

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6063094号  
(P6063094)

(45) 発行日 平成29年1月18日(2017.1.18)

(24) 登録日 平成28年12月22日(2016.12.22)

(51) Int.Cl.

F 1

A61K 47/42	(2017.01)	A 61 K 47/42	Z N A
A61K 39/00	(2006.01)	A 61 K 39/00	G
A61K 9/08	(2006.01)	A 61 K 9/08	
A61K 9/107	(2006.01)	A 61 K 9/107	
A61K 9/70	(2006.01)	A 61 K 9/70	4 O 1

請求項の数 4 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-515955 (P2016-515955)  
 (86) (22) 出願日 平成26年8月12日 (2014.8.12)  
 (65) 公表番号 特表2016-527188 (P2016-527188A)  
 (43) 公表日 平成28年9月8日 (2016.9.8)  
 (86) 國際出願番号 PCT/US2014/050683  
 (87) 國際公開番号 WO2015/023649  
 (87) 國際公開日 平成27年2月19日 (2015.2.19)  
 審査請求日 平成28年3月1日 (2016.3.1)  
 (31) 優先権主張番号 61/864,964  
 (32) 優先日 平成25年8月12日 (2013.8.12)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 505005049  
 スリーエム イノベイティブ プロパティ  
 ズ カンパニー  
 アメリカ合衆国、ミネソタ州 55133  
 -3427, セント ポール, ポスト オ  
 フィス ボックス 33427, スリーエ  
 ム センター  
 (74) 代理人 100099759  
 弁理士 青木 篤  
 (74) 代理人 100077517  
 弁理士 石田 敏  
 (74) 代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次  
 (74) 代理人 100128495  
 弁理士 出野 知

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】経皮送達を促進するためのペプチド

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ペプチドを含む皮膚浸透促進剤であって、前記ペプチドが、配列番号1、2、3、若しくは6に記載される10個の連続アミノ酸残基、配列番号7若しくは8に記載される11個の連続アミノ酸残基、又は配列番号4若しくは5に記載される12個の連続アミノ酸残基からなるアミノ酸配列、又は

配列番号1～8のいずれか1つに記載のアミノ酸配列のN末端に、SHSの連続アミノ酸配列が付加しているアミノ酸配列、又は

配列番号1～8のいずれか1つに記載のアミノ酸配列のC末端に、GGGS、G及びWPAからなる群から選択される連続アミノ酸配列が付加しているアミノ酸配列、又は

配列番号1～8のいずれか1つに記載のアミノ酸配列のN末端に、SHSの連続アミノ酸配列が付加しており、かつ配列番号の1～8のいずれか1つに記載の該アミノ酸配列のC末端に、GGGS、G及びWPAからなる群から選択される連続アミノ酸配列が付加しているアミノ酸配列からなる皮膚浸透促進剤。

## 【請求項 2】

前記ペプチドが、配列番号1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、又は17に記載されるアミノ酸配列を有する、請求項1に記載の皮膚浸透促進剤。

## 【請求項 3】

請求項1又は2のいずれかに記載の皮膚浸透促進剤と、活性剤とを含む組成物であって

、前記活性剤が、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、及び栄養サプリメントからなる群から選択される、組成物。

【請求項4】

ローション、クリーム、又はパッチの形態で組成物を提供する薬学的に許容される賦形剤を含む、請求項3に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、2014年8月11日に作成された、ファイル名「Sequence\_List\_in\_74320US002.TXT」を有する配列表と関連付けられている。この配列表ファイルは、4,556バイトを含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

皮膚は、全身薬を含む多くの薬物に理想的な送達箇所を提供している。皮膚を通る薬物送達は、無痛であり得、持続放出を提供し、それによって患者の服薬遵守を増加させることができる。皮膚を通して送達される全身薬は、初回通過代謝を経ず、皮膚送達は、さもなければ消化管で分解又は消化されやすい抗体及びワクチンなどのタンパク質系医薬品などの薬物を用いる全身処置を可能にし得る。

【0003】

更に、皮膚の健康を改善する又は皮膚の外観を向上させるための化粧品成分はまた、皮膚の最外層、すなわち角質層を通って送達されなければならない。しかしながら、角質層を通る薬物及び化粧品成分いずれもの送達は、有能な環境障壁としての皮膚の役割によって複雑となる。角質層は、巨大分子などの多くの分子、タンパク質薬物、及び電荷を帯びた小分子が、その障壁を通り抜けてしまうことを阻止する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

角質層の物理的及び化学的破壊を含む、角質層を通る薬物及び化粧品を輸送するための種々の方法が開発された。化学浸透促進剤が使用され、その成功度は様々であったが、それらは一般に、大きな親水性化合物、タンパク質薬物、又は電荷を帯びた小分子を、角質層を通して体循環内に輸送することができない。その代わりに、大きな親水性化合物、タンパク質薬物、及び電荷を帯びた小分子はしばしば、注射などの、患者の服薬遵守がより低い経路を介して送達されなければならない。加えて、化学浸透促進剤の使用によって輸送することができる分子については、化学浸透促進剤が、刺激を引き起こし得る。角質層を通して皮膚のより深層まで、又は体循環内まで、多種多様な化合物の輸送を提供することができる、新たな浸透促進組成物の必要性が依然として存在する。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本開示は、概して、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、及び栄養サプリメントなどの活性剤の経皮送達を促進するためのペプチドを含む皮膚浸透促進剤に関する。本明細書に記載される皮膚浸透促進剤は、電荷を持つ小さな薬物及び大きなタンパク質薬物を含む、種々の化合物の、皮膚を通した浸透を改善するために使用することができる。

【0006】

本開示の一態様は、ペプチドを含む皮膚浸透促進剤を提供する。ペプチドは、配列番号1、2、3、若しくは6に記載される10個の連続アミノ酸残基、配列番号7若しくは8に記載される11個の連続アミノ酸残基、配列番号4若しくは5に記載される12個の連続アミノ酸残基、又はそれらの類似体を含むアミノ酸配列を含み得る。ペプチドは、合計30個以下のアミノ酸残基又はアミノ酸類似体を含み得る。ペプチドは、配列番号1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、又は17

10

20

30

40

50

に記載されるアミノ酸配列を有し得る。

【0007】

本開示の別の態様は、本明細書に開示される皮膚浸透促進剤と活性剤とを含む、組成物を提供する。活性剤は、例えば、抗体、脂肪低減化合物、治療タンパク質、毛髪成長化合物、除毛用化合物、又はビタミンなどの薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、及び栄養サブリメントからなる群から選択することができる。

【0008】

本開示の別の態様は、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サブリメントを経皮送達する方法を提供し、本方法は、それを必要とする対象の皮膚に、薬学的に許容される担体、化粧品的に許容される担体、又は栄養的に許容される担体から選択される担体と、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サブリメントから選択される活性剤と、本明細書に開示される皮膚浸透促進剤とを含む、組成物を投与することを含む。

10

【0009】

本開示の他の特徴及び態様は、「発明を実施するための最良の形態」を考慮することによって明らかとなろう。

【発明を実施するための形態】

【0010】

本開示は、概して、浸透促進剤及びペプチドを含む浸透促進組成物に関する。本明細書に提供されるペプチド、浸透促進剤、及び組成物は、巨大分子、タンパク質薬物、及び電荷を帯びた小分子などの分子の、角質層の障壁を通り抜ける能力を向上させ、そのようにして、注射などのさほど望ましくない送達経路を回避し、患者の服薬遵守を増加させる。

20

【0011】

本開示の皮膚浸透促進剤は、角質層の障壁の抵抗性を可逆的に減少させ、生組織、及びいくつかの事例では体循環に、医薬品、ワクチン、栄養サブリメント、又は化粧品などの分子をより容易に浸透させる。いくつかの事例では、皮膚浸透促進剤は、基底層及びエピノサ層(stratum epinosa)などの皮膚のより下層のレベルまで医薬品、ワクチン、化粧品、及び栄養サブリメントなどの分子を入り込ませる。いくつかの事例では、皮膚浸透促進剤は、循環系又は他の内部組織まで分子を入り込ませる。用語「皮膚浸透促進剤」、「浸透促進剤(penetration enhancer)」、及び「浸透促進剤(permeation enhancers)」は、本明細書において交換可能に使用される。

30

【0012】

本明細書に記載される皮膚浸透促進剤は、電荷を帯びた小分子並びにタンパク質などの巨大分子を含む、医薬品、ワクチン、化粧品、及び栄養サブリメントなどの分子を経皮的に送達させる。用語「経皮的」又は「経皮送達」は、通常、皮膚の任意の部分を横断する活性成分のいずれかの種類の送達を指すために用いられる。すなわち、経皮的とは、通常、全身送達(すなわち、この場合、活性成分が血流中及び全身への送達であるように、活性成分が真皮を横断して、又は実質的に通って輸送される)、及び皮内送達(すなわち、この場合、活性成分が部分的に真皮を通して、例えば皮膚の外層(角質層)を横断して輸送され、活性成分が、例えば乾癬治療又は局所麻酔送達のために皮膚の中に送達される)を含み得る。すなわち、本明細書において使用されるような経皮送達は、単に皮膚の外層に局所的に適用されるのではなく、むしろ、皮膚の少なくとも一部分(しかし、必ずしも皮膚の層の全てではない)を横断して輸送される活性剤の送達を含む。

40

【0013】

理論によって束縛されることを望むものではないが、本明細書に記載される浸透促進剤は、大部分の分子に対して閉鎖された障壁として皮膚を維持する生物学的プロセス及びシグナル伝達経路を選択的及び可逆的に調節することによって、分子が角質層を通り抜けるのを補助し、それによって、所望の分子の経皮送達を可能にすると考えられる。

【0014】

用語「含む(comprises)」は、説明及び特許請求の範囲においてこの用語が現れる箇

50

所で制限する意味を持たない。

【0015】

本明細書において使用されるとき、「a(1つの)」、「a n」、「t h e」、「少なくとも1つの」、及び「1つ以上の」は、交換可能に使用される。

【0016】

また、本明細書において、端点による数の範囲の列挙には、その範囲内に包含される全ての数が包含される（例えば、5以下は、0.5、1、1.25、2、2.8、3、4、5などを含む）。

