

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-14205

(P2017-14205A)

(43) 公開日 平成29年1月19日 (2017.1.19)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/195 (2006.01)	A 6 1 K 31/195	4 C 0 8 3
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 2 0 6
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 7	
A 6 1 K 8/44 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 Q 19/08 (2006.01)	A 6 1 K 8/44	
審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 9 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-128492 (P2016-128492)	(71) 出願人	306014736 第一三共ヘルスケア株式会社 東京都中央区日本橋三丁目14番10号
(22) 出願日	平成28年6月29日 (2016.6.29)	(74) 代理人	100197022 弁理士 谷水 浩一
(31) 優先権主張番号	特願2015-130795 (P2015-130795)	(74) 代理人	100102635 弁理士 浅見 保男
(32) 優先日	平成27年6月30日 (2015.6.30)	(72) 発明者	杉山 大二朗 東京都中央区日本橋3丁目14番10号 第一三共ヘルスケア株式会社内
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(72) 発明者	平本 恵一 三重県鈴鹿市南玉垣町3500-3 学校 法人鈴鹿医療科学大学内
		Fターム (参考)	4C083 AC621 CC01 CC02 EE12
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 トリプターゼ阻害剤組成物

(57) 【要約】

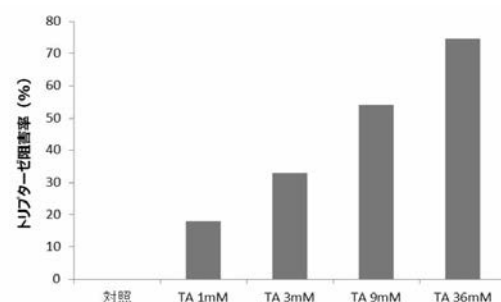
【課題】

本発明の課題は、安全性およびトリプターゼ阻害作用に優れたトリプターゼ阻害剤組成物、および該トリプターゼ阻害剤組成物を含有するシワ改善用組成物を提供することを課題とする。

【解決手段】

本発明は、トラネキサム酸またはその塩を含有することを特徴とするトリプターゼ阻害剤組成物、および該トリプターゼ阻害剤組成物を含有するシワ改善用組成物に関するものであり、特にこれらの組成物が経口用組成物であるものを提供する。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

トラネキサム酸を含有することを特徴とするトリプターゼ阻害剤組成物。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のトリプターゼ阻害剤組成物を含有するシワ改善用組成物。

【請求項 3】

経口投与組成物である請求項 1 - 2 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

10

本発明はトリプターゼ阻害剤組成物に関し、さらに詳しくは皮膚のシワ形成に影響を与えるトリプターゼ阻害作用を有し、皮膚の老化を防止することができるトリプターゼ阻害剤組成物に関する。

【背景技術】**【0002】**

トラネキサム酸またはその塩、特にトラネキサム酸は、抗プラスミン作用、抗アレルギー作用、抗炎症作用が知られており、その効能・効果は、全身性線溶亢進が関与すると考えられる出血傾向（白血病、再生不良性貧血、紫斑病等および手術中・術後の異常出血）；局所線溶亢進が関与すると考えられる異常出血（肺出血、鼻出血、性器出血、腎出血、前立腺手術中・術後の異常出血）；湿疹およびその類症、蕁麻疹、薬疹・中毒疹における紅斑・腫脹・そう痒等の症状；扁桃炎、咽喉頭炎における咽頭痛・発赤・充血・腫脹等の症状；口内炎における口内痛および口内粘膜アフタ（非特許文献 1 参照）である。上記の作用や効能・効果以外にトラネキサム酸またはその塩が色素沈着症の治療薬となり得ることも知られているが（特許文献 1 参照）、更なる有用性の研究が行われている。

