌及び / または敏感肌の鎮静 ; インボルクリンレベルの増進 / 維持 ; 老化速度の減速 ; から成るグループから選択された少なくとも 1 つのスキンケア効果を与える化粧方法を提供する方法。

【請求項 12】

前記 LXR 賦活化合物が組成物の 0.001 - 10 重量 % のレベルで存在することを特徴とする請求項 10 または 11 に記載の方法。

【請求項 13】

請求項 1 に記載の LXR 賦活化合物および皮膚科学的に許容されるビヒクルを含み、式中の R が - H、- OH、= O、- COCH₃、- COHCH₃、= CHCH₂OH また

は - O C H C H₃ を表すことを特徴とする皮膚の表皮障壁機能を増強する局所性組成物。

【請求項 1 4】

(a) 4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3 , 6 , 1 6 - トリオン、4 - アンドロステン 1 7 ベータ - オール - 3 , 1 6 - ジオンアセテート、1 6 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、5 , 1 6 - ジエン - プレグナン - 3 , 2 0 - ジオール、4 , 1 6 - ジエンプレグナ - 3 , 2 0 - ジオン、4 - プレグネン - 3 , 1 6 , 2 0 - トリオン、4 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 1 1 , 2 1 - ジオール - 3 - オン、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール - ジアセテート、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ , 1 6 アルファ , 2 1 - トリオール - 2 0 - オン、2 4 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 2 4 - ジエン - 3 - オール、シス - グーグルステロン及びそれらの混合物から成るグループから選択される L X R 賦活剤と、および

(b) 皮膚科学的に許容されるビヒクルと、
を含む、皮膚の表皮障壁機能を増強する局所性組成物。

【請求項 1 5】

(a) 4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3 , 6 , 1 6 - ジオン、4 - アンドロステン 1 7 ベータ - オール - 3 , 1 6 - ジオンアセテート、1 6 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、5 , 1 6 - ジエン - プレグナン - 3 , 2 0 - ジオール、4 , 1 6 - ジエンプレグナ - 3 , 2 0 - ジオン、4 - プレグネン - 3 , 1 6 . 2 0 - トリオン、4 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 1 1 , 2 1 - ジオール - 3 - オン、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール - ジアセテート、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ , 1 6 アルファ , 2 1 - トリオール - 2 0 - オン、2 4 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 2 4 - ジエン - 3 - オール、シス - グーグルステロン及びそれらの混合物から成るグループから選択される L X R 賦活剤と、および

(b) 皮膚科学的に許容される担体と、
を含む皮膚の表皮障壁機能を増強する全身性組成物。

【請求項 1 6】

4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、4 - アンドロステン - 3 , 1 6 - ジオン、アンドロスト - 4 - エン - 3 , 6 , 1 6 - トリオン、4 - アンドロステン - 1 7 ベータ - オール - 3 , 1 6 - ジオンアセテート、1 6 - ケトテストステロン、3 - アセトキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - アセトキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 , 1 6 - ジエン - 2 0 - オン、3 - ヒドロキシプレグナ - 5 - エン - 2 0 - オン、5 , 1 6 - ジエン - プレグナン - 3 , 2 0 - ジオール、4 , 1 6 - ジエンプレグナ - 3 , 2 0 - ジオン、4 - プレグナン - 3 , 1 6 , 2 0 - トリオン、4 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 1 1 , 2 1 - ジオール - 3 - オン、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール - ジアセテート、5 , 1 7 (2 0) - プレグナジエン - 3 , 1 6 - ジオール、5 - プレグネン - 3 ベータ , 1 6 アルファ , 2 1 - トリオール - 2 0 - オン、2 4 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、コレスタ - 5 , 2 4 - ジエン - 3 - オール、シス - グーグルステロン及びそれらの混合物から成るグループから選択される L X R 賦活化合物を含む食品組成物。

【請求項 1 7】

前記 L X R 賦活剤が組成物の 0 . 0 1 - 1 0 重量 % の量で存在することを特徴とする請求項 1 2 から 1 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【手続補正書】