【0017】

本明細書に使用されるとき、「類似体」は、その親ペプチド（例えば、配列番号1～17）とは1～3個のアミノ酸残基の分だけ異なるが、その親ペプチドと同じ又は同様の皮膚浸透を促進する機能を有する連続アミノ酸配列を含む、ペプチドを指す。いくつかの事例では、その差は、あるアミノ酸が同様の側鎖を有する別のアミノ酸又は同様の特性のアミノ酸類似体で置換されている、保存的アミノ酸置換である。例えば、同様の側鎖を有するアミノ酸のファミリーとしては、アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、又はグルタミンなどの酸性又はアミド側鎖を有するアミノ酸；リジン、アルギニン、及びヒスチジンなどの塩基性側鎖を有するアミノ酸；グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、及びシステインなどの非電荷極性側鎖を有するアミノ酸；アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、及びトリプトファンなどの非極性側鎖を有するアミノ酸；スレオニン、バリン、及びイソロイシンなどのベータ分岐側鎖を有するアミノ酸；並びにチロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、及びヒスチジンなどの芳香族側鎖を有するアミノ酸が挙げられる。したがって、例示的な保存的アミノ酸置換としては、ヒスチジン又はアルギニンによるリジンの置換、リジン又はアルギニンによるヒスチジンの置換、リジン又はヒスチジンによるアルギニンの置換、チロシン又はトリプトファンによるフェニルアラニンの置換、フェニルアラニン又はトリプトファンによるチロシンの置換、フェニルアラニン又はチロシンによるトリプトファンの置換、スレオニンによるセリンの置換、セリンによるスレオニンの置換、グルタミン酸によるアスパラギン酸の置換、グルタミンによるアスパラギンの置換、アスパラギンによるグルタミンの置換、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、又はメチオニンによるグリシンの置換、グリシン、バリン、ロイシン、イソロイシン、又はメチオニンによるアラニンの置換、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、又はメチオニンによるバリンの置換、グリシン、アラニン、バリン、イソロイシン、又はメチオニンによるロイシンの置換、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、又はメチオニンによるイソロイシンの置換、アスパラギン又はグルタミンによるアスパラギン酸の置換、アスパラギン酸又はグルタミン酸によるアスパラギンの置換、及びアスパラギン酸又はグルタミン酸によるグルタミンの置換が挙げられる。

【0018】

「類似体」はまた、親アミノ酸残基とのわずかな差を呈するアミノ酸残基の構造誘導体を指す。「類似体」は、これらに限定されないが、1つ以上のアミノ酸残基の側鎖を変更すること又は1つ以上のアミノ酸残基を任意の非アミノ酸と置換することを含む、当該技術分野で既知のその親ペプチド又はアミノ酸残基からのわずかな修飾を有するペプチド又はアミノ酸残基を更に指す。

【0019】

本明細書に使用されるとき、用語「皮膚」は、脊椎の外の皮膚層並びに口腔粘膜、鼻粘膜、食道粘膜などの体内粘膜組織のいずれも指す。

【0020】

本開示は、ペプチドを含む皮膚浸透促進剤を提供する。一実施形態では、ペプチドは、A C L P G V L G S C（配列番号1）、A C S L P W D A S C（配列番号2）、A C D T P R L T H C（配列番号3）、A C L D N T F R A C（配列番号6）を含む、10個の連続アミノ酸残基を含むアミノ酸配列、又はそれらの類似体を含む。一実施

10

20

30

40

50

形態では、ペプチドは、A S S T T L N T L A Q (配列番号7)、A S S D I P L F T R Y (配列番号8)を含む11個の連続アミノ酸残基を含むアミノ酸配列、又はそれらの類似体を含む。一実施形態では、ペプチドは、T W T Q A W P W G W T W (配列番号4)、A K S S W W G R A Y W Y (配列番号5)を含む12個の連続アミノ酸残基を含むアミノ酸配列、又はそれらの類似体を含む。

#### 【0021】

いくつかの実施形態では、ペプチド配列は、一般に、7～40個のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド配列は、一般に、10～30個のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、ペプチド配列は、一般に、10～20個のアミノ酸残基を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、合計30個以下のアミノ酸残基又はアミノ酸類似体を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、合計20個以下のアミノ酸残基又はアミノ酸類似体を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、合計19個以下のアミノ酸残基又はアミノ酸類似体を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、少なくとも合計7個のアミノ酸残基又はアミノ酸類似体を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドは、少なくとも合計10個のアミノ酸残基又はアミノ酸類似体を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドのアミノ酸配列の少なくとも50%が、配列番号1、2、3、4、5、6、7、若しくは8から選択される連続アミノ酸配列、又はその類似体を含む。

10

#### 【0022】

いくつかの実施形態では、皮膚浸透促進剤は、配列番号1、2、3、4、5、6、7、8のアミノ酸配列、又はその類似体を有する、ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、皮膚浸透促進剤は、S H S A C L P G V L G S C G G G S (配列番号9)、S H S A C S L P W D A S C G G G S (配列番号10)、S H S A C D T P R L T H C G G G S (配列番号11)、S H S T W T Q A W P W G W T W G G G S (配列番号12)、S H S A K S S W W G R A Y W Y G G G S (配列番号13)、S H S A C L D N T F R A C G G G S (配列番号14)、S H S A S S T T L N T L A Q W P A (配列番号15)、S H S A S S D I P L F T R Y G G G S (配列番号16)、S H S A C L D N T F R A C G (配列番号17)のアミノ酸配列、又はそれらの類似体を有する、ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ペプチドのN末端は、S H Sの連続アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、ペプチドのC末端は、G G G S、G、及びW P Aからなる群から選択される連続アミノ酸配列を含む。本開示はまた、配列番号1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17のアミノ酸配列、又はその類似体を有する、単離ペプチドを提供する。

20

#### 【0023】

本開示のペプチドは、固層ペプチド合成(S P P S)によるなどの既知の技術を用いて合成されてもよい。いくつかの実施形態では、本開示のペプチドは、細胞組織又は器官分画、クロマトグラフィー又は電気泳動技術などの既知の技術を介して、部分的に又は完全に単離又は精製されてもよい。

30

#### 【0024】

本開示はまた、融合及びキメラペプチドを含む皮膚浸透促進剤を提供する。融合及びキメラペプチドは、第1のペプチド及び第2のペプチド又はタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、第1のペプチドは、配列番号1～8を含むアミノ酸配列、又はその類似体を含むペプチドである。いくつかの実施形態では、第1のペプチドは、配列番号1～17に記載されるアミノ酸配列、又はその類似体を有するペプチドである。第2のペプチド又はタンパク質は、第1のペプチドとは異なり、例えば、第1のペプチドと実質的に同一ではないアミノ酸配列を有する。第1のペプチド及び第2のペプチド又はタンパク質は、融合又はキメラペプチドが、第1のペプチド及び第2のペプチド又はタンパク質いずれもの活性を有するよう、作動的に連結、例えば融合される。

40

#### 【0025】

いくつかの実施形態では、皮膚浸透促進剤は、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サプリメントなどの活性剤に複合されて、複合体を形成する。複合体は、皮膚浸透促

50

進剤及び活性剤の単なる混合物とは具体的に区別される。単なる混合物とは異なり、複合体は、皮膚への適用後、化学的又は物理的会合を維持する。複合体は、皮膚浸透促進剤ペプチド及び活性剤のいずれもの活性を有する。複合体は、共有結合非共有結合親和性結合、イオン結合、親水性又は疎水性の親和性、及び物理的封入などの既知の技術を用いて形成されてもよい。

【0026】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される皮膚浸透促進剤は、活性剤又は活性剤を含む組成物の適用前に、皮膚又は粘膜組織に直接適用されてもよい。本明細書に記載される皮膚浸透促進剤は、経皮パッチなどの経皮送達装置の適用前に、皮膚又は粘膜組織に直接適用されてもよい。

10

【0027】

別の実施形態では、本開示はまた、種々の活性剤の経皮送達を促進するための組成物を提供する。この組成物は、本明細書に開示されるペプチド浸透促進剤及び活性剤を含む。いくつかの実施形態では、この活性剤は、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サプリメントである。

【0028】

一実施形態では、本明細書に記載される皮膚浸透促進剤及び組成物は、クリーム、ゲル、泡、スプレー、軟膏、ローション、溶液、懸濁液、エアゾール製剤、非エアゾールスプレー、エマルジョン、マイクロエマルジョン、分散液、ペースト、粉末、固体スティック（例えば、ワックス又は石油系スティック）、ワイプ、又は油などの局所又は経皮製剤として提供することができる。

20

【0029】

別の実施形態では、本明細書に記載される皮膚浸透促進剤及び組成物は、テープ、粘着性経皮パッチ、シート、包帯などの経皮薬物送達装置又は当業者に既知の任意の他の形態に含まれてもよい。いくつかの実施形態では、装置は、選択された量の薬物を皮膚を介して送達するのに好適なサイズのパッチなどの薬物リザーバの形態をとる。

【0030】

治療有効量の適切な活性剤で連続経皮送達を行うのに適切な、任意の経皮パッチを使用してもよい。適切な経皮パッチとしては、米国特許第4,834,979号（Gale）等におけるゲル又は液体リザーバ、いわゆる「リザーバ」パッチ、米国特許第6,004,578号（Leeら）等における、隣接の粘着層によって皮膚に取り付けられるマトリックスリザーバを含むパッチ、いわゆる「マトリックス」パッチ、並びに、米国特許第6,365,178号（Venkateshwaranら）、同第6,024,976号（Mirandaら）、同第4,751,087号（Wick）及び同第6,149,935号（Chiangら）等におけるPSAリザーバを含むパッチ、いわゆる「薬物含有粘着剤」パッチ等を挙げることができ、これらの開示は参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される皮膚浸透促進剤及び組成物は、リザーバから包帯の皮膚接触粘着剤への薬物及び/又は賦形剤の移動を実質的に又は完全に抑制する、不浸透性の裏材を有するリザーバに含まれる。適切な不浸透性の裏材の選択は、リザーバの組成に依存し、当業者は、包帯に対し活性剤及び/又は賦形剤拡散移動の試験を行うことによって適切な裏材を容易に決定することができる。典型的な不浸透性の障壁としては、一つ以上のポリエチレンテレフタレート層及び/又はアルミニウム障壁層を含むフィルムが挙げられる。一実施形態では、不浸透性の裏材は、酸素及び/又は蒸気の浸透を制限するように機能し得る。不浸透性の裏材の例としては、国際公開第2011/066493号（Klugeら、3Mに対する）に記載されたプラズマ蒸着非晶質ガラス層を有するフィルムや、米国特許出願公開第2004/202708号（Roehringら、3Mに対する）に記載された半透明の無機障壁層を有するフィルムが挙げられる。

30

【0031】

別の実施形態では、本明細書に記載される皮膚浸透促進剤及び組成物は、活性剤を含有するマトリックス層の形態で薬物リザーバに含まれ、このマトリックス層が包帯の皮膚接

40

50

触粘着剤に粘着する。上述のように、かかるマトリックスは、粘着層であってもよい。あるいは、マトリックス層は、非粘着性又は弱粘着性であってもよく、適所にパッチを固定して薬物リザーバを皮膚表面と接触した状態に保つために、粘着性包帯上の皮膚接触粘着剤の周縁に依存し得る。

#### 【0032】

別の実施形態では、本明細書に提供される皮膚浸透促進剤及び組成物は、粘着性包帯の皮膚接触粘着剤の表面に又は粘着性包帯の内部に埋め込まれた固体粒子の形態で薬物リザーバに含まれる。特に、これらの粒子を親水性のものとすることにより、処置をする皮膚表面にかかる水性流体と接触して溶解又は分解を生じ、皮膚に活性剤を放出することができる。

