



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104471391 B

(45)授权公告日 2016.12.07

(21)申请号 201380025088.6

(22)申请日 2013.05.15

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104471391 A

(43)申请公布日 2015.03.25

(30)优先权数据

12168121.7 2012.05.15 EP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2014.11.13

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2013/053979 2013.05.15

(87)PCT国际申请的公布数据

W02013/171696 EN 2013.11.21

(73)专利权人 赛斯安制药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 吉恩·希莱尔·索拉特

(74)专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限公司 31224

代理人 刘粉宝

(51)Int.Cl.

G01N 33/50(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

(56)对比文件

WO 2007/084614 A2,2007.07.26,全文.

EP 1842541 A1,2007.10.10,全文.

CN 101370470 A,2009.02.18,全文.

WO 2009/093207 A1,2009.07.30,全文.

US 2003/0166583 A1,2003.09.04,说明书第0009段.

CN 1820743 A,2006.08.23,全文.

US 2006/0210524 A1,2006.09.21,全文.

审查员 王萌萌

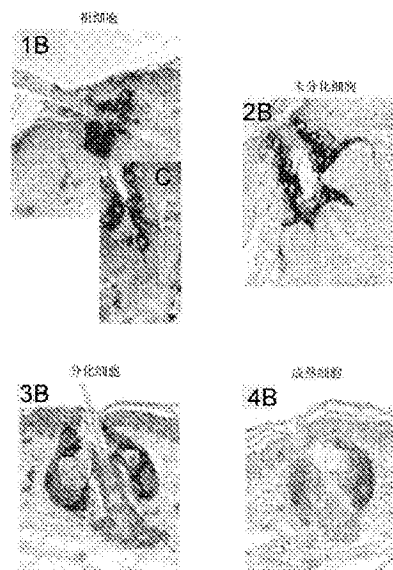
权利要求书1页 说明书7页 附图8页

(54)发明名称

鉴别具有治疗性皮脂抑制活性的AHR受体的配体的方法以及所述配体

(57)摘要

一种分选物质以便测定其在表面皮肤治疗中具皮脂抑制活性的能力的方法,其包含体内测试,所述体内测试包含以下步骤:-从AhR受体的配体之中选择物质;-选择表达CYP1A1基因的哺乳动物;-用包含所述物质的组合物按照剂量/响应/响应时间方案经由表面途径治疗所述哺乳动物包含皮脂腺的皮肤的部分;-通过免疫组织化学染色来检查所述哺乳动物的所述皮肤的所述部分的皮脂腺中的CYP1A的表达;-依据在所述皮脂腺的数种不同类型的细胞中的免疫组织化学染色起始的顺序选择所述物质。表面使用打算减少皮脂生成的医药组合物,其特征在于其含有5,6苯并黄酮作为活性物质。



1. 5,6苯并黄酮在制备用于治疗 and/或预防与人类皮脂分泌过多关联的皮肤病的组合物中的用途,其中5,6苯并黄酮是以所述组合物的0.005重量%与1重量%之间的量存在于所述组合物,其中所述组合物经表面施用。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中5,6苯并黄酮的浓度是在所述组合物的0.1重量%与1重量%之间。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中所述组合物包括0.5%5,6苯并黄酮并且进一步包括乙醇和PEG。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述皮肤病是痤疮。

5. 根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述皮肤病是脂溢性皮炎。

6. 根据权利要求1-3中任一项所述的用途,其中所述皮肤病是红斑痤疮。

7. 根据权利要求3所述的用途,其中所述组合物每天一次被施加到患者面部。

8. 一种组合物,所述组合物包括5,6苯并黄酮和药学上可接受的载体,其中所述5,6苯并黄酮以0.1重量%与1重量%之间的浓度存在以及其中所述药学上可接受的载体包括乙醇和具有平均分子量400g/mol的聚乙二醇。

9. 根据权利要求8所述的组合物,其中所述5,6苯并黄酮以0.1重量%的浓度存在。

10. 根据权利要求8所述的组合物,其中所述5,6苯并黄酮以0.5重量%的浓度存在。

11. 根据权利要求8所述的组合物,其中所述5,6苯并黄酮以1重量%的浓度存在。

12. 根据权利要求8-11任一项所述的组合物,其中所述药学上可接受的载体包括体积比1:1的乙醇和聚乙二醇的混合物。

13. 根据权利要求8所述的组合物,其中所述组合物是溶液并且包括浓度为每100ml所述组合物0.5g 5,6苯并黄酮的5,6苯并黄酮,所述药学上可接受的载体包括体积比1:1的乙醇和具有平均分子量400g/mol的聚乙二醇的混合物。

鉴别具有治疗性皮脂抑制活性的AHR受体的配体的方法以及 所述配体

技术领域

[0001] 本发明涉及一种物质的分选方法以便测定其在表面皮肤治疗中具皮脂抑制活性(sebosuppressive activity)的能力。本发明还涉及通过所述分选可鉴别的物质。

