

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5513893号
(P5513893)

(45) 発行日 平成26年6月4日(2014.6.4)

(24) 登録日 平成26年4月4日(2014.4.4)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 L 27/00 (2006.01)

A 6 1 L 27/00

U

A 6 1 L 27/00

V

A 6 1 L 27/00

C

請求項の数 11 (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2009-541680 (P2009-541680)
 (86) (22) 出願日 平成19年12月21日 (2007.12.21)
 (65) 公表番号 特表2010-512859 (P2010-512859A)
 (43) 公表日 平成22年4月30日 (2010.4.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/AT2007/000585
 (87) 国際公開番号 W02008/077172
 (87) 国際公開日 平成20年7月3日 (2008.7.3)
 審査請求日 平成22年12月17日 (2010.12.17)
 (31) 優先権主張番号 A2136/2006
 (32) 優先日 平成18年12月22日 (2006.12.22)
 (33) 優先権主張国 オーストリア (AT)
 (31) 優先権主張番号 60/871,534
 (32) 優先日 平成18年12月22日 (2006.12.22)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 509175528
 クローマーファルマ・ゲゼルシャフト・ミ
 ット・ベシュレンクテル・ハフツング
 CROMA-PHARMA GESELL
 SCHAFT M. B. H.
 オーストリア、アー・2100レオーベン
 ドルフ、インドゥストゥリーツァイレ6番
 (74) 代理人 100081422
 弁理士 田中 光雄
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 卓二
 (74) 代理人 100104592
 弁理士 森住 憲一
 (74) 代理人 100083356
 弁理士 柴田 康夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 組織増大用インプラント

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ベースポリマーが多糖類であるチオール基含有ポリマーを含んでなる組織増大用インプラント。

【請求項 2】

チオール基含有ポリマーが、少なくとも $10,000 \text{ g/mol}$ の分子量を有することを特徴とする、請求項 1 に記載の組織増大用インプラント。

【請求項 3】

ポリマー内でチオール基が分子間および/または分子内ジスルフィド結合を形成していることを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の組織増大用インプラント。

【請求項 4】

ポリマーのチオール基の割合が、ポリマー 1 g あたり $20 \mu\text{mol}$ 超であることを特徴とする、請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の組織増大用インプラント。

【請求項 5】

チオール基含有ポリマーが、チオール基含有ヒアルロン酸、チオール基含有キトサン、およびこれらポリマーの組み合わせからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の組織増大用インプラント。

【請求項 6】

ポリマーのチオール基がシステイン、システアミンまたは N - アセチル - システインから誘導されたチオール基であることを特徴とする、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の組織

増大用インプラント。

【請求項 7】

インプラントが、ゲルまたは水溶液の形態であることを特徴とする、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組織増大用インプラント。

【請求項 8】

インプラントが付加的にキトサンおよび / またはヒアルロン酸を含んでなることを特徴とする、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の組織増大用インプラント。

【請求項 9】

インプラントが更に付加的に、消炎剤、抗リウマチ剤、鎮痛剤、抗感染薬、抗ウィルス剤、抗生剤、抗真菌剤、殺菌剤、化学療法薬、鎮痙薬、ビタミン、細胞増殖抑制剤、局所麻酔薬、抗アレルギー薬、抗ヒスタミン薬、抗炎症薬、抗静脈瘤薬、痔疾治療薬、皮膚治療薬、婦人科用剤、眼科用剤、泌尿器科用剤、鼻科用剤および耳科用剤からなる群からの少なくとも 1 種の有効成分、および / または、緩衝塩、防腐剤、所望のオスモル濃度に調節するための賦形剤、所望の粘度に調節するための賦形剤、安定剤、軟化剤、被覆剤、フロー剤、バインダー、滑剤、充填剤、乾燥剤、崩壊剤、溶剤、可溶化剤、および調製物の相溶性を高めるための賦形剤からなる群からの少なくとも 1 種の医薬品賦形剤を含んでなることを特徴とする、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の組織増大用インプラント。

【請求項 10】

インプラントが、0.001 ~ 100 重量%の濃度でチオール基含有ポリマーを含んでなることを特徴とする、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の組織増大用インプラント。

【請求項 11】

増大される組織が、皮膚組織、筋組織および結合組織からなる群から選択されることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の組織増大用インプラント。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、医学的理由および美容上の理由により組織を増大するためのポリマーの使用に関する。

【背景技術】

【0002】

組織増大には、通常、例えばエーテル化合物およびエステル化合物で架橋されたヒアルロン酸（ジビニルスルホンで架橋：WO 2006 / 056204；アルデヒドで架橋：US 4,713,448；多官能性エポキシ化合物で架橋：EP 0 161 887）のようなポリマーを使用する。人体への移植後、これらの化合物は、炎症反応、アレルギー反応および異物反応を招くことがある（Paradeら、Skinmed. 4 (2005) : 345-349；Lemperleら、Plast. Reconstr. Surg. 118 (2006) : 92S-107S）。そのような炎症過程は、反応性酸素化合物を発生することがある。