10

#### 【0033】

別の実施形態では、本明細書に提供される皮膚浸透促進剤及び組成物は、粘着性包帯の皮膚接触粘着剤内部の薬物リザーバに含まれる。活性剤は、粘着性包帯を形成する前に皮膚接触粘着剤と混合されてもよいか、又は別個のプロセス工程において粘着性包帯の皮膚接触粘着剤に提供されてもよい。粘着層に活性剤を適用するための適切な方法の例は、米国特許出願公開第2003/054025号(Cantorら)及び米国特許第5,688,523号(Garberら)に見出され、これらの文献の開示は参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【0034】

剥離ライナーは、多種多様な専売の配合で、様々な製造業者から入手可能である。当業者は、通常、選択した粘着剤に対するシミュレーションされた使用条件において、それらのライナーに対して試験を行うことにより、所望の剥離特性を有する製品に到達することができる。本開示の包帯へのライナー供給に用いられる材料は、裏材よりも実質的に剛体であり得る。本開示の粘着剤組成物に使用するに適したライナーは、クラフト紙、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエステル、又はこれらの材料のいずれかの複合体で作製することができる。ライナーは、フルオロケミカル又はシリコーンなどの剥離剤でコーティングされてもよい。例えば、米国特許第4,472,480号(olson)は、低界面エネルギー過フルオロ化合物ライナーについて記載し、その開示は参照により本明細書に組み込まれる。ライナーは、シリコーン剥離材料でコーティングされた紙、ポリオレフィンフィルム、又はポリエステルフィルムであってもよい。市販のシリコーンコーティング剥離紙の例としては、Loparex(Willowbrook, IL)より入手可能なPOLYSLIK(登録商標)シリコーン剥離紙を挙げることができる。

20

30

#### 【0035】

本明細書に提供される組成物は、1つ以上の活性剤を含む。本明細書に使用されるとき、「活性剤」とは、薬剤が生物学的活性を有するかどうかにかかわらず、ユーザに予防的処置を含む任意の処置を提供する、任意の薬剤を広く指す。したがって、活性剤は、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、及び栄養サブリメントを含む。加えて、活性剤は、2つ以上の活性剤の分類において活性であり得る。例えば、薬学的活性剤はまた、化粧料としても効果を発揮し得る。したがって、いくつかの薬剤は、1種類の薬剤のみとして本明細書に列挙され得るが(例えば、薬学的活性剤)、このような記述は、限定することを意図しない活性剤は、タンパク質又は電荷を帯びた小分子を含む任意の処置を提供する任意の薬剤を含んでもよい。

40

#### 【0036】

一実施形態では、活性剤は、抗菌剤(antimicrobial agent)である抗生物質、抗真菌剤、抗菌剤(antibacterial agent)、抗かび剤、抗ウイルス剤、消炎剤、鎮痒薬、抗乾癬剤(anti-psoriatic agent)、鎮咳薬、抗脱毛剤(anti-aloepecia agents)、抗ニキビ剤、抗炎症剤、局部麻酔薬などの薬学的活性剤、免疫応答修正剤(immune response modifying agent)、鎮痛剤、成長因子、ホルモン、及び治療タンパク質などを含み得る。

#### 【0037】

本明細書に記載される皮膚浸透促進剤の補助により経皮的に送達される例示的な薬学的

50

活性剤は、皮膚に投与されると局所又は全身性効果を発揮することができる。いくつかの例としては、経皮デバイスの形態で市販されている、クロニジン、エストラジオール、ニコチン、ニトログリセリン、スコポラミン、及びフェンタニールが挙げられる。他の例としては、ステロイド性（例えばハイドロコーチゾン、プレドニソロン、トリアムシノロン）及び非ステロイド性（例えばナプロキセン、ピロキシカム、ジクロフェナク）の両方を含む抗炎症化合物；静菌剤（例えばクロルヘキシジン、ヘキシルレゾルシノール）；抗菌性物質（ペニシリンVなどのペニシリン類、セファレキシン、エリスロマイシン、テトラサイクリン、ゲンタマイシン、スルファチアゾール、ニトロフラントインなどのセファロスボリン類、ノルフロキサシン、フルメキン及びイバフロキサシンなどのキノロン類）；抗原虫薬（例えばメトロニダゾール）；抗真菌薬（例えばナイスタチン）；冠拡張薬；カルシウムチャネル遮断薬（例えばニフェジピン、ジルチアゼム）；気管支拡張薬（例えばテオフィリン、ピルブテロール、サルメテロール、イソプロテレノール）；例えはコラゲナーゼ阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、エラスターーゼ阻害剤、リポキシゲナーゼ阻害剤（例えばA 6 4 0 7 7）、及びアンギオテンシン変換酵素阻害剤（例えばカブトプリル、リシノプリル）などの酵素阻害剤；他の抗高血圧剤（例えばプロプラノロール）；ロイコトリエン拮抗剤（例えばI C I 2 0 4、219）；H 2 拮抗剤などの抗潰瘍薬；ステロイド性ホルモン（例えばプロゲステロン、テストステロン、エストラジオール）；抗ウイルス物質及び／又は免疫調節薬（例えば1 - イソブチル - 1 H - イミダゾ[4, 5 - c]キノリン - 4 - アミン、1 - (2 - ヒドロキシ - 2 - メチルプロピル) - 1 H - イミダゾ[4, 5 - c]キノリン - 4 - アミン、N - [4 - (4 - アミノ - 2 - エチル - 1 H - イミダゾ[4, 5 - c]キノリン - 1 - イル) ブチル] メタンスルホンアミド及びアシクロビル）；局所麻酔薬（例えばベンゾカイン、プロボフォール、リドカイン、テトラカイン、ブリロカイン）；強心薬（例えばジギタリス、ジゴキシン）；鎮咳薬（例えばコデイン、デキストロメトルファン）；抗ヒスタミン剤（例えばジフェンヒドラミン、クロルフェニラミン、テルフェナジン）；麻醉剤鎮痛薬（例えばモルヒネ、ブブレノルフィン、クエン酸フェンタニール、塩酸ヒドロモルホン）；ペプチドホルモン（例えばヒト又は動物成長ホルモン、L H R H、副甲状腺ホルモン）；アトリオペプチド(atriopeptide)などの心臓作用剤；抗糖尿病薬剤（例えばインシュリン、exanatide）；酵素（例えば抗ブラーク酵素、リゾチーム、デキストラナーゼ）；制吐剤；抗痙攣剤（例えばカルバマジン）；免疫抑制薬（例えばサイクロスボリン）；精神治療（例えばジアゼパム）；鎮静剤（例えばフェノバルビタール）；抗凝血物質（例えばヘパリン、エノキサパリンナトリウム）；鎮痛薬（例えばアセトアミノフェン）；抗片頭痛剤（例えばエルゴタミン、メラトニン、sumatriptan、ゾルミトリプタン）；抗不整脈薬剤（例えばフレカイニド）；制吐剤（例えばmetaclopramide、オンドンセトロン、グラニセトロン塩酸塩）；抗癌剤（例えばメトトレキセート）；抗不安薬などの神経系剤；止血薬；抗肥満剤；ドーパミン作用物質（例えばアポモルヒネ）；G n R H作用物質（例えばロイプロリド、ゴセレリン、ナファレリン）；受精能力ホルモン（例えばh C G、h M G、ウロフォリトロピン）；インターフェロン（例えばインターフェロン - 、インターフェロン - 、PEG化インターフェロン - ）；及び同等物、並びに、これらの薬学的に許容される塩及びエステルを挙げることができる。治療的有効量をなす活性剤の量は、当業者であれば、特定の薬物、特定の担体、及び所望の治療効果を十分に考慮して容易に決定することができる。

### 【0038】

一実施形態では、巨大分子量を持つ活性剤が、本明細書に記載される浸透促進剤の補助により経皮送達され得る。薬物の分子量が増加することは、典型的に、単独での経皮送達の減少をもたらす。かかる巨大分子の例としては、タンパク質、ペプチド、ヌクレオチドアレイ、モノクローナル抗体、ワクチン、多糖類（ヘパリンなど）、及び抗生物質（セフトリアキソンなど）が挙げられる。

### 【0039】

ワクチンは、治療的なものであっても予防的なものであってもよく、ワクチンには、生

10

20

30

40

50

の又は弱毒化されたウイルス性及び細菌性免疫原、並びに不活化されたウイルス性、腫瘍由来、原生動物、生物由来、真菌性、及び細菌性免疫原、トキソイド、毒素、多糖類、タンパク質、糖タンパク質、ペプチド、細胞ワクチン（例えば、樹状細胞を使用したもの）、DNAワクチン、組換えタンパク質、糖タンパク質、及びペプチドなどの、体液性及び／又は細胞性免疫反応を引き起こすために投与される任意の物質が含まれる。好適なワクチンの例としては、インフルエンザA型及びB型、ライム病ワクチン、狂犬病ワクチン、麻疹ワクチン、ムンプスワクチン、水痘ワクチン、天然痘ワクチン、A型、B型、及びC型肝炎ワクチン、百日咳（pertussis）ワクチン、風疹ワクチン、ジフテリアワクチン、10 脳炎ワクチン、黄熱ワクチン、パラインフルエンザワクチン、遺伝子組換えタンパク質ワクチン、DNAワクチン、ポリオワクチン、ガン治療用ワクチン、HSV-1及びHSV-2を含むヘルペスワクチン、肺炎球菌ワクチン、髄膜炎菌性ワクチン、百日咳（whooping cough）ワクチン、破傷風ワクチン、腸チフスワクチン、コレラワクチン、結核ワクチン、ペストワクチン、ヘモフィルスインフルエンザb型、アデノウイルス、BCG、HIV、サイトメガロウイルス、デング熱、ネコ白血病、家禽ペスト、豚コレラ、日本脳炎、呼吸器多核体ウイルス、ロタウイルス、乳頭腫ウイルス、重症急性呼吸器症候群（SARS）、炭疽、及びこれらの組み合わせを含むインフルエンザワクチンが挙げられる。それ故、用語「ワクチン」とは、限定することなく、タンパク質、多糖、オリゴ糖、又は弱毒化若しくは死滅ウイルスの形態での抗原が含まれる。適切なワクチン及びワクチンアジュバントの更なる例は、米国特許出願公開第2004/0049150号（Daltoneら）に記載され、この文献の開示は参照により本明細書に組み込まれる。例えば、国際公開第WO 02/24225号（Thomsenら）に開示されるワクチンを参照されたい。  
20  
。

#### 【0040】

別の実施形態では、受動的な経皮送達によって、さもなければ送達が困難又は不可能な小分子薬物が、活性剤として使用されてもよい。かかる分子の例としては、塩形態；ビスホスホネート、好ましくはアレンドロン酸ナトリウム又はパムドロン酸ナトリウムのようなイオン分子；及び受動経皮的な送達を妨げる物理化学特性を有する分子が挙げられる。

