

(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.<sup>7</sup>

**A61K 7/48**  
**A23L 1/30**  
**A61K 7/00**  
**A61K 31/568**  
**A61K 31/5685**

F 1

A 61 K 7/48  
A 23 L 1/30  
A 61 K 7/00  
A 61 K 31/568  
A 61 K 31/5685

テーマコード(参考)

4 B 018  
4 C 083  
4 C 086

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)  
 (86) (22) 出願日 平成14年9月24日 (2002.9.24)  
 (85) 翻訳文提出日 平成16年4月2日 (2004.4.2)  
 (86) 國際出願番号 PCT/EP2002/010688  
 (87) 國際公開番号 WO2003/030857  
 (87) 國際公開日 平成15年4月17日 (2003.4.17)  
 (31) 優先権主張番号 01308487.6  
 (32) 優先日 平成13年10月4日 (2001.10.4)  
 (33) 優先権主張国 歐州特許庁 (EP)

(71) 出願人 590003065  
 ユニリーバー・ナームローゼ・ベンノート  
 シヤープ  
 オランダ国、3013・エイエル・ロッテ  
 ルダム、ヴェーナ 455  
 (74) 代理人 100062007  
 弁理士 川口 義雄  
 (74) 代理人 100113332  
 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】

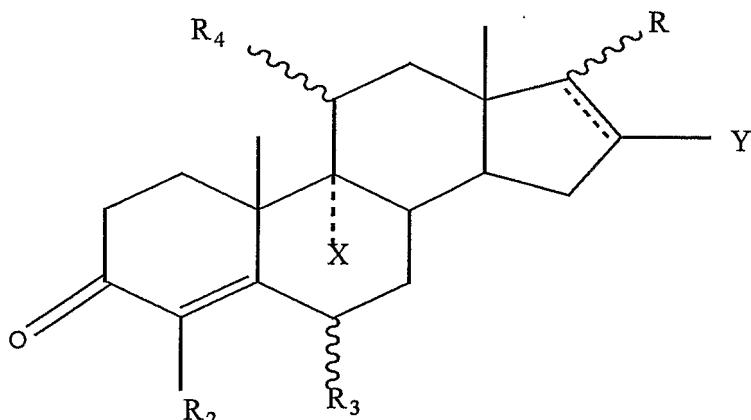
本発明は、皮膚用組成物、及び、皮膚用組成物に添加された分子の新規な効果の同定に関する。より特定的には本発明は、核受容体 LXR<sub>a</sub> の活性化を介して皮膚中で健康な表皮障壁層の発達を増進することによって多様なスキンケア効果を与えるような全身性または局所性の組成物及びそれらの使用に関する。

## 【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】

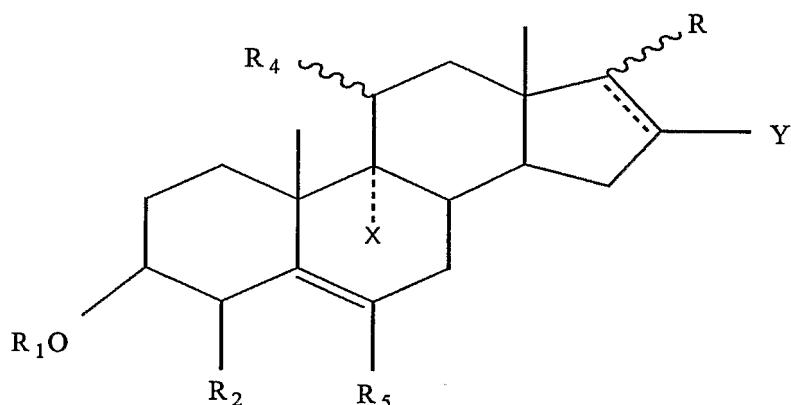


(A)

or

10

20



(B)

30

〔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<sub>1</sub> - C<sub>7</sub>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<sub>8</sub>アルキル基を表し、

R<sub>1</sub>は低級アルキル基、水素またはC<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>を表し、

R<sub>2</sub>は水素、ハロゲンまたはヒドロキシル基を表し、

R<sub>3</sub>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<sub>4</sub>は水素、ヒドロキシルまたはケト基を表し、

R<sub>5</sub>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<sub>6</sub>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<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>アルキル基を

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<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> 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<sub>1</sub> 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<sub>3</sub>、 - COHCH<sub>3</sub>、 = CHCH<sub>3</sub>、 = CHC<sub>H\_2O</sub>H 及び - COOCH<sub>3</sub> 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<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C = C(CH<sub>3</sub>) 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 - アセトキシブレグナ - 5, 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5, 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5, 16 - ジエン - ブレグナン - 3, 20 - ジオール、4, 16 - ジエンブレグナ - 3, 20 - ジオン、4, 17(20) - (シス) - ブレグナジエン - 3, 16 - ジオン、4, 17(20) - (トランス) - ブレグナジエン - 3, 16 - ジオン、4 - ブレグナン - 3, 16, 20 - トリオン、4, 17(20) - ブレグナジエン - 11, 21 - ジオール - 3 - オン、5, 17(20) - ブレグナジエン - 3, 16 - ジオール - ジアセテート、5, 17(20) - ブレグナジエン - 3, 16 - ジオール、5 - ブレグネン - 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、コレスター - 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マ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。 30