【0003】

酸素の反応性酸素化合物（ラジカルおよび非ラジカル酸素種）への活性化は、細胞過程、自動酸化反応および酵素反応の枠組みの中での通常の代謝過程の一部である。反応性酸素化合物を生成する別の原因は、例えば、炎症過程、関節および組織の損傷、並びに外因性環境因子（例えば、紫外線、タバコの煙、放射線暴露およびオゾン）である。通常、酸化過程と還元過程とのバランスが存在する。しかしながら、酸化反応が優勢であるならば、酸化的ストレス（酸化状態）が発現する。ラジカルの攻撃により、脂質、タンパク質およびDNAは損傷を受ける。この損傷は、とりわけ、おそらくは、加齢による変化および病気、例えば、皮膚の老化、糖尿病、血管疾患および神経変性疾患の原因になる。

【0004】

ヒドロキシル基のようなラジカルは、多くの場合、炎症性疾患、例えば関節の炎症性疾患（例えば慢性関節リウマチ）の発現および永続化の共通原因である。関節周辺において、ラジカルは、滑液中のヒアルロン酸の分解をもたらす、滑液の粘度および潤滑効果を低

10

20

30

40

50

下させる (Lepperdingerら、Chemistry and Biology of Hyaluronan (2004) : 71-82)。

【 0 0 0 5 】

通常、涙液は、ラジカル (例えばヒドロキシル基) による酸化的損傷から眼表面を保護するために、ラジカル掃去剤 (例えば、システイン、アスコルビン酸および還元グルタチオン) 並びに抗酸化酵素 (例えば、ラクトフェリンおよびリソチーム) も含有する (Roseら、Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 217 (1998) : 397-407)。

【 0 0 0 6 】

ラジカル掃去剤を用いたラジカルの除去によって、炎症過程を抑制することができる。反応性酸素化合物に対する内因性保護機能は、酵素 (例えば、カタラーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) およびグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx))、並びに還元グルタチオン (GSH)、並びに鉄生成タンパク質および銅生成タンパク質 (例えば、フェリチン、アルブミン、ラクトフェリン) によって発揮される。重要な外因性抗酸化剤は、アスコルビン酸およびその誘導体、トコフェロール並びにレチノイドである。ほとんどの抗炎症性低分子薬剤、例えば、ジクロフェナクおよびピロキシカムもまた、ラジカル掃去能を有する (AruomaおよびHalliwell, Xenobiotica 18 (1988) : 459-470)。

【 0 0 0 7 】

組織を増大するためにしばしば使用されるヒアルロン酸は、それ自体、軽微な抗炎症作用を示し、ヒドロキシル基の弱い掃去剤である。ヒアルロン酸の注入後、ヒアルロン酸の抗酸化作用を高め、炎症反応を低減するために、ヒアルロン酸とマンニトールとを組み合わせ投与することが提案されている (WO 2004/073759)。しかしながら、この種の投与は、マンニトールがヒアルロン酸デポーの外に拡散し得るので不利である。別の提案では、酵素であるスーパーオキシドジスムターゼをヒアルロン酸に結合させ、酵素活性を30%低下させた (Sakuraiら、Glycoconj J. 14 (1997) : 723-728)。いずれの提案もヒアルロン酸の抗酸化作用を高めるが、ヒアルロン酸の吸収速度は落ちないので、所望の効果が短期間しか継続しない。未変性ヒアルロン酸、即ち未架橋ヒアルロン酸は、人体への移植後2~3時間以内または2~3日以内に吸収される。

【先行技術文献】

【特許文献】

【 0 0 0 8 】

【特許文献1】WO 2006/056204

【特許文献2】US 4,713,448

【特許文献3】EP 0 161 887

【特許文献4】WO 2004/073759

【非特許文献】

【 0 0 0 9 】

【非特許文献1】Paradeら、Skinmed. 4 (2005) : 345-349

【非特許文献2】Lemperleら、Plast. Reconstr. Surg. 118 (2006) : 92S-107S

【非特許文献3】Lepperdingerら、Chemistry and Biology of Hyaluronan (2004) : 71-82

2

【非特許文献4】Roseら、Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 217 (1998) : 397-407

【非特許文献5】AruomaおよびHalliwell, Xenobiotica 18 (1988) : 459-470

【非特許文献6】Sakuraiら、Glycoconj J. 14 (1997) : 723-728

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 1 0 】

従って、本発明の目的は、ラジカル掃去能および多価金属イオン錯化能の故に抗酸化作用を有し、同時に投与部位でのより長い滞留時間を特徴とする、組織を増大するための化合物を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 1 】

10

20

30

40

50

従って、本発明は、ポリマーが好ましくは生分解性の多糖類であるチオール基含有ポリマーを含んでなる、組織増大および安定化用インプラントに関する。このインプラントの投与は、好ましくは、表皮下注射、皮内注射、皮下注射または筋肉内注射によって実施される。