[0002] 本发明更具体地涉及一种表面使用的医药组合物,其打算用于治疗 and/或预防皮脂分泌过多以及由此相关的皮肤疾病,如痤疮、脂溢性皮炎和红斑痤疮。

背景技术

[0003] 许多物质能够作为配体与AhR受体(芳基烃受体)相互作用,所述AhR受体显著地由上皮和间充质皮肤细胞表达。文献WO 2004/041758、WO 2007/060256和WO 2007/128725描述了确定所述配体的拮抗剂或激动剂(agonist)性质的体外测试且提出将拮抗剂配体用于皮肤学治疗。在现有技术水平中最经常使用的这种类型的体外测试是CALUX和EROD测试。文献WO 2009/093207还公开了这类体外测试。

[0004] 作为激动剂配体与AhR受体相互作用的化合物(其原型是2,3,7,8-四氯二苯并-对-二噁英(TCDD))大多是诱导不同类型组织病变的外源毒性化合物。出于这个原因,在现有技术水平中似乎排除了所述激动剂化合物作为调变皮肤功能的活性剂的治疗性和/或预防性用途。

[0005] 相反地,申请人已在文献WO 2009/093207(其内容特此以引用的方式并入)中展示了,向皮肤施用AhR受体的某些激动剂配体可有利地调变一些皮肤功能,如皮脂腺功能、抗感染防御、创伤愈合、涉及皮肤疏松症和雌激素剥夺的皮肤萎缩。在所述文献中,申请人展示了这种特性可用于治疗这些皮肤功能的不良机能以及应如何选择这些配体以使其不会引起由外源毒性配体(如二噁英)造成的过度AhR活化的主要并发症之一,即增生性囊性病变。这些囊性病变以前被称为“氯痤疮”且此后称为MADISH(J.H.索拉特(J.H.Saurat)等人二噁英暴露的皮肤病变:从V.尤先科中毒的得到的教训(The cutaneous lesions of dioxin exposure:Lessons from the poisoning of V.Yushchenko),毒理学科学(Toxicological Sciences)2012;125;310-317)。为了预防施用治疗性AhR配体引起MADISH,必须选择在体内具有数小时/数天的半衰期的激动剂以使其快速代谢,与原型激动剂二噁英相反,其在人类皮肤中的半衰期可以按年计数。

[0006] 根据文献WO 2009/093207,配体优选地经选择使得其符合四条准则:

[0007] 1.活化AhR受体的能力。

[0008] 2.调变由AhR调节的特定基因的能力。

[0009] 3.在人类生物体中优选地在2小时与96小时之间、且更确切地说在6小时与24小时之间的短半衰期。

[0010] 4.可测量的对这些皮肤功能的不良机能的公认准则的阳性作用。

[0011] 具有激动剂特征的配体有许多。文献WO 2009/093207列出数种这类激动剂配体。其中一些属于所谓的被称为NAhRA(天然AhR激动剂)的《天然配体》AhR类别。

[0012] 如何从这些很可能赋予在人中治疗上有效的皮脂抑制作用的配体中真正地鉴别最佳候选物也是未知的。当前方法需要适合的动物物种中的皮脂腺的分化区域的萎缩诱导测试。这些测试涉及复杂的解释且有待灵敏,其可能需要经多周延长施用研究中的配体。

[0013] 因此,本发明的目标是提出一种如前文中定义的分选方法,其灵敏、快速且提供分选结果与所选物质对人类皮肤的皮脂抑制性质之间的高相关性。

发明内容

[0014] 为此目的,本发明提出一种分选物质以便测定其在表面皮肤治疗中具皮脂抑制活性的能力的方法,其包含体内测试,所述体内测试包含以下步骤:

[0015] -从AhR受体的配体之中选择物质;

[0016] -选择其中CYP1A1基因可以在皮肤中诱导的哺乳动物;

[0017] -用含有所述物质的组合物按照剂量/响应/响应时间方案经由表面途径治疗关于其皮脂腺选择的所述哺乳动物的皮肤的部分;

[0018] -通过免疫组织学染色来检查所述哺乳动物的所述皮肤的所述部分的皮脂腺中的CYP1A1的表达;

[0019] -关于所述皮脂腺的数种不同类型(隔室)的细胞中免疫组织化学标记起始的顺序选择所述物质。

[0020] 尤其有可能选择耳朵的皮肤,已知其包含皮脂腺,使其本身充分适合分析,且其中最有可能诱导CYP1A1基因。

[0021] 如果所述体内测试在确定的时间段内在多种细胞类型中展现染色,那么选择所述物质;

[0022] 所述待测试的物质优选地是基于至少一种体外测试从具有激动剂性质的AhR受体的配体中选出的。

[0023] 因此,从NAhRA之中选择最佳天然候选物最初需要基于体外测试(例如使用CALUX和EROD测试)论证足够的AhR激动剂作用,并论证短体内半衰期。

[0024] 根据本发明方法的一个实施例,所述哺乳动物是小鼠。有可能选择C57/B6小鼠品系。

[0025] 根据这一实施例,更具体地说,所述小鼠的耳朵经由表面途径治疗,接着取样,并使用抗体通过免疫组织化学分析检查CYP1A1的表达;具体来说(但并不限于此),所用抗体可能是兔抗大鼠CYP1A1多克隆抗体(Millipore AB1247)。

[0026] 在这个实施例中,检查皮脂腺中CYP1A1的表达可包含:

[0027] -检查峡部区域,具体地说检查所述祖细胞;

[0028] -检查所述腺体的外周区域,具体地说检查所述未分化细胞;

[0029] -检查所述腺体的中间区域,具体地说检查所述分化细胞;