**【請求項 9】**

前記 L X R 賦活化合物が 4, 17(20) - (シス) - ブレグナジエン - 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 L X R 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 / 預防；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 L X R 賦活剤を含む組成物を全身性投与すること 50  
を含む、乾燥肌の治療 / 預防；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 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 、 - COCH<sub>3</sub> 、 - COHCH<sub>3</sub> 、 = CHCH<sub>2</sub>OH または - OCHCH<sub>3</sub> 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 , 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 - アセトキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、 3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、 3 - ヒドロキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、 3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、 5 , 16 - ジエン - ブレグナン - 3 , 20 - ジオール、 4 , 16 - ジエンブレグナ - 3 , 20 - ジオン、 4 - ブレグネン - 3 , 16 , 20 - トリオン、 4 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、 5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、 5 - ブレグネン - 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、 コレスター - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、 スティグマスター - 5 , 22 - ジエン - 3 - オール、 シス - グーグルステロン及びデスマ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 10

( 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 , 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 - アセトキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、 3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、 3 - ヒドロキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、 3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、 5 , 16 - ジエン - ブレグナン - 3 , 20 - ジオール、 4 , 16 - ジエンブレグナ - 3 , 20 - ジオン、 4 - ブレグネン - 3 , 16 , 20 - トリオン、 4 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、 5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、 5 - ブレグネン - 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、 コレスター - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、 スティグマスター - 5 , 22 - ジエン - 3 - オール、 シス - グーグルステロン及びデスマ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 30

( 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 , 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 - アセトキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、 3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、 3 - ヒドロキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、 3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、 5 , 16 - ジエン - ブレグナン - 3 , 20 - ジオール、 4 , 16 - ジエンブレグナ - 3 , 20 - ジオン、 4 - ブレグナン - 3 , 16 , 20 - トリオン、 4 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、 5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール - ジアセテート、 5 , 17 ( 20 ) - ブ

レグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - ブレグネン - 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、コレステ - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、スティグマスター - 5 , 22 - ジエン - 3 - オール、シス - グーグルステロン及びデスマ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 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 - 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】

##### 【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、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 (LXR) 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クルタミナーゼ 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、LXR 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 LXR の有効な賦活剤でないということである。これは、LXR 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 LXR の活性化を介

10

20

30

40

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。

【0008】

従来技術である国際特許 WO 98 / 32444 は、LXR 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 LXR 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】

【0009】

従って本発明は、LXR 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。

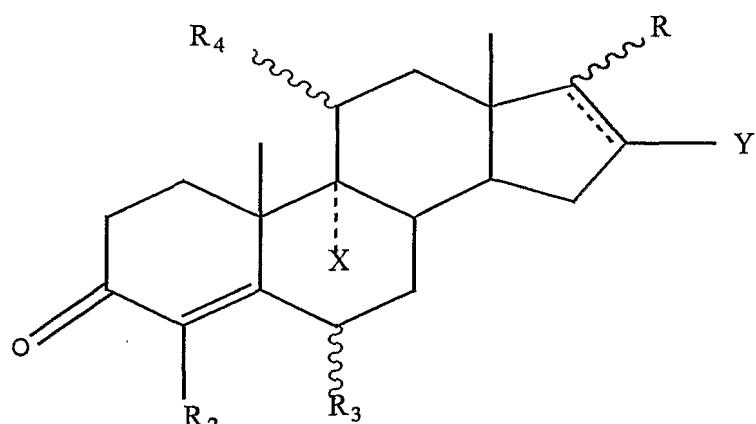
10

【0010】

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；

【0011】

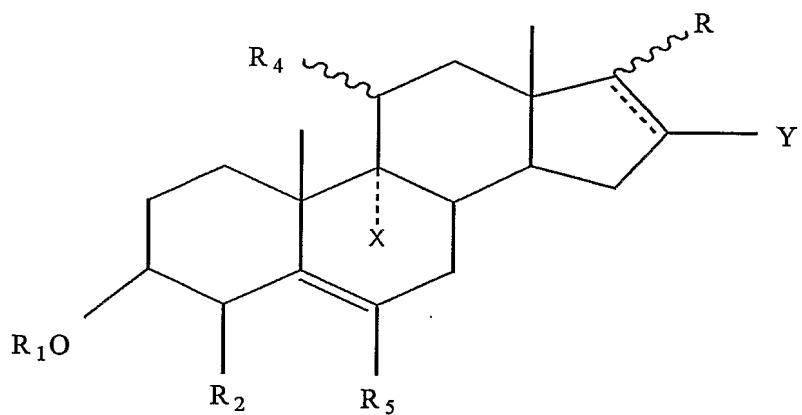
【化1】



(A)