【提出日】平成16年6月7日(2004.6.7)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

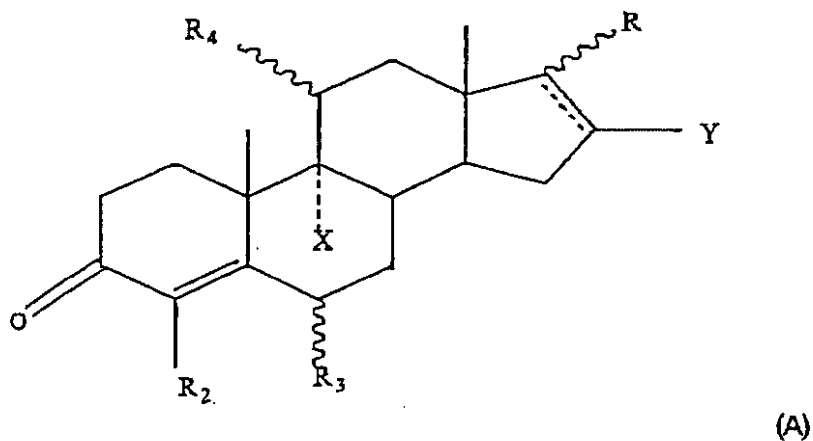
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

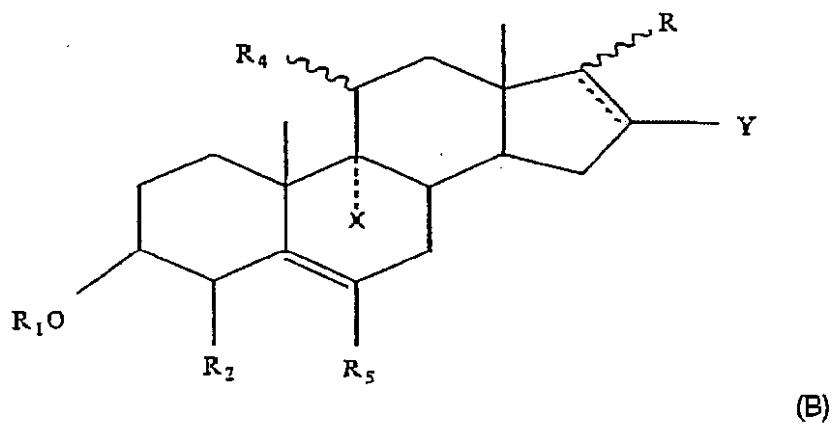
【請求項1】

皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性または全身性組成物を製造するための、一般式；

【化1】



or



〔式中、

R は水素、ヒドロキシル、ケト、アセチル、置換または未置換、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の $C_1 - C_7$ アルキル基、または、置換または未置換、分枝状または非分枝状の不飽和 C_8 アルキル基を表し、

R_1 は低級アルキル基、水素または $CO R_6$ を表し、

R_2 は水素、ハロゲンまたはヒドロキシル基を表し、

R_3 は水素、ヒドロキシル、ハロゲン、ケトまたは低級アルキル基を表し、

R_4 は水素、ヒドロキシルまたはケト基を表し、

R_5 は水素、ヒドロキシル、ハロゲンまたは低級アルキル基を表し、

R_6 は低級アルキル基を表し、

Xは水素、メチルまたはハロゲンを表し、
Yは水素、ヒドロキシル、アセチルまたはケト基を表す。〕
で示されるLXR 賦活化合物の使用。

【請求項2】

Rが、水素、ヒドロキシル、ケトまたは置換もしくは未置換のC₁ - C₄ アルキル基を表すことを特徴とする請求項1に記載の使用。

【請求項3】

Rが非分枝状の置換C₁ - C₄ アルキル基を表すことを特徴とする請求項2に記載の使用。

【請求項4】

前記賦活化合物が一般式Aで表され、式中のYがケト基であることを特徴とする請求項1から3のいずれか一項に記載の使用。

【請求項5】

前記賦活化合物が式Bで表され、式中のR₁が水素を表し、Yがヒドロキシル基、水素またはアセチル基を表すことを特徴とする請求項1から3のいずれか一項に記載の使用。

【請求項6】

Rが、-H、-OH、=O、-COCH₃、-COHCH₃、=CHCH₃、=CHCH₂OH及び-OCOCH₃を表すことを特徴とする請求項1から3のいずれか一項に記載の使用。