[0030] -检查所述腺体的中央区域,具体地说检查所述成熟细胞。

[0031] 在检查这四种细胞类型之后,如果在一周的治疗之后在至少两种细胞类型中标记CYP1A1的表达,那么可以选择所述物质。

[0032] 在检查这些四种细胞类型之后,如果在一周的治疗之后在4种细胞类型中标记CYP1A1的表达,那么优选地选择所述物质。

[0033] 因此,根据本发明的另一方面,本发明的一个目的是治疗和/或预防人类的皮肤疾病、具体地说痤疮、脂溢性皮炎和红斑痤疮的组合物,其中所述组合物被配置成借助于将所述组合物表面施用在皮肤上来治疗和/或预防皮脂分泌过多,所述组合物包含选自由AhR激动剂配体组成的群组的活性物质,所述AhR激动剂配体具有:

[0034] -活化AhR受体的能力;

[0035] -调变由AhR调节的基因的能力;

[0036] -在人类生物体中在2小时与96小时之间的短半衰期;

[0037] -可测量的对公认的皮脂分泌过多准则的阳性作用,

[0038] 并且

[0039] 其中所述活性物质是通过如上文所定义的体内测试以阳性方式选择的。

[0040] 本发明具体地提出5,6苯并黄酮(5,6 benzoflavone)(5,6 BZF)(也称为 β -蔡黄酮)作为用于表面使用的皮脂抑制组合物中的优选的活性物质。

[0041] 本发明还提出吴茱萸次碱(rutecarpine)作为用于表面使用的皮脂抑制组合物中的活性物质。

[0042] 根据另一方面,本发明的一个目的是一种治疗和/或预防人类的皮肤疾病、如痤疮、脂溢性皮炎和红斑痤疮的治疗方法,其包含提供组合物,所述组合物被配置成借助于将所述组合物表面施用在皮肤上来治疗和/或预防皮脂分泌过多,所述组合物包含选自由AhR激动剂配体组成的群组的活性物质,所述AhR激动剂配体具有:

[0043] -活化AhR受体的能力;

[0044] -调变由AhR调节的基因的能力;

[0045] -在人类生物体中在2小时与96小时之间的短半衰期;

[0046] -可测量的对公认的皮脂分泌过多准则的阳性作用,

[0047] 其中所述活性物质是通过如上文所定义的体内测试以阳性方式选择的物质,

[0048] 以及将所述组合物表面投与所述人类。

[0049] 因此,本发明的一个具体目的是一种治疗和/或预防人类的皮脂分泌过多诱发的皮肤病况的方法,其包含提供组合物,所述组合物被配置成将所述组合物表面施用在皮肤上,其中所述组合物含有5,6苯并黄酮(5,6 BZF)作为活性物质,以及将所述组合物表面投与所述人类。

[0050] 所属领域的技术人员参考附图经由给出的本发明的具体实施例的以下详细说明,将了解如何可确定用于鉴别具有治疗性表面皮脂抑制活性的AhR受体的配体的新颖方法。

附图说明

[0051] ■图1包含1A、2A、3A、4A部分,其是能够表达CYP1A1基因的四种类型细胞的皮脂腺内部位置的示意性图示,这四种类型细胞即:

[0052] -祖细胞(1)

[0053] -未分化细胞(2);

[0054] -分化细胞(3);

[0055] -成熟细胞(4)。

[0056] ■图2包含1B、2B、3B、4B部分,其是对应于图1A、2A、3A、4A的显微照相观察结果;1C

展示区域1B(即,祖细胞)的不同视角和放大;

[0057] ■图3示出了在表面施用AhR受体的数种配体之后,图1和2中的皮脂细胞的所有亚群中随时间而变的CYP1A1活性的起始;

[0058] ■图4是展示图3中配体的根据本发明的体外测试、体内测试与人中皮脂抑制活性的临床检查之间的相关性的表;

[0059] ■图5是展示三种黄酮的根据本发明的体外测试、体内测试与人中皮脂抑制活性的临床检查之间的相关性的表;

[0060] ■图6是三种黄酮对皮脂生成酶的基因转录的抑制的比较表;

[0061] ■图7是在用三种不同浓度的5,6 BZF治疗之后,被真皮中的皮脂腺占据的相对表面的比较表;

[0062] ■图8是在用与图7中相同浓度的5,6BZF治疗之后,皮脂腺中分化指数的比较表;

[0063] ■图9是在用与图7中相同浓度的5,6BZF治疗之后,分化和成熟皮脂腺细胞的数量比较表;

[0064] ■图10是在用与图7中相同浓度的5,6BZF治疗之后,活跃皮脂腺的数量的比较表。

具体实施方式

[0065] 根据本发明分选打算用于人的皮脂抑制疗法的AhR配体分子的方法是基于在表面和全身投与WO 2009/093207中所列出的数种AhR配体时获得的偶然的出人意料的观察结果。

[0066] 因此,所属领域的技术人员可理解本发明的最出人意料性质,必须回顾以下现有技术水平的要素,关于通过施用核受体(如AhR,或如另一实例,视黄酸受体(RAR)、维生素D受体(VDR))的配体来触发的皮肤中生物现象的分布。

[0067] 根据现有技术水平,通过表面或全身性投与配体触发的生物活性应均匀:

[0068] -位于表达所述受体的所有身体部分;和

[0069] -所述配体以足够的定量方式且以非代谢活性形式在这些部分中扩散。

[0070] 在这种情况下,向皮肤施用AhR配体应首先在表皮表面层中均匀地活化这种受体的路径,接着根据配体进入更深层的表皮、和接着可能的真皮和附属器头发和皮脂腺的进入梯度逐渐地扩散。有效地已知且这已被申请人证实,AhR受体均匀地表达在皮肤的所有这些隔室中。

[0071] 但,申请人已以最出人意料的方式发现,向皮肤施用AhR配体会以局部方式在皮脂腺上活化这种受体的路径,所述皮脂腺开始于祖细胞,即位于毛囊皮脂腺泡的峡区中的皮脂干细胞,之后依序是非分化皮脂细胞、分化皮脂细胞且最后是成熟细胞。这些观察结果示出于图1和2中。

[0072] 更出人意料的是,赋予强皮脂抑制活性的配体是在AhR受体的体外活化测试期间未必是最具活性的那些、在早期阶段快速且完全地遵循这种原位活化顺序的那些,如由图4中的表和图3所示。

[0073] 这些观察结果实际上是出人意料的,因为其不同于罗MJ(Rowe MJ)等人(研究性皮肤病学杂志(J. Invest. Derm.)2008:128;1866-68)的那些。这些作者已展示在转基因小鼠(CYP1A1-GFP启动子)中,由经由全身途径投与的AhR配体诱导的生物活性可局限于皮脂腺,

但以均匀方式处于后者中：

[0074] -首先，在申请人的观察结果中，投与途径是经皮，且优先分布由于上文解释的经表皮扩散的原因而是完全出人意料的。在由罗MJ等人进行的工作中，配体3-甲基胆蒎是经由需要经血液途径进入皮肤的全身途径投与的，这意味着亲脂性配体在皮脂腺中的分布并不出人意料；

[0075] -其次，且更特别地，本发明的活化顺序：在基部的祖细胞>未分化细胞>分化细胞>成熟细胞并非是由罗MJ等人(研究性皮肤病学杂志2008:128,1866-68)观察到的，罗MJ等人展示了在皮脂腺区域中扩散的生物活性。由罗等人展示的这一方面将不允许测定或建议分选本发明的皮脂抑制配体标的物的方法。

[0076] 皮脂腺中连续局部区域的AhR受体活化的论证

[0077] 这里描述的实施例需要用AhR受体的配体按照剂量/响应/响应时间方案经由表面途径治疗C57/B6小鼠的耳朵，先前已例如使用这一领域中广泛使用的CALUX和EROD方法表征所述配体的体外受体活化特性(参见表1)。

[0078] 对耳朵进行取样，且使用特异性抗体利用免疫组织化学分析检查CYP1A1表达。图1展示了所观察到的不同类型标记。图2中免疫组织化学阳性(即，细胞染成棕色)指示所述区域表达CYP1A1蛋白质。

[0079] 1.在基础状态，蛋白质不可检测。

[0080] 2.在所用AhR配体引起CYP1A1免疫组织化学阳性的每一情况中，及时被染色(表明通过活化AhR受体诱导的CYP1A1蛋白质的增加)的第一区域是定位有皮脂腺的《祖细胞》细胞的峡部区域(图1A和1B)：第1阶段。这对应于多能克隆源性细胞，因此一般对应于《皮脂干细胞》。除了峡部区域的具体表面形态之外，这些细胞的特征在于表达角蛋白15和L-RIG1(峡部多能克隆源性细胞的一种标记物)。使用双CYP1A1和L-RIG1双染色，可确定由表面来源的AhR配体活化的细胞有效地对应于这一峡区处的这一群体。

[0081] 3.之后的阶段是染色扩展到未分化细胞，所述未分化细胞不含有脂质且一般定位在皮脂腺的外周上(图2A和2B)：第2阶段。

[0082] 4.之后的阶段是染色扩展到分化细胞，所述分化细胞含有脂质且一般定位在皮脂腺的中间部分(图3A和3B)：第3阶段。

[0083] 5.之后的阶段是染色扩展到成熟细胞，所述成熟细胞含有脂质且一般定位在皮脂腺的中央部分(图4A和4B)：第4阶段。

[0084] 连续活化阶段与配体的皮脂抑制特性之间的对应关系

[0085] 图4中的表指示局部活化表达阶段与皮脂抑制指数与对人类皮肤的作用之间的对应关系。皮脂抑制指数通过相对于皮脂腺中细胞总数计数成熟和分化细胞的数量来计算。成熟和分化细胞减少指示对皮脂生成的阻断。对人类皮肤作用通过使用被称为《临时水准》者进行皮脂计量检查来测定(美容皮肤学杂志(J Cosmet Dermatol.)2007年6月;6(2):113-8)。

[0086] 在图3和图4的表1中，所用缩写具有以下含义：

[0087] NSA1：吴茱萸次碱

[0088] NSA2：β萘黄酮

[0089] NSA3：TCDD

[0090] NSA4:FICZ

[0091] NSA5:硬毛素(Hispidine)

[0092] NSA6:β啡啉

[0093] NSA7:埃索美拉唑(esomeprazole)

