



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201210601 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：100127126

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 07 月 29 日

(51)Int. Cl. : A61K31/5575 (2006.01)

A61K31/5578 (2006.01)

A61P17/02 (2006.01)

(30)優先權：2010/07/30 美國

61/369,232

2010/12/02 美國

61/419,115

(71)申請人：歐樂根公司 (美國) ALLERGAN, INC. (US)

美國

(72)發明人：姜廣良 JIANG, GUANG L. (CN)；伊姆 華 賓 IM, WHA BIN (US)；貝丁菲爾德
佛德瑞克 C BEDDINGFIELD, FREDERICK C. (US)；惠勒 賴瑞 A WHEELER,
LARRY A. (US)；懷特卡 史考特 M WHITCUP, SCOTT M. (US)；柏克 羅伯特
M BURK, ROBERT M. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：26 項 圖式數：8 共 41 頁

(54)名稱

用於皮膚修復之化合物及方法

COMPOUNDS AND METHODS FOR SKIN REPAIR

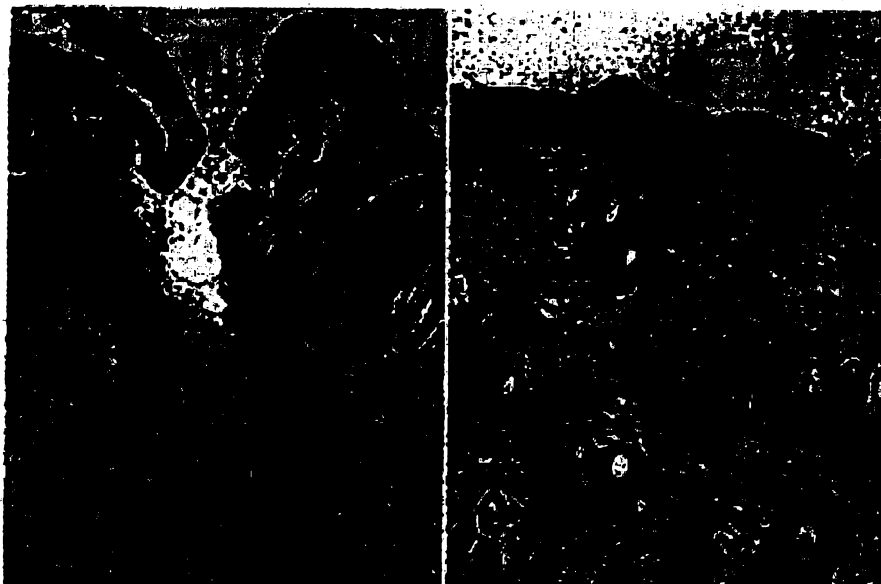
(57)摘要

本發明提供一種用於治療皮膚瑕疵之組合物及方法。該等組合物包括治療上有效量之用於治療皮膚瑕疵(如傷口、疤痕及皺紋)之化合物。

手術後72小時

媒劑

化合物1





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201210601 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：100127126

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 07 月 29 日

(51)Int. Cl. : A61K31/5575 (2006.01)

A61K31/5578 (2006.01)

A61P17/02 (2006.01)

(30)優先權：2010/07/30 美國

61/369,232

2010/12/02 美國

61/419,115

(71)申請人：歐樂根公司 (美國) ALLERGAN, INC. (US)

美國

(72)發明人：姜廣良 JIANG, GUANG L. (CN)；伊姆 華 賓 IM, WHA BIN (US)；貝丁菲爾德
佛德瑞克 C BEDDINGFIELD, FREDERICK C. (US)；惠勒 賴瑞 A WHEELER,
LARRY A. (US)；懷特卡 史考特 M WHITCUP, SCOTT M. (US)；柏克 羅伯特
M BURK, ROBERT M. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：26 項 圖式數：8 共 41 頁

(54)名稱

用於皮膚修復之化合物及方法

COMPOUNDS AND METHODS FOR SKIN REPAIR

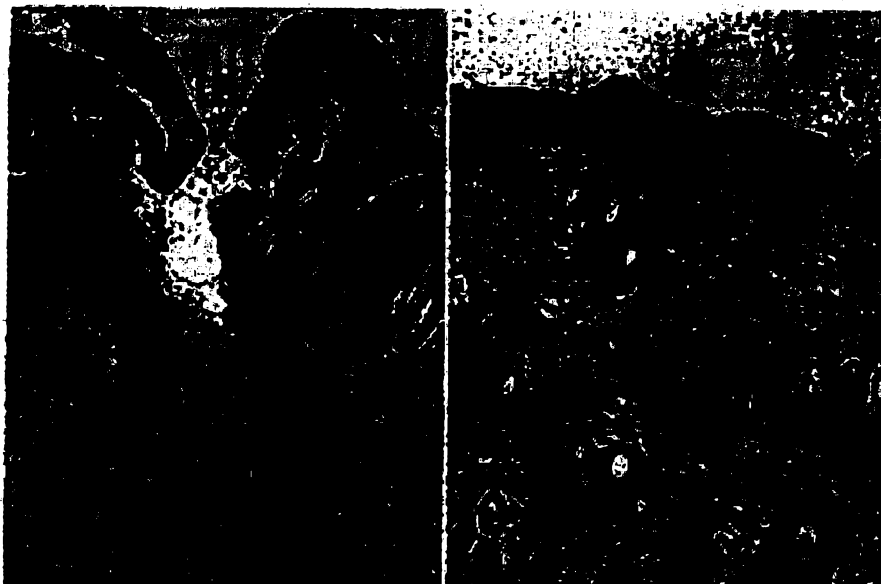
(57)摘要

本發明提供一種用於治療皮膚瑕疵之組合物及方法。該等組合物包括治療上有效量之用於治療皮膚瑕疵(如傷口、疤痕及皺紋)之化合物。

手術後72小時

媒劑

化合物1



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明大體上係關於一種用於傷口癒合之組合物及方法，且特定言之係關於一種EP4激動劑於傷口癒合、疤痕減少、及皮膚修復中之治療用途。

本申請案主張2010年7月30日申請之美國臨時申請案第61/369,232號及2010年12月2日申請之美國臨時申請案第61/419,115號之權利，該等案件之揭示內容均以全文引用的方式併入本文中。

【先前技術】

類前列腺素EP4受體係介導前列腺素E₂(PGE₂)之作用之G蛋白偶聯受體，且其特徵為相比於其他類前列腺素受體係最長的細胞內C端環。雖然EP4受體亦參與其他途徑，但是EP4受體主要係偶聯至G蛋白並介導cAMP濃度之升高。在EP2與EP4受體之間存在某些功能冗餘。例如，兩種受體均藉由cAMP引起由PGE₂介導之RANKL。然而，EP2與排卵及受精時之卵丘膨脹有關，而EP4調節動脈導管之閉合。EP4受體之表現受多個生理及病理生理過程控制，因為此等受體尤其參與排卵及受精，誘導骨形成，預防發炎性腸病，促進蘭格罕(Langerhans)細胞遷移及成熟，並在膠原蛋白誘導之關節炎模型中介導關節炎症。

諸如皮肉傷口、疤痕及皺紋之皮膚瑕疵可在任何身體部位出現。疤痕可在局部或全身創傷(如機械損傷、手術、燒傷、輻射及中毒)之後於成人身體之所有部位出現，且

代表在傷口部位恢復正常結構之穩態過程的失敗。皺紋因各種原因而出現且係常見之老化跡象。疤痕及老化跡象通常皆可被認為係非所欲。

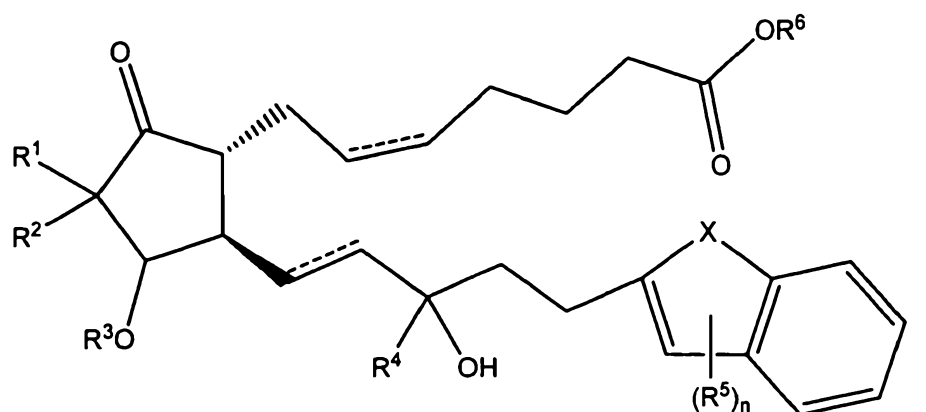
因此，急切需要一種安全且有效治療或預防該等皮膚瑕疵之藥劑。

【發明內容】

本發明提供一種用於傷口癒合及減少疤痕之組合物及方法。本發明組合物及方法包括至少一種本文所述之EP4激動劑。可藉由本發明組合物及方法治療之傷口及/或疤痕可自諸如手術、外傷、疾病、機械損傷、燒傷、輻射、中毒、及類似者之事件產生。

在本發明之一實施例中，提供一種用於治療皮膚瑕疵之方法。可藉由(例如)對有此需要之個體投與治療上有效量之至少一種EP4激動劑進行該等方法，由此治療該皮膚瑕疵。

在一實施例中，提供一種用於使傷口癒合之方法，其包括對有此需要之個體投與包含治療上有效量之具有以下結構之化合物之組合物：

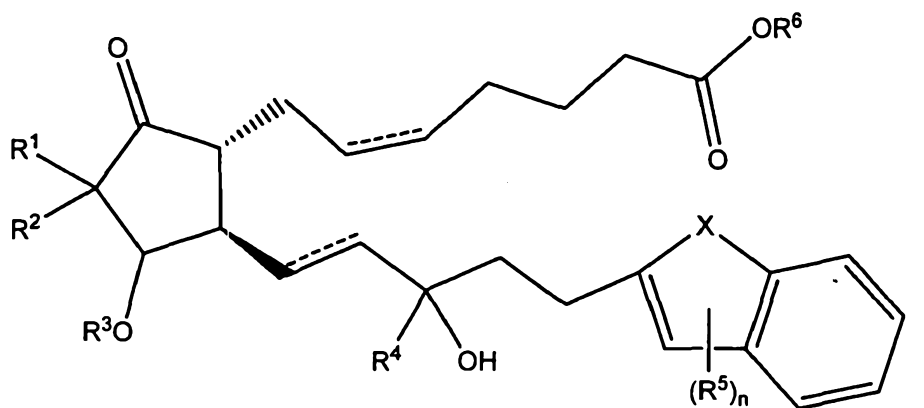


其中各虛線表示存在或不存在雙鍵；

R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各獨立地選自H及 C_1 - C_6 直鏈烷基；

R^5 係鹵素、 C_1 - C_6 烷基、或 C_1 - C_6 烯基； R^6 係H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、其鹽、或其胺；n係0至7；且X係S或O。

在另一實施例中，提供一種用於治療皮肉傷口之方法，其包括投與包含治療上有效量之具有以下結構之化合物之組合物：



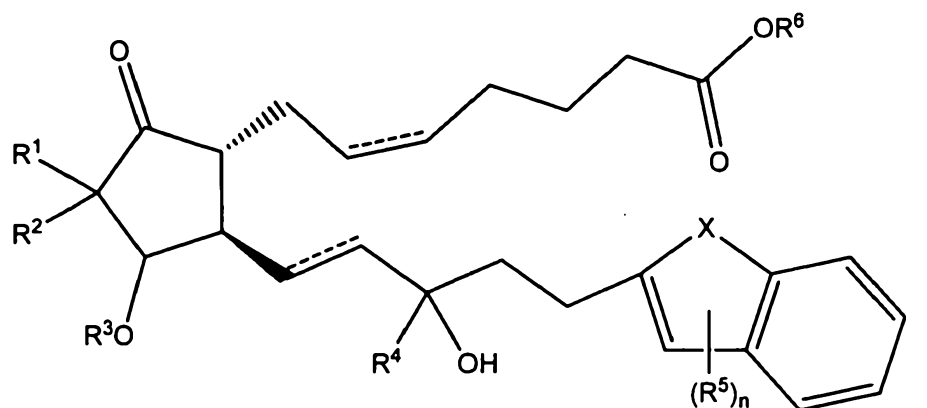
其中各虛線表示存在或不存在雙鍵；

R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各獨立地選自H及 C_1 - C_6 直鏈烷基；

R^5 係鹵素、 C_1 - C_6 烷基、或 C_1 - C_6 烯基； R^6 係H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、其鹽、或其胺；n係0至7；且X係S或O，