20

【0003】

トリプターゼは、1984 年にスミスらによってヒトの肺から単離精製された細胞内のトリプシン型プロテアーゼ（非特許文献 2）であり、マスト細胞から単離されたトリプターゼ M（非特許文献 3）、T4 リンパ球から単離されたトリプターゼ TL1、TL2、TL3（非特許文献 4）、クララ細胞から単離されたトリプターゼクララ（非特許文献 5）等が知られている。トリプターゼはヒト皮膚において紫外線の照射により増加および活性化することが知られており、I 型コラーゲンを分解すること（非特許文献 6）、IV 型コラーゲンを分解し、基底膜を損傷すること（非特許文献 7）、末梢血管の透過性亢進作用による好中球の遊走を引き起こし、好中球由来エラスターゼによるエラスチンの分解を促進すること（非特許文献 8）、創傷治癒において角化遅延を引き起こすこと（非特許文献 9）が知られている。

30

【0004】

以上のようにトリプターゼは、紫外線による真皮におけるコラーゲン、エラスチン等の細胞外マトリックス成分（ECM）の減少・変性、基底膜損傷や表皮肥厚による皮膚の老化（しわ、肌理の消失、弾力性の低下等）に関与していると考えられている。また、肥満細胞の脱顆粒促進作用が報告されており（非特許文献 10）紫外線による炎症の発生にも関与していると考えられている。

40

【0005】

したがって、トリプターゼ活性を阻害することは皮膚のシワ、たるみ、肌荒れ、かゆみ、炎症等の予防および改善に有効であると考えられる。

【0006】

トリプターゼ阻害活性を有する化合物としては、6'-アミジノ-2'-ナフチル4-グアニジノベンゾエート又はその薬学的に許容される塩（特許文献 2）、カテキン類および/又はその配糖体、フラボン類および/又はその配糖体、フラボノール類および/又はその配糖体、フラバノン類および/又はその配糖体、タンニン類（特許文献 3）、シャクヤク（*Paeoni lactiflora* Pallas）（特許文献 4）等が知られているが、未だ効果が十

50

分とはいえず、より強力なトリプターゼ阻害活性を有する化合物が待ち望まれている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】特開平4-243825号公報

【特許文献2】特開2003-246730号公報

【特許文献3】特開2007-186457号公報

【特許文献4】特開2013-129617号公報

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】財団法人日本医薬情報センター 医療 日本医薬品 2002 (第25版 株式会社じほう 1369頁)

【非特許文献2】T. J. Smith et al., Journal of Biological Chemistry Vol.259, P.11046-11051(1984)

【非特許文献3】L. B. Schwartz et al. Journal of Biological Chemistry Vol.256, P.11939-11943(1981)

【非特許文献4】H. Kido et al. Journal of Biological Chemistry Vol.265, P.21979-21985(1991)

【非特許文献5】H. Kido et al. Journal of Biological Chemistry Vol.267, P.13573-13579(1992)

【非特許文献6】Fajard et al. The Journal of Immunology Vol.171,P1493-1499(2003)

【非特許文献7】Jouko Lohi, et al. Journal of Cellular Biochemistry Vol.50,P337-349(1992)

【非特許文献8】Shaoheng He et al. European Journal of Pharmacology Vol.328, P.89-97(1997)

【非特許文献9】M. Huttunen et al. Experimental Dermatology Vol.9, P258-265(2000)

【非特許文献10】Shaoheng He, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics Vol.286,P.289-297(1998)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明の課題は、安全性およびトリプターゼ阻害作用に優れたトリプターゼ阻害剤組成物、および該トリプターゼ阻害剤組成物を含有するシワ改善用組成物を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者らは、これらの問題を解決するため、様々な物質のトリプターゼ阻害作用を検討した結果、トラネキサム酸が優れたトリプターゼ阻害作用を有することを見出し、本発明を完成した。

【0011】

すなわち本発明は、トラネキサム酸またはその塩を含有することを特徴とするトリプターゼ阻害剤組成物に関する。さらに、本発明は前記トリプターゼ阻害剤組成物を含有するシワ改善用組成物に関するものであり、特にこれらの組成物が経口用組成物であるものに関する。

【発明の効果】

【0012】

本発明の組成物は、トリプターゼの酵素活性を確実に阻害し得る安全性の高いトリプターゼ阻害剤組成物である。そのため、該組成物を用いることによりトリプターゼ阻害作用に基づく様々な疾患、病変の改善、特に加齢や紫外線の影響によるシワの改善を行うこと