【0012】

チオール基含有ポリマー、即ちチオール基含有生理的許容性ポリマー化合物が特に組織増大に適しており、同時に、これらポリマーが抗炎症/抗酸化保護作用を示すことが見出された。

【0013】

酸化過程はDNA、タンパク質および脂質の損傷をもたらすので、酸化過程は多数の疾患で決定的な役割を果たす。酸化過程は、外因（例えば、放射線（紫外線、電離放射線）のような環境の影響、酸化剤など）および内因（例えば炎症）の各々によって誘起され得る。

【0014】

チオール酸化剤のポリマーへの直接カップリングは、ポリマーの滞留時間全体にわたって抗酸化保護作用が維持され、ジスルフィド結合の作用による架橋がポリマーの安定化に寄与するという利点を有する。チオレーションによって達成される、ヒアルロン酸のヒドロキシ掃去能および抗酸化能の向上を、図2、図3および図4に示す。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】チオール基含有ポリマーの抗酸化活性メカニズムの概略図を示す。

【図2】未変性ポリマーと比較した、チオール化ヒアルロン酸の0.1% (m/v) 水溶液によるヒドロキシル基の酸化効果の抑制を示す ($n = 3$; $\pm SD$)。

【図3】未変性ヒアルロン酸と比較した、様々な程度（ポリマー1gあたり200 μM のチオール基、およびポリマー1gあたり70 μM のチオール基）で変性されたチオール化ヒアルロン酸の0.1% (m/v) 水溶液によるヒドロキシル基の酸化効果の抑制を示す ($n = 4$; $\pm SD$)。

【図4】未変性ポリマーと比較した、チオール化ヒアルロン酸の0.1% (m/v) 水溶液によるインビトロでのブタ角膜における脂質酸化の抑制を示す ($n = 3$; $\pm SD$)。

【発明を実施するための形態】

【0016】

本発明によれば、用語「インプラント」は、インプラントが少なくとも部分的に、好ましくは実質上完全に分解されるまで、投与部位近傍で少なくとも数週間から数ヶ月、または何年もの間でさえ本質的にとどまる、注射可能な望ましい無菌の液体状、ゲル様または半固体状の調製物に関する。

【0017】

好ましい態様では、チオール基含有ポリマーは、少なくとも10,000 g/mol、好ましくは少なくとも25,000 g/mol、特に少なくとも50,000 g/molの分子量を有する。

【0018】

本発明のチオール基含有ポリマーの分子量が特に関係するのは、ポリマーを使用する際に、ポリマーが、実質的により低い分子量を有するこれまで知られてきた酸化剤より長い期間、活性部位またはそのごく近傍に、そのままとどまることが重要な場合である。より長い期間、活性部位またはそのごく近傍にとどまるとは、局所的な酸化過程を個々に制御するかまたは停止するか、或いは低減することが重要な場合に、特に有利である。従って、チオール基含有ポリマーが、少なくとも10,000 g/molの分子量を有することが好ましい。

【0019】

ポリマー内でチオール基は、好ましくは、分子間および/または分子内ジスルフィド結合を形成する。

10

20

30

40

50

【0020】

本発明のチオール基含有ポリマーのジスルフィド結合形成能は、活性部位またはその近傍で抗酸化特性を発揮することが重要な場合に必要である。図1に示したように、過酸化水素の無毒化において決定的な役割を果たすグルタチオンジスルフィドを還元するために、還元チオール基含有ポリマーを使用できる。チオール基含有ポリマーは更に、それらの抗酸化特性の故に、ヒドロキシル基に直接起因する酸化的ストレスを抑制し、従って、DNA、脂質およびタンパク質の損傷を防ぐことができる。また、チオール基含有ポリマーは、二価の鉄イオンを錯化することによってヒドロキシル基の生成を抑制する。このようにして、過酸化水素のヒドロキシル基へのフェントン反応は、個々に、停止され得るか或いは著しく低減され得る。

10

【0021】

本発明に従ったポリマーの合成後、ポリマーのチオール基の全ては好ましくは遊離チオール基として得られるので、ポリマーは低度に架橋されるか或いは全く架橋されない。このことは、容易に更に加工され得るポリマーの単相水溶液が生じることを可能にし、前記ポリマーに医薬品賦形剤または医薬品有効成分を添加することを可能にする。その後、酸素の存在下で6~10.5の生理的pH値にpHを変えることによって、制御条件下で架橋が生じる。架橋剤を添加する必要はない。医学的理由および美容上の理由による組織増大における投与にとっては、ジスルフィド結合を介したポリマーの部分的架橋が好ましい。

【0022】

ジスルフィド結合を介して架橋された組織増大のためのチオール基含有ポリマーが、従来技術で知られている常套のポリマーと比べて著しく高い安定性を示すことも分かった。

20

【0023】

本発明のポリマーは、好ましくは軟組織、特に、皮膚組織、筋組織および結合組織を増大することによって、美容上または治療上使用され得る。美容上の皮膚増大は、好ましくは、顔面領域の深いしわ、特に、法令線、上唇しわおよび額のしわ、眼および頬の領域の細かいしわ、しなびた頬の小さい皮膚のでこぼこを美容上処置し、頬を改造するために使用される。