其中該傷口比不投與該組合物時更正常癒合。

在又一實施例中，提供一種減少皺紋出現之方法，其包括對該皺紋投與包含治療上有效量之具有以下結構之化合物之組合物：



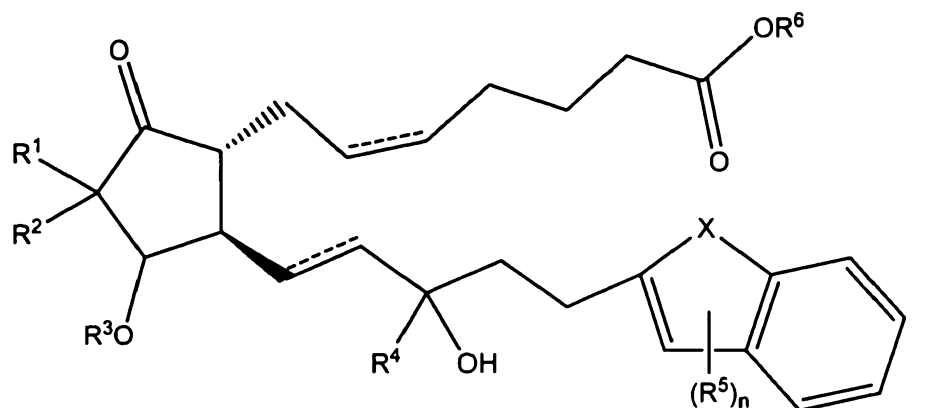
其中各虛線表示存在或不存在雙鍵；

R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各獨立地選自H及 C_1 - C_6 直鏈烷基；

R^5 係鹵素、 C_1 - C_6 烷基、或 C_1 - C_6 烯基； R^6 係H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、其鹽、或其胺； n 係0至7；且X係S或O，其中該皺紋之出現減少。

【實施方式】

本文揭示用於傷口癒合及減少疤痕之組合物及方法。在一實施例中，本文所述之組合物包括具有以下通式結構之化合物：



其中各虛線表示存在或不存在雙鍵；

R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各獨立地選自H及 C_1 - C_6 直鏈烷基；

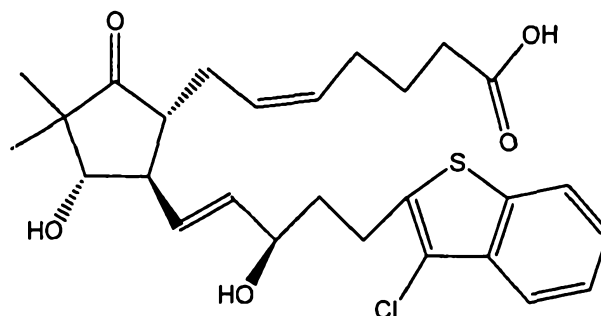
R^5 係鹵素、 C_1 - C_6 烷基、或 C_1 - C_6 烯基； R^6 係H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、其鹽、或其胺； n 係0至7；且X係S或O。

在某些實施例中， R^4 係H， R^3 係H，且X係S。

在另一實施例中， R^1 及 R^2 係 CH_3 。

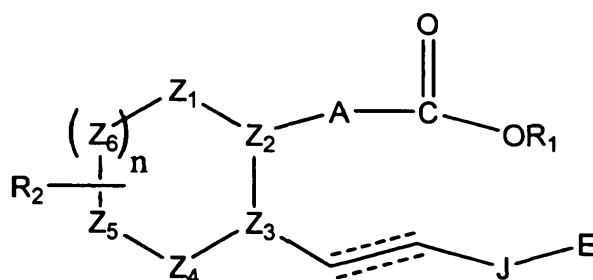
在又一實施例中， R^5 係Cl。

在另一實施例中，該化合物係：



化合物 1

在另一實施例中，本發明組合物包括至少一種具有以下結構之EP4激動劑：



其中：

Z_1 至 Z_6 各獨立地為C、N、O、或S；

A係 $-(CH_2)_6-$ 、或順式 $-CH_2CH=CH-(CH_2)_3-$ ，其中1或2個碳可經S或O取代；或

A係 $-(CH_2)_m-Ar-(CH_2)_o-$ ，其中Ar係伸芳基或伸雜芳基，m及o之總和係1至4，且其中一個 CH_2 可經S或O取代；

R_1 係H、烷基、環烷基、氧烷基、羥烷基、烯基、氧

烯基、或羧烯基；

R_2 係烷基、羧基、鹵離子、或側氧基；

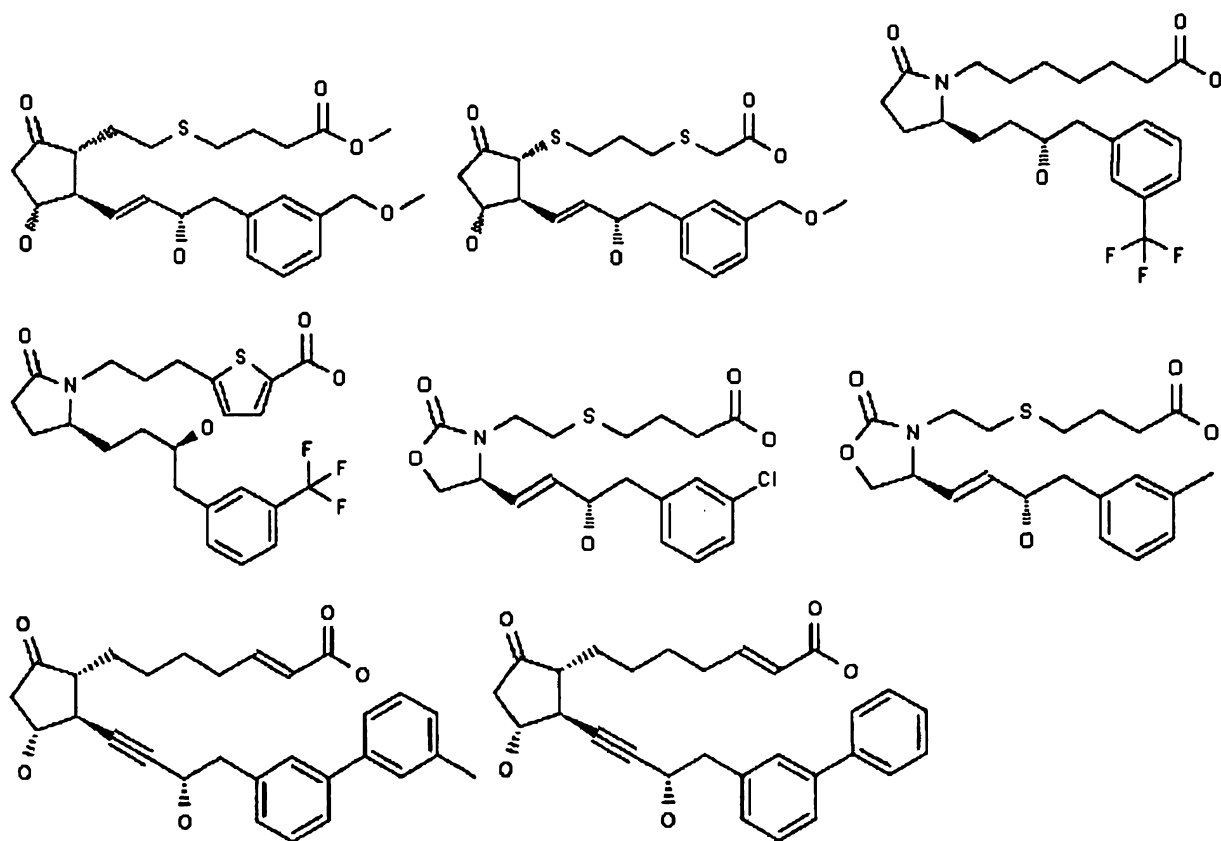
J係烷基、環烷基、氧烷基、羧烷基；

E係 C_{1-12} 烷基、 R_3 、或 $-Y-R_3$ ，其中 Y 係 CH_2 、S、或 O，且 R_3 係芳基或雜芳基；

n 係 0 或 1；

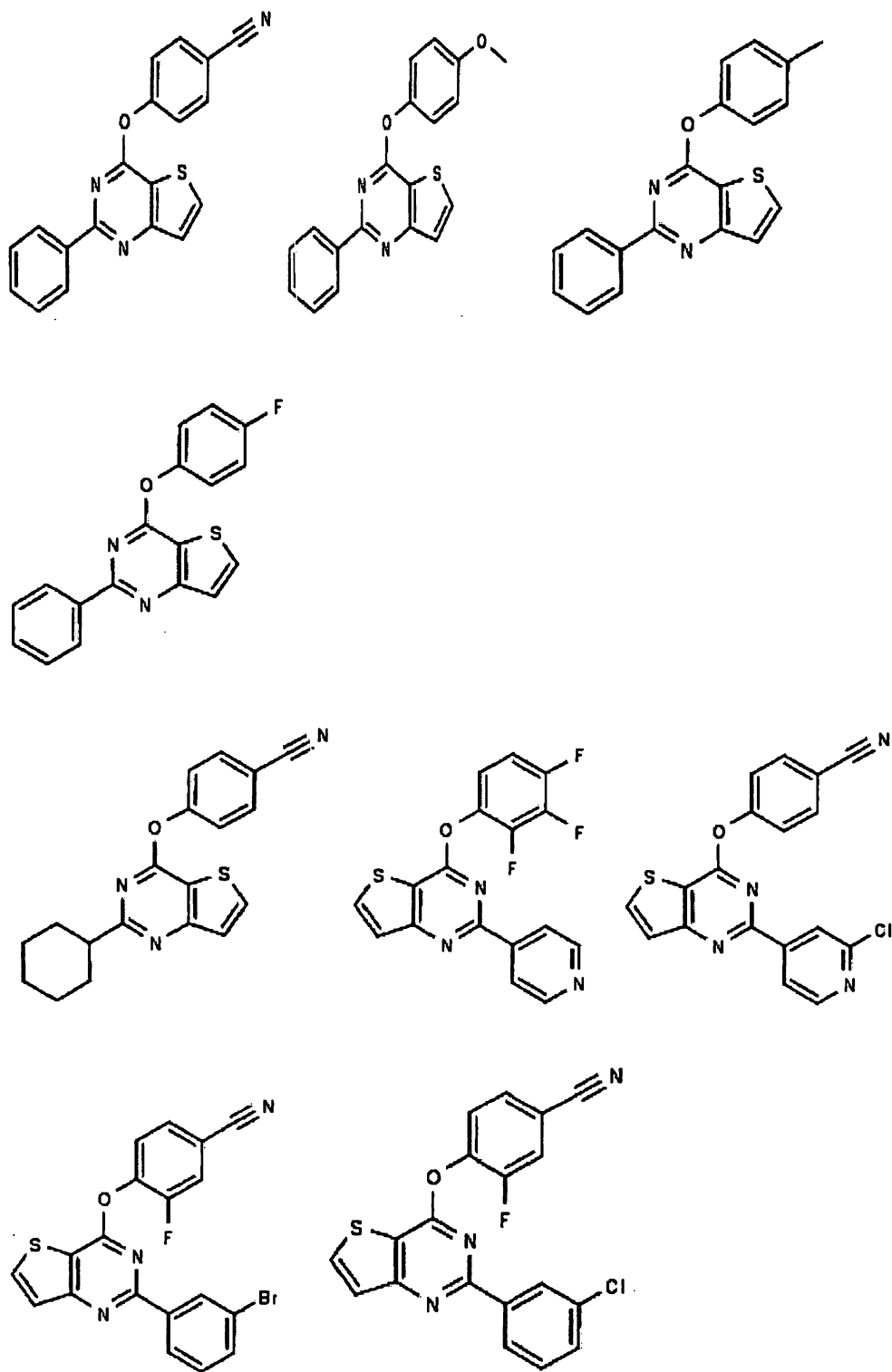
且其中虛線表示存在或不存在鍵。

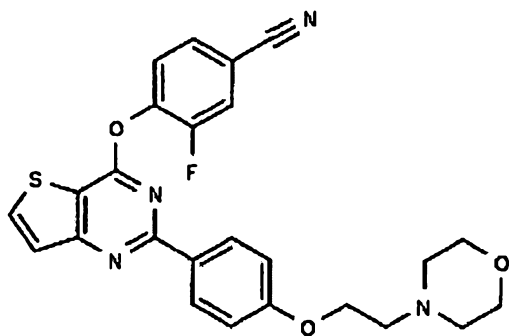
在本發明之另一實施例中，提供一種用於治療皮膚瑕疵之方法，其包括投與包含治療上有效量之至少一種具有以下結構之化合物之組合物：