10

20

30

40

50

ができる。また、本発明のトリプターゼ阻害剤組成物、および該トリプターゼ阻害剤組成物を含有するシワ改善用組成物は、内服剤、飲食品組成物、サプリメント、外用剤、化粧品等の形態で利用可能であるが、特に内服剤、飲食品組成物、サプリメント等の経口投与組成物として用いた場合に有効である。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1は、トラネキサム酸溶液または対照投与液を用いたトリプターゼ阻害活性試験の試験結果を示す図である。図中におけるTAはトラネキサム酸を意味する。

【図2】図2は、被験動物に被験物質または対照物質を20日間投与した後に測定した水分蒸散量の測定結果を示す図である。

【図3】図3は、被験動物に被験物質または対照物質を20日間投与した後に測定した皮膚水分量の測定結果を示す図である。

【図4】図4は、被験動物に被験物質または対照物質を20日間投与した後に観察した表皮厚みを示す写真および測定結果を示す図である。

【図5】図5は、被験動物に被験物質または対照物質を20日間投与した後に観察したマウス背部状態を示す写真である。

【図6】図6は、被験動物に被験物質または対照物質を20日間投与した後に観察した染色後の皮膚中マスト細胞の写真である。

【図7】図7は、被験動物に被験物質または対照物質を20日間投与した後に測定した皮膚中コラーゲンIタンパク量の測定結果を示す図である。

【図8】図8は、被験動物に被験物質または対照物質を20日間投与した後に測定した皮膚中セラミド量の測定結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本発明に用いるトラネキサム酸は公知の化合物（（トランス-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸、CAS登録番号：1197-18-8）であり、その製法は特に限定されるものでなく、市販品を用いても、公知の方法に基づき製造したものをを用いてもよい。トラネキサム酸の塩としては、塩酸塩、硝酸塩、硫酸塩等の鉱酸塩、メタンスルホン酸塩等の有機酸塩、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩等を用いることができる。本発明において用いるトラネキサム酸またはその塩としては、トラネキサム酸が特に好ましい。

【0015】

本発明のトリプターゼ阻害剤組成物およびシワ改善用組成物は経口または非経口の剤型で投与することが可能である。経口投与組成物の形態としては、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、丸剤、液剤、シロップ剤、トローチ剤、ゼリー剤等が挙げられ、これらを医薬品、食品等として投与することが可能である。また、非経口投与組成物の形態としては、軟膏剤、硬膏剤、液剤、ローション剤、クリーム剤、ゲル剤、乳液、エアゾール剤、リニメント剤、テープ剤、パップ剤、外用散剤、注射剤、点滴剤、パック、浴用剤等を挙げることができ、これらを医薬品、医薬部外品、化粧品等として投与することが可能である。本発明においては、経口投与組成物とすることが好ましい。

【0016】

本発明に係る組成物の製剤化は、所望の剤型に応じて公知の製造技術により製造することができ、必要に応じて公知の賦形剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、安定化剤、防腐剤、着色剤、界面活性剤、pH調整剤、矯味剤、風味剤、甘味剤、保存剤、香料、水性成分、アルコール類、糖類、水等を添加成分として配合することができる。また、本願発明に係る組成物の効果を減弱させない範囲において、抗老化剤、抗酸化剤、美白剤、各種生薬等の成分を配合することもできる。

【0017】

本発明のトリプターゼ阻害剤組成物の一日の使用量は、使用者の性別、年齢、症状、投与方法、投与回数、投与時期等を鑑み適宜決定すればよく、副作用が生じない範囲で使用

10

20

30

40

50

することができ、特に限定されるものではない。例えば経口投与組成物として用いる場合、トラネキサム酸またはその塩の投与量は、1日当たり1～5000mgであり、好ましくは1日当たり10～3000mgであり、さらに好ましくは1日当たり200～1000mgであり、特に好ましくは1日当たり420～750mgである。また、非経口投与組成物として用いる場合、トラネキサム酸またはその塩は非経口投与組成物中、0.01～20.0質量%、好ましくは0.6～5.0質量%、さらに好ましくは0.6～3.0質量%の割合で配合される。