【0024】

ポリマーのチオール基の割合は、好ましくはポリマー1gあたり20 μmol 超、より好ましくはポリマー1gあたり50 μmol 超、特にポリマー1gあたり100 μmol 超である。

30

【0025】

ポリマーが、ポリマー1gあたり少なくとも50 μmol のチオール基を含んでなる場合、本発明のチオール基含有ポリマーの抗酸化特性は特に有利である。

【0026】

本発明によれば、生理的許容性であり、チオール基によって変性され得るポリマーが適している。ベースポリマーは多糖類の群から選択される。チオール基含有ポリマーは、好ましくは、チオール基含有ヒアルロン酸、チオール基含有キトサンからなる群から選択され、これらのチオール基含有ポリマーの組み合わせが、本発明の使用にとって特に有利であることが分かった。

40

【0027】

チオール基含有ポリマーの一部、例えばチオール化ヒアルロン酸は、薬剤中の賦形剤として、例えばより容易かつ効果的に粘液相に有効成分を添加するために、既に使用されている(例えばWO 00/25823参照)。しかしながら本発明において、意外なことに、そのようなポリマー化合物自体が薬理学的効果を示し、抗酸化剤として使用され得ることが見出された。ポリマーのチオール基は、未チオール化ポリマーに場合により存在する抗酸化特性を著しく増加できるか、またはポリマーに抗酸化特性を与えることができる。

【0028】

50

滞留時間は、ポリマーの選択に影響され得る。バイオポリマーであるヒアルロン酸およびキトサンは、哺乳動物、特にヒトに自然に存在しているヒアルロニダーゼおよびリソチームによって各々分解される。ポリアクリル酸またはポリアクリルアミドのような合成ポリマーの分解のための酵素は、哺乳動物の体内に存在しない。このことは、合成ポリマーが哺乳動物の体内から外科手術によって除去されなければならないという結論を導く。生分解性ポリマーは酵素によって少なくとも6ヶ月、12ヶ月、24ヶ月または60ヶ月の間に分解され、その結果、体内から除去される。

【0029】

本発明で使用するポリマーの少なくとも1つのチオール基は、生理的許容性チオール化合物、例えば、システイン、システアミンおよびN-アセチル-システインから誘導される。このことは、これらチオール化合物またはそれらの誘導体を、ポリマーのチオール化に使用できることを意味する。

10

【0030】

本発明によれば、チオレーションは、チオール化合物がポリマー、特に水溶性ポリマーに結合される、あらゆる種類の化学反応によって達成され得る。幾つかの理由で、システインおよびシステイン誘導体の使用がチオレーションにとって望ましい。なぜなら、システインは、一方では生理的許容性であり、他方では容易かつ安価に得られるからである。システインおよびシステイン誘導体は、好ましくは、アミド結合を介してポリマーに結合され得る。一方、本発明のポリマーは、ポリマー調製の過程において、少なくとも1種のモノマーをチオール基と共に（共）重合させて調製されてもよい。このことは、ポリマーが遊離チオール基を有し、該チオール基が重合反応中に直接反応しないことを意味する。本発明によれば、ポリマー中に少なくとも1種の遊離チオール基含有モノマーを含んでなるポリマーも好ましい（例えば、Bernkop-Schnuerch, Adv. Drug Deliv. Rev. 57 (2005) : 1569-1582参照）。

20

【0031】

投与部位または活性部位に依存して、本発明のインプラントは、対応する調製物で供給される。そこで必要とされる補助物質は各々、調製物に依存し、当業者に十分に知られている（例えば、Sarfaraz Niazi, "Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations", CRC Press (2004)参照）。

【0032】

本発明のチオール基含有ポリマーはまた、皮膚増大のために皮下および皮内に使用され得る。化粧品において、例えばヒアルロン酸のようなポリマーは、とりわけ組織内でのラジカルによるヒアルロン酸の還元と関連している皮膚の老化のサイン（しわ、乾燥、弾力性低下）を軽減するための、既知であり頻繁に使用されている助剤である（Agrenら、Free Radic. Biol. Med. 23 (1997) : 996-1001）。本発明のチオール基含有ポリマー、好ましくはチオール基含有ヒアルロン酸の抗酸化特性の故に、チオール基含有ヒアルロン酸のラジカル媒介分解は、皮下投与または皮内投与の後に減速する。

30

【0033】

皮下投与または皮内投与のための調製物において、チオール基含有ポリマーは、0.001~20% (m/v)、好ましくは0.01~10% (m/v)の濃度で存在してよい。更に、調製物は、皮下投与または皮内投与のための調製物に通常使用される付加的な賦形剤、例えば、緩衝塩、安定剤、所望のオスモル濃度に調節するための賦形剤、所望の粘度に調節するための賦形剤、および調製物の許容性を高めるための賦形剤を含有してよい。最終調製物のオスモル濃度およびpHは、好ましくは、生理的範囲内にある。