#### 【0041】

いくつかの実施形態では、本発明の例示的な薬理学的に活性な薬剤としては、オキシテトラサイクリン、フジシン酸、ゲンタマイシン（gentamycin）、ムピロシン、レタパムリンなどの抗菌剤、ニスタチン、クロトリマゾール、ミコナゾール、エコナゾール、ケトコナゾール、ビホナゾール、及びイミダゾール及びトリアゾール誘導体の組み合わせ物、シクロピロックス、テルビナフィン、フルコナゾール、及びアモロルフィンなどの抗真菌剤、アシクロビル、バラシクロビル、ベンシクロビル、ファムシクロビル、ホスカルネット（ホスホノギ酸ナトリウムヘキサ水和物）、及びドコサノールなどの抗ウイルス剤、ヒドロコルチゾン、クロベタゾン、トリアムシノロン、ベタメタゾン、モメタゾン（momethasone）、及びクロベタゾールなどの抗炎症剤（グルココルチコイド）（並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体）、アセチルサリチル酸、ジクロフェナク、及びイブプロフェンなどの（NSAIDの）消炎剤／鎮痛剤（並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体）、例えば、ヒドロコルチゾン、クロベタゾン、及びベタメタゾンなどのグルココルチコイド、及び例えば、リドカイン及びブリロカインなどの局部麻酔薬などの鎮痒薬（並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体）、カルシポトリオール及びシクロスボリンAなどの抗乾癬剤（並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体）、タクロリムス及びピメクリリムスなどの湿疹及びアトピー性皮膚炎の処置のための薬剤（並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体）、チモロール、ベタキソロール、ラタノプロスト、ビマトプロスト、及びトラボプロストなどの抗緑内障剤（並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体）、リドカイン、ブリロカイン、ロピバカイン、メピバカイン、ブピバカイン、レボブピバカイン、ベンゾカイン、及びテトラカインなどの局部麻酔薬（並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体）、アルプロスタジル（プロスタグランジンE1）などの勃起不全のための薬剤（並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体）、硫化セレン、ピロクトンオレ  
30  
40  
50

アミン (piroctone oleamine) 及びケトコナゾールなどの抗フケ剤、ミノキシジルなどの抗脱毛剤 (並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体) 、トレチノイン (レチノイン酸) 、アダパレン、過酸化ベンゾイル、クリンダマイシン、アゼライン酸などの抗ニキビ剤 (並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体) 、フシジン酸などの創傷治癒剤 (並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体) 、インスリン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、及びデオキシコール酸ナトリウムなどが挙げられる。いくつかの実施形態では、活性剤は、上述の活性剤の薬学的に許容される塩又は誘導体を含んでもよい。薬学的に許容される塩の例としては、塩酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、マレイン酸塩、クエン酸塩、リン酸塩、酢酸塩、乳酸塩などの酸性塩、並びにフマル酸塩及びナトリウム塩及びカリウム塩などの塩基性塩が挙げられる。例えば、S. M. Berger, L. D. Bighley, D. C. Monkhouse, J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1~19 に開示される薬学的塩を参照されたい。

#### 【0042】

別の実施形態では、本開示の活性剤は、インスリン、インターフェロン - アルファ、インターフェロン - ベータ、カルシトニン、ゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) 、テリパラチドなどの副甲状腺ホルモン、リドカイン、リドカイン / テトラカイン組み合わせ物、フェンタニール、モルヒネ、ヒドロモルホン、オキシブチリン (oxybutyrin) 、アルプロスタジル、テルビナフィン、ゾルミトリプタン、トリアムシノロンアセトニド、並びにそれらの薬学的に許容される塩を含んでもよい。一実施形態では、活性剤は、デオキシコール酸ナトリウム並びにその薬学的に許容される塩及び誘導体を含み得る。

#### 【0043】

いくつかの実施形態では、本開示の活性剤としては、日焼け止め剤、日焼け防止剤、芳香剤、香料、精油、シリコーン、皮膚軟化薬、湿潤剤、コンディショナー、保湿剤、酸化防止剤、ステロイド剤又はその他の抗炎症剤、血管拡張薬、剥離剤 (例えば - ヒドロキシ酸又は - ヒドロキシ酸) 、成長因子、酵素、漂白剤又は着色剤、抗真菌剤又は抗菌剤、(例えばポビドンヨード、グルコン酸クロルヘキシジン、トリクロサン、p - クロロ - m - キシレノール (xylenol) 、グリセリン及びプロピレングリコールの脂肪酸モノエステル、過酸化ベンゾイル、過酸化水素、銀及び銀塩 (例えば塩化銀、酸化銀、及びスルファジアシン銀を含むがこれらに限定されない) 、フェノール類、ミコナゾール、クロトリマゾール、ケトコナゾール、エコナゾール、ウンデシレン酸など) 、乳化剤、人工日焼け剤、日焼け促進剤、皮膚鎮静剤、皮膚引き締め剤、しわ防止剤、皮膚修復材、皮脂阻害剤、皮脂刺激剤、プロテアーゼ阻害剤、かゆみ止め成分、毛髪成長阻害剤、毛髪成長促進剤、制汗剤、抗発汗剤 (antisudoral agent) 、フケ防止剤、滑剤、皮膚感覚剤、抗ニキビ治療、除毛剤、収斂剤、除毛用化合物、又はうおのめ、たこ若しくはいぼ除去剤、N, N - デエチル - m - トルアミド (DEET) 、イカリジン (icaridine) 、及びブチルアセチルアミノプロピオン酸エチルなどの防虫剤 (並びにその塩及び誘導体) 、粉末又は液体化粧品、及び脂肪低減化合物などの化粧料活性剤を挙げることができる。

#### 【0044】

いくつかの実施形態では、本開示の活性剤は、皮膚充填剤を含む。皮膚充填剤は、皮下細胞にかさを加える化合物又は組成物であり、皮膚のシワを滑らかにすること又は口唇の拡大をもたらすことができる。いくつかの実施形態では、例示的な皮膚充填剤としては、特に 5,000 ~ 2,000,000 ダルトンの範囲のサイズのヒアルロン酸 (HA) 、コラーゲン若しくはコラーゲンミメティック、エラスチン、フィブリン、フィブロネクチン、テネイシン、ビタミン A、キトサン及びコンドロイチン、グリコサミノグリカン、又はプロテオグリカンなどの多糖類、ポリリジン、ポリアクリルアミド、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、及び他のポリマーなどのアミノ酸のホモポリマー、メラニン及びメラニン誘導体、天然又は合成色素、又はこれらの組み合わせを挙げることができる。一実施形態では、皮膚充填剤は、配列番号 1 ~ 8 を含むアミノ酸配列又はそれらの類似体を含むペプチドに共有結合又は非共有結合により結合する。一実施形態では、皮膚充填剤は、配列番号 1 ~ 17 に記載されるアミノ酸配列、又はその類似体を有するペプチドに共有結

10

20

30

40

50

合又は非共有結合により結合する。一実施形態では、皮膚充填剤は、配列番号1～8を含むアミノ酸配列を含むペプチド、配列番号1～17に記載されるアミノ酸配列、又はそれらの類似体を有するペプチドとの混合物中に存在する。

【0045】

一実施形態では、皮膚充填剤は、HA及びコラーゲン又はコラーゲンミメティックの混合物を含む。一実施形態では、この混合物は、約1：100～約100：1の比率でHA及びコラーゲン（又はそのミメティック）を含有する。別の実施形態では、HAとコラーゲン（又はそのミメティック）との比率は、少なくとも約1：100、少なくとも約1：50、少なくとも約1：10、又は少なくとも約1：1.01である。別の実施形態では、HAとコラーゲン（又はそのミメティック）との比率は、約100：1以下、約50：1以下、約10：1以下、又は約1.01：1以下である。一実施形態では、皮膚充填剤は、約1%～約99%のHAを含む。一実施形態では、皮膚充填剤は、少なくとも約1%、10%、15%、20%、50%、又は95%のHAを含む。一実施形態では、皮膚充填剤は、99%、95%、50%、20%、15%、10%、又は1%以下のHAを含む。別の実施形態では、皮膚充填剤は、約1%～約99%のコラーゲン又はコラーゲンミメティックを含む。一実施形態では、皮膚充填剤は、少なくとも約1%、10%、15%、20%、50%、又は95%のコラーゲン又はコラーゲンミメティックを含む。一実施形態では、皮膚充填剤は、99%、95%、50%、20%、15%、10%、又は1%以下のコラーゲン又はコラーゲンミメティックを超える。本発明における有用な皮膚充填剤は、国際公開第WO 2013/112488号に記載されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0046】

いくつかの実施形態では、本開示の活性剤は、ビタミン、ハーブ抽出物、ハーブサプリメント、アミノ酸、食物ミネラル、食物繊維、及び抗酸化剤などの栄養サプリメントを含んでもよい。

【0047】

本明細書に提供される組成物は、薬学的に、化粧料的に、又は栄養学的に許容される賦形剤、担体、又はビヒクルを用いて配合され得る。組成物は、着色剤、芳香剤、香味料、防腐剤、湿潤剤、増粘剤、抗酸化剤、粘着剤、懸濁化剤、分散剤、可溶化剤、及びレオロジー変性剤を含む1つ以上の添加剤を更に含んでもよい。

【0048】

いくつかの実施形態では、特に、異常に低速の、皮膚又は粘膜組織を通る浸透を有する場合、更なる浸透促進剤（penetration enhancers又はpermeation enhancers）が、製剤に含まれ得る。更なる浸透促進剤の例としては、イソステアリン酸、オクタン酸、及びオレイン酸などのC<sub>1</sub>～C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>脂肪酸；オレイルアルコール及びラウリルアルコールなどのC<sub>8</sub>～C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>脂肪族アルコール；オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、ステアリン酸ブチル、及びラウリン酸メチルなどのC<sub>8</sub>～C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>脂肪酸の低級アルキルエステル；アジピン酸ジイソプロピルなどのC<sub>6</sub>～C<sub>8</sub>二塩基酸のジ（低級）アルキルエステル；グリセリルモノラウレートなどのC<sub>8</sub>～C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>脂肪酸のモノグリセリド；テトラグリコール（テトラヒドロフルフリルアルコールポリエチレングリコールエーテル）；テトラエチレングリコール（エタノール、2，2'-（オキシビス（エチレンオキシ）ジグリコール）；C<sub>6</sub>～C<sub>3</sub>～C<sub>6</sub>アルキルピロリドンカルボキシレート；ポリエチレングリコール；プロピレングリコール；2-（2-エトキシエトキシ）エタノール；ジエチレングリコールモノメチルエーテル；N，N-ジメチルデシルアミン-N-オキシド、並びにこれらの組み合わせが挙げられる。ポリエチレンオキシドのアルキルアリールエーテル、ポリエチレンオキシドモノメチルエーテル、及びポリエチレンオキシドジメチルエーテルもまた好適であり、グリセロール及びN-メチルピロリドンなどの可溶化剤も同様に好適である。テルペンは、別の有用な部類の軟化剤であり、これには、ピネン、d-リモネン、カレン、テルピネオール、テルピネン-4-オール、カルベオール、カルボン、プレゴン、ピペリトン、メントン、メントール、ネオメントール、チモール、カンファー、ボメオール（bo