【実施例】

【0018】

以下に、実施例により本発明をさらに詳細に説明する。なお、本発明はこれにより限定

10

【0019】

(実施例1)トリプターゼ阻害活性試験

1. 試料の調製

トラネキサム酸(第一ファインケミカル製)を最終濃度が1, 3, 9, 36mMとなるよう蒸留水に溶解させ、試料トラネキサム酸溶液を調製した。

【0020】

2. トリプターゼ阻害活性の評価

トリプターゼとしてrh skin b1 Tryptase(プロメガ(株)社製)を使用した。蒸留水を用いてトリプターゼ溶液(最終濃度16.7ng/mL)を調製し、上記各濃度の試料トラネキサム酸溶液と混合し、酵素混合液とした。基質としてはN-(p-Tosyl)-Gly-Pro-Lys4-nitroanilid acetate salt(シグマ アルドリッチ社製)を用い、最終濃度が1.5mMとなるよう100mM Tris-HCl(pH8.0)を用いて溶解し、基質溶液とした。

20

【0021】

各濃度の酵素混合液50μL/wellに基質溶液を50μL/well添加し、37℃で5分間インキュベートを行った後、吸光度計(測定条件:410nm)により吸光度の測定を行った。ブランクには、基質溶液の代わりに100mM Tris-HCl(pH8.0)を添加し測定を行った。

【0022】

3. トリプターゼ活性

トラネキサム酸によるトリプターゼ阻害率を以下の計算式により算出した。

トリプターゼ阻害率(%) = $100 \times (1 - \text{試料の吸光度} / \text{対照の吸光度})$

阻害率の算出結果を図1に示す。

30

【0023】

上記試験の結果から、トラネキサム酸は濃度依存的にトリプターゼ阻害作用を示すことが確認された。

【0024】

(実施例2)抗シワ試験

1. 被験物質の調製

トラネキサム酸(第一ファインケミカル製)を投与量750mg/kgとなるよう蒸留水に溶解したものを被験物質として用い、以下の実験を行った。

40

【0025】

2. 被験動物

3週齢NOA/Jc1マウス(雄性、雌性)を日本クレア(株)から購入し、1群5匹を1週間予備飼育した後、肉眼で健康状態を観察し良好なものを被験動物として使用した。NOA/Jc1マウスは乾燥皮膚を発現したマウスであり、外用保湿剤の効果検証モデルとして利用されるものである。

【0026】

3. 被験物質の投与

被験動物マウス体重10g当たり、被験物質0.1mLを1日1回、20日間経口投与

50

した群を被験群とし、蒸留水のみ 0.1 mL を 1 日 1 回、20 日間経口投与した群を対照群とした。これら各群はそれぞれ $n = 5$ として構成した。

【0027】

4. 測定

20 日間の経口投与期間後、水分蒸散量 (TEWL; $\text{g} / \text{m}^2 / \text{h}$)、皮膚水分量 (Corneometer value)、表皮の厚み (μm) を測定し、マウス背部状態の観察、皮膚中マスト細胞の観察、皮膚中コラーゲン I 量の比較、皮膚中セラミド量の比較をそれぞれ以下の測定法に基づき行った。

【0028】

水分蒸散量の測定は、Tewameter (登録商標) TM300 (Courage+Khazaka Electronic GmbH 社製) を用いて行った。水分蒸散量の測定結果を図 2 に示す。 10

【0029】

皮膚水分量の測定は、Corneometer (登録商標) CM825 (Courage&Khazaka Electronic GmbH 社製) を用いて行った。皮膚水分量の測定結果を図 3 に示す。

【0030】

表皮厚みの測定は、皮膚切片を haematoxylin and eosin (H&E) 染色により染色し行った。厚みは 1 視野においてランダムに 5 カ所の表皮の厚みを測定、これを 5 視野について行い平均値を表皮厚みとした。表皮厚みを示す写真および測定結果を図 4 に示す。

【0031】

マウス背部状態の観察は、被験動物の背部を目視にて観察し、シワ形成の有無、その程度を確認した。マウス背部状態を示す写真を図 5 に示す。 20

【0032】

皮膚中マスト細胞の観察は、皮膚切片を toluidine blue を用いて染色し、青紫に染色されたマスト細胞の数を観察した。染色後の皮膚中マスト細胞の写真を図 6 に示す。図中、矢印で示す細胞がマスト細胞である。