20

or



(B)

30

40

〔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

50

状、飽和もしくは不飽和の C<sub>1</sub> - C<sub>7</sub> 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<sub>8</sub> アルキル基を表し、

R<sub>1</sub> は低級アルキル基、水素または C O R<sub>6</sub> を表し、

R<sub>2</sub> は水素、ハロゲンまたはヒドロキシル基を表し、

R<sub>3</sub> 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<sub>4</sub> は水素、ヒドロキシルまたはケト基を表し、

R<sub>5</sub> 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<sub>6</sub> 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 賦活化合物の使用を提案することである。

#### 【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 / 預防 ; 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。

#### 【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 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、- COCH<sub>3</sub>、- COHCH<sub>3</sub>、= CHCH<sub>2</sub>OH または - OCHCH<sub>3</sub> 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 L X R 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<sub>3</sub>、- COHCH<sub>3</sub>、= CHCH<sub>2</sub>OH または - OCHCH<sub>3</sub> 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。

#### 【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、L X R 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 L G. r., 1999 Journal of Investigative Dermatology 112 : 203 - 9)。

#### 【0018】

伝統的に受け容れられていた学説に反して、L X R 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 L X R 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 1 7 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

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得るが、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<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>(即ち、C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>5</sub>、C<sub>6</sub>及びC<sub>7</sub>を含む)アルキル基を表してもよい。好ましくは、このC<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>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<sub>2</sub><sub>0</sub>、C<sub>2</sub><sub>1</sub>、C<sub>2</sub><sub>2</sub>及びC<sub>2</sub><sub>3</sub>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<sub>2</sub><sub>0</sub>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<sub>2</sub><sub>1</sub>及び/またはC<sub>2</sub><sub>2</sub>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(configuration)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<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>アルキル基を表す場合、この基は式-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C=C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>を有しているのが最も好ましい。

30

#### 【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。

#### 【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<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基を表すか、または、より好ましくは置換C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>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<sub>2</sub><sub>0</sub>またはC<sub>2</sub><sub>1</sub>で生じる。R基がアルキル基の場合、この基は環構造のC<sub>1</sub><sub>7</sub>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<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>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tert-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、-COCH<sub>3</sub>、-COHCH

50

$\text{C}_3$ 、 $=\text{CHCH}_3$ 、 $=\text{CHCH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{OCOCH}_3$  及び  $\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2\text{C}$  =  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$  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。適當な基の例は上述した。好ましい実施態様では  $\text{R}_1$  が水素である。

## 【0030】

$\text{R}_2$  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、 $\text{R}_2$  は好ましくは水素を表す。

## 【0031】

$\text{R}_3$  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。 $\text{R}_3$  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  $\text{R}_3$  は水素である。

## 【0032】

$\text{R}_4$  及び  $\text{R}_5$  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】

$\text{R}_6$  は低級アルキル基、好ましくはメチル基を表す。

## 【0034】

$\text{X}$  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  $\text{X}$  は水素である。

## 【0035】

$\text{Y}$  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】

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

## 【0037】

式 B の化合物中では  $\text{Y}$  が水素のとき、 $\text{R}_1$  は好ましくは水素または  $-\text{COR}_6$  である。 $\text{Y}$  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、 $\text{Y}$  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  $\text{Y}$  はケト基である。

## 【0039】

$\text{R}$  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  $\text{Y}$  は好ましくはケト基である。

## 【0040】

$\text{R}$  が  $-\text{COCH}_3$  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  $\text{Y}$  は好ましくは水素またはケト基である。

## 【0041】

$\text{R}$  が  $=\text{CHCH}_3$  または  $-\text{OCOCH}_3$  である場合、式 A の賦活化合物中の  $\text{Y}$  は極めて好ましくはケト基である。

## 【0042】

$\text{R}$  が  $=\text{CHCH}_2\text{OH}$  である場合、 $\text{Y}$  は好ましくは、式中の  $\text{R}_4$  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  $\text{R}_1$  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】

$\text{R}$  が  $\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$  である場合、 $\text{Y}$  は好ましくは式中の  $\text{R}_1$  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-

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 - アセトキシブレグナ - 5 , 16  
- ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒド  
ロキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン  
- 20 - オン、5 , 16 - ジエン - ブレグナン - 3 , 20 - ジオール、4 , 16 - ジエン  
ブレグナ - 3 , 20 - ジオン、4 , 17 ( 20 ) - ( シス ) - ブレグナジエン - 3 , 16  
- ジオン、4 , 17 ( 20 ) - ( トランス ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオン、4 -  
ブレグナン - 3 , 16 , 20 - トリオン、4 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール -  
ジアセテート、5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - ブレグネ  
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、コレスター - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、シス - ゲーグルス  
テロン及びデスマ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。 10