40

【0034】

インプラントは、ゲルまたは水溶液として、好適には単相調製物として、特に好ましく調製される。

【0035】

少なくとも1種のチオール基含有ポリマーを含んでなる本発明のインプラントは、複数の投与形態に調製され得る。水溶液/水性調製物としての調製物の供給が、特に有利であ

50

る。インプラントが水溶液として供給されるならば、インプラントは、所望の位置に、簡単な方法で、皮下投与、皮内投与または筋肉内投与され得る。

【0036】

人体におけるインプラントとして（また、有効成分の制御放出のためのインサートとして）、ゲルおよび低粘性水溶液の形態をとるかまたは固体状調製物の形態であるポリマーを使用することは、周囲組織における炎症反応を招き得る。本発明のチオール基含有ポリマーが与えるラジカル掃去作用および抗酸化作用によって、これら炎症反応は各々軽減または完全回避され得る。このことは、例えば、しわの下に注入するためのチオール基含有ポリマーの皮内投与および皮下投与、括約筋増大のためのチオール基含有ポリマーの使用、およびチオール基含有ポリマーに基づいた（半）固体状調製物の移植に当てはまる。

10

【0037】

投与後に容易に分散でき、投与部位に存在する酵素によって均一にゆっくりと分解され得る均一な単相水性調製物として、本発明のポリマーを使用することが特に有利であることが分かった。例えばWO 99/31167に記載されているような架橋ポリマー粒子を用いると、粒子の液体状キャリアー媒体中懸濁液からなる2相調製物しか調製できない。そのような調製物を用いると、キャリアー媒体がインプラント本体からかなり迅速に吸収され、残留粒子の体積が著しく低下するので、増大に必要なインプラントの量（例えばしわの下への注入量）を見積もることが困難である。従って、投与量を補正しなければならず、このことが、満足な結果を得ることを困難にしている。

【0038】

20

好ましい態様によれば、薬剤またはインプラントは、更に付加的に、少なくとも1種の有効成分；皮膚科学における投与のための、好ましくは以下からなる群からの有効成分を含んでなる：局所麻酔薬（例えば、リドカイン、プリロカイン、プロカイン、メピバカイン）、抗真菌薬（例えば、オモコナゾール、クロトリマゾール、ビホナゾール、ミコナゾール、フルコナゾール、イトラコナゾール、オキシコナゾール、フェンチコナゾール、テルビナフィン、シクロピロックス、アモロルフィン）、抗ヒスタミン薬、抗アレルギー薬、抗炎症薬、抗生剤（例えば、テトラサイクリンおよびその誘導体、フシジン酸、クロラムフェニコール、ネオマイシン、バシトラシン、ゲンタマイシン、チロトリシン、ムピロシン、ヴァージニアマイシン、リファキシミンおよびアミカシン）、化学療法薬、抗ウィルス薬、皮膚軟化剤、皮膚保護剤、創傷処置剤、局所用抗ニキビ剤、コルチコステロイド、非ステロイド性消炎薬、痔疾処置剤、局所消毒剤、ヨウ素含有剤。加えて、少なくとも1種の以下からなる群からの医薬品賦形剤もインプラントに含有され得る：緩衝塩、防腐剤、所望のオスモル濃度に調節するための賦形剤、所望の粘度に調節するための賦形剤、安定剤、軟化剤、被覆剤、フロー剤、バインダー、滑剤、充填剤、乾燥剤、崩壊剤、溶剤、可溶化剤、および調製物の許容性を高めるための賦形剤。

30

【0039】

本発明のチオール基含有ポリマー、および場合により混合され得る、特定の調製物にとって必要または有利な賦形剤に加えて、薬剤またはインプラントは各々、更なる有効成分を含有することができる。チオール基含有ポリマーと好ましく混合される有効成分は、それ自体抗酸化特性を有し得るか、或いは抗酸化疾患または酸化的ストレスに起因する疾患を各々治す、軽減するまたは予防する働きをし得る。これに関し、一例として、抗炎症性物質および抗酸化活性を有するビタミンを挙げるべきである。

40

【0040】

本発明の好ましい態様によれば、インプラントは付加的に少なくとも1種の未変性ポリマーを含んでなる。チオール基含有ポリマーと未変性ポリマーとの両方を含んでなるインプラントにおいて、互いに関連するそれらの混合比は変動できる。本発明において、「未変性ポリマー」に属するポリマーは、完全に未変性であるポリマーか、或いは変性されているがチオール基は含有しないポリマーに各々まとめられる。

【0041】

本発明の好ましい態様によれば、インプラントは、0.001~100重量%、好まし

50

くは0.01~90重量%、より好ましくは0.05~80重量%の濃度でチオール基含有ポリマーを含んでなる。投与は、より好ましくは0.1~20重量%、最も好ましくは0.1~10重量%の濃度で実施される。