[0094] 图3与图4之间的比较(表1)展示了。两种配体,即β萘黄酮(也称为5,6-苯并黄酮或5,6BZF)和TCDD(其在不到一周的时间内活化四个细胞亚群中的AhR路径),也是在人中呈现最强皮脂抑制活性的那些。活化两个细胞亚群中AhR路径的吴茱萸次碱具有潜在有用的皮脂抑制活性,不过与5,6 BZF的皮脂抑制活性相比较弱。相反地,仅在一个细胞亚群中活化AhR受体且即使这种活化达到高水平的其他配体仅在人中发挥不良皮脂抑制活性。

[0095] 5,6 BZF和结构类似物的皮脂抑制特性的描述

[0096] 根据本发明和在人身中的临床检查(如上述的那些)在相同条件(即体外测试、体内测试)下比较5,6BZF的皮脂抑制活性与7,8BZF(7,8-苯并黄酮)和黄酮的皮脂抑制活性。结果在图5中给出。可见,5,6苯并黄酮而非7,8BZF或黄酮以与最具活性的AhR激动剂(TCDD)类似的方式将其激动剂活性分布在皮脂腺中,而黄酮和7,8苯并黄酮不具有这些作用。在不希望受任何理论束缚的情况下,会呈现出这种组织分布的能力并非完全与分子对AhR受体的亲和力有关联,因为具有较强亲和力的分子(如FICZ)并不像5,6 BZF一样分布在皮脂腺中。与其以下阐述的其他特性组合,这种靶向皮脂腺的特性能够阐明受欢迎的治疗作用。

[0097] 图6给出实验结果,在所述实验期间,C57BL/6小鼠的耳朵用以上三种不同黄酮以0.5%处理5周。参考活性物质是浓度小1000倍的TCDD。

[0098] 在提取RNA之后,针对皮脂脂质产生中的三种主要酶执行RTqPCR反应。结果与用媒剂处理的对照小鼠比较:图6展示在3种黄酮之中仅5,6苯并黄酮引发对编码三种酶的mRNA的表达的主要抑制,而7,8苯并黄酮实际上更具有略微刺激作用且黄酮不具有显著作用。5,6苯并黄酮而非7,8苯并黄酮强烈抑制小鼠中皮脂的脂质特征性产生中关键酶基因(如AWAT1、ELOVL3和FADS2)的表达,这部分解释了其皮脂抑制作用。现有技术中尚未公开这些目标。

[0099] 分子结构中的这些差异引起首先与受体活化特性有关且其次与溶解特性有光的变化。这些后面的特性可以是如前文中所描述的靶向皮脂腺的决定因素。

[0100] 5.6 BZF剂量与皮脂抑制作用之间的关系

[0101] 获得对皮脂生成显著抑制的5,6苯并黄酮的剂量必须经具体定义以确保良好耐受性且预防如上文所提及的MADISH型毛囊的发作,这可为剂量相关的且与本身部分取决于这种情形内剂量的药物动力学相关。

[0102] 这一必需的步骤以数个阶段达到。

[0103] 1. 小鼠中的剂量作用

[0104] 初步研究展示高于0.05%的浓度的良好耐受性以及上述连续体内活化测试中的活性。对于这些剂量-作用测试,在耳朵上且以三种浓度(即0.1%、0.5%和1%)的5,6BZF治疗C57BL/6小鼠3到5周,每周5天。

[0105] a. 在第3周分析皮脂抑制作用,尽管其表达在一周之后开始。图7-10展示极显著的作用,除如TCDD的毒素以外很少有物质能够在关于由皮脂腺占据的相对表面和其活性以及关于非分化、分化和成熟皮脂腺细胞之间的比率两者的这一模型中诱导。具体来说,观察到腺体的分化隔室的减少,这与皮脂脂肪生成酶的基因的抑制作用充分一致,因为皮脂细胞

的分化由细胞质脂质过载定义。

[0106] b. 在不存在MADISH型胞囊产生的情况下,在5周处理之后评估耐受性。在这些高浓度下为观察到囊性病变。在这些小鼠中利用HPLC进行的5,6 BZF的血液分析未检测到任何可测量水平(5 nM灵敏性),这证实了W0 2009/093207与在体内具有较短寿命的激动剂的用途有关的教示。

[0107] 2. 在人中的耐受性和作用:

[0108] a. 定义5,6 BZF的稳定0.5%调配物。

[0109] i. 调配物:5,6 BZF 0.5 g/100 ml于乙醇/PEG 400(1:1)中。

[0110] 溶剂:乙醇 EMSURE® Merck目录号1.00983,批次K42754183。

[0111] 聚乙烯400,Fluka目录号81170,批次260154286或PEG 400,Aldrich目录号202398。

[0112] ii. 稳定性:在制备之后6个月未观察到降解产物。

[0113] b. 在人中的使用。向罹患强烈皮脂溢出且不符合用异维甲酸(Isotretinoin)口服治疗条件的十一名患者、患有痤疮的六名患者、患有红斑痤疮的四名患者以及患有脂溢性皮炎的一名患者的面部每天一次施加调配物。