## 【 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 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオンの使用に関する。 20

## 【 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  
例えれば Sigma Chemical Company から市販されている。 20

## 【 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 LXR 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 LXR 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 μM であろう。 30

## 【 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： 30  
( 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  
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  
シブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 2  
0 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキ  
シブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5 , 16 - ジエン - ブレグナン - 3 , 20 - ジオ  
ール、4 , 16 - ジエンブレグナ - 3 , 20 - ジオン、4 - プレクネン - 3 , 16 , 20 -  
トリオン、4 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、5  
, 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール - ジアセテート、5 , 17 ( 20 )  
- ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - ブレグネン - 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  
ター - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、ステイグマスター - 5 , 22 - ジエン - 3 - オー  
ル、シス - ゲーグルステロン及びデスマ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 LXR 賦活剤と、および 40  
( b ) 皮膚科学的に許容されるビヒクリルと、  
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 50

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 - 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、コレスター - 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マ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

( 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 】

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ーン油、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、鉛油、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；

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、ブロパン、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；

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ー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ー、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-

10

20

30

40

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、より特定的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 / 預防；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、瓶、ロールボールアプリケーター、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、非変形性の瓶、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。

40

【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。

【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 $5 \times 10^4$ 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 ベニシリン及び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% CO<sub>2</sub>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 - p N F k B - L u c ( C l o n t e c h ) 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。N F k B コンセンサス配列を制限酵素 M l u I 及び B g l I I を使用して切除し、L X R 核リポーター用の D N A レスpons要素配列の 3 つの順方向反復配列を挿入した。

#### 【 0 0 6 2 】

##### L X R レスpons要素の作製

レスpons要素は W i l l y , P . ら ( 1 9 9 5 ) 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 M l u I 及び B g l I I 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 D N A 鑄型を產生するようにアニーリングプライマーを設計した。

10

20

30

40

#### 【 0 0 6 3 】

この d s D N A 鑄型をベクター p N F k B - L u c と同じく制限酵素 M l u I 及び B g l I I 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 ( J M 1 0 9 株 ) を形質転換させ、次いで、 L B 寒天 + アンピシリン ( 1 0 0 μ g / m l ) 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 ( Q u i a g e n 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 L X R レスpons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 D N A 配列決定によって最終的に検証した。

#### 【 0 0 6 4 】

L X R レスpons要素 ; 5 G G T T T A a a t a A G T T C A 3 ( ID 配列 1 )

L X R レスpons要素オリゴ ;

#### 【 0 0 6 5 】

#### 【 化 4 】

##### Mlu I 部位

5' gcatt cacgcgt ccag GGTTTA aata AGTTCA gttcacag

GGTTTA aata AGTTCA gttcacag GGTTTA aata AGTTCA

ggcaac agatct tacgcatg 3'

##### Bgl II 部位 (ID配列2)

L X R レスpons要素のアニーリングプライマー ; 5 c a t g c g t a a g a t c t g t t g c c 3 ( ID 配列 3 ) 。

#### 【 0 0 6 6 】

##### R X R 発現ベクターの作製

p R S V / h R X R を C o l l i n g w o o d T N ら , 1 9 9 7 , J B i o l C h e m . 2 7 2 : 1 3 0 6 0 - 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、1 0 0 m l 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 1 0 0 μ g / m l のアンピシリンであった。

#### 【 0 0 6 7 】

50

リポフェクトアミン( G i b c o B r i )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 % CO<sub>2</sub> 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( D y n e x )を使用してホタル及びウミシイタケ( re n i l l a )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( D M E M )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( p L X R E - l u c )、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( p c D N A 3 . 1 / L X R 及び p R S V / h R X R )、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( p R L T K , Promega )に一過性にトランスフェクトした。

【 0069 】

トランスフェクトした細胞を 37 / 5 % CO<sub>2</sub> 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( D y n e x )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。

【 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 (ビヒクルに比べた誘発の倍数)	
	平均	標準誤差
<b>シス-グーグルステロン</b>		
16 μM	3.9	0.16
32 μM	8	0.6
64 μM	17.3	0.78
22R-ヒドロキシコレステロール(35 μM)	6	2.0
22R-ヒドロキシコレステロール(50 μM)	6.59	1.8
<b>デスマステロール</b>		
26 μM	9.27	0.55
22R-ヒドロキシコレステロール(32 μM)	4.8	1.9

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。

## 【実施例2】

## 【0073】

RNA発現分析

市販のヒト表皮培養物を Skin Ethic<sup>TM</sup> 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 Qaigen RNEasy<sup>TM</sup> 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、260 nm 及び 280 nm の OD を分光光度計で測定することによって定量した。