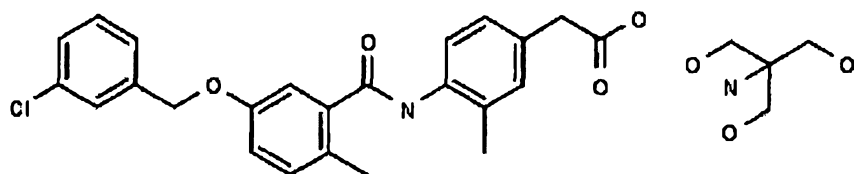
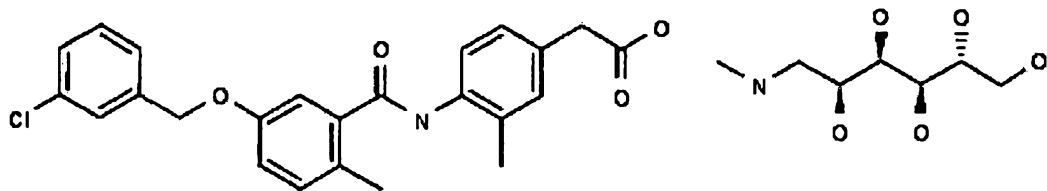
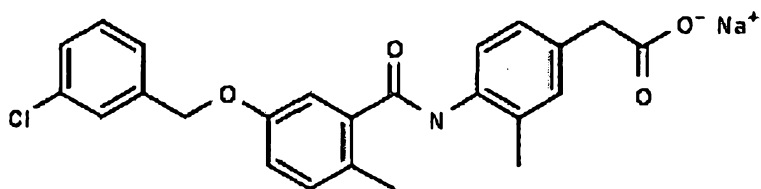
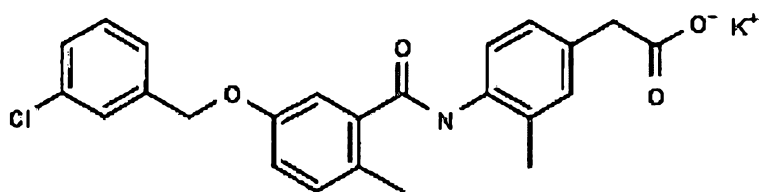
在本發明之另一實施例中，提供一種用於治療皮膚瑕疵之方法，其包括投與包含治療上有效量之至少一種具有以

下結構之化合物之組合物：





在本發明之另一實施例中，提供一種用於治療皮膚瑕疵之方法，其包括投與包含治療上有效量之至少一種具有以下結構之化合物之組合物：



製備所揭示之化合物及適用於本文所揭示之方法中之其

他化合物之方法可參見(例如)Donde等人，10,10-Dialkyl Prostanoid Acid Derivatives as Agents for Lowering Intraocular Pressure，美國專利6,875,787；Donde等人，10,10-Dialkyl Prostanoid Acid Derivatives as Agents for Lowering Intraocular Pressure，美國專利公開案2004/0235958；Donde等人，Treatment of Inflammatory Bowel Disease，美國專利公開案2005/0164992，其等各以全文引用的方式併入本文中。

本文使用之術語「皮膚瑕疵」包括在身體皮膚之任何部位上之皮肉傷口、疤痕、或皺紋。

「皮肉傷口」可係其中皮膚外表面之結構完整性受到損害之任何區域。皮肉傷口可源於皮膚之切口、裂傷、擦傷、熱燒傷、化學燒傷、輻射或刺傷。該傷口可在表皮上或延伸至更深的真皮層、皮下、深筋膜、肌肉、骨骼或其他內部器官。

「疤痕」係在受傷或疾病後置換正常皮膚(或其他組織)之纖維組織(纖維化)區域。疤痕類型包括肥厚性疤痕、凹陷性疤痕、及妊娠紋。當身體產生過多膠原蛋白時，出現肥厚性疤痕，其導致疤痕相對於周圍皮膚凸起。肥厚性疤痕之一實例係癢痕疙瘩疤痕。萎縮性或凹陷性疤痕具有凹陷的外觀，且在失去皮膚中之底層支撐結構時產生。當皮膚被迅速拉伸(即由於體重明顯增加或生長陡增)時，或當皮膚在癒合過程中處於張力下(通常係靠近關節)時，出現妊娠紋(皮紋)。本文使用之術語「疤痕」涵蓋源於任何原

因之皮膚中之任何類型的疤痕。

本文使用之術語「皺紋」係可由習慣性臉部表情、由於老化、太陽曬傷、吸煙、水合不良、及各種其他因素而損失膠原蛋白及/或彈性所造成皮膚中之褶、脊、褶痕、凹痕、坑、凹坑、或凹陷區域。皺紋範圍可係深褶痕至細紋。皺紋出現在身體之任何部份，特定言之本文預期在個體之頭部或頸部上之皺紋。可根據本發明治療之皺紋包括(但不限於)抬頭紋、魚尾紋、法令紋、一或多種眼下或眉間之細紋、及其組合。

本文使用之「治療」意指暫時或永久地減輕(或消除)皮膚瑕疵之一或多個特徵。當投與該等組合物以治療傷口時，相比於未經投與之傷口，該等組合物促進正常癒合。意即，經治療之傷口之尺寸(長度、深度、高度及/或寬度)、特性、顏色及/或紋理更接近正常的無傷組織。就此而言，用所揭示之組合物治療傷口可預防、減小或改善因該傷口癒合所導致出現疤痕形成。此外，當投與所揭示之組合物以治療皺紋時，如果視覺上或臨床上減少該皺紋之出現或突出，則該皺紋係經治療。意即，相比於治療前之皺紋，縮短長度及/或深度。或者，治療可包括預防皺紋。就此而言，將所揭示之組合物施用至通常會發展成皺紋之皮膚之區域，如前額、唇、眼瞼、鼻唇溝、眼下或眉間皮膚，以預防皺紋之發展。

可投與所揭示之組合物以預防與傷口無關之疤痕形成，如妊娠紋、或由痤瘡、水痘、麻疹或其他疾病狀態造成之

疤痕。在某些實施例中，將所揭示之組合物投與至皮膚擴張之區域，以預防此疤痕之形成。在此等實施例中，將該組合物投與至臉部、腹部、胸部、手臂、腿部、臀部、背部、或皮膚易發展成疤痕之任何其他部位之任何區域。

可在皮膚瑕疵發展之前、與此同時及/或在其之後，投與該等組合物。例如，可切口之前、在手術過程中、及/或手術後之任何時間投與所揭示之組合物，且隨後在手術後於癒合過程發生時另外投與。在另一實例中，在懷孕期間投與該等組合物，以預防妊娠紋。或者，可在瑕疵發展之後投與該等組合物。

可每週投與該等組合物1至7天，持續實現所需結果所必需之一段時間，其可係數天或數月。可根據所需效果，每天投與該等組合物一次或數次(2、3、4、或更多次)。在某些實施例中，可每隔1、2、3、4、5、6、或7天投與該等組合物。在另一實施例中，可每隔1、2、3、或4週投與該等組合物一或多次。該投藥法可係每月一次或每兩月一次。此外，可投與該等組合物達1、2、3、6、9、或12個月或更久。在某些實施例中，可持續投與該等組合物，以保持所需結果。

所揭示之化合物可作為組合物之部份來投與。本文使用之「調配物」及「組合物」可互換使用且係指因特定目的而一起呈現之元素之組合。此等術語係一般技藝者所熟知。

本文使用之「載劑」、「惰性載劑」及「可接受載劑」可

交換使用且係指可與本發明化合物組合以提供所需組合物之載劑。一般技藝者將明瞭用於製備特定醫藥及/或化妝品組合物已熟知之諸多載劑。理想地，該載劑適於施用至身體之角質表面或其他部位。施用時，可接受載劑實質上無與皮膚及其他角質表面之不良反應。例如，該等載劑可採取脂肪或非脂肪乳霜、乳狀懸浮液或油包乳液或水包油類型、洗劑、凝膠或膠質、膠狀或非膠狀水性或油性溶液、糊劑、氣溶膠、可溶錠劑或棒狀物之形式。根據一實施例，該組合物包括皮膚上相容之媒劑或載劑。可用於製備組合物之媒劑可包括(例如)水溶液(例如，生理鹽水)、油溶液或軟膏。該媒劑可另外可含有皮膚上可相容之防腐劑(例如，氯化苺二甲烴銨)、界面活性劑(例如，聚山梨醇酯80)、脂質體或聚合物(例如，甲基纖維素、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮)及玻尿酸，此等可用於增加黏度。

可含於本發明組合物中之其他藥劑之實例係止癢劑、消脂劑、抗結疤劑、及消炎劑、麻醉劑、抗刺激劑、血管收縮劑、血管擴張劑、及用於預防/止血及改善/移除色素沉著之藥劑、保濕劑、去角質劑、張力調節劑、抗痤瘡劑。止癢劑可包括甲基磺醯基甲烷、碳酸氫鈉、爐甘石、尿囊素、高嶺土、薄荷、茶樹油及其組合。消脂劑可包括毛喉素(forskolin)、黃嘌呤化合物(例如(但不限於)咖啡因、茶鹼、可可鹼、及胺茶鹼)、及其組合。麻醉劑可包括利多卡因(lidocaine)、苯唑卡因(benzocaine)、胺苯丁酯(butamben)、二丁卡因(dibucaine)、奧布卡因

(oxybuprocaine)、普莫卡因(pramoxine)、丙美卡因(proparacaine)、丙氧間卡因(proxymetacaine)、丁卡因(tetracaine)、及其組合。抗結疤劑可包括IFN- λ 、氟尿嘧啶、聚(乳酸-共-乙醇酸)、甲基化聚乙二醇、聚乳酸、聚乙二醇及其組合。消炎劑可包括地塞米松(dexamethasone)、強的松龍(prednisolone)、皮質酮(corticosterone)、布地奈德(budesonide)、雌激素、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)、美沙拉嗪(mesalamine)及其衍生物及其組合。此外，可包括諸如腎上腺素、胸苷、胞苷、尿苷、安替比林(antipyrin)、胺基己酸、胺甲環酸、桉油精、尿囊素、甘油、及亞硒酸鈉之活性劑。調配物可另外包括降解抑制劑。降解抑制劑包括(但不限於)醣胺聚糖(例如，肝素、硫酸肝素、硫酸皮膚素、硫酸軟骨素、O-硫酸化HA、亞麻苦苷、及苦杏仁苷)、抗氧化劑(例如，抗壞血酸、褪黑素、維生素C、維生素E)、蛋白質(例如，血清玻璃尿酸酶抑制劑)、及脂肪酸(例如，飽和C₁₀至C₂₂脂肪酸)。在某些實施例中，其他活性劑係抗氧化劑。在某些實施例中，該抗氧化劑包括維生素C及/或維生素E，如d- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯(TPGS)。