[0114] i. 注意到无副作用,且具体地说无表明微囊发作的临床征象。这在人中给出了对在动物中进行的观察结果的证实。在这个AhR受体活化领域中,物质的敏感度具有必不可少的重要性;即使选择用于测试的小鼠品系对TCDD和5,6 BZF的表面作用最敏感。这种在人中的耐受性因此相当于最为重要的原始数据。其证实了W02009/093207中与在体内使用短寿命激动剂有关的教示的准确性且给出对其精确施用的说明。

[0115] ii. 皮脂溢在施用2-3周之后以外形截然不同的作用显著减少。痤疮、红斑痤疮和脂溢性皮炎的症状被显著改进或清除。先前已以0.4-0.5mg/bw/天的中间剂量服用口服异维甲酸的患者认为其获得与由此调配的表面5,6BZF类似的作用,且刺激和不适较少。

[0116] iii. 使用Sebutape® (CUDerm)贴片测试来测定治疗之后6个个体中产生的皮脂量指示对应于正常皮脂溢范围的临时水准。

[0117] 本发明的表面医药组合物可具有在所述组合物的0.005重量%与1重量%之间、且更具体地说在0.1重量%与1重量%之间的5,6苯并黄酮(5,6BZF)浓度。

[0118] 结论:除了关于所涉及的皮脂腺的病理生理学的新颖信息之外,本发明允许针对治疗性用途快速分选候选皮脂抑制分子。

[0119] 所属领域的技术人员将容易地理解本发明的方法可在不脱离本发明的范围的情况下在不为C57/B6小鼠品系的另一种实验室哺乳动物中实施,限制条件为所述活化顺序被再现。

[0120] 代表受体活化能力的体外数据与体内作用之间的差异可能反映为每一分子所特有的组织内动力学要素。本发明的方法标的物因此是有史以来第一次经描述,这允许皮肤组织内皮脂细胞的特异性靶向的研究。