## 【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。5.0 ml の MicroHyb (Research Genetics # H 50

Y B 1 2 5 . G F ) を以下のプ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  $\mu$ g のヒト Cot - 1 DNA ( 1  $\mu$ g / u l 、 Life Technology # 1 5 2 7 9 - 0 1 1 )

( b ) 5 . 0  $\mu$ g のポリ d A ( Research Genetics POLYA . GF , 1  $\mu$ g / u l )。

【 0 0 7 7 】

回転オーブ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 DNA プローブの調製

m RNA のアニーリング / プライミング :

10

0 . 5 m l の PCR 管で以下の材料を混合した：

全量 8  $\mu$ l の DEPC H 2 O 中の 1  $\mu$ g の全 RNA

2 . 0  $\mu$ l のオリゴ d T ( Research Genetics # POLYT . GF 1 0 - 2 0 m er 、 1  $\mu$ g / u 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 NTP ( d ATP を除く ) ( Pharmacia # 2 7 - 2 0 3 5 - 0 2 、 1 0 0 mM の予製液 ) の 2 0 mM のプールを、 2 0 u l の DEPC H 2 O 、 1 0 u l の各 d CTP 、 d GTP 、 d TTP を混合することによって調製した ( - 2 0 で保存 )。

20

【 0 0 8 0 】

2 つの RNA 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  $\mu$ l の 5 × 第一ストランド用バッファ ( Life Tech # 1 8 0 6 4 - 0 1 4 ) ;

2 . 4  $\mu$ l の DTT ( 0 . 1 M 、 Life Tech # 1 8 0 6 4 - 0 1 4 ) ;

3 . 6  $\mu$ l の d CTP 、 d GTP 、 d TTP のプール ( 上記参照 ) ;

3 , 6  $\mu$ l の逆転写酵素 ( 2 0 0 U /  $\mu$ l 、 Superscript II 、 Life Tech # 1 8 0 6 4 - 0 1 4 ) ;

2 4  $\mu$ l の 3 3 P d ATP ( Amersham B F 1 0 0 1 - 2 5 0 Ci , 1 0 m Ci / m l )。

【 0 0 8 1 】

2 0 u l のマスターミックスを RNA 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 Bio - Spin 6 カラム ( Bio - Rad # 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 u 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 ( ~ 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

40

c DNA 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。回転オーブン中、 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

回転オーブン中、 ~ 3 0 m l の洗浄溶液 1 ( 2 × SSC , 1 % SDS ) によって 5 0 で毎回 2 0 分間の洗浄を 4 回、引き続いて、回転オーブン中、 ~ 3 0 m l の洗浄溶液 2 ( 0 . 5 × SSC , 1 % SDS ) 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 】

50

(v) 燐光イメージの現像

膜のイメージは、走査中に100μのピクセルサイズを使用するホスファーイメージヤー（Molecular Dynamics）を使用して得られた。Pathways<sup>T</sup> M 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な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。

10

【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)

20

30

【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】デスマステロール（コレスター-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。