【0033】

皮膚中コラーゲン I タンパク量の測定、および皮膚中セラミド量の測定は、western blotting を用いて行い、被験群サンプルと対照群サンプルの解析は Multi-Gauge software (富士フイルム (株) 社製) を用いて行った。皮膚中コラーゲン I タンパク量の測定結果を図 7、皮膚中セラミド量の測定結果を図 8 に示す。 30

【0034】

5. 試験結果

トラネキサム酸投与群のマウスはコントロール群のマウスと比較して TEWL 測定値において低値を、皮膚水分量測定値で高値を、表皮厚みに関しても高値を示した。このことから、トラネキサム酸投与により皮膚における水分量が改善されたと認められる。

【0035】

また、トラネキサム酸投与により皮膚中マスト細胞の減少、皮膚中コラーゲン I 量の増加が認められた。さらに、マウス背部写真の観察からトラネキサム酸投与群のマウスは、コントロール群のマウスに比べシワの形成が抑制されていることが確認された。

【0036】

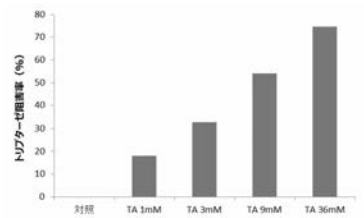
以上の結果から、トラネキサム酸がトリプターゼ阻害作用を有し、さらには皮膚における水分蒸散量、皮膚水分量、表皮厚みの改善作用、皮膚中マスト細胞の減少作用、皮膚中コラーゲン I 量の増加作用、シワの改善作用を有することが明らかとなった。 40