所揭示之組合物極適於局部、皮下、皮內、真皮下、皮下、及穿皮式投與。局部投與係關於組合物施用至皮膚瑕疵部位處之皮膚表面，以發揮局部作用之用途。因此，此等局部用組合物包括彼等其中藉由與待治療之皮膚表面(如臉部、頸部、手臂、腿部、及/或軀幹)直接接觸外部施

用該組合物之醫藥或化妝品形式。用於此目的之習知醫藥或化妝品形式包括軟膏、搽劑、乳霜、洗髮水、洗劑、糊劑、膠質、噴霧劑、氣溶膠、及類似物，且另外可根據待治療之瑕疵及皮膚部位直接或以貼片或浸漬敷料之形式施用。術語「軟膏」包括具有油質、水溶性及乳液類型基質(例如，凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、及其混合物)之調配物。

該等組合物亦適用於中胚層療法(mesotherapy)應用。中胚層療法係一種涉及表皮內、真皮內、及/或皮下注射組合物之非手術性美容治療技術。該等組合物係以進入表皮、真皮-表皮接面處、及/或真皮中之多個液滴形式投與。

根據本發明，醫藥或化妝品組合物可視需要包括一或多種藥劑，例如(但不限於)乳化劑、潤濕劑、甜味劑或調味劑、滲透調節劑、防腐劑、緩衝劑、抗氧化劑及類黃酮。適用於本發明醫藥組合物之滲透調節劑包括(但不限於)鹽類，如乙酸鈉、氯化鈉、氯化鉀、甘露糖醇或甘油及其他醫藥上可接受的滲透調節劑。適用於本文所述之醫藥組合物之防腐劑包括(但不限於)氯化苄二甲胺、氯丁醇、硫柳汞、乙酸苯汞、及硝酸苯汞。可使用多種用於調節pH之緩衝劑及方法來製備醫藥組合物，其包括(但不限於)乙酸鹽緩衝劑、檸檬酸鹽緩衝劑、磷酸鹽緩衝劑及硼酸鹽緩衝劑。類似地，適用於醫藥組合物之抗氧化劑係相關技術中已熟知且包括(例如)焦亞硫酸鈉、硫代硫酸鈉、乙醯半胱

胺酸、丁基化羥基苯甲醚及丁基化羥基甲苯。類黃酮係已知具有多種有益的生物化學及抗氧化作用之發現於植物中之化合物。類黃酮之子類包括：黃酮、黃酮醇、黃烷酮及黃烷酮醇。類黃酮之實例包括：毛地黃黃酮、芹菜素、柑桔黃酮、槲精、槲非醇、楊梅素、漆樹黃、異鼠李亭、藿香黃酮醇、鼠李嗪、橙皮素、柚皮素、聖草酚、高聖草素、花旗松素、二氫槲精、二氫槲非醇、單寧酸、單寧、縮合單寧、及水解單寧。應瞭解，本文所揭示之醫藥或化妝品組合物中可包括相關技術中已知之此等及其他物質。

本文使用之術語「治療上有效量」意指將引起有需要之個體之生物、醫學、或美容回應之醫藥或化妝品組合物之量，該回應正係研究者、獸醫、內科醫師或其他臨床醫師所尋求。在某些實施例中，有需要之個體係哺乳動物。在某些實施例中，該哺乳動物係人類。化合物之有效量可由一般技藝者確定，但將根據所使用之化合物、施用頻率及所需結果而變化，且一般將佔該組合物的約0.0000001重量%至約50重量%，較佳佔總組合物的約0.001重量%至約50重量%，更佳佔該組合物的約0.001重量%至約30重量%。在某些實施例中，該化合物係佔該組合物的約0.004重量%。

可至少以實現所需治療效果所必需之最小劑量投與本文所述之化合物。一般而言，此劑量將在約1 mg/天至約1000 mg/天之範圍內，更佳在約10 mg/天至約500 mg/天之範圍內。在另一實例實施例中，該化合物或該等化合物可

以約 0.0001 mg/kg/天至約 100 mg/kg/天或約 0.01[□]mg/kg/天至約 100 mg/kg/天之範圍存在於組合物或調配物中。然而，在任何特定情況下待投與之化合物之實際用量將由醫生根據相關情況(如患者之年齡及體重、患者之一般身體狀況、皮膚瑕疵之嚴重度、及投藥途徑)來確定。在某些情況下，根據個別情況評估給藥。

此外，可將組合物設計成在既定時間週期內延遲釋放該化合物，或小心控制在治療過程期間之既定時間所釋放之化合物之量。

所揭示組合物之 pH 可係約 3 至約 8.0，或約 6.5 至約 7.5。在某些實施例中，該調配物之 pH 係約 7.0 至約 7.4 或約 7.1 至約 7.3。

本文描述本發明之某些實施例，其包括本發明者已知之實施本發明之最佳模式。當然，此等所述實施例之變化在熟習此項技術者閱讀以上描述之後將變得顯而易見。本發明者希望熟習此項技術者適當使用此等變化，且本發明者期望以除本文特定描述以外之方式實踐本發明。因此，本發明包括適用法律所允許之本文所附申請專利範圍中所述之標的物之所有改良及等效物。此外，除非本文另外說明或與本文內容明顯矛盾，否則本發明涵蓋上述元素之所有可能變化之任何組合。

可使用由其組成或基本上由其組成之語言，在申請專利範圍中進一步限制本文所揭示之具體實施例。當在申請專利範圍中使用時，無論根據修正案申請或補充，連接詞

「由其組成」不包括申請專利範圍中未指定之任何元素、步驟或成分。連接詞「基本上由其組成」將請求項之範圍限於指定材料或步驟及彼等實質上不影響基本及新穎特徵者。本文內在或明確地描述及實現如此主張之本發明實施例。

整篇說明書中所提及之任何專利案及印刷出版物係以全文引用的方式個別地併入本文中。

應瞭解，本文所揭示之本發明實施例係說明本發明之原理。可使用之其他改良係在本發明之範圍內。因此，舉例而言(但非限制性)，可根據本文之教示使用本發明之替代組態。因此，本發明不限於精確所示及所述者。

實例1

化合物1對傷口癒合之作用

切口皮膚傷口模型及評估。用異氟烷將180至200克之Sprague-Dawley大鼠麻醉。剃鬚後，在無菌條件下，作出2 cm長的切口，其到達大鼠背部皮膚上之深筋膜。立即用4-0縫線將傷口縫合。進行14天試驗性研究。用媒劑或0.004%化合物1每天局部治療該等動物兩次。該媒劑含有30%乙醇、12%乙二醇、5%二丙二醇、5%苜醇、3%甘油及45%標準鹽水。每天對傷口拍照，在手術後第2、3、7及14天進行活組織檢查，以進行組織病理學及分子生物學分析。

亦進行類似的皮膚傷口研究，以比較化合物1與TGF- β 3之效果。在此研究中，在剛縫合傷口之前，皮內注射

0.004%化合物1、100 ng/200 μ l TGF- β 3或媒劑。隨後，在第1及2天，再注射TGF- β 3 2次，且在該研究期間，每天局部施用化合物1及媒劑兩次。該媒劑係總注射體積為200 μ l之具有0.1% BSA及4 mM HCl之PBS。在第3、7、14、35及70天，使皮膚傷口成像。

在第3、14及70天，對該傷口組織進行活組織檢查以用於組織病理學研究。爲了觀察該皮膚傷口，製備嵌入石蠟之傷口切片。與馬森(Masson)三色及/或Picosirus紅比較進行常規H&E染色，以使該膠原纖維視覺化。爲了監測皮膚傷口中之肌纖維母細胞，對該等切片進行免疫組織化學染色，以識別 α -平滑肌肌動蛋白。爲了評估傷口外觀，在各項研究結束時，將所有的疤痕照片混合在一起。以0至10級對疤痕嚴重度打分，其中0係不可見，1係最小且10係最嚴重。將各疤痕分成4個經縫合部位分開之區域；對各四分之一區域獨立打分；將4個部份分數之平均值記錄為各傷口之總得分。

在第3天，經化合物1處理之皮膚傷口樣品的80%顯示充滿角質細胞之閉合表皮，而經媒劑處理之傷口僅33%具有閉合表皮(圖1及2)。經媒劑處理之傷口的表皮缺陷之總體尺寸比經化合物1處理之傷口大兩倍(圖1及2)。此表明化合物1處理對表皮層癒合之有益作用。

在皮膚切開後第7天，經化合物1處理之皮膚之表皮層不僅具有接近於附近正常表皮之厚度，而且亦具有類似於正常彈性皮膚結構之表皮皺紋。相比之下，經媒劑處理之皮

膚具有厚度比經化合物1處理之表皮大3倍之表皮增生(圖3)。

嗜中性白血球聚集至受傷部位，作為第一先天性免疫反應。其裂解及趨化因子之釋放吸引其他發炎細胞並增強發炎過程。在第2及3天之切片組織上監測到嗜中性白血球浸潤。化合物1顯著減少傷口部位之多形核細胞浸潤(圖4)。

藉由對來自手術後第2天至第14天之切片之 α -平滑肌肌動蛋白(α -SMA)進行免疫組織化學染色，識別肌纖維母細胞。由對處理不知情的人員進行染色及評估。強 α -SMA信號係定位於大細胞之細胞質，且該等 α -SMA-陽性細胞主要沿傷口部位之真皮層之肉芽組織分佈。在第3天的樣品中，觀察到大量肌纖維母細胞，此顯示其在成人疤痕傷口癒合期間之增殖。相比於媒劑對照($38 \pm 6.15/3$ 個切片)，化合物1處理減少肌纖維母細胞之數量($25.8 \pm 7.45/3$ 個切片)。

在手術後第7及14天，分析皮膚傷口組織之活檢樣品。自傷口兩側獲取約1 mm寬之組織樣品。藉由馬森三色，使第14天之切片之膠原纖維染色。該等疤痕部位含有細、短、輕微染色之膠原纖維，其定位係略平行於表皮，但是一般係呈非結構化方式。在正常真皮中，膠原纖維係厚、長、深度染色，並以籃式編織模式清晰地組織化，其對正常皮膚之彈性及張力顯得十分重要。在疤痕之表面、中間及底部，測量異常纖維帶之寬度。化合物1處理顯著減少疤痕中間及底部部份中之寬度，但是僅顯示減少表面區域之疤痕寬度之趨向(圖5及6A及B)。顯然，經化合物1處理

之動物具有比經媒劑處理之動物更小及更軟之皮膚疤痕及顯著更微小之外觀(圖5及6A及B)。

由於TGF- β 3係主要傷口療法且據報導減少動物及人類之皮膚疤痕，故比較化合物1與TGF- β 3之效果。此處，重點係傷口癒合及疤痕形成之三個時間階段：第3天發炎，第14天總體傷口癒合，及第70天疤痕重塑。在手術後3天，可容易檢測嗜中性白血球浸潤(炎症之標誌)。在三個H&E染色組織切片中，計數嗜中性白血球之數量；其對於媒劑、TGF- β 3或化合物1處理組而言分別係 60.6 ± 30 、 53.8 ± 17 或 31.4 ± 8 。雖然由於樣本較小($n=5$)而在統計上不顯著，但化合物1抑制嗜中性白血球浸潤之趨勢係顯而易見，且與吾人先前之觀察結果一致。

在第14天，對皮膚傷口組織進行Picrosirius紅及馬森三色膠原蛋白染色處理。對於在偏振光下之Picrosirius染色組織而言，I型膠原原纖維呈現黃色且III型膠原蛋白呈現綠色。經媒劑處理之傷口顯示某些間隔的綠色微細原纖維，而非黃色的大原纖維束。TGF- β 3-處理亦在傷口底部具有某些綠色纖維，但化合物1處理顯示幾乎遍佈整個傷口部位之染成黃色之大膠原束，及極少染成綠色的III型膠原蛋白(圖7A及B)。此外，在TGF- β 3處理組及化合物1處理組中，正常原纖維之間的間隙寬度比媒劑處理組顯著更窄($p < 0.05$ ，圖7A及B)。此表明化合物1處理不僅縮小傷口部位之異常結構化間隙，而且亦減少不成熟的III型膠原蛋白。