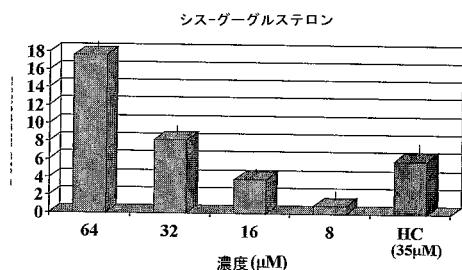
【図5】pNFKB-Lucのプラスミドマップを示す。

【図6】コレステロール型分子の慣用の炭素番号系を示す。

40

【図1】

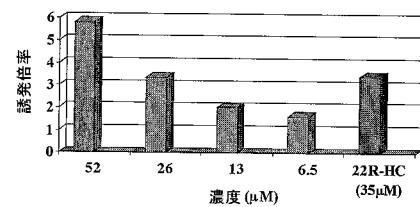
Figure 1



【図2】

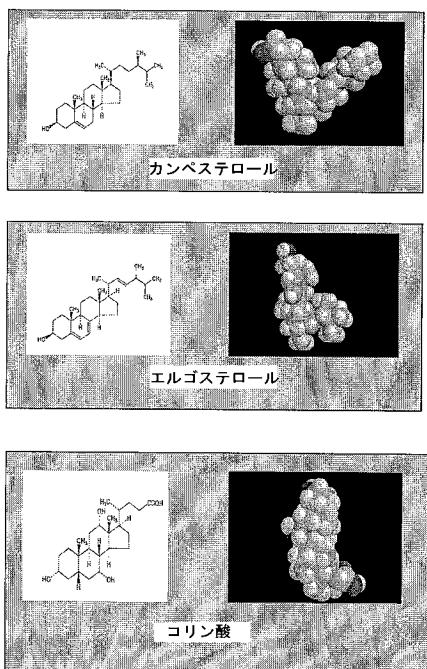
Figure 2

デスマステロール



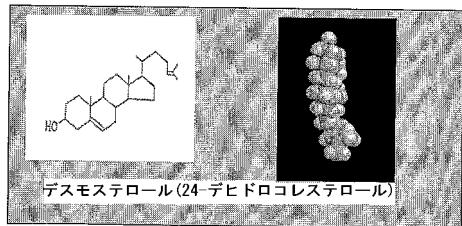
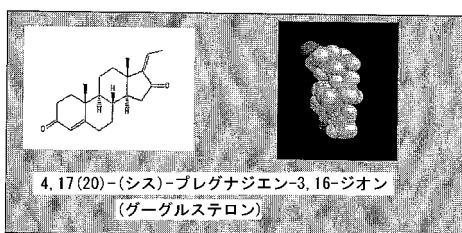
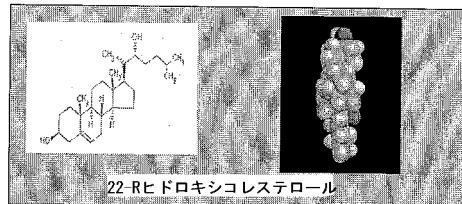
【図4】

Figure 4



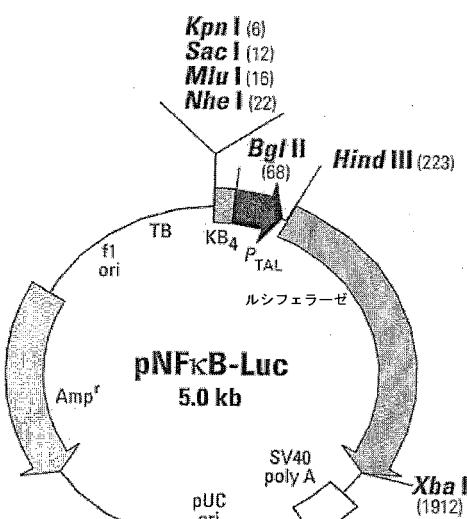
【図3】

Figure 3



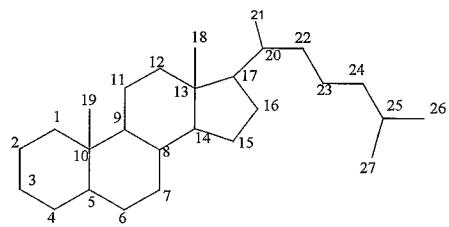
【図5】

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

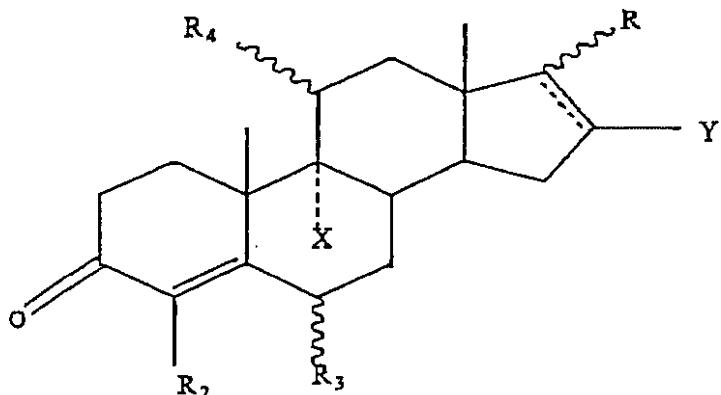
## 【補正の内容】

【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

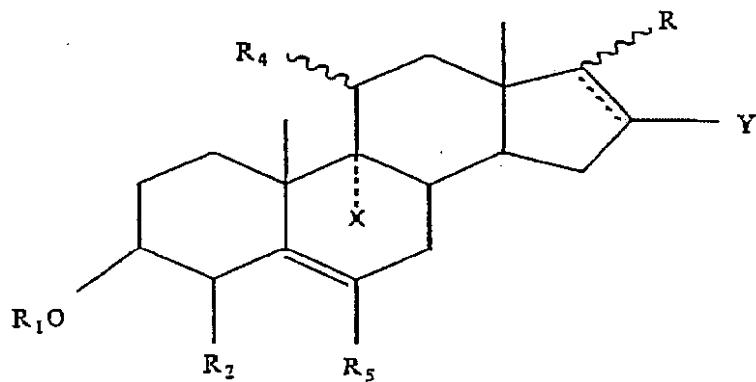
皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性または全身性組成物を製造するための、一般式；

## 【化1】



(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C<sub>1</sub> - C<sub>7</sub>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<sub>8</sub>アルキル基を表し、