【0042】

本発明のインプラントは、もっぱらチオール基含有ポリマーからなってもよいし、或いは賦形剤、キャリアーおよび医薬品有効成分と混合されてもよい。

【0043】

本発明のポリマー中に含有されているチオール基の故に、ポリマーは抗酸化特性を有する。

【0044】

本発明の好ましい態様によれば、増大される組織は、皮膚組織、筋組織および結合組織からなる群から選択される。

【0045】

本発明の更なる態様は、先に定義されているような少なくとも1種のチオール基含有ポリマーを含んでなる組織増大用インプラントに関する。

【0046】

本発明の更なる態様は、先に定義されているようなチオール基含有ポリマーを皮下および/または皮内に投与する、皮膚の美容整形術のための方法並びに皮膚の老化を遅らせるおよび/または予防するための方法に関する。

【0047】

チオール基含有ポリマーは、皮膚の美容整形術のためおよび皮膚の老化を遅らせるために使用され得る。例えばヒアルロン酸のようなポリマーは、化粧品分野で、例えばしわの下および唇に注入するために、よく知られており頻繁に使用されている助剤である。この目的のために、多くの場合、体内で非常にゆっくりと分解する長鎖分子の粘性ゲルを使用する。別の過程では、ポリマーを紫外線によって分解し、皮膚に揉み込み、次いでレーザー処理する。揉み込まれたポリマー断片は、皮膚内で反応して再び高分子になる。そのようなポリマーを、コラーゲンの代替物として使用する。

【0048】

ポリマー、特にヒアルロン酸の美容的使用は、例えば酸化的ストレスに基づいた皮膚発疹および発赤のような特に明白な副作用をもたらし得る。本発明において、チオール基含有ポリマーを投与した場合、そのような副作用を完全に防げるか、または著しく軽減できることが見出された。

【0049】

後の実施例および図面によって本発明をより詳細に説明するが、もちろん、実施例および図面は本発明を制限するものではない。

【実施例1】

【0050】

本発明のチオール基含有ポリマーによるヒドロキシル基の酸化効果の抑制

本発明のチオール基含有ポリマーのヒドロキシル基掃去能を、デオキシリボース試験 (Halliwellら、Food Chem. Toxicol. 33 (1995) : 601-617) を用いて評価した。この試験系では、ヒドロキシル基は、デオキシリボースを攻撃する鉄イオンによって生成される。得られた分解生成物はチオバルピツール酸と反応して、ピンク色の剤になり、この剤の吸収を測定する。この方法を用いることにより、本発明のチオール基含有ポリマーのヒドロキシル基掃去能と錯化能の両方を試験する。

【0051】

本発明のチオール基含有ポリマーのヒドロキシル基掃去能および錯化能を、該ポリマーの濃度および変性度に基づいて、デオキシリボース試験を用いて評価した。このようにして(これらチオール基含有ポリマーの延長された滞留時間と組み合わせる)長続きする効果を達成できるので、本発明のチオール基含有ポリマーが低濃度でさえ抗酸化活性をなお発現することは重要である。更に、眼への投与、関節内投与、皮内投与または皮下投与の

10

20

30

40

50

ための調製物では、高分子ポリマー化合物は、それらの高粘性の故に最適な許容性をもはや確保できないので、比較的低い初期濃度でしか使用できない。

【0052】

この試験のため、試料溶液全体におけるポリマーの最終濃度が0.1% (m/v) となるように、pH 7.4のリン酸緩衝剤にポリマーを溶解することによって、ポリマー溶液を新たに調製した。必要に応じて、試料溶液のpHを、NaOHの添加によって7.4に調整した。

【0053】

ポリマーを含有しないpH 7.4のリン酸緩衝剤を、対照として使用した。0.6 mlの試料溶液に、まず、10 mMの2-デオキシ-D-リボース溶液0.1 mlを添加した。

10

【0054】

調製したばかりの10 mMのFeSO₄溶液0.1 mlを添加した直後、試料を37で120分間培養した。2.5% (v/v)のトリフルオロ酢酸0.5 mlを添加することによって、反応を停止した。1% (m/v)のチオバルビツール酸0.2 mlを添加した後、発色させるために試料を95で20分間培養した。次いで、試料を室温まで冷却し、5分間遠心分離機にかけた。試料溶液をマイクロフォトメーター用キュベットに移し、532 nmで吸収を測定した。

【0055】

本発明のポリマーの抗酸化特性を、デオキシリボース酸化の抑制という形で算出した。

20

【数1】

$$\text{酸化抑制 (単位: \%)} = (1 - (A_s / A_c)) \times 100$$

[式中、A_sは試料の吸収量であり、A_cは対照の吸収量である。]