10

20

30

40

50

meol)、シトラール、イオノン、及びシネオールが単独で又は任意の組み合わせで含まれる。更なる浸透促進剤は、皮膚の炎症、皮膚の損傷、及び全身性毒性を最低限に抑えるべきである。本開示の組成物は、例えば、サルチル酸メチル、カプサイシン、カンフル、及びメントールなどの誘導刺激薬も含有し得る。

#### 【0049】

所与の治療的、予防的、化粧料的、又は栄養学的用途に対して有効な本明細書に記載される皮膚浸透促進剤又は活性剤の量は、意図する治療的、予防的、化粧料的、又は栄養学的用途を達成するのに十分な量である。使用される皮膚浸透促進剤又は活性剤の正確な量は、これらに限定されないが、皮膚浸透促進剤又は活性剤の物理的及び化学的性質、意図される投与計画、皮膚浸透促進剤又は活性剤を投与する方法及び製剤が投与されている種、投与されている製剤の種類、及び処置されている状態を含む、当該技術分野において既知の要因により様々であろう。したがって、全ての可能な適用に対して有効な皮膚浸透促進剤又は活性剤の量を構成する量を概して記載することは合理的ではない。しかしながら、当業者であれば、このような要因を考慮することで適切な量を容易に決定することができる。

10

#### 【0050】

本開示はまた、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サプリメントを経皮送達する方法も提供する。一実施形態では、本方法は、薬学的に許容される担体、化粧品的に許容される担体、又は栄養的に許容される担体から選択される担体を含む組成物と、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サプリメントから選択される活性剤と、本明細書に開示される皮膚浸透促進剤とを、それを必要とする対象の皮膚に投与することを含む。

20

#### 【0051】

本開示はまた、皮膚を、本明細書に開示されるペプチドを含む皮膚浸透促進剤と、本明細書に開示される皮膚充填剤を含む活性剤とを含む、有効量の組成物と接触させることを含む、皮膚を滑らかにすることを必要とする対象の皮膚を滑らかにすることを提供する。本開示はまた、シワを、本明細書に開示されるペプチドを含む皮膚浸透促進剤と、本明細書に開示される皮膚充填剤を含む活性剤とを含む、有効量の組成物と接触させることを含む、シワを処置することを必要とする対象においてシワを処置する方法を提供する。本開示はまた、口唇を、本明細書に開示されるペプチドを含む皮膚浸透促進剤と、本明細書に開示される皮膚充填剤を含む活性剤とを含む、有効量の組成物と接触させることを含む、口唇拡大を必要とする対象における口唇拡大のための方法を提供する。

30

#### 【0052】

本発明の方法は、任意の好適な対象に対して行うことができる。好適な対象には、ヒト、非ヒト霊長類、齧歯類、イヌ、ネコ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、又はウシなどの動物が含まれる。本発明の組成物は、スプレー式、浸漬式、刷毛塗り式、滴下式、擦り込み式、又はパッチ形態での粘着式などによる、任意の好適な方法により皮膚又は粘膜組織に適用され得る。

#### 【0053】

##### 実施形態

実施形態1は、ペプチドを含む皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号1、2、3、若しくは6に記載される10個の連続アミノ酸残基、配列番号7若しくは8に記載される11個の連続アミノ酸残基、配列番号4若しくは5に記載される12個の連続アミノ酸残基、又はそれらの類似体を含むアミノ酸配列を含む。

40

#### 【0054】

実施形態2は、実施形態1の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、合計30個以下のアミノ酸残基又はアミノ酸類似体を含む。

#### 【0055】

実施形態3は、実施形態1の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドのアミノ酸配列の少なくとも50%は、配列番号1、2、3、4、5、6、7、又は8から選択される連続アミノ酸配列を含む。

50

## 【0056】

実施形態4は、実施形態1の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、又は17に記載されるアミノ酸配列を有する。

## 【0057】

実施形態5は、実施形態1に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドのN末端は、SHSの連続アミノ酸配列を含む。

## 【0058】

実施形態6は、実施形態1に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドのC末端は、GGG、G、及びWPAからなる群から選択される連続アミノ酸配列を含む。

10

## 【0059】

実施形態7は、実施形態1～6のいずれか一形態に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号10に記載されるアミノ酸配列を有する。

## 【0060】

実施形態8は、実施形態1～6のいずれか一形態に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号14に記載されるアミノ酸配列を有する。

## 【0061】

実施形態9は、実施形態1～6のいずれか一形態に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号15に記載されるアミノ酸配列を有する。

20

## 【0062】

実施形態10は、実施形態1若しくは2又は5若しくは6に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号1、2、3、若しくは6に記載される10個の連続アミノ酸残基、配列番号7若しくは8に記載される11個の連続アミノ酸残基、又は配列番号4若しくは5に記載される12個の連続アミノ酸残基を含むアミノ酸配列の類似体を含み、該類似体は、3つを超えては保存的アミノ酸置換を有しない。

## 【0063】

実施形態11は、実施形態10に記載の皮膚浸透促進剤であり、該類似体は、2つを超えては保存的アミノ酸置換を有しない。

## 【0064】

実施形態12は、実施形態10に記載の皮膚浸透促進剤であり、該類似体は、1つを超えては保存的アミノ酸置換を有しない。

30

## 【0065】

実施形態13は、実施形態1若しくは2又は5若しくは6に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、又は17に記載されるアミノ酸配列を有するペプチドの類似体であり、該類似体は、3つを超えては保存的アミノ酸置換を有しない。

## 【0066】

実施形態14は、実施形態13に記載の皮膚浸透促進剤であり、該類似体は、2つを超えては保存的アミノ酸置換を有しない。

## 【0067】

実施形態15は、実施形態13に記載の皮膚浸透促進剤であり、該類似体は、1つを超えては保存的アミノ酸置換を有しない。

40

## 【0068】

実施形態16は、実施形態13～15のいずれか一形態に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号10に記載されるアミノ酸配列を有するペプチドの類似体である。

## 【0069】

実施形態17は、実施形態13～15のいずれか一形態に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号14に記載されるアミノ酸配列を有するペプチドの類似体である。

50

## 【0070】

実施形態18は、実施形態13～15のいずれか一形態に記載の皮膚浸透促進剤であり、該ペプチドは、配列番号15のアミノ酸配列を有するペプチドの類似体である。

## 【0071】

実施形態19は、実施形態1～18のいずれか一形態に記載の皮膚浸透促進剤と活性剤とを含む組成物であり、該活性剤は、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、及び栄養サプリメントからなる群から選択される。

## 【0072】

実施形態20は、実施形態19の組成物であり、該活性剤は、抗体、脂肪低減化合物、治療タンパク質、毛髪成長を加速若しくは刺激するための薬剤、除毛用化合物、又はビタミンである。

10

## 【0073】

実施形態21は、実施形態19の組成物であり、該活性剤は、電荷を帯びた小分子又はタンパク質を含む薬学的活性剤である。

## 【0074】

実施形態22は、実施形態21の組成物であり、該薬学的活性剤は、インスリン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、又はデオキシコール酸ナトリウムからなる群から選択される。

## 【0075】

実施形態23は、実施形態19の組成物であり、該活性剤は、皮膚充填剤である。

20

## 【0076】

実施形態24は、実施形態23の組成物であり、該皮膚充填剤は、ヒアルロン酸(HA)、コラーゲン、コラーゲンミメティック、エラスチン、フィブリン、フィブロネクチン、テネイシン、ビタミンA、多糖類、アミノ酸ホモコポリマー、メラニン、メラニン誘導体、天然又は合成色素、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。

## 【0077】

実施形態25は、実施形態24の組成物であり、該多糖類は、キトサン、コンドロイチン、グリコサミノグリカン、プロテオグリカン、又はこれらの組み合わせである。

## 【0078】

実施形態26は、実施形態24の組成物であり、該アミノ酸ホモコポリマーは、ポリリジン、ポリアクリルアミド、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、又はこれらの組み合わせである。

30

## 【0079】

実施形態27は、実施形態23の組成物であり、該皮膚充填剤は、ヒアルロン酸(HA)、コラーゲン、コラーゲンミメティック、又はこれらの組み合わせからなる群から選択される。

## 【0080】

実施形態28は、薬学的に許容される賦形剤を含む、実施形態19～27のいずれか一形態に記載の組成物であり、該薬学的に許容される賦形剤は、ローション、クリーム、又はパッチの形態で組成物を提供する。

40

## 【0081】

実施形態29は、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サプリメントを経皮送達する方法であり、該方法は、それを必要とする対象の皮膚に、

薬学的に許容される担体、化粧品的に許容される担体、又は栄養的に許容される担体から選択される担体と、

薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サプリメントから選択される活性剤と、

実施形態1～18のいずれか一形態に記載の皮膚浸透促進剤と、を含む組成物を、投与することを含む。

## 【0082】

実施形態30は、皮膚を、有効量の実施形態19～28のいずれか一形態に記載の組成

50

物と接触させることを含む、皮膚を滑らかにすることを必要とする対象の皮膚を滑らかにする方法である。

【0083】

実施形態31は、シワを、有効量の実施形態19～28のいずれか一形態に記載の組成物と接触させることを含む、シワを処置することを必要とする対象においてシワを処置する方法である。

【0084】

実施形態32は、口唇を、有効量の実施形態19～28のいずれか一形態に記載の組成物と接触させることを含む、口唇拡大を必要とする対象における口唇拡大のための方法である。

10

【0085】

本発明の目的及び利点は、以下の実施例によって更に例示されるが、これらの実施例において列挙された特定の材料及びその量は、他の諸条件及び詳細と同様に、本発明を不当に制限するものと解釈されるべきではない。

【実施例】

【0086】

材料

29個のランダムM13ファージディスプレイペプチドライブリ、ANL1-ANL29(「Efficient Construction of a Large Collection of Phage-Displayed Libraries」、Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening, 2005, vol. 8, pp. 545～551に記載)を、Dr. Brian Kay(University of Illinois at Chicago)から入手した。5個のランダムM13ファージディスプレイペプチドライブリ(表1)を、Dr. George P. Smith(University of Missouri-Columbia)から入手した。3個のランダムM13ファージディスプレイペプチドライブリ、Ph.D.(商標)-12、Ph.D.(商標)-C7C、及びPh.D.(商標)-7を、New England Biolabs, Inc.(Ipswich, MA)から入手した。

20

【0087】

【表1】

30

表1.