【請求項7】

RがC(CH₃)(CH₂)₂C=C(CH₃)を表すことを特徴とする請求項1に記載の使用。

【請求項8】

前記化合物が、4-アンドロステン-3, 16-ジオン、4-アンドロステン-3, 16-ジオン、アンドロスト-4-エン-3, 6, 16-トリオン、4-アンドロステン-17ベータ-オール-3, 16-ジオンアセテート、16-ケトテストステロン、3-アセトキシプレグナ-5, 16-ジエン-20-オン、3-アセトキシプレグナ-5-エン-20-オン、3-ヒドロキシプレグナ-5, 16-ジエン-20-オン、3-ヒドロキシプレグナ-5-エン-20-オン、5, 16-ジエン-プレグナン-3, 20-ジオール、4, 16-ジエンプレグナ-3, 20-ジオン、4, 17(20)-(シス)-プレグナジエン-3, 16-ジオン、4, 17(20)-(トランス)-プレグナジエン-3, 16-ジオン、4-プレグナン-3, 16, 20-トリオン、4, 17(20)-プレグナジエン-11, 21-ジオール-3-オン、5, 17(20)-プレグナジエン-3, 16-ジオール-ジアセテート、5, 17(20)-プレグナジエン-3, 16-ジオール、5-プレグネン-3ベータ, 16アルファ, 21-トリオール-20-オン、24-ヒドロキシコール-4-エン-3-オン、コレスタ-5, 24-ジエン-3-オール、(3ベータ)-3-ヒドロキシウルス-12-エン-28オイック酸、シス-グーグルステロン及びデスモステロール及びそれらの混合物から成るグループから選択されることを特徴とする請求項1に記載の使用。

【請求項9】

前記LXR 賦活化合物が4, 17(20)-(シス)-プレグナジエン-3, 16-ジオンであることを特徴とする請求項4に記載の使用。

【請求項10】

請求項1から9のいずれか一項に記載の式(A)または(B)のLXR 賦活剤を含む局所性組成物を皮膚に塗布すること

を含む、乾燥肌の治療/予防;炎症肌、赤化肌及び/または敏感肌の鎮静;インボルクリンレベルの増進/維持;老化速度の減速;から成るグループから選択された少なくとも1つのスキンケア効果を与える化粧方法。

【請求項11】

請求項1から9のいずれか一項に記載の式(A)または(B)のLXR 賦活剤を含む

組成物を全身性投与すること

を含む、乾燥肌の治療／予防；炎症肌、赤化肌及び／または敏感肌の鎮静；インボルクリンレベルの増進／維持；老化速度の減速；から成るグループから選択された少なくとも1つのスキンケア効果を与える化粧方法。

【請求項12】

前記LXR 賦活化合物が組成物の0.001-10重量%のレベルで存在することを特徴とする請求項10または11に記載の方法。

【請求項13】

請求項1に記載のLXR 賦活化合物および皮膚科学的に許容されるビヒクルを含み、式中のRが-H、-OH、=O、-COCH₃、-COHCH₃、=CHCH₂OHまたは-POCH₃を表すことを特徴とする皮膚の表皮障壁機能を増強する局所性組成物。

【請求項14】

(a) 4-アンドロステン-3, 16-ジオン、4-アンドロステン-3, 16-ジオン、アンドロスト-4-エン-3, 6, 16-トリオン、4-アンドロステン17ベータ-オール-3, 16-ジオンアセテート、16-ケトテストステロン、3-アセトキシプレグナ-5, 16-ジエン-20-オン、3-アセトキシプレグナ-5-エン-20-オン、3-ヒドロキシプレグナ-5, 16-ジエン-20-オン、3-ヒドロキシプレグナ-5-エン-20-オン、5, 16-ジエン-プレグナン-3, 20-ジオール、4, 16-ジエンプレグナ-3, 20-ジオン、4-プレグネン-3, 16, 20-トリオン、4, 17(20)-プレグナジエン-11, 21-ジオール-3-オン、5, 17(20)-プレグナジエン-3, 16-ジオール-ジアセテート、5, 17(20)-プレグナジエン-3, 16-ジオール、5-プレグネン-3ベータ, 16アルファ, 21-トリオール-20-オン、24-ヒドロキシコール-4-エン-3-オン、コレスタ-5, 24-ジエン-3-オール、シス-グーグルステロン及びそれらの混合物から成るグループから選択されるLXR 賦活剤と、および