R<sub>1</sub>は低級アルキル基、水素またはC OR<sub>6</sub>を表し、

R<sub>2</sub>は水素、ハロゲンまたはヒドロキシル基を表し、

R<sub>3</sub>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<sub>4</sub>は水素、ヒドロキシルまたはケト基を表し、

R<sub>5</sub>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<sub>6</sub>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<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>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<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>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<sub>1</sub> 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、 - COCH<sub>3</sub>、 - COHCH<sub>3</sub>、 = CHCH<sub>3</sub>、 = CHC<sub>H<sub>2</sub></sub>O H 及び - COCOCH<sub>3</sub> 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<sub>3</sub> ) ( CH<sub>2</sub> )<sub>2</sub> C = C ( CH<sub>3</sub> ) 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 - アセトキシブレグナ - 5, 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5, 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5, 16 - ジエン - ブレグナン - 3, 20 - ジオール、4, 16 - ジエンブレグナ - 3, 20 - ジオン、4, 17 ( 20 ) - ( シス ) - ブレグナジエン - 3, 16 - ジオン、4, 17 ( 20 ) - ( トランス ) - ブレグナジエン - 3, 16 - ジオン、4 - ブレグナン - 3, 16, 20 - トリオン、4, 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 11, 21 - ジオール - 3 - オン、5, 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3, 16 - ジオール - ジアセテート、5, 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3, 16 - ジオール、5 - ブレグネン - 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、コレスター - 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マ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 L X R 賦活化合物が 4, 17 ( 20 ) - ( シス ) - ブレグナジエン - 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 L X R 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 / 預防；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 L X R 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 / 預防；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 L X R 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 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、 - COCH<sub>3</sub>、 - COHCH<sub>3</sub>、 = CHCH<sub>2</sub>OH また

は - O C H C H<sub>3</sub> 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 , 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 - アセトキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5 , 16 - ジエン - ブレグナン - 3 , 20 - ジオール、4 , 16 - ジエンブレグナ - 3 , 20 - ジオン、4 - ブレグネン - 3 , 16 , 20 - トリオン、4 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - ブレグネン - 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、コレスター - 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 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 , 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 - アセトキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5 , 16 - ジエン - ブレグナン - 3 , 20 - ジオール、4 , 16 - ジエンブレグナ - 3 , 20 - ジオン、4 - ブレグネン - 3 , 16 , 20 - トリオン、4 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール - ジアセテート、5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - ブレグネン - 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、コレスター - 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 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 , 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 - アセトキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - アセトキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 , 16 - ジエン - 20 - オン、3 - ヒドロキシブレグナ - 5 - エン - 20 - オン、5 , 16 - ジエン - ブレグナン - 3 , 20 - ジオール、4 , 16 - ジエンブレグナ - 3 , 20 - ジオン、4 - ブレグナン - 3 , 16 , 20 - トリオン、4 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 11 , 21 - ジオール - 3 - オン、5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール - ジアセテート、5 , 17 ( 20 ) - ブレグナジエン - 3 , 16 - ジオール、5 - ブレグネン - 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、コレスター - 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 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

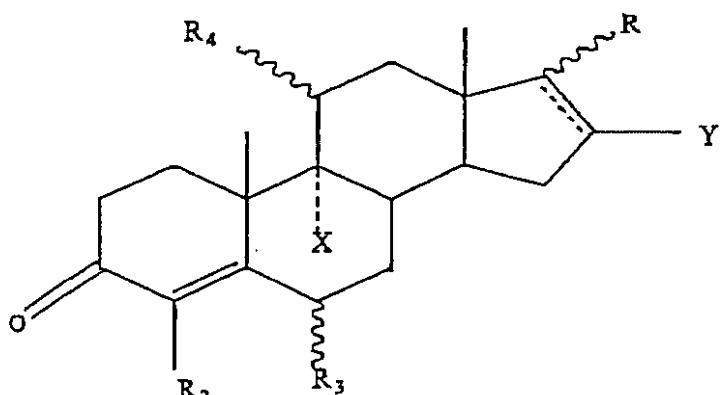
## 【補正の内容】

【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

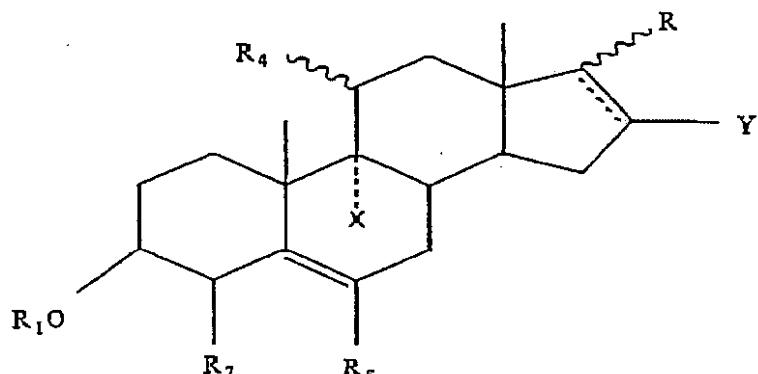
皮膚の表皮障壁機能を強化する局所性または全身性組成物を製造するための、一般式；

## 【化1】



(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C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>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<sub>8</sub>アルキル基を表し、