ファージペプチドライブリ表記	GenBank受入番号
F3-6mer	AF246446
F88-15mer	AF246448
F88-Cys2	AF246451
F88-Cys4	AF246453
F88-Cys6	AF246455

40

【0088】

大腸菌株ER 2738(遺伝子型: F' proA+B+ lacIq (lacZ) M15 zzzf: Tn10(TetR)/fhuA2 glnV (lac-proA B) thi-1 (hsdS-mcrB)5)を、New England Biolabs(Ipswich, MA)から入手した。

【0089】

ペプチドを、段階的固層ペプチド合成(SPPS)法を用いて、GenScript USA Inc.(Piscataway, NJ)によって化学的に合成した。ペプチドを、HPLCによって95%の純度に精製し、高分解能質量分析によって特定した。

50

## 【0090】

ルリア・ベルターニ (Luria Bertani) (LB) プロス粉末、ルリア・ベルターニ (LB) 寒天粉末、イソプロピル-β-D-チオガラクトシド (IPTG)、5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-D-ガラクトシド (X-gal)、ポリエチレングリコール-8000、トリス-HCl、テトラサイクリン、フルオレセインイソチオシアネート (FITC) ナトリウム塩、アガロース、卵白アルブミン (製品番号A2512)、及び塩化マグネシウムは、全てSigma-Aldrich (St. Louis, MO) から入手した。

## 【0091】

緑色蛍光タンパク質 (GFP) を、Dai, Mらによって「The Creation of a Novel Fluorescent Protein by Guided Consensus Engineering」、Protein Engineering, Design & Selection, 2007, vol. 20 (2), pp. 69~79 に説明されている手順に従って発現させ、精製した。 10

## 【0092】

LBプロス培地：LBプロス粉末を、1リットルの脱イオン水中で順次に再構成し、オートクレーブし、室温で保管した。

## 【0093】

テトラサイクリンストック (懸濁液)：テトラサイクリンを、20mg/mlの濃度でエタノール：水 (1:1) に添加し、-20で冷暗所に保管した。ストック懸濁液を、 20 使用前にボルテックスした。

## 【0094】

LB / IPTG / X-gal / テトラサイクリンペトリプレート：1LのLB培地中に15gのLB寒天を含有する溶液を、オートクレーブし、その後、50未満まで冷却した。IPTG (1.25g) 及びX-gal (DMF (25mL) 中1.0g) を含有する1ミリリットルの溶液を、LB培地に添加して、続いて1mLのテトラサイクリンストック溶液を添加した。溶液のアリコート (15mL) を、ペトリプレートに注ぎ、そのプレートを、4で冷暗所に保管した。

## 【0095】

軟寒天：トリプトン (10g)、酵母エキス (5g)、NaCl (5g)、塩化マグネシウム (1g)、及びアガロース (7g) を、脱イオン水 (1L) に添加した。生成物を、オートクレーブし、50mLのアリコートへと分け、固形として室温で保管した。使用前に、軟寒天を、マイクロ波加熱炉を用いて融解させた。 30

## 【0096】

PEG / NaCl ファージ沈殿液：ポリエチレングリコール-8000を、20%の濃度 (重量 / 体積) で脱イオン水中のNaClの2.5M溶液に添加した。溶液を、オートクレーブし、室温で保管した。

## 【0097】

N-(4-{[4-アミノ-2-ブチル-1H-イミダゾ[4,5-c]キノリン-1-イル]オキシ}ブチル)-6-(N'-イソプロピイデンヒドラジノ (isopropylidenehydrazino))ニコチンアミドを、PCT公開第WO 2012/167081号 (Wigham) に説明される合成手順に従って調製した。 40

## 【0098】

ELISAアッセイを、ヤギ抗モルモットIgG-HRP (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX) を用いて実行した。

## 【0099】

ヒトの屍体皮膚を、冷凍保存した。使用前に、冷凍した切片をPBS中に置き、室温に温めた。ファージライブリ又は合成ペプチド配列を、皮膚試料の角質層側に適用した。

## 【0100】

方法

## ファージ増幅：

L B 培地 ( 2 m L ) 及びテトラサイクリン ( 2 0  $\mu$  g / m L の濃度 ) を含有する管に、大腸菌 E R 2 7 3 8 細胞を接種し、その後、振盪 ( 2 0 0 r p m ) しながら 3 7 度で一晩インキュベートした。アリコート ( 1 0 0 マイクロリットル ) を、 2 0  $\mu$  g / m L のテトラサイクリンを含有する 2 0 m L の新鮮な L B 培地に添加した。培養物を、フラスコを振盪 ( 2 0 0 r p m ) しながら 3 7 度でインキュベートし、細胞を、早期対数期に成長させた ( O D 6 0 0 = 0 . 5 ) 。次いで、ファージ試料を添加し、培養物を、フラスコを振盪しながら 3 7 度で 4 時間維持した。

## 【 0 1 0 1 】

## ファージ精製：

大腸菌 E R 2 7 3 8 細胞を、 1 0 分間の 8 0 0 0 r p m での遠心分離によってファージ増幅培養試料から取り出した。得られた上清溶液を、 P E G / N a C 1 ファージ沈殿液 ( 上清 1 体積対沈殿液 5 体積の濃度で ) に添加し、その後、 4 度で 2 時間維持した。得られたファージ沈殿物を、試料を遠心分離し ( 8 0 0 0 r m p で 3 0 分間 ) 、上清を除去し、ファージペレットを、 2 m L のトリス緩衝食塩水中に再懸濁させることによって、回収した ( トリス緩衝食塩水試薬は、 1 5 0 m M の N a C 1 緩衝食塩水 ( p H 7 . 5 ) 中の 5 0 m M のトリス - H C 1 として調製 ) 。増幅されたファージ生成物を、 4 度で保管した。

## 【 0 1 0 2 】

## ファージ滴定：

L B プロス培地 ( 5 ~ 1 0 m L ) に、大腸菌 E R 2 7 3 8 の單一コロニーを接種し、細胞が早期対数期に達するまで ( O D 6 0 0 = 0 . 5 ) 、振盪 ( 2 0 0 r p m ) しながら 3 7 度でインキュベートした。その後、培養物培地を、複数の微量遠心管 ( 微量遠心管あたり 2 0 0 マイクロリットル、各ファージ希釈液につき 1 つの管を調製 ) 内に分与した。 L B プロス培地中、増幅されたファージ生成物の 1 0 倍段階希釈液を調製し、各希釈液からの 1 0 マイクロリットルのアリコートを、培養培地を含有する別個の微量遠心管に添加した。各管をボルテックスし、 1 ~ 5 分間室温でインキュベートした。

## 【 0 1 0 3 】

各微量遠心管の中身を、 4 5 度に維持された 3 m L の軟寒天を含有する対応する培養管に移動させた。その後、各培養管をボルテックスし、軟寒天を、対応する予め温めておいた ( 3 7 度 ) L B / I P T G / X - g a l \ テトラサイクリンペトリプレートに注いだ。得られたプレートを、緩やかに傾け、回転させて、プレート上の軟寒天を均一に分散させた。プレートを 5 分間冷却し、反転させて、その後、 3 7 度で一晩インキュベートした。約 1 0 0 のブラークを有するプレートを計数して、希釈係数に対する調整を提供した。プレート上の單一のブラークファージを選択し、 D N A 配列決定のために更にプロセスした。

## 【 0 1 0 4 】

## ファージの D N A 配列決定：

大腸菌 E R 2 7 3 8 細胞培養物 ( 上述のように調製された 8 0 0 マイクロリットルの早期対数期 ) を、 9 6 の深ウェルプレートの各ウェルに添加した ( 各ウェルは 2 m L の体積を有する ) 。單一のブラークファージを、ファージ滴定手順に説明されるように調製したペトリプレートからランダムに選択した。滅菌した楊枝を使用して、ペトリプレートからブラークを除去し、 9 6 ウェルプレートのウェルに移動させた。感染した大腸菌 E R 2 7 3 8 細胞を、振盪 ( 3 0 0 r p m ) しながら 3 7 度で 4 時間インキュベートした。その後、液体培養物を、遠心分離し ( 4 度、 4 0 0 0 r p m で 6 0 分間 ) 、各ウェルから得られたファージ上清 ( 1 0 マイクロリットル ) のアリコートを、ローリングサークル増幅法を用いて D N A 配列決定した。この D N A 配列決定は、 M C L A B ( S o u t h S a n Francisco, C A ) で行った。

## 【 0 1 0 5 】

## ファージディスプレイからペプチドの選択：

代表的な活性剤化合物の皮膚浸透を促進するペプチドの選択は、実施例 1 及び 2 に説明

10

20

30

40

50

される手順を用いて達成した。

【0106】

(実施例1)

(テープ剥離手順を用いる皮膚浸透促進のためのファージディスプレイライブラリ)

各ファージディスプレイライブラリ (PBS中200マイクロリットル) を、PIPE TMAN Classicピペット (Gillson Inc., Middleton, WI) を用いてヒトの屍体皮膚の1cm<sup>2</sup>区分に適用した。粘着テープを使用して、適用部位を画定する正方形枠を形成した。1時間後、この適用部位をPBSで洗浄して、皮膚表面に残るファージを除去した。皮膚試料のテープ剥離は、Scotch (登録商標) ポックステープ (3M Company, Maplewood, MN) を用いて達成した。このテープを、テープが適用部位全体を覆うが、枠の境界を越えて延在しないように、皮膚上に置いた (テープストリップの幅は約1.5cm)。テープの各適用については、テープを、300gの手持ち式ローラの3回のサイクル (3回の前方及び3回の後方へのパス) を用いて皮膚に固定した。次いで、テープを、一方の端部で手で把持し、単動作を用いて皮膚表面から迅速に剥がした。テープ剥離の全く同じ手順を、ファージライブラリ適用部位でもう23回繰り返した。テープストリップ21~24を、PBS (5mL) に浸して粘着剤からファージを回収した。更に、24番目のテープ剥離手順の後に残っている皮膚試料を、PBS (5mL) に浸してこの試料からファージを回収した。回収したファージを組み合わせて、その後増幅した。増幅したファージのプールを、別の選択及び増幅のラウンドのために屍体皮膚の新しい試料に負荷した。合計4回の選択及び増幅のラウンドを完了した。最終 (4番目) の選択工程の後、ファージを、ファージ滴定 (上述される) のための手順に従って寒天プレート上で大腸菌2738で分離した。単一のブラークファージを、寒天プレートからランダムに選び出し、上述される手順を用いてファージDNA配列決定のためにプロセスした。DNA配列を、96個の単離ファージブラークのうちの57個から成功裡に入手した。

【0107】

(実施例2)

(インビボの無毛モルモット手順を用いる皮膚浸透促進のためのファージディスプレイライブラリ)