(b) 皮膚科学的に許容されるビヒクルと、
を含む、皮膚の表皮障壁機能を増強する局所性組成物。

【請求項15】

(a) 4-アンドロステン-3, 16-ジオン、4-アンドロステン-3, 16-ジオン、アンドロスト-4-エン-3, 6, 16-ジオン、4-アンドロステン17ベータ-オール-3, 16-ジオンアセテート、16-ケトテストステロン、3-アセトキシプレグナ-5, 16-ジエン-20-オン、3-アセトキシプレグナ-5-エン-20-オン、3-ヒドロキシプレグナ-5, 16-ジエン-20-オン、3-ヒドロキシプレグナ-5-エン-20-オン、5, 16-ジエン-プレグナン-3, 20-ジオール、4, 16-ジエンプレグナ-3, 20-ジオン、4-プレグネン-3, 16, 20-トリオン、4, 17(20)-プレグナジエン-11, 21-ジオール-3-オン、5, 17(20)-プレグナジエン-3, 16-ジオール-ジアセテート、5, 17(20)-プレグナジエン-3, 16-ジオール、5-プレグネン-3ベータ, 16アルファ, 21-トリオール-20-オン、24-ヒドロキシコール-4-エン-3-オン、コレスタ-5, 24-ジエン-3-オール、シス-グーグルステロン及びそれらの混合物から成るグループから選択されるLXR 賦活剤と、および

(b) 皮膚科学的に許容される担体と、
を含む皮膚の表皮障壁機能を増強する全身性組成物。

【請求項16】

4-アンドロステン-3, 16-ジオン、4-アンドロステン-3, 16-ジオン、アンドロスト-4-エン-3, 6, 16-トリオン、4-アンドロステン-17ベータ-オール-3, 16-ジオンアセテート、16-ケトテストステロン、3-アセトキシプレグナ-5, 16-ジエン-20-オン、3-アセトキシプレグナ-5-エン-20-オン、3-ヒドロキシプレグナ-5, 16-ジエン-20-オン、3-ヒドロキシプレグナ-5-エン-20-オン、5, 16-ジエン-プレグナン-3, 20-ジオール、4

、 16 - ジエンプレグナ - 3、 20 - ジオン、 4 - プレグナン - 3、 16、 20 - トリオ
ン、 4、 17 (20) - プレグナジエン - 11、 21 - ジオール - 3 - オン、 5、 17
(20) - プレグナジエン - 3、 16 - ジオール - ジアセテート、 5、 17 (20) - プ
レグナジエン - 3、 16 - ジオール、 5 - プレグネン - 3 ベータ、 16 アルファ、 21 -
トリオール - 20 - オン、 24 - ヒドロキシコール - 4 - エン - 3 - オン、 コレスタ - 5
、 24 - ジエン - 3 - オール、 シス - グーグルステロン及びそれらの混合物から成るグ
ループから選択される LXR 賦活化合物を含む食品組成物。

【請求項 17】

前記 LXR 賦活剤が組成物の 0.01 から 10 重量 % の量で存在することを特徴とす
る請求項 13 から 16 のいずれか一項に記載の組成物。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 02/10688

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K7/48 A61K31/565 A61K31/575

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)

IPC 7 A61K

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)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 32444 A (BASS NATHAN M ;ELIAS PETER M (US); HANLEY KAREN (US); UNIV CALIFOR) 30 July 1998 (1998-07-30) page 8, line 28 -page 9, line 7; claims 1,11-16	1-15,17
X	US 6 087 353 A (WALLIS SIMON HOWARD ET AL) 11 July 2000 (2000-07-11) column 14, line 27 -column 15, line 44; claims 1,2	13-17
X	US 5 882 660 A (CHAMBERS JOHN GEORGE ET AL) 16 March 1999 (1999-03-16) column 1, line 3-8 column 3, line 32-41	1,5,6, 10-12, 14,17
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in 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.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 February 2003

Date of mailing of the international search report

17/02/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2200 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lindner, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/10688

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 000 613 A (ROC SA) 17 May 2000 (2000-05-17) claims 1,4,6 ----	1,10-12, 14,17
X	US 5 114 917 A (LEZDEY JOHN ET AL) 19 May 1992 (1992-05-19) column 4, line 1-19; example 1 ----	1-15,17
X	WO 99 47113 A (PROCTER & GAMBLE) 23 September 1999 (1999-09-23) page 5, line 3 -page 6, line 8; claim 1 page 19, line 6-26 ----	1-3,5, 10-15,17
X	EP 0 556 957 A (UNILEVER PLC ;UNILEVER NV (NL)) 25 August 1993 (1993-08-25) page 2, line 19-24 page 6, line 5-41; claims 1,15 -----	1,5,6, 10-12, 14,15,17