【産業上の利用可能性】

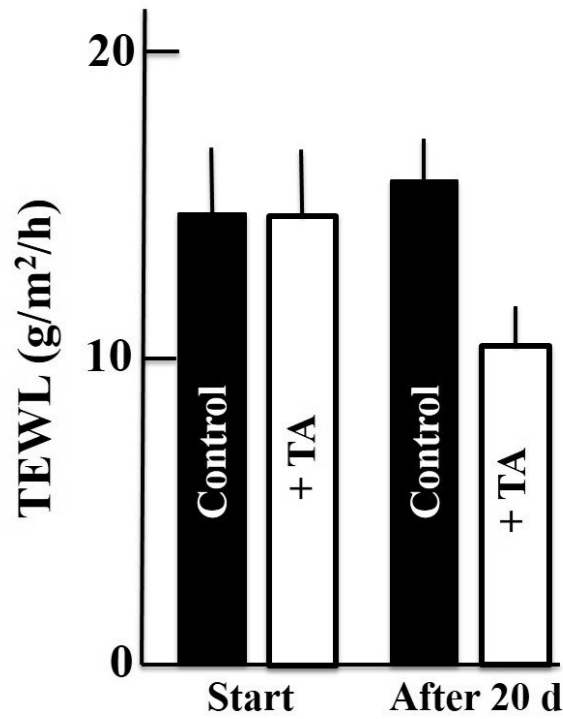
【0037】

本発明により、トリプターゼ阻害剤組成物、特にシワを改善するのに有効な経口用組成物が提供される。

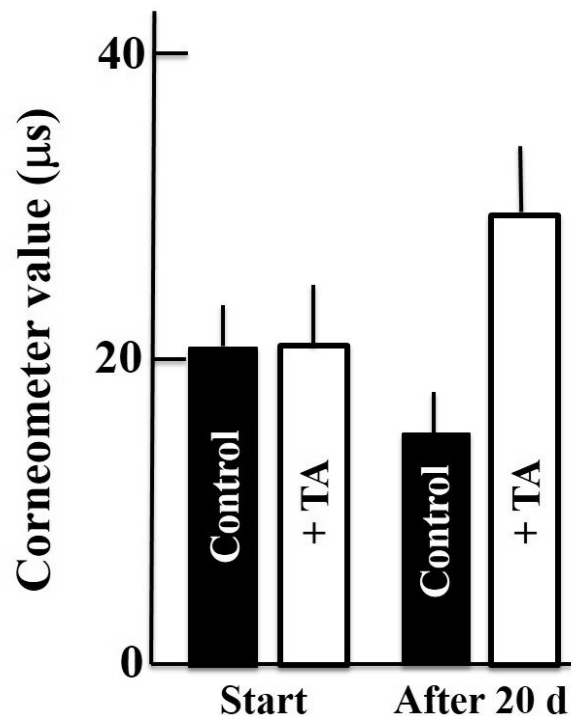
【 図 1 】



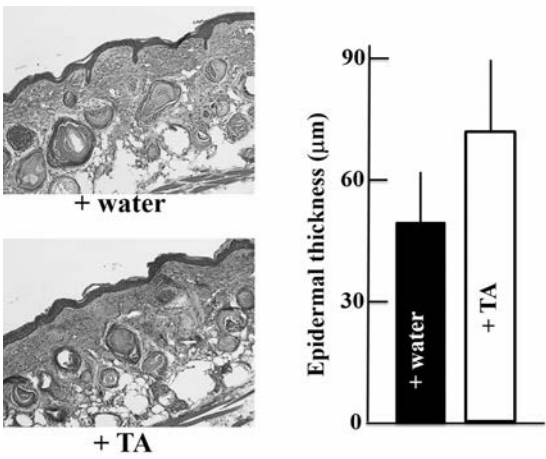
【 図 2 】



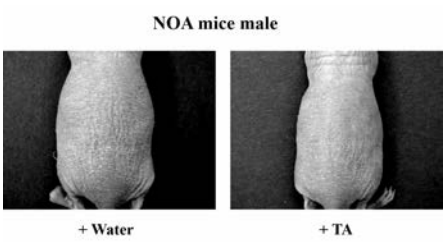
【 図 3 】



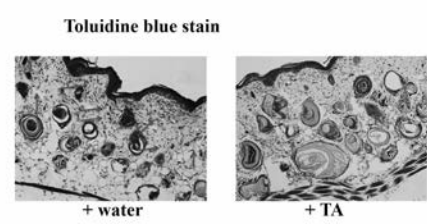
【 図 4 】



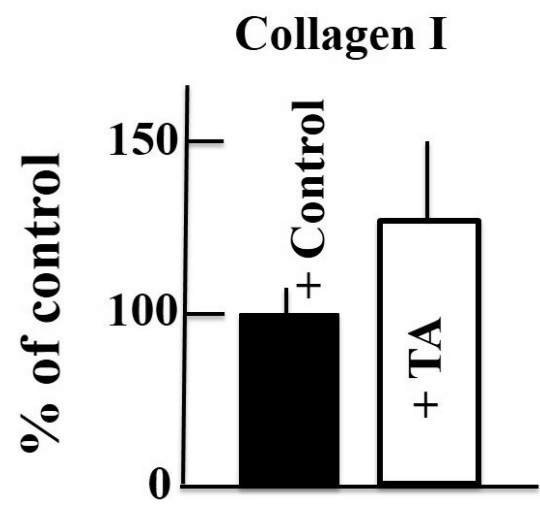
【 図 5 】



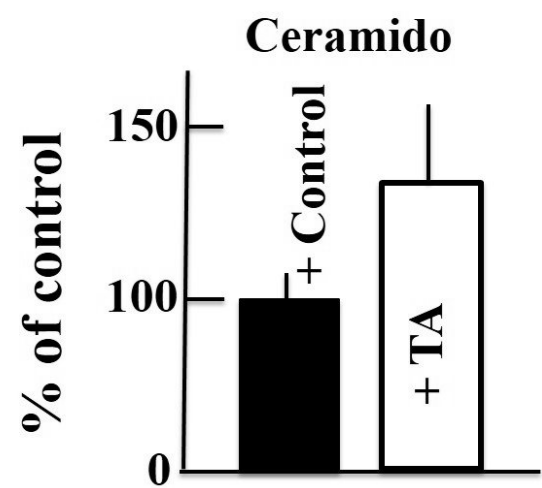
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

テーマコード(参考)

A 6 1 Q 19/08

F ターム(参考) 4C206 AA01 AA02 FA01 KA01 MA01 MA04 MA72 NA14 ZA89 ZB22
ZC20