亦對相同傷口之不同切片進行馬森三色膠原蛋白染色處理。在靠近正常皮膚處之膠原蛋白被染為呈籃式編織網狀圖案定向之深藍色厚束。在傷口部位處之獨特區域被染色為平行於表皮之細、薄膠原纖維。在正常與異常區域之間的劃分非常明顯。TGF- β 3及化合物1處理組中之異常結構化真皮區域之寬度比媒劑處理組顯著更小($p<0.01-0.05$ ，圖7A及B)。

在後期階段之皮膚傷口經歷重塑。在手術後第70天，傷口部位顯示與彼等在手術後14天所見者不同的膠原蛋白染色特徵。在Picrosirius紅染色切片上，媒劑處理組中之傷口間隙現充滿呈平行定向之密集、紅色、細纖維。在TGF- β 3及化合物1處理組中，該等異常區域大多不存在。相反地，觀察到比經媒劑處理之皮膚更多的呈籃式編織圖案之黃色厚膠原纖維束。

馬森三色染色亦展現疤痕重塑之時間變化。在第70天，疤痕區域比第14天更密集地充滿細薄膠原纖維。正常與異常區域之間的劃分變得比第14天更顯著。TGF- β 3及化合物1處理組中之殘留疤痕區域之尺寸比媒劑處理組明顯更小。化合物1之效果比TGF- β 3更明顯($p<0.01-0.05$ ，圖8)。

此外，在手術後70天，監測傷口部位之宏觀表面外觀。在媒劑處理中，傷口部位被白色、有光澤、緊實、略凸起的疤痕代替。TGF- β 3處理雖然比媒劑處理改善許多，但仍顯示傷口痕跡。在經化合物1處理時，如果不是組織上的兩個指示標記，甚至檢測不到傷口部位。

實例 2

化合物 1 對膠原蛋白產生之影響

在培養的人類胎兒及成人皮膚纖維母細胞中，評估化合物 1 對膠原蛋白產生之影響。胎兒皮膚纖維母細胞係自懷孕 14 週胎兒之正常皮膚產生(購自 ATCC(CRL-7129))。成人皮膚纖維母細胞係自 61 歲白人女性之正常皮膚獲得(購自 ATCC(CRL-7346))。在 37°C 及 5% CO₂ 之培養器中，於經 10% 胎牛血清及 1% 鏈黴素及青黴素補充之 DMEM 培養基中培養兩種細胞。將細胞以 1×10^6 個細胞/盤接種於 10 cm 盤中。當該等細胞變成 80% 匯合時，分別將媒劑或化合物 1 以 0 或 10 nM 最終濃度添加至培養基中。首先將化合物 1 溶於 DMSO 中，且最終的 DMSO 濃度係 0.1%。分別在處理後 10、30、60、120 分鐘及 24 小時，收集細胞裂解液。在 4 至 10% SDS-PAGE 上，對蛋白質進行定量及解析。隨後，藉由電泳將該等蛋白質轉移至膜上。用鼠抗-Akt 或 pAkt 及與 AP 結合之抗鼠 IgG 之第二抗體(購自 Signal transduction)阻斷該等膜。

胎兒皮膚纖維母細胞係自懷孕 14 週胎兒之正常皮膚產生，且購自 ATCC(CRL-7129)。成人皮膚纖維母細胞係自 61 歲白人女性之正常皮膚獲得，且購自 ATCC(CRL-7346)。在 37°C 及 5% CO₂ 之培養器中，於經 10% 胎牛血清及 1% 鏈黴素及青黴素補充之 DMEM 培養基中培養兩種細胞。將細胞以 1×10^6 個細胞/盤接種於 10 cm 盤中。當該等細胞變成 80% 匯合時，歷時 48 小時將具有或不具有 Akt 抑制

劑(5 μ M)之化合物1或媒劑添加至培養基中。對於劑量反應研究而言，在0、3或10 nM之濃度下，處理該等細胞48小時。如上收集細胞裂解液並解析蛋白質。第一抗體係鼠抗I型膠原蛋白(Millipore)。此係僅與天然非變性膠原蛋白I相互作用，而與III、V及VI型膠原蛋白或結締組織蛋白無交叉反應性之單株IgG1抗體。

在經化合物1處理之胎兒及成人皮膚纖維母細胞中，I型膠原蛋白的產量增加。(參見表1)。

表 1

	媒劑	化合物1
胎兒皮膚纖維母細胞	100%	200%
成人皮膚纖維母細胞	100%	128%

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100127126

※申請日：100.7.29

※IPC 分類：~~C07D~~ A61K 31/5575 (2006.01)
A61K 31/5578 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

用於皮膚修復之化合物及方法

COMPOUNDS AND METHODS FOR SKIN REPAIR

二、中文發明摘要：

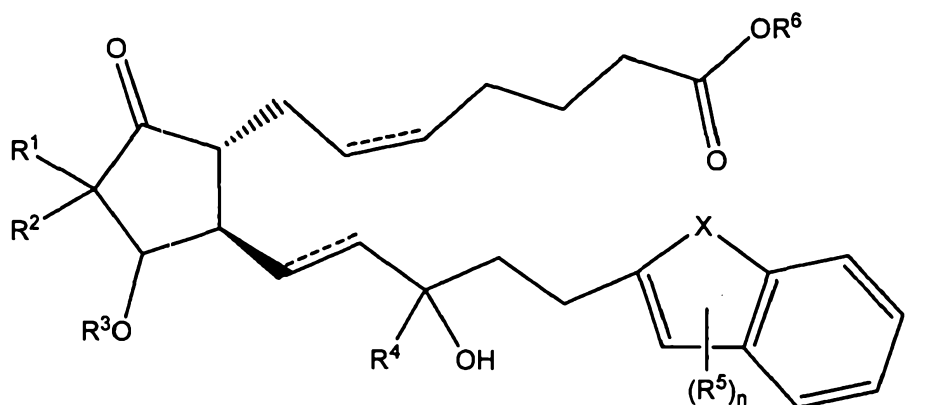
本發明提供一種用於治療皮膚瑕疵之組合物及方法。該等組合物包括治療上有效量之用於治療皮膚瑕疵(如傷口、疤痕及皺紋)之化合物。

三、英文發明摘要：

The disclosure provides compositions and methods for treating a skin blemish. The compositions comprise a therapeutically effective amount of a compound useful for treating skin blemishes such as wounds, scars and wrinkles.

七、申請專利範圍：

1. 一種治療皮膚瑕疵之方法，其包括投與包含治療上有效量之具有以下結構之化合物之組合物：



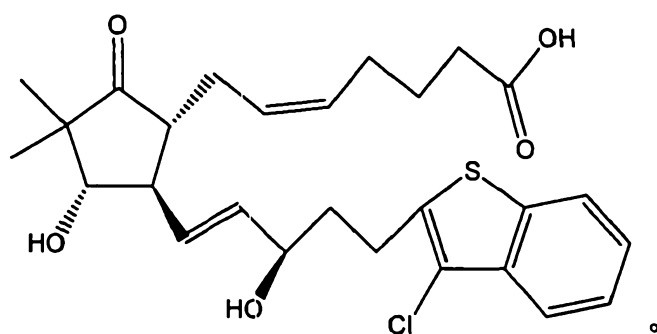
其中各虛線表示存在或不存在雙鍵；

R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各獨立地選自H及 C_1 - C_6 直鏈烷基；

R^5 係鹵素、 C_1 - C_6 烷基、或 C_1 - C_6 烯基； R^6 係H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、其鹽、或其胺；n係0至7；且X係S或O，

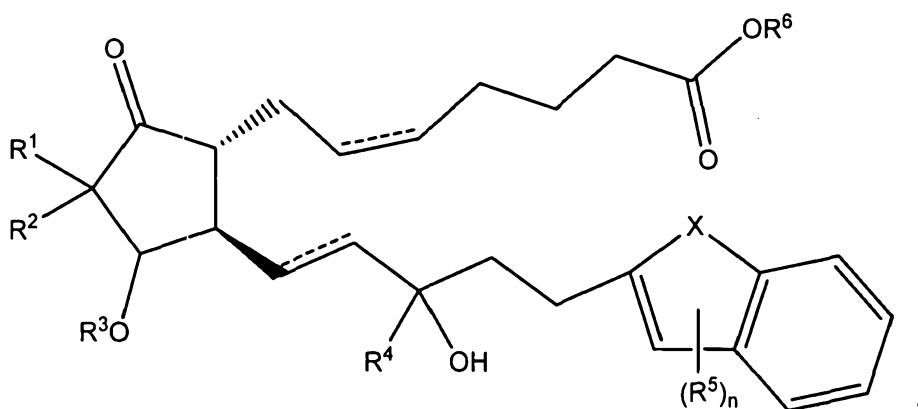
其中該投藥法係治療該皮膚瑕疵。

2. 如請求項1之方法，其中 R^4 係H， R^3 係H，且X係S。
3. 如請求項1之方法，其中 R^1 及 R^2 係 CH_3 。
4. 如請求項1之方法，其中 R^5 係Cl。
5. 如請求項1之方法，其中該化合物係：



6. 如請求項1之方法，其中該皮膚瑕疵係皮肉傷口、疤痕、或皺紋。
7. 如請求項1之方法，其中經皮下、真皮下或穿皮式、皮內或局部投與該組合物。
8. 如請求項6之方法，其中該投藥法減少形成選自由肥厚性疤痕、凹陷性疤痕、妊娠紋及其組合組成之群之疤痕類型。
9. 如請求項6之方法，其中該皮膚瑕疵係皺紋。
10. 如請求項1之方法，其中將該組合物投與至選自由臉部、頸部、手臂、軀幹、背部、腿部及其組合組成之群之部位。
11. 如請求項1之方法，其中在選自由手術切開前、手術期間、手術後及其組合組成之群之時間點投與該組合物。
12. 如請求項1之方法，其中該投藥法使疤痕形成減至最少。
13. 如請求項1之方法，其中該投藥法預防疤痕形成。
14. 如請求項1之方法，其中該投藥法預防皺紋形成。
15. 如請求項1之方法，其中該投藥法減少現有皺紋之出現。
16. 如請求項9之方法，其中該皺紋係選自由抬頭紋、魚尾紋、法令紋、眼下細紋、眉間紋、及其組合組成之群。
17. 如請求項6之方法，其中該皮肉傷口之原因係選自由切口、裂傷、熱燒傷、化學燒傷、擦傷、刺傷、及其組合組成之群。

18. 一種用於治療皮肉傷口之方法，其包括投與包含治療上有效量之具有以下結構之化合物之組合物：



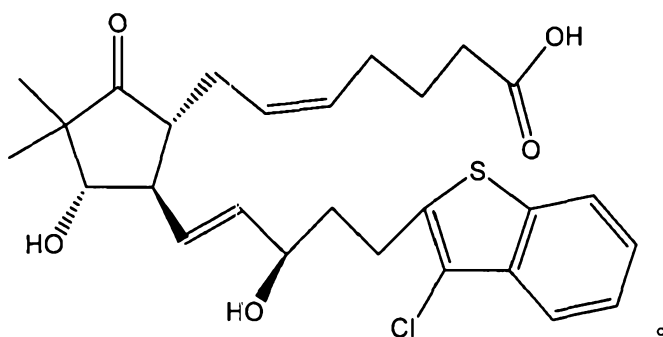
其中各虛線表示存在或不存在雙鍵；

R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各獨立地選自H及 C_1 - C_6 直鏈烷基；

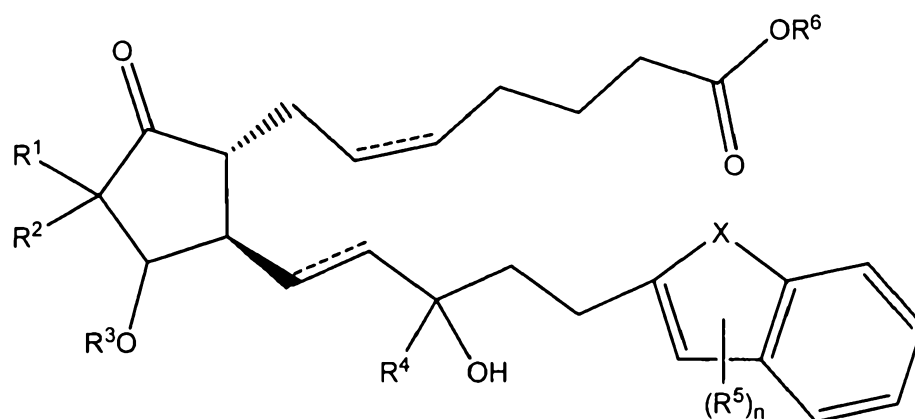
R^5 係鹵素、 C_1 - C_6 烷基、或 C_1 - C_6 烯基； R^6 係H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、其鹽、或其胺；n係0至7；且X係S或O，