[0121] 能够在临床水平诱导显著皮脂抑制作用的配体是早在第一周治疗时就超过第2阶段的那些。最具活性者早在第一周治疗就达到第4阶段。

[0122] 在上述测试期间,在根据本发明的体内测试之后选择的5,6苯并黄酮证实了其在人类中以表面施用形式用于皮脂抑制治疗的能力。

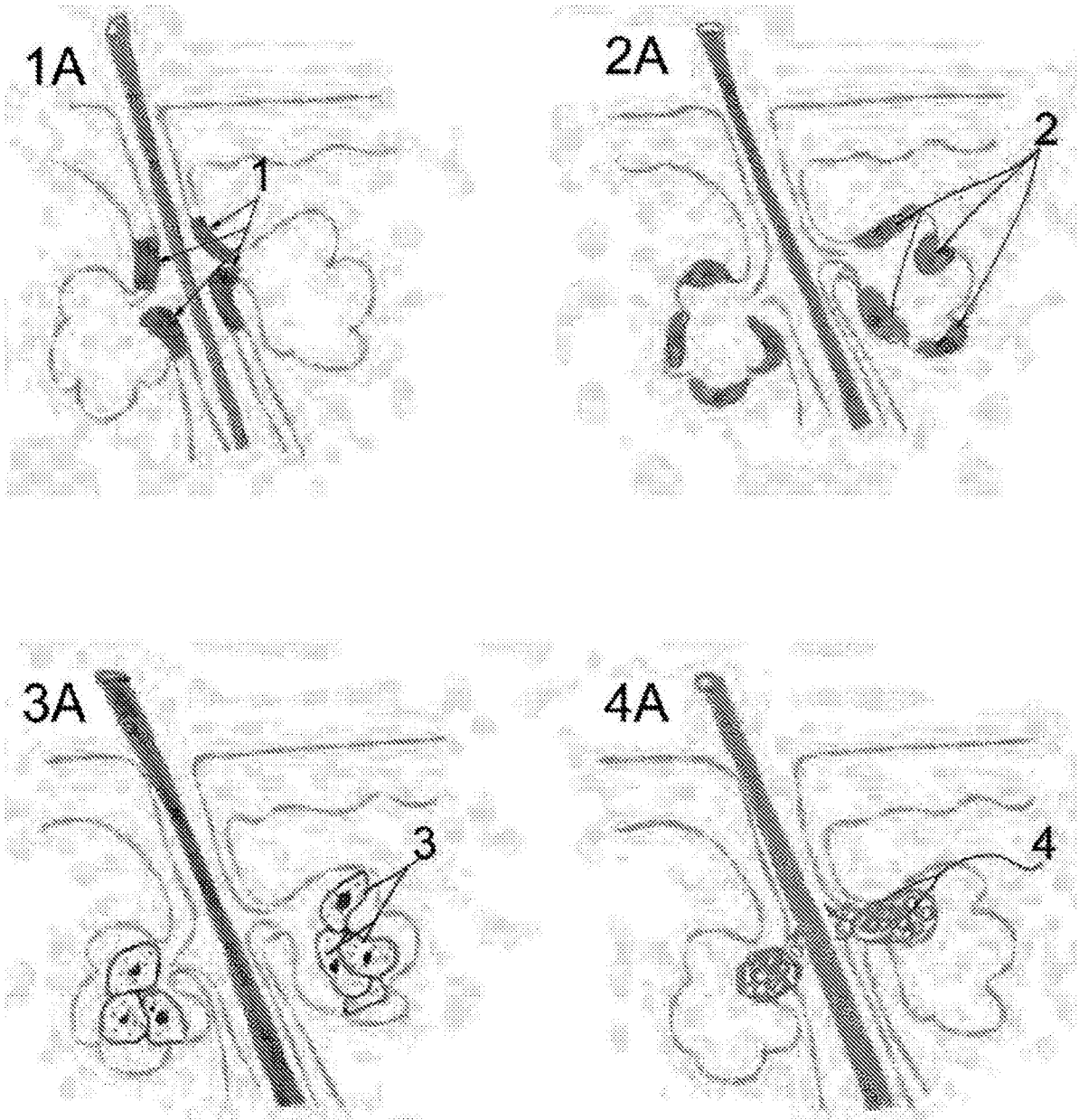


图1

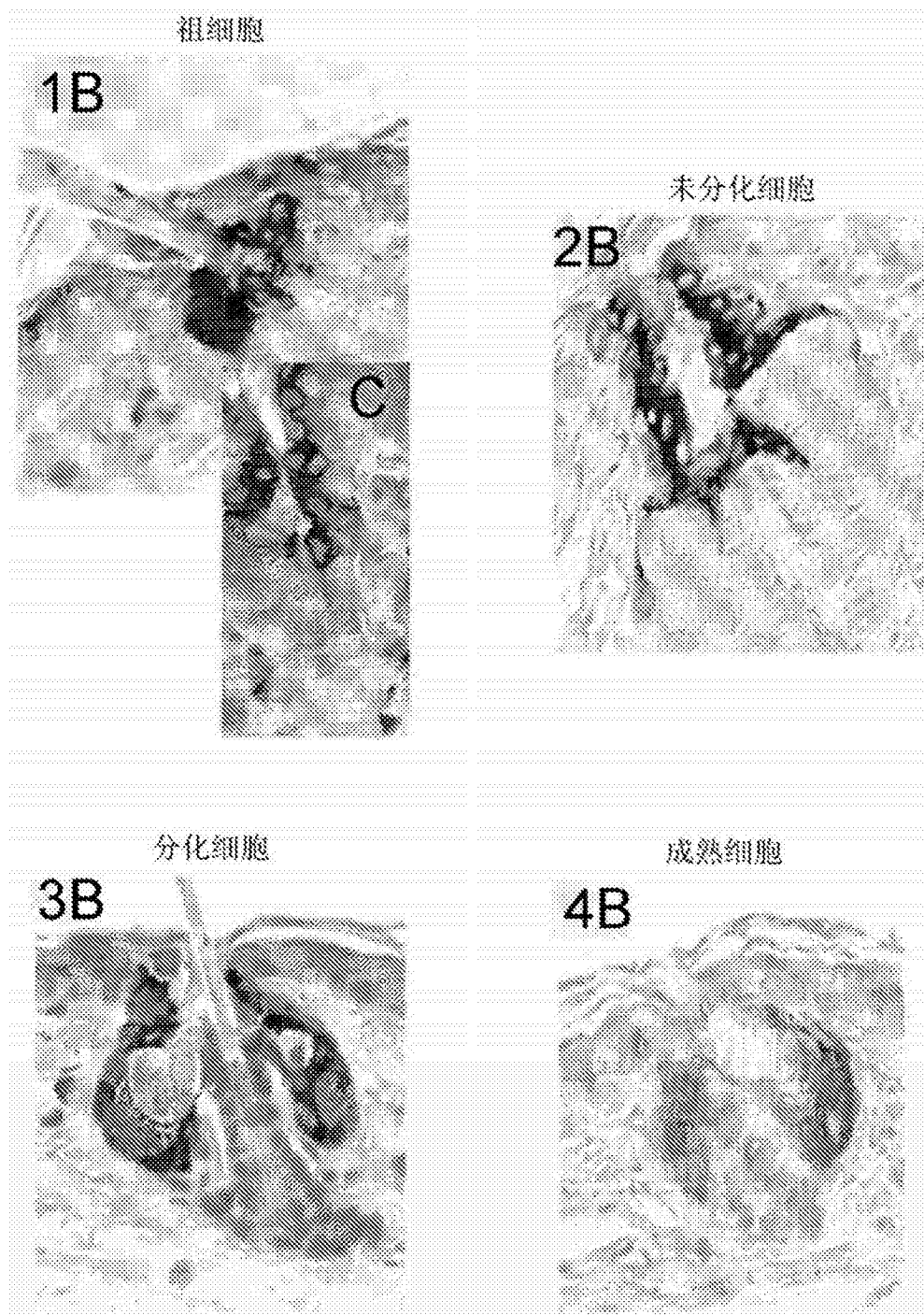


图2

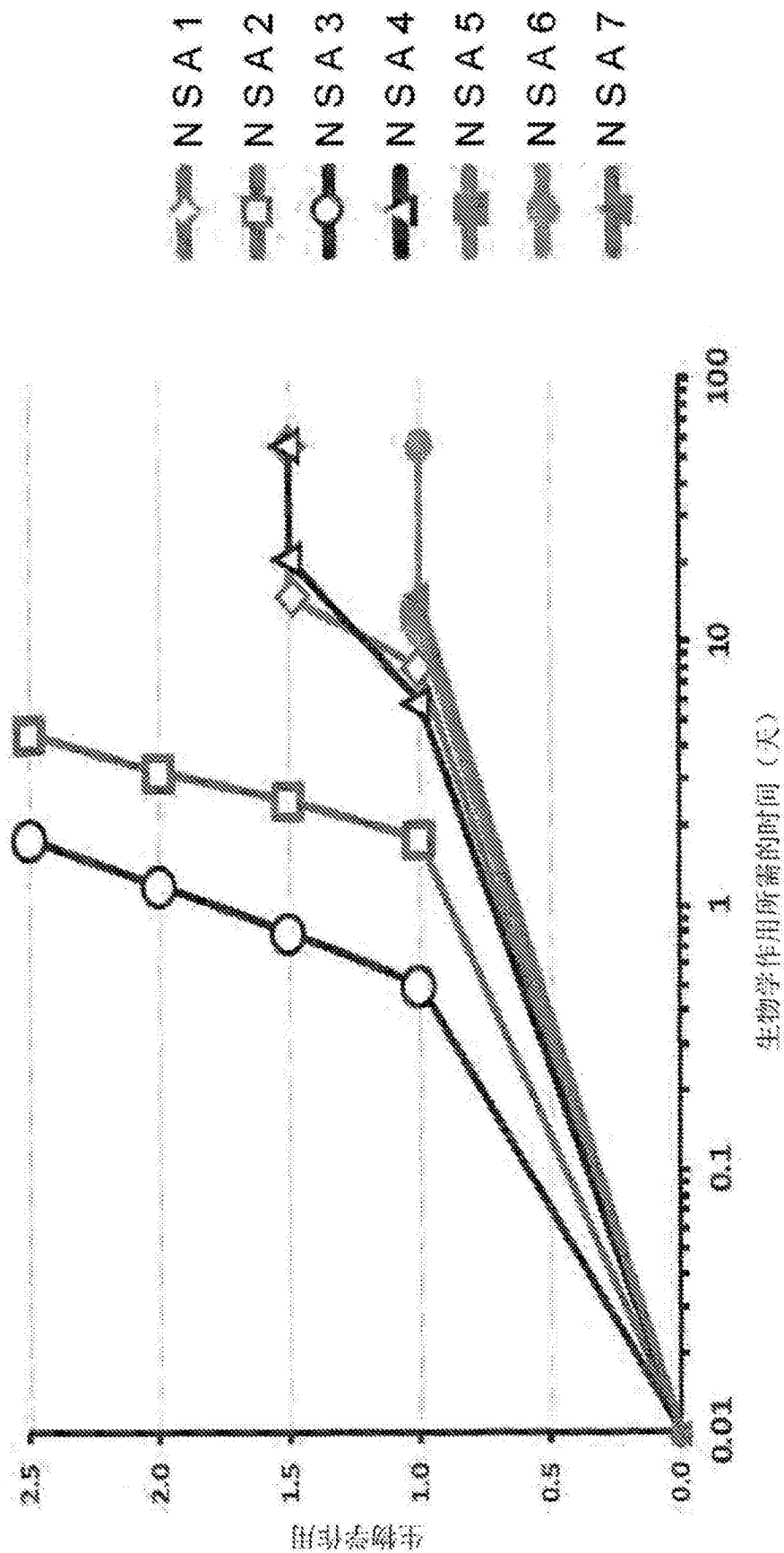


图3

	CALUX功效			EROD功效		AhR活化的局部表达 (cyp1A1)					皮脂抑制 指数*	在人中 的活性
	浓度		TCDD 值%	浓度	值	祖细胞 第1阶段	非分化细胞 第2阶段	分化细胞 第3阶段	成熟 细胞 第4阶段			
	μM	M		M	TCDD 值% 10 ⁻¹⁰							
NSA 1	10	1.0E-05	78	1.0E-06	25	xxx	xxx	ooo	ooo	28	xx	
NSA 2	5	1.0E-05	13	1.0E-06	20	xxx	xxx	xxx	xxx	90	xxx	