【0056】

結果を、図2および図3に示す。y軸には、各々の場合のポリマーによるヒドロキシル基の酸化効果の抑制(単位: %)を表す。示した値は、少なくとも3回試験を繰り返した平均値±標準偏差である。図2には、チオール化合物の共有結合によって、ヒアルロン酸の抗酸化作用を著しく増加できたことが示されている。本発明のポリマーの抗酸化作用の、チオール化合物による変性度への依存を、チオール化ヒアルロン酸の例によって図3に示す。このように、ポリマー1 gあたり200 μMのチオール基の変性度を有するチオール化ヒアルロン酸は、ポリマー1 gあたり70 μMのチオール基の変性度を有するチオール化ヒアルロン酸より高い抗酸化作用を有する。

30

【実施例2】

【0057】

チオール基含有ポリマーによる皮膚における脂質過酸化の抑制

インビトロ試験を用いて、皮膚の脂質の酸化を抑制するチオール基含有ポリマーの能力を評価した。例えば紫外線に起因する細胞内脂質過酸化は、ヒトの皮膚/真皮の損傷を招く。

40

【0058】

この方法を用いて、チオール基含有ポリマーのヒドロキシル基掃去能と錯化能の両方を試験する(Halliwelら、Food Chem. Toxicol. 33 (1995): 601-617)。このインビトロ試験系では、鉄イオンの添加および加熱によって、脂質過酸化が促進される。酸化された脂質断片(TBARS; チオバルビツール酸反応性物質)は、チオバルビツール酸と反応してピンク色の剤になり、この剤の吸収を測定する。

【0059】

試料溶液全体におけるポリマーの最終濃度が0.05% (m/v) となるように、等張リン酸緩衝剤中でポリマー溶液を新たに調製した。NaOHの添加によって試料溶液のpHを7.4に調整した。pH 7.4である等張リン酸緩衝剤を対照として用いた。これら

50

の試料に、100mgのブタ皮膚を添加した。新たに調製した20mMのFeSO₄溶液0.3mlの添加後、試料を95℃で60分間培養した。20%(v/v)のトリフルオロ酢酸0.3mlの添加によって、反応を停止した。1%(m/v)のチオバルビツール酸0.3mlの添加後、試料を95℃で更に20分間培養し、室温まで冷却後、遠心分離機にかけた。試料溶液をマイクロフォトメーター用キュベットに移し、532nmで吸収を測定した。

【0060】

以下の等式に従って、脂質過酸化の抑制を算出した。

【数2】

$$\text{過酸化抑制 (単位: \%)} = (1 - (A_s / A_c)) \times 100$$

10

[式中、A_sは試料の吸収量であり、A_cは対照の吸収量である。]

【0061】

結果を、図5に示す。y軸には、各ポリマーの酸化抑制を%でプロットする。示した値は、3回試験を繰り返した平均値+標準偏差である。これらの試験から、チオール基含有ポリマーのヒドロキシル基掃去能、錯化能、従って抗酸化特性の故に、チオール基含有ポリマーが、炎症過程に起因する脂質の酸化を著しく減少させ得ることが明らかである。

【実施例3】

【0062】

20

本発明に従ったチオール基含有ポリマーの皮内投与

皮内投与するために以下の調製物を調製した。2gのチオール基含有ヒアルロン酸を、無菌の等張リン酸緩衝剤に溶解し、攪拌して、部分的に架橋したポリマーを生成し、それを注射器に満たして殺菌した。0.1mlのこの調製物を、ウサギの背部に皮内注射した。この投与は、翌日には消失する最小の局所刺激をもたらした。チオール基含有ヒアルロン酸によって形成されたデポーは、2週間の試験期間全体にわたり触覚によって認めることができた。

【実施例4】

【0063】

皮膚増大のための皮下投与用調製物および皮内投与用調製物の調製

30

皮下投与用調製物および皮内投与用調製物を以下のように調製した。無菌のチオール基含有ヒアルロン酸1gを、pH7.4である無菌リン酸緩衝剤100mlに、無菌状態で酸素の不存在下溶解した。この調製物のオスモル濃度をNaClの添加によって調節し、200~400mOsm/kgの溶液オスモル濃度を得た。溶液をフラスコに満たし、気体を通さないように塞いだ。

【実施例5】

【0064】

瘢痕組織増大のための調製物

調製物を以下のように調製した。無菌のチオール基含有ヒアルロン酸3gを、pH7.4である無菌リン酸緩衝剤100mlに、無菌状態で溶解し、部分的に架橋させた。その後、NaClの推奨添加によってオスモル濃度を調節し、200~400mOsm/kgの溶液オスモル濃度を得た。溶液をフラスコに満たし、気体を通さないように塞いだ。

40

【実施例6】

【0065】

肛門括約筋および尿道括約筋の増大のための調製物

肛門管で自然に発生する緩衝作用を補うことによって肛門失禁を防ぐため、内肛門括約筋の増大にチオール基含有ポリマーが使用されてきた。尿道括約筋を増大するためにも、同じ調製物が使用された(US 5,785,642参照)。失禁は、特に妊娠後に骨盤底が著しく弱くなった女性にとって、しばしば起こる問題である。常套法によって骨盤底筋を強化できないならば、尿道増大のための物質の注入が良好な代替法である。