其中該傷口比不投與該組合物時更正常癒合。

19. 如請求項18之方法，其中該化合物係化合物1：



20. 一種減少皺紋出現之方法，其包括將包含治療上有效量之具有以下結構之化合物之組合物投與至該皺紋：



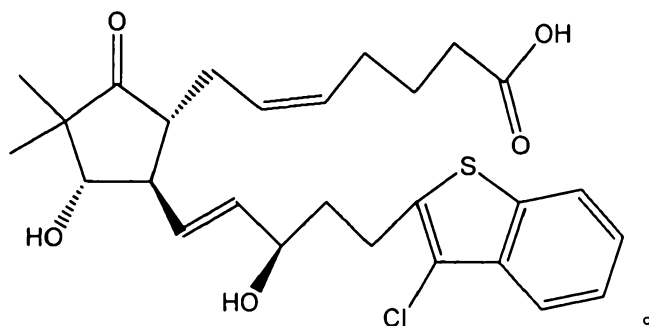
其中各虛線表示存在或不存在雙鍵；

R^1 、 R^2 、 R^3 及 R^4 各獨立地選自H及 C_1 - C_6 直鏈烷基；

R^5 係鹵素、 C_1 - C_6 烷基、或 C_1 - C_6 烯基； R^6 係H、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 烯基、其鹽、或其胺；n係0至7；且X係S或O，

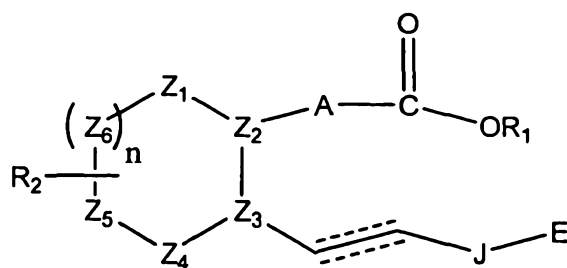
其中減少該皺紋出現。

21. 如請求項20之方法，其中該化合物係：



22. 如請求項20之方法，其中局部投與該組合物。

23. 一種治療皮膚瑕疵之方法，其包括對有需要之個體投與包含治療上有效量之至少一種具有以下結構之EP4激動劑之組合物：



其中：

Z_1 至 Z_6 各獨立地為C、N、O、或S；

A係 $-(CH_2)_6-$ 、或順式 $-CH_2CH=CH-(CH_2)_3-$ ，其中1或2個碳可經S或O取代；或

A係 $-(CH_2)_m-Ar-(CH_2)_o-$ ，其中Ar係伸芳基或伸雜芳基，m及o之總和係1至4，且其中一個 CH_2 可經S或O取代；

R_1 係H、烷基、環烷基、氧烷基、羥烷基、烯基、氧烯基、或羥烯基；

R_2 係烷基、羥基、鹵離子、或側氧基；

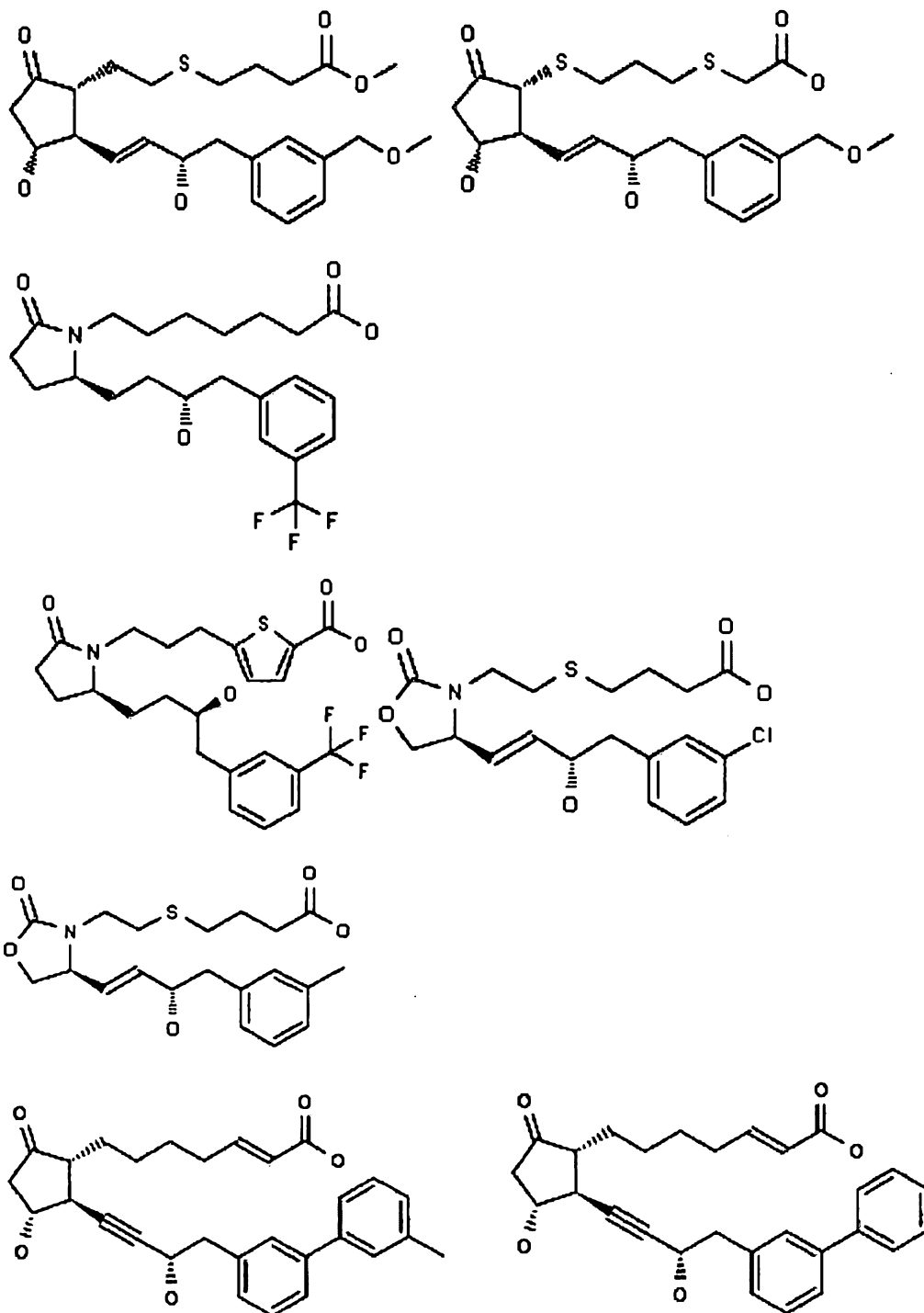
J係烷基、環烷基、氧烷基、羥烷基；

E係 C_{1-12} 烷基、 R_3 、或 $-Y-R_3$ ，其中Y係 CH_2 、S、或O，且 R_3 係芳基或雜芳基；

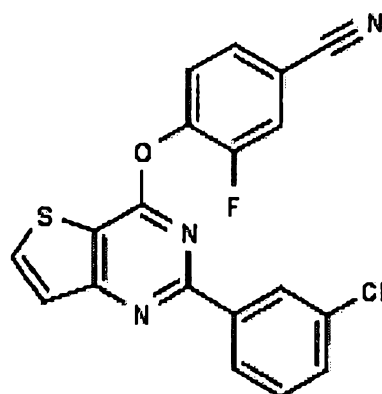
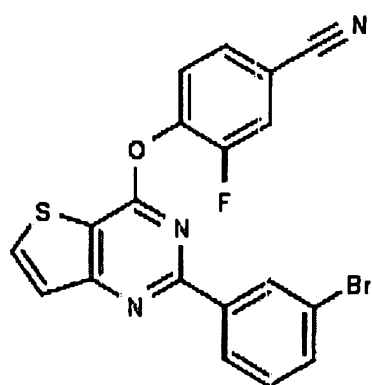
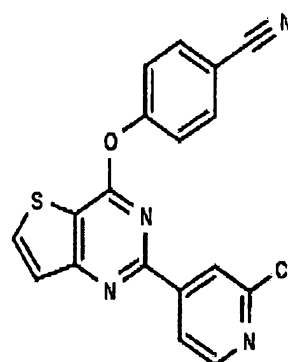
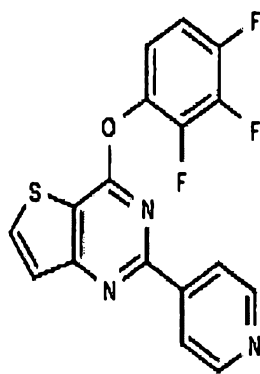
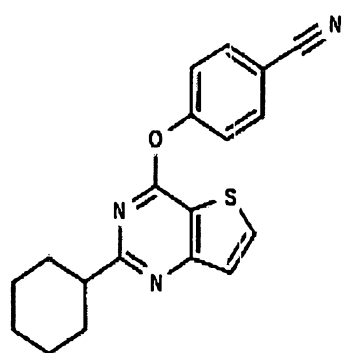
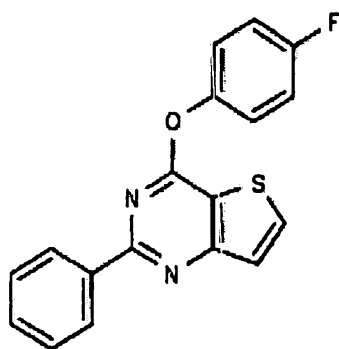
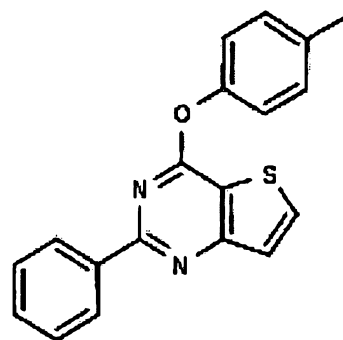
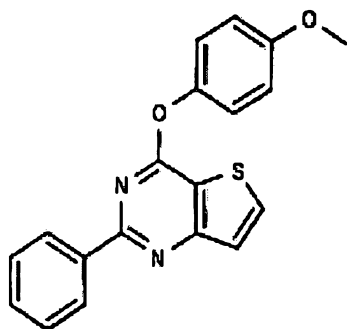
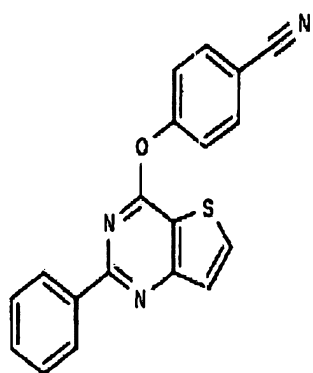
n係0或1；