無毛モルモット (Charles River Laboratory, Wilmington, MAからの200グラムのメス) に、酸素又は空気中3~5%のイソフルランを用いてチャンバ内で麻酔をかけ、同軸呼吸装置 (co-axial breathing device) (COAX-3、Viking Medical, Medford Lakes, NJから入手) を用いて1.5~3%のイソフルランで維持した。実験の継続期間にわたって、各動物を、その鼻及び口が麻酔用フェイスマスク内にある状態で、サーモスタッフ制御表面に横向きに寝る姿勢で置いた。手順の間、その動物の呼吸速度を監視し、麻酔のレベルを必要に応じて調整した。ファージライブラリを負荷するために使用される背中の区分を、水溶液中70%のイソプロパノールで拭き取った。

【0108】

200マイクロリットルのPBS中に約10<sup>11</sup>ファージ粒子を含有するファージディスプレイライブラリを、PIPETMAN Classicピペットを用いて動物の背中の皮膚の1cm<sup>2</sup>区分上に負荷した。湿度を制御しつつ適用部位での汚染を減少させるために、Hill Top Chamber (登録商標) (Hill Top Research, St. Petersburg, FL) を、適用部位全体に置き、粘着剤で取り付けた。1時間後、10mLの血液を心臓から採血した。血液を、ヘパリン含有バイアルに直ちに移した (1mLあたり1000U S Pユニット)。血液の試料 (10mL) を、LBプロス培地 (早期対数期、OD600 = 0.5) の50mLの大腸菌ER2738細胞と混合し、その後、300mLの軟寒天に添加した。血液及びER2738を含有する等分量の軟寒天 (プレート当たり約7mL) を、50のLB/IPTG/X-gal/テトラサイクリンペトリプレートに添加した。プレートを、37で一晩インキュベートした

10

20

30

40

50

。得られた単一のブラークファージを、寒天プレートからランダムに選び出し、上述される手順を用いてファージDNA配列決定のためにプロセスした。DNA配列を、96個の単離ファージブラークのうちの48個から成功裡に入手した。

## 【0109】

## (実施例3)

表2には、実施例1及び2の単離ヌクレオチド配列によってコードされるペプチド配列が表示される(配列番号1~8)。回収されたブラークにおける各ペプチド配列の出現頻度を報告する。

## 【0110】

## 【表2】

10

表2.

配列番号	配列	ヒト屍体皮膚研究のテープ剥離からのブラークにおける配列の出現頻度 (n/57)	無毛モルモット研究からのブラークにおける配列の出現頻度 (n/48)
1	ACLPGVLGSC	1	0
2	ACSLPWDASC	1	0
3	ACDTPRLTHC	2	0
4	TWTQAWPWGWTW	1	0
5	AKSSWWGRAYWY	1	0
6	ACLDNTFRAC	2	11
7	ASSTTLNTLAQ	9	5
8	ASSDIPLFTRY	1	4

20

## 【0111】

## (実施例4)

各ペプチド配列が、N末端上のSHSペプチド配列、及びC末端上のGGGS(表3の配列番号9~14及び16)、WPA(表3の配列番号15)、又はG(配列番号17)ペプチド配列と隣接している、ペプチド配列番号1~8(表2)の修正版を合成した。

30

## 【0112】

## (実施例5)

皮膚浸透促進のためのインビトロアッセイを、無毛モルモットの皮膚を用いて実行した。動物の背中の領域からの完全な皮膚試料を使用した。ペプチド(1mg/mLの濃度)、FITCナトリウム塩(10mg/mLの濃度)、及びPBS(200マイクロリットル)を含有する、表3の各ペプチドに関する個別の試験試料を調製した。FITCナトリウム塩(10mg/mLの濃度)、及びPBS(200マイクロリットル)のみを含有する対照試料を調製した。各ペプチド試験試料を、PIPETMAN Class Cピペットを用いてモルモット皮膚の角質層側面上の別個の1cm<sup>2</sup>部分に適用した。同じ方法で、対照試料を適用した。処置された皮膚試料を覆い、1時間室温で維持し、その後、5分間脱イオン水で洗浄して皮膚表面に残るいかなるFITCも除去した。各皮膚適用部位のテープ剥離を、Scotch(登録商標)ボックステープで達成した。このテープを、テープが個々の適用部位の全体表面を覆うように、皮膚上に置いた(テープストリップの幅は約1.5cm)。各テープ剥離手順については、テープを、300gの手持ち式ローラの3回のサイクル(3回の前方及び3回の後方へのパス)を用いて皮膚に固定した。次いで、テープを、一方の端部で手で把持し、単動作を用いて皮膚表面から迅速に剥がした。テープ剥離の全く同じ手順を、各適用部位で合計20回のテープ剥離操作のために繰り返した。各試料の20番目のテープストリップを、340nmの紫外線光を用いてFITCについて画像化した。20番目のテープストリップへのFITCの浸透を示すテープ上の蛍光スポットの存在。結果を表3に提示する。

40

50

【0113】

【表3】

表3.

配列番号	配列	テープストリップ20番上に可視化された蛍光スポット (実施例5)
9	SHSACLPGVLGSCGGGS	NT
10	SHSACSLPWDASCGGGS	存在する
11	SHSACDTPRLTHCGGGGS	NT
12	SHSTWTQAWPWGWTWGGGS	存在する
13	SHSAKSSWWGRAYWYGGGS	存在する
14	SHSACLDNTFRACGGGS	存在する
15	SHSASSTTLNTLAQWPA	存在する
16	SHSASSDIPLFTRYGGGS	存在する
	対照試料(ペプチドなし)	存在しない

NT=未試験

10

【0114】

20

(実施例6)

皮膚浸透促進のためのインビトロアッセイを、ヒト屍体皮膚を用いて実行した。2つの試験試料(A及びB)及び対照試料を調製した。試験試料Aは、GFP(2.55mg/mLの濃度)、0.1mgのペプチドACLDNTFRAC(配列番号6、表2)、及びPBS(50マイクロリットル)を含有した。試験試料Bは、GFP(2.55mg/mLの濃度)、0.1mgのペプチドSHSACLDNTFRACGGGS(配列番号14、表3)、及びPBS(50マイクロリットル)を含有した。対照試料は、GFP(2.55mg/mLの濃度)及びPBS(100マイクロリットル)を含有した。各試料を、PIPETMAN classicピペットを用いてヒト屍体皮膚の別個の1cm<sup>2</sup>区分に適用した。粘着テープを使用して、各適用部位を画定する正方形枠を形成した。処置された皮膚試料を覆い、1時間室温で維持し、その後、5分間脱イオン水で洗浄して皮膚表面に残るいかなるGFPも除去した。各皮膚適用部位のテープ剥離を、Scotch(登録商標)ボックステープで達成した。このテープを、テープが個々の適用部位全体表面を覆うが枠の境界を越えて延在しないように、皮膚上に置いた(テープストリップの幅は約1.5cm)。各テープ剥離手順については、テープを、300gの手持ち式ローラの3回のサイクル(3回の前方及び3回の後方へのパス)を用いて皮膚に固定した。次いで、テープを、一方の端部で手で把持し、単動作を用いて皮膚表面から迅速に剥がした。テープ剥離の全く同じ手順を、各適用部位で合計20回のテープ剥離操作のために繰り返した。テープストリップを、340nmの紫外線光を用いてGFPについて画像化した。試験試料Aについては、皮膚試料中のGFPの緑色蛍光信号の最も深い浸透は、テープストリップ14に対してであった。試験試料Bについては、皮膚試料中のGFPの緑色蛍光信号の最も深い浸透は、テープストリップ20に対してであった。対照試料については、皮膚試料中のGFPの緑色蛍光信号の最も深い浸透は、テープストリップ6に対してのみであった。

30

【0115】

40

(実施例7)

皮膚浸透促進のためのインビトロアッセイを、無毛モルモットの皮膚を用いて実行した。動物の背中の領域からの完全な皮膚試料を使用した。FITCナトリウム塩(0.05mg/mLの濃度)、2.5mg/mLの濃度のペプチドSHSACLDNTFRACG(配列番号17)、及びPBS(40マイクロリットル)を含有する試験試料を、調製し

50

た。F I T C ナトリウム塩 (0.05 mg / mL の濃度)、及びP B S (200マイクロリットル)のみを含有する対照試料を調製した。各試料を、P I P E T M A N C l a s s i c ピペットを用いてモルモット皮膚の角質層側面上の別個の0.25 cm<sup>2</sup>区分に適用した。処置された皮膚試料を覆い、3時間室温で、その後、一晩4で維持した。適用側面とは反対の皮膚試料の側面を、紫外線光 (340 nm) 下で視覚的に検査した。適用部位の正反対の皮膚の側面上の蛍光スポットの可視化を使用して、皮膚を通るF I T C の浸透を確認した。試験試料については、蛍光スポットが、適用部位の正反対の皮膚の側面上に可視化された。対照試料については、蛍光スポットが、適用部位の正反対の皮膚の側面上に可視化されなかった。

## 【0116】

10

## (実施例8)

インビオ局所ワクチン接種研究を、皮膚浸透促進剤としてS H S A C L D N T F R A C G G G S (配列番号14)を用いて実行した。卵白アルブミン抗原を、P C T 公開第W O 2012/167081号 (W i g h t m a n) (参照により本明細書に組み込まれる)に説明される一般的な手順に従う、トール様受容体 (T L R) ベースのワクチンアジュバント成分に共有結合した。ジメチルスルホキシド (D M S O) に溶解したスクシンイミジル4-ホルミルベンゾエート (S F B) (Thermo Scientific, Rockford, IL) を10倍のモル過剰量で卵白アルブミンに添加した。次いでこの溶液を室温で2時間インキュベートした。S F B 修飾卵白アルブミン (O V A - S F B として表される) を、0.15のN a C l を含有するp H 6.0、0.1Mのリン酸緩衝液で予め平衡化したZ E B A スピンカラム (Thermo Scientific) を使用して遊離S F B から分離した。この工程はまた、複合反応のための調製においてO V A - S F B 溶液のp H を変化させた。次いで、T L R ベースのワクチンアジュバント成分、N - (4 - { [ 4 - アミノ - 2 - ブチル - 1 H - イミダゾ [ 4 , 5 - c ] キノリン - 1 - イル ] オキシ } ブチル) - 6 - (N' - イソプロピイデンヒドラジノ) ニコチンアミドを、D M S O に溶解させ、5倍のモル過剰量で緩衝O V A - S F B に添加した。反応培地の酸性条件は、インサイチュでN - (4 - { [ 4 - アミノ - 2 - ブチル - 1 H - イミダゾ [ 4 , 5 - c ] キノリン - 1 - イル ] オキシ } ブチル) - 6 - ヒドラジノニコチンアミド (T L R - V A として表わされる) を形成するアセチミン保護基の脱保護をもたらした。O V A - S F B のT L R - V Aへの共有結合性の複合により形成された、得られた生成物 (O V A - T L R 複合体として表わされる) を、P B S で予め平衡化したZ E B A スピンカラムを使用して非複合成分から分離した。