50

【 0 0 6 6 】

括約筋増大のための調製物を以下のように調製した。無菌のチオール基含有キトサン 5 g を、pH 6.5 である無菌ホウ酸緩衝剤 100 ml に、無菌状態で溶解し、部分的に架橋させた。NaCl の添加によって、オスモル濃度を 200 ~ 400 mosm/kg に調節した。溶液を注射器に満たした。

【実施例 7】

【 0 0 6 7 】

架橋チオール基含有ヒアルロン酸単相調製物および架橋ヒアルロン酸粒子含有調製物の酵素分解

チオール基含有ポリマー、特にチオール基含有ヒアルロン酸の別の利点を、この実施例で示す。チオール基含有ヒアルロン酸および架橋ヒアルロン酸粒子含有市販調製物は、ヒアルロニダーゼによって分解される。いずれの場合も、ヒアルロン酸は分解された。その分解は、チオール基含有ヒアルロン酸の場合、未変性ヒアルロン酸と同程度であり、生成断片は、架橋ヒアルロン酸含有粒子よりはるかに大きい分子量を示す。このことは、ジスルフィド架橋が酵素によって分解されず、架橋度が、架橋ヒアルロン酸粒子よりはるかに高いという事実に由来する。従って、本発明の架橋チオール基含有ヒアルロン酸は、架橋ヒアルロン酸粒子より投与部位により長く留まる。

10

【図 1】

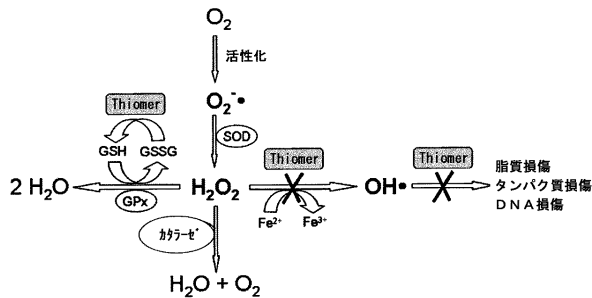


図 1

【図 3】

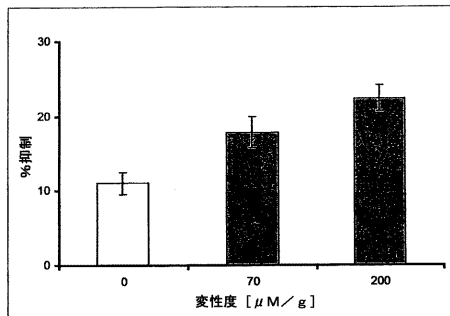


図 3

【図 2】

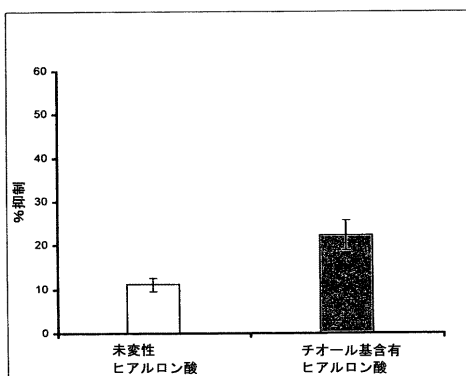


図 2

【図 4】

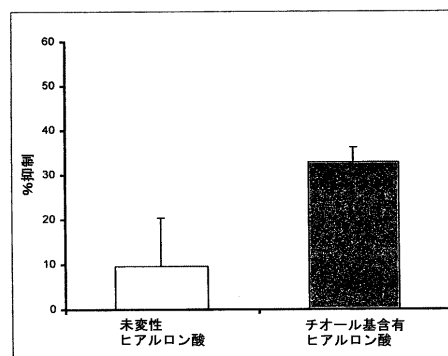


図 4

フロントページの続き

(74)代理人 100156144

弁理士 落合 康

(72)発明者 マルギット・ホルノーフ

オーストリア、アー - 1180 ヴィエンナ、ゲンツガッセ10番

審査官 関 景輔

(56)参考文献 特表平08-507713(JP,A)

米国特許出願公開第2007/0087059(US,A1)

国際公開第00/016818(WO,A1)

BERNKOP-SCHNURCH,A. et al, Thiolated chitosans, EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS, 2004年, Vol.57, No.1, p.9-17

XIAO ZHENG SHU et al, Disulfide Cross-Linked Hyaluronan Hydrogels, BIOMACROMOLECULE, 2002年, Vol.3, p.1304-1311

社団法人 日本薬学会 薬学用語解説, 2006年 5月29日, [平成24年12月7日検索、Internet archiveのWAYBACKMACHINE (<http://archive.org/index.php>) で取得], インターネット<URL :<http://web.archive.org/web/20060529185639/http://www.pharm.or.jp/dictionary/wiki.cgi?%e6%8a%97%e9%85%b8%e5%8c%96%e5%89%a4>> ,

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61L 27/00

CA(STM)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)