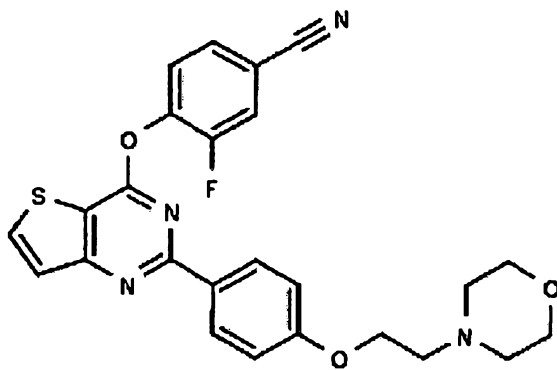
且其中虛線表示存在或不存在鍵。

24. 一種治療皮膚瑕疵之方法，其包括對有需要之個體投與包含治療上有效量之至少一種具有以下結構之EP4激動劑之組合物：

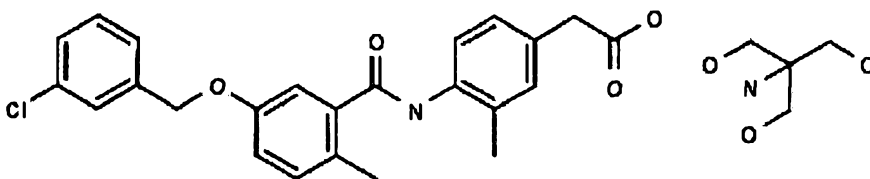
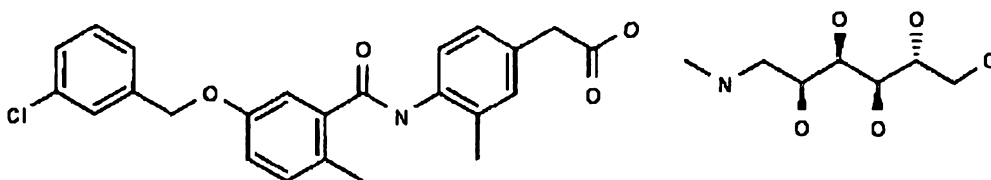
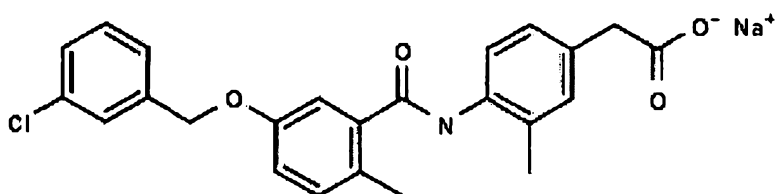
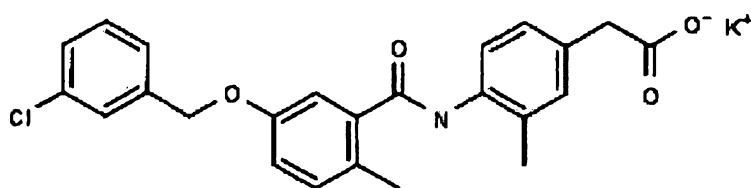