R<sub>1</sub>は低級アルキル基、水素またはC<sub>1</sub>OR<sub>6</sub>を表し、

R<sub>2</sub>は水素、ハロゲンまたはヒドロキシル基を表し、

R<sub>3</sub>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<sub>4</sub>は水素、ヒドロキシルまたはケト基を表し、

R<sub>5</sub>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<sub>6</sub>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 C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> 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<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> 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<sub>1</sub> 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、-COCH<sub>3</sub>、-COHCH<sub>3</sub>、=CHCH<sub>3</sub>、=CHC<sub>H<sub>2</sub></sub>OH 及び -OCOCH<sub>3</sub> 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<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C=C(CH<sub>3</sub>) 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-アセトキシブレグナ-5,16-ジエン-20-オン、3-アセトキシブレグナ-5-エン-20-オン、3-ヒドロキシブレグナ-5-エン-20-オン、5,16-ジエン-ブレグナン-3,20-ジオール、4,16-ジエンブレグナ-3,20-ジオン、4,17(20)-(シス)-ブレグナジエン-3,16-ジオン、4-ブレグナン-3,16,20-トリオン、4,17(20)-ブレグナジエン-11,21-ジオール-3-オン、5,17(20)-ブレグナジエン-3,16-ジオール-ジアセテート、5,17(20)-ブレグナジエン-3,16-ジオール、5-ブレグネン-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、コレスター-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マ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 L X R 賦活化合物が 4,17(20)-(シス)-ブレグナジエン-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 L X R 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 / 預防；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 L X R 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 1 2】**

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 、 - COCH<sub>3</sub> 、 - COHCH<sub>3</sub> 、 = CHCH<sub>2</sub>OH または - OCHCH<sub>3</sub> 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 , 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、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、コレスター - 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 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 , 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、コレスター - 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 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 , 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、コレスター - 5 , 24 - ジエン - 3 - オール、시스 - 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 17】

前記 L X R 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 <sup>a</sup>	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.
- \*&\* 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 - 2280 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 BR 9806989 A CN 1248916 T EP 1019059 A1 HU 0001938 A2 JP 2001509165 T PL 334840 A1 WO 9832444 A1 US 6060515 A US 6184215 B1 US 6187814 B1 US RE37770 E1		18-08-1998 14-03-2000 29-03-2000 19-07-2000 28-05-2001 10-07-2001 27-03-2000 30-07-1998 09-05-2000 06-02-2001 13-02-2001 25-06-2002
US 6087353	A	11-07-2000		AU 3696599 A WO 9959421 A1 EP 1082022 A1		06-12-1999 25-11-1999 14-03-2001
US 5882660	A	16-03-1999		AU 703392 B2 AU 1443797 A BR 9707339 A CA 2244882 A1 CN 1215327 A CZ 9802418 A3 DE 69700949 D1 DE 69700949 T2 WO 9727835 A1 EP 0877594 A1 ES 2140957 T3 HU 9900966 A2 JP 20000505829 T PL 328062 A1 RU 2187998 C2		25-03-1999 22-08-1997 20-07-1999 07-08-1997 28-04-1999 12-05-1999 20-01-2000 30-03-2000 07-08-1997 18-11-1998 01-03-2000 28-07-1999 16-05-2000 04-01-1999 27-08-2002
EP 1000613	A	17-05-2000		FR 2782919 A1 BR 9904154 A EP 1000613 A2 JP 2000086489 A KR 2000022870 A		10-03-2000 26-09-2000 17-05-2000 28-03-2000 25-04-2000
US 5114917	A	19-05-1992		US 5008242 A US 5290762 A US 5190917 A US 5166134 A US 5217951 A AT 107515 T CA 2019974 A1 DE 69010162 D1 DE 69010162 T2 DK 432117 T3 EP 0432117 A1 ES 2055406 T3 JP 3181422 A US 5093316 A US 4916117 A		16-04-1991 01-03-1994 02-03-1993 24-11-1992 08-06-1993 15-07-1994 04-06-1991 28-07-1994 06-10-1994 25-07-1994 12-06-1991 16-08-1994 07-08-1991 03-03-1992 10-04-1990
WO 9947113	A	23-09-1999		AU 735384 B2 AU 3082499 A BR 9908222 A		05-07-2001 11-10-1999 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

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	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,N0,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 ジエンキンズ , 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、シヤーンブルック、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・ジエイ、ロザラム、ローマーシュ、ブラツドリー・ライズ・24

(72)発明者 ルマリー , キヤサリン・ルイーズ

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、シヤーンブルック、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