20

## 【0117】

30

3つのワクチン製剤を調製した。ワクチン製剤1は、0.625 mg / mL の濃度でP B S 中にO V A - T L R 複合体を含有した。ワクチン製剤2は、2.5 mg / mL の濃度でP B S 中にO V A - T L R 複合体を含有した。ワクチン製剤3は、P B S 中に、O V A - T L R 複合体 (2.5 mg / mL の濃度) 及びペプチドS H S A C L D N T F R A C G G G S (配列番号14、1 mg / mL の濃度) を含有した。

## 【0118】

40

無毛モルモット (Charles River Laboratoryからの200 g ramのメス) に、酸素又は空気中3~5%のイソフルランを用いてチャンバ内で麻酔をかけ、同軸呼吸装置 (COAX-3、Viking Medicalから入手) を用いて1.5~3%のイソフルランで維持した。実験の持続期間にわたって、各動物を、その鼻及び口が麻酔用フェイスマスク内にある状態で、サーモスタッフ制御表面に横向きに寝る姿勢で置いた。手順の間、その動物の呼吸速度を監視し、麻酔のレベルを必要に応じて調整した。免疫付与のための部位として使用される背中の区分を、水溶液中70%のイソプロパノールで拭き取った。

## 【0119】

50

3つの動物のコホートを使用した。コホート1 (5匹の動物) では、各動物に、800マイクロリットルのワクチン製剤1を用いて皮下注射した。製剤の合計体積を、動物の背

中に位置する 4 つの注射部位にわたって注射した（すなわち、ワクチン製剤 1 を、4 つの別個の 200 マイクロリットル注射として投与した）。コホート 2（4 匹の動物）では、合計 800 マイクロリットルのワクチン製剤 2 を、各動物に、局所的に適用した。具体的には、製剤の合計体積を、動物の背中に位置する 4 つの適用部位にわたって投与した。4 つの部位のそれぞれで、200 マイクロリットルのワクチン製剤 2 を、PIPEMAN

Classical ピペットを用いて皮膚の 1 cm<sup>2</sup> 区分に適用した。コホート 3（5 匹の動物）では、ワクチン製剤 2 について説明される手順と同じ手順を用いて、合計 800 マイクロリットルのワクチン製剤 3 を、各動物に、局所的に適用した。全ての 3 つのコホートについては、Hill Top Chamber（登録商標）を、各適用部位全体に置いて、粘着剤を用いて取り付けた。このチャンバを、投与後約 4 ~ 12 時間で除去した。コホート 1 及び 2 は、比較例として機能した。

#### 【0120】

各コホート内の動物には、対応するワクチン製剤及び上述される方法を用いて、最初の免疫付与の 3 週間後、6 週間後、及び 9 週間後に追加免疫した。最終の追加免疫の 2 週間後に、マウスから採血した。血液試料を、30 分間室温で維持し、その後、能動制動制御なしに 2000 RCF で 15 分間遠心分離した。各試料からの上清（血清）を、新しい回収管に移し、-80° で保管した。卵白アルブミン特異抗体価を、卵白アルブミンでコーティングされたマイクロタイタープレート内の標準血清 E L I S A を用いて 1 / 6250 に希釈された血清試料を使用して決定した。特異的免疫（A b）反応を、平均 OD 450 値として表 4 に報告する。

#### 【0121】

#### 【表 4】

表 4.

コホート	コホート内の動物	免疫付与方法	製剤内の皮膚浸透促進ペプチド	特異的免疫（A b）反応（平均 OD 450）	標準偏差
1 (比較例)	5	皮下注射	存在しない	3. 994	0. 013
2 (比較例)	4	局所適用	存在しない	0. 210	0. 168
3 (実施例)	5	局所適用	存在する	2. 028	0. 768

#### 【0122】

上述され、実施例に示される実施形態は、単なる例として提示されるものであり、本開示の概念及び原理に対する限定を意図するものではない。したがって、本開示の趣旨及び範囲から逸脱することなく、要素並びにそれらの構成及び配置における様々な変更が可能であることが、当業者に理解されるであろう。

#### 【0123】

本明細書において引用された全ての参照及び刊行物は、その全体が参照することによって本開示に明確に援用される。

本発明の実施態様の一部を以下の項目 1 - 2 に列記する。

#### [1]

ペプチドを含む皮膚浸透促進剤であって、前記ペプチドが、配列番号 1、2、3、若しくは 6 に記載される 10 個の連続アミノ酸残基、配列番号 7 若しくは 8 に記載される 11 個の連続アミノ酸残基、配列番号 4 若しくは 5 に記載される 12 個の連続アミノ酸残基、又はそれらの類似体を含むアミノ酸配列を含む、皮膚浸透促進剤。

#### [2]

前記ペプチドが、合計 30 個以下のアミノ酸残基又はアミノ酸類似体を含む、項目 1 に

10

20

30

40

50

記載の皮膚浸透促進剤。

[ 3 ]

前記ペプチドの前記アミノ酸配列の少なくとも 50 %が、配列番号 1、2、3、4、5、6、7、又は 8 から選択される連続アミノ酸配列を含む、項目 1 に記載の皮膚浸透促進剤。

[ 4 ]

前記ペプチドが、配列番号 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、又は 17 に記載されるアミノ酸配列を有する、項目 1 に記載の皮膚浸透促進剤。

[ 5 ]

前記ペプチドの N 末端が、SHS の連続アミノ酸配列を含む、項目 1 に記載の皮膚浸透促進剤。

10

[ 6 ]

前記ペプチドの C 末端が、GGGS、G、及び WPA からなる群から選択される連続アミノ酸配列を含む、項目 1 に記載の皮膚浸透促進剤。

[ 7 ]

前記ペプチドが、配列番号 10 に記載されるアミノ酸配列を有する、項目 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の皮膚浸透促進剤。

[ 8 ]

前記ペプチドが、配列番号 14 に記載されるアミノ酸配列を有する、項目 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の皮膚浸透促進剤。

20

[ 9 ]

前記ペプチドが、配列番号 15 に記載されるアミノ酸配列を有する、項目 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の皮膚浸透促進剤。

[ 10 ]

項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の皮膚浸透促進剤と、活性剤とを含む組成物であって、前記活性剤が、薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、及び栄養補助食品からなる群から選択される、組成物。

[ 11 ]

前記活性剤が、抗体、脂肪低減化合物、治療タンパク質、毛髪成長を加速若しくは刺激するための薬剤、除毛用化合物、又はビタミンである、項目 10 に記載の組成物。

30

[ 12 ]

前記活性剤が、電荷を帯びた小分子又はタンパク質を含む薬学的活性剤である、項目 10 に記載の組成物。

[ 13 ]

前記薬学的活性剤が、インスリン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、又はデオキシコール酸ナトリウムからなる群から選択される、項目 12 に記載の組成物。

[ 14 ]

前記活性剤が、皮膚充填剤である、項目 10 に記載の組成物。

[ 15 ]

前記皮膚充填剤が、ヒアルロン酸 (HA)、コラーゲン、コラーゲンミメティック、エラスチン、フィブリン、フィブロネクチン、テネイシン、ビタミン A、多糖類、アミノ酸ホモポリマー、メラニン、メラニン誘導体、天然又は合成色素、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される、項目 14 に記載の組成物。

40

[ 16 ]

前記多糖類が、キトサン、コンドロイチン、グリコサミノグリカン、プロテオグリカン、又はこれらの組み合わせである、項目 15 に記載の組成物。

[ 17 ]

前記アミノ酸ホモポリマーが、ポリリジン、ポリアクリルアミド、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、又はこれらの組み合わせである、項目 15 に記載の組成物。

50

[ 1 8 ]

ローション、クリーム、又はパッチの形態で組成物を提供する薬学的に許容される賦形剤を含む、項目 10 ~ 17 のいずれか一項に記載の組成物。

[ 1 9 ]

薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サプリメントを経皮送達する方法であって、それを必要とする対象の皮膚に

薬学的に許容される担体、化粧品的に許容される担体、又は栄養的に許容される担体から選択される担体と、

薬学的活性剤、ワクチン、化粧料、又は栄養サプリメントから選択される活性剤と、

項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の皮膚浸透促進剤と、

を含む組成物を投与することを含む、方法。

10

[ 2 0 ]

皮膚を、有効量の項目 14 ~ 18 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、皮膚を滑らかにすることを必要とする対象の皮膚を滑らかにすること。

[ 2 1 ]

シワを、有効量の項目 14 ~ 18 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、シワを処置することを必要とする対象においてシワを処置する方法。

[ 2 2 ]

口唇を、有効量の項目 14 ~ 18 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、口唇拡大を必要とする対象における口唇拡大のための方法。

20

【 0 1 2 4 】

【表 5】

### 配列表フリーテキスト

配列番号 1	A C L P G V L G S C	
配列番号 2	A C S L P W D A S C	
配列番号 3	A C D T P R L T H C	
配列番号 4	T W T Q A W P W G W T W	
配列番号 5	A K S S W W G R A Y W Y	
配列番号 6	A C L D N T F R A C	30
配列番号 7	A S S T T L N T L A Q	
配列番号 8	A S S D I P L F T R Y	
配列番号 9	S H S A C L P G V L G S C G G G S	
配列番号 10	S H S A C S L P W D A S C G G G S	
配列番号 11	S H S A C D T P R L T H C G G G S	
配列番号 12	S H S T W T Q A W P W G W T W G G G S	
配列番号 13	S H S A K S S W W G R A Y W Y G G G S	
配列番号 14	S H S A C L D N T F R A C G G G S	
配列番号 15	S H S A S S T T L N T L A Q W P A	
配列番号 16	S H S A S S D I P L F T R Y G G G S	
配列番号 17	S H S A C L D N T F R A C G	40

【配列表】

0006063094000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 K	8/64	(2006.01)	A 6 1 K 8/64
A 6 1 P	37/04	(2006.01)	A 6 1 P 37/04
A 6 1 Q	19/00	(2006.01)	A 6 1 Q 19/00

(74)代理人 100146466

弁理士 高橋 正俊

(74)代理人 100186370

弁理士 小久保 菜里

(72)発明者 ミーンホワ ダイ

アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427, セント ポール, ポスト オフィス ボック  
ス 33427, スリーエム センター

(72)発明者 ドミトリ ブイ.スミルノフ

アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427, セント ポール, ポスト オフィス ボック  
ス 33427, スリーエム センター

(72)発明者 ポール ディー.ワイトマン

アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427, セント ポール, ポスト オフィス ボック  
ス 33427, スリーエム センター

審査官 小堀 麻子

(56)参考文献 特表2009-521908 (JP, A)

特表2006-503588 (JP, A)

国際公開第2012/064429 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 47/00

A 6 1 K 9/00

A 6 1 K 39/00

A 6 1 K 8/00

JST Plus / JMED Plus / JST7580 (JDreamIII)

Caplus / REGISTRY / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)

GenBank / EMBL / DDBJ / GeneSeq