25. 一種治療皮膚瑕疵之方法，其包括對有需要之個體投與包含治療上有效量之至少一種具有以下結構之EP4激動劑之組合物：





26. 一種治療皮膚瑕疵之方法，其包括對有需要之個體投與包含治療上有效量之至少一種具有以下結構之EP4激動劑之組合物：



八、圖式：

手術後72小時

媒劑

化合物1

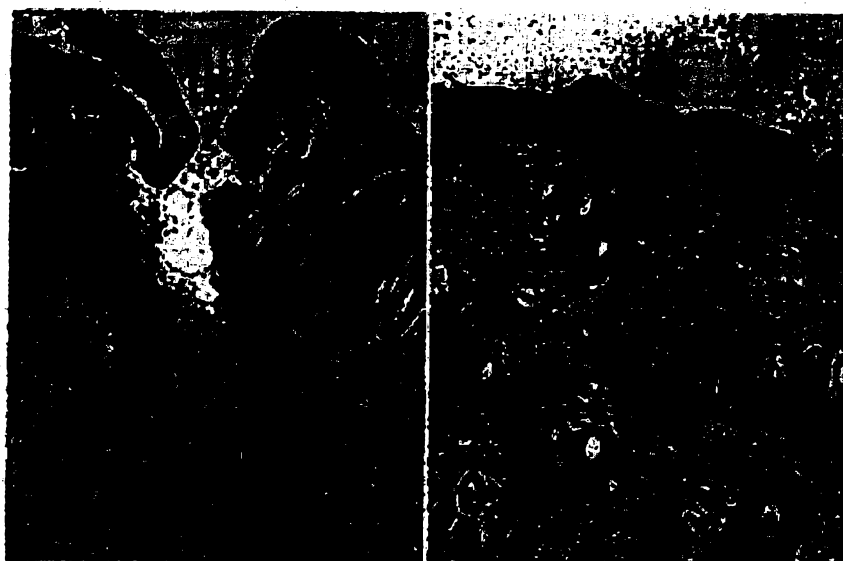


圖 1

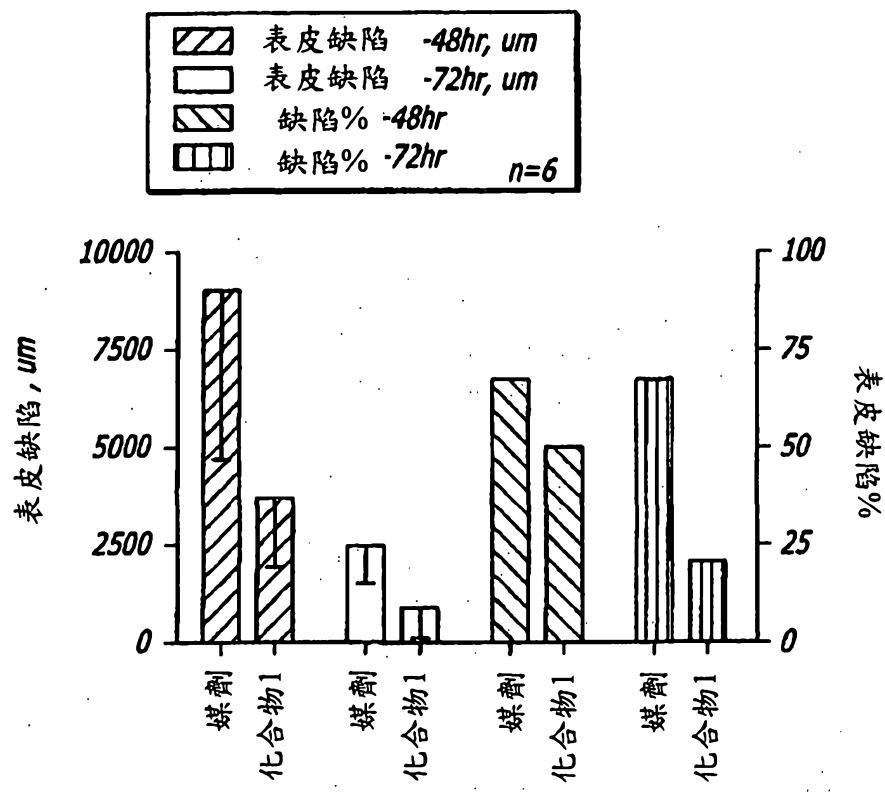


圖 2

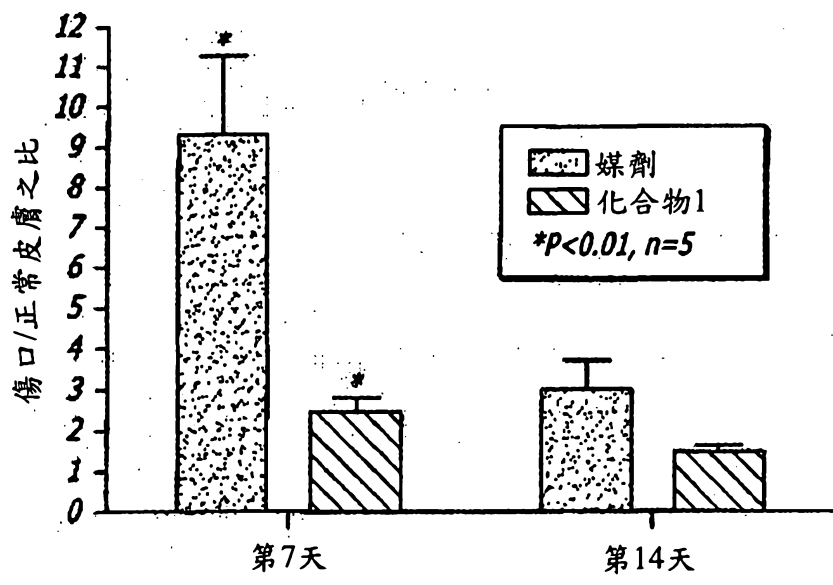


圖 3

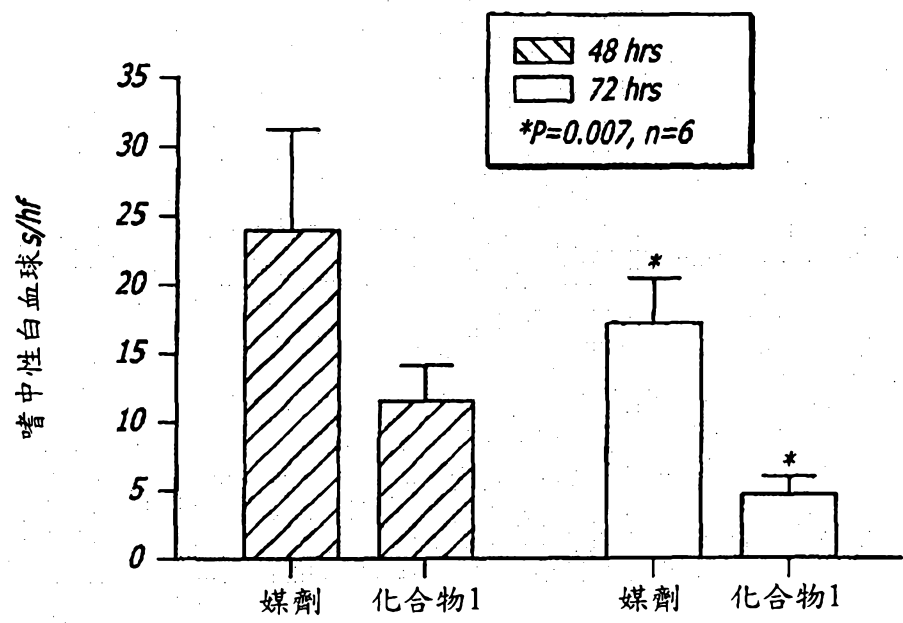


圖 4

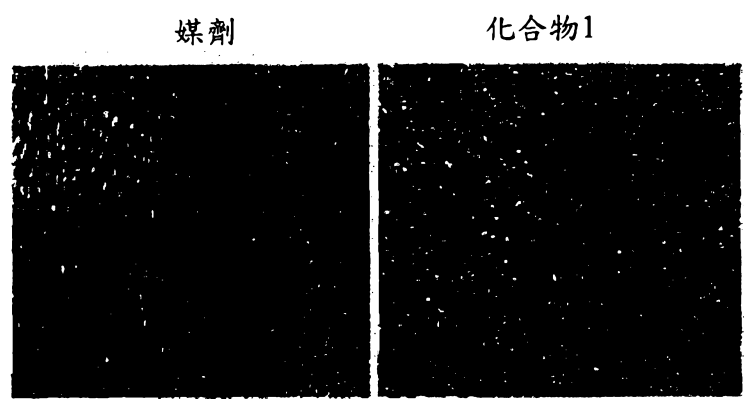


圖 5

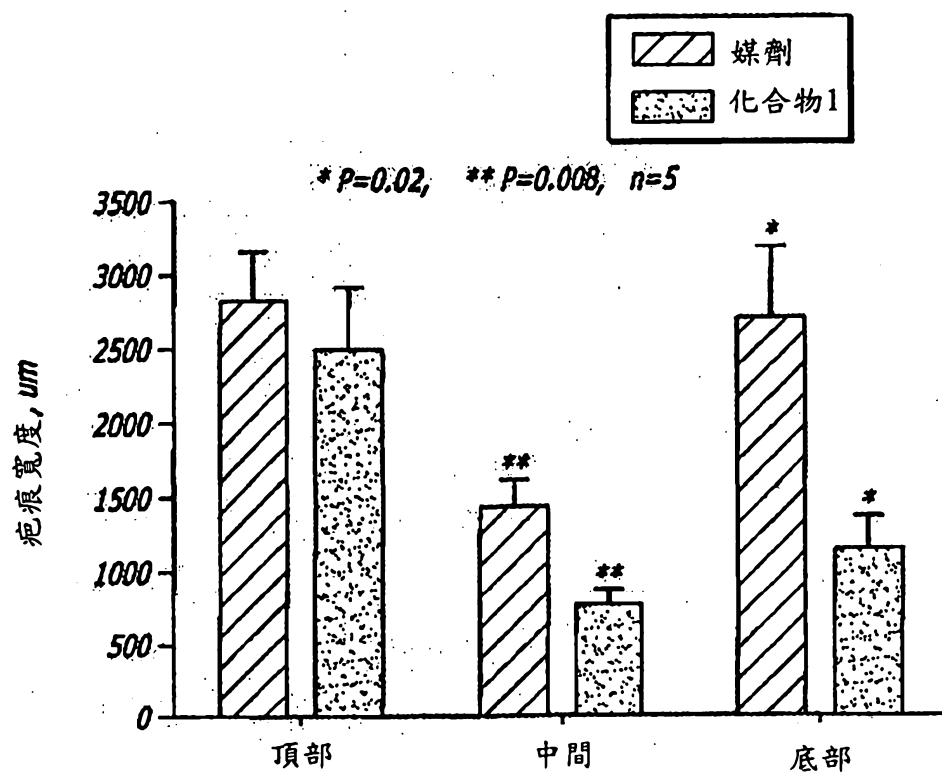


圖 6A

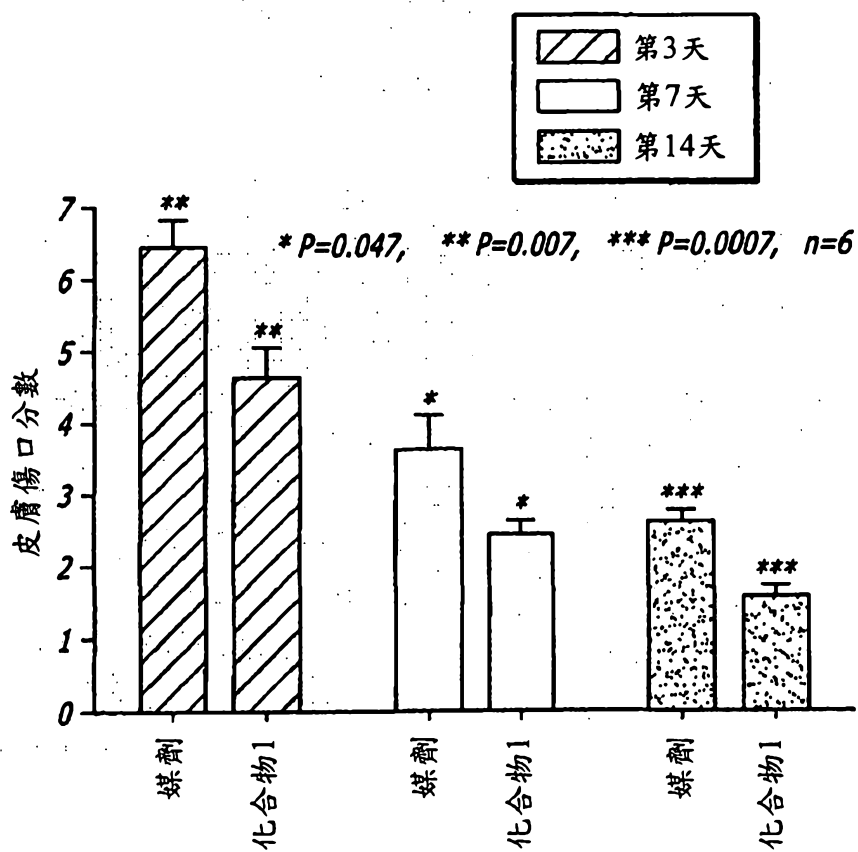


圖 6B

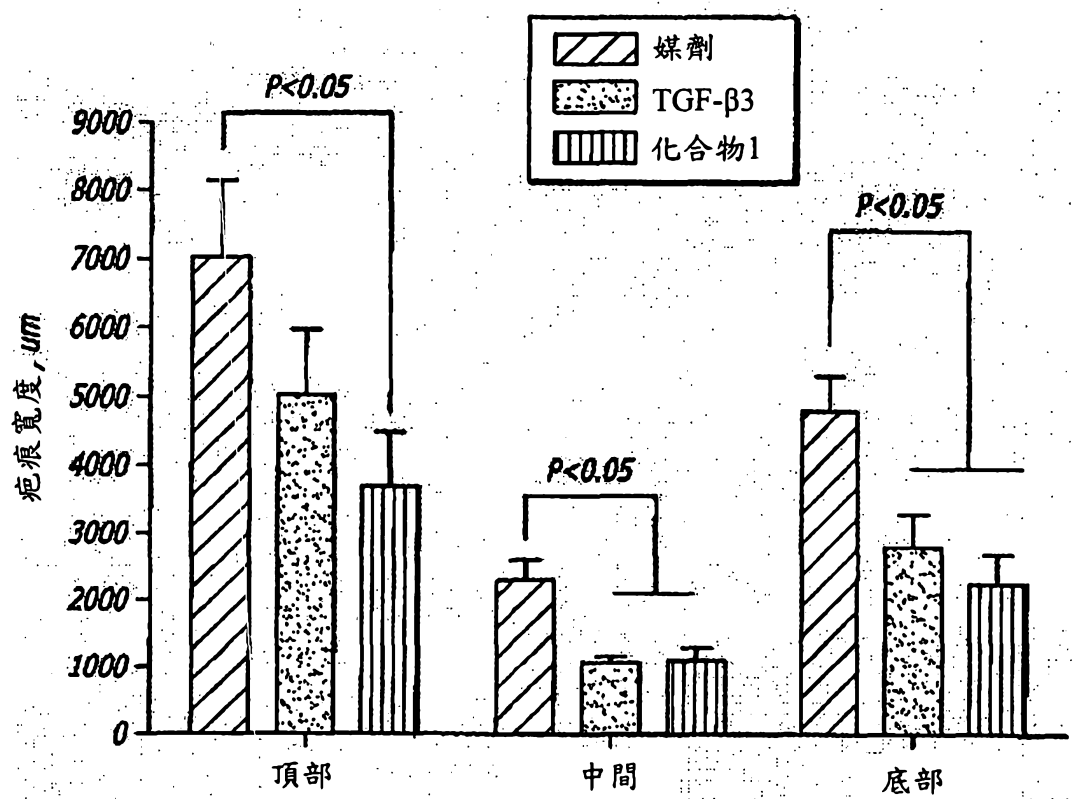


圖 7A

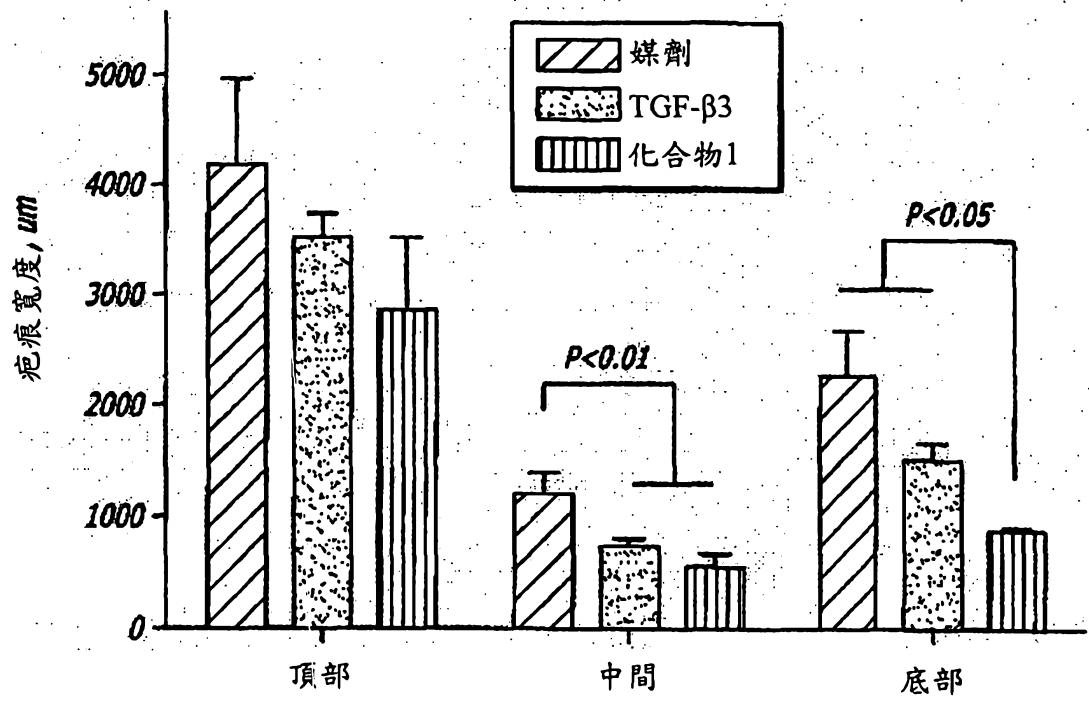


圖 7B

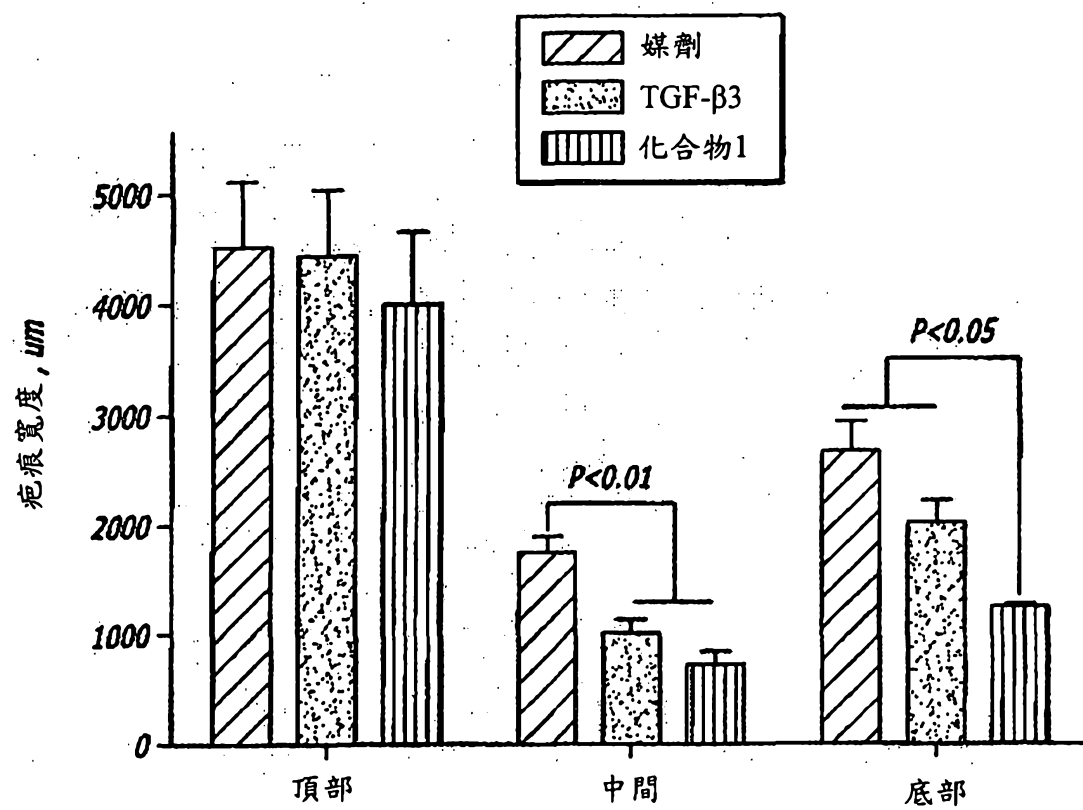


圖 8

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