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/EP 02/10688

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9832444	A	30-07-1998	AU 5928898 A	18-08-1998
			BR 9806989 A	14-03-2000
			CN 1248916 T	29-03-2000
			EP 1019059 A1	19-07-2000
			HU 0001938 A2	28-05-2001
			JP 2001509165 T	10-07-2001
			PL 334840 A1	27-03-2000
			WO 9832444 A1	30-07-1998
			US 6060515 A	09-05-2000
			US 6184215 B1	06-02-2001
			US 6187814 B1	13-02-2001
			US RE37770 E1	25-06-2002
US 6087353	A	11-07-2000	AU 3696599 A	06-12-1999
			WO 9959421 A1	25-11-1999
			EP 1082022 A1	14-03-2001
US 5882660	A	16-03-1999	AU 703392 B2	25-03-1999
			AU 1443797 A	22-08-1997
			BR 9707339 A	20-07-1999
			CA 2244882 A1	07-08-1997
			CN 1215327 A	28-04-1999
			CZ 9802418 A3	12-05-1999
			DE 69700949 D1	20-01-2000
			DE 69700949 T2	30-03-2000
			WO 9727835 A1	07-08-1997
			EP 0877594 A1	18-11-1998
			ES 2140957 T3	01-03-2000
			HU 9900966 A2	28-07-1999
			JP 2000505829 T	16-05-2000
			PL 328062 A1	04-01-1999
			RU 2187998 C2	27-08-2002
EP 1000613	A	17-05-2000	FR 2782919 A1	10-03-2000
			BR 9904154 A	26-09-2000
			EP 1000613 A2	17-05-2000
			JP 2000086489 A	28-03-2000
			KR 2000022870 A	25-04-2000
US 5114917	A	19-05-1992	US 5008242 A	16-04-1991
			US 5290762 A	01-03-1994
			US 5190917 A	02-03-1993
			US 5166134 A	24-11-1992
			US 5217951 A	08-06-1993
			AT 107515 T	15-07-1994
			CA 2019974 A1	04-06-1991
			DE 69010162 D1	28-07-1994
			DE 69010162 T2	06-10-1994
			DK 432117 T3	25-07-1994
			EP 0432117 A1	12-06-1991
			ES 2055406 T3	16-08-1994
			JP 3181422 A	07-08-1991
			US 5093316 A	03-03-1992
			US 4916117 A	10-04-1990
WO 9947113	A	23-09-1999	AU 735384 B2	05-07-2001
			AU 3082499 A	11-10-1999
			BR 9908222 A	24-10-2000

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/10688

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9947113	A	CA 2322587 A1	23-09-1999
		CN 1293561 T	02-05-2001
		EP 1063967 A1	03-01-2001
		JP 2002506802 T	05-03-2002
		WO 9947113 A1	23-09-1999
		US 6183761 B1	06-02-2001
EP 0556957	A	25-08-1993	
		AU 652882 B2	08-09-1994
		AU 3201593 A	12-08-1993
		BR 9300262 A	28-09-1993
		CA 2087691 A1	24-07-1993
		EP 0556957 A1	25-08-1993
		JP 6080555 A	22-03-1994
		ZA 9300493 A	22-07-1994

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/57	A 6 1 K 31/57	
A 6 1 K 31/575	A 6 1 K 31/575	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/16	A 6 1 P 17/16	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 1 1

(81) 指定国 AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, 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, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ジェンキンズ, ゲイル

イギリス国、ベッドフォードシャー・エム・ケイ・44・1・エル・キュー、ベッドフォード、シャーンブルック、ユニリーバー・アール・アンド・デイ・コルワース

(72) 発明者 リード, ジョウアン

イギリス国、サウス・ヨークシャー・エス・62・5・キュー・ジェイ、ロザラム、ローマーシュ、ブラッドリー・ライズ・24

(72) 発明者 ルマリー, キヤサリン・ルイズ

イギリス国、ベッドフォードシャー・エム・ケイ・44・1・ピー・アール、シャーンブルック、ノーマンズ・ロード・31

F ターム (参考) 4B018 MD07 ME14

4C083 AD491 CC02 EE12 EE13

4C086 AA01 AA02 DA09 DA10 DA11 MA01 MA04 MA52 MA63 NA14

ZA89 ZC02