NSA 3	0.01	1.0E-11	100	1.0E-12	100	xxx	xxx	xxx	xxx	97	xxx	
NSA 4	0.1	1.0E-11	76	1.0E-07	60	xxx	xxx	ooo	ooo	8	ooo	
NSA 5	100	1.0E-04	32	1.0E-04	30	xxx	ooo	ooo	ooo	11	ooo	
NSA 6	100	1.0E-04	58	1.0E-04	10	xxx	ooo	ooo	ooo	16	ooo	
NSA 7	100	1.0E-04	17			xxx	ooo	ooo	ooo	5	ooo	

表1 活性 xxx 低活性 x *皮脂生成抑制 (皮脂分化指数)

无作用 ooo

图4

	CALUX功效 浓度 M	TCDD值% TCDD 值% 10^{-11}	EROD功效 浓度 M	TCDD 值% 10^{-11}	AhR活化的局部表达 (Cyp1A1)			
					祖细胞 第1阶段	非分化细胞 第2阶段	分化细胞 第3阶段	成熟细胞 第4阶段
TCDD	$1.0E-11$	100	$1.0E-12$	100	XXX	XXX	XXX	XXX
5,6-苯并黄酮 (β -蔡黄酮)	$1.0E-05$	13	$1.0E-06$	20	XXX	XXX	XXX	XXX
7,8-苯并黄酮 (α -蔡黄酮)	$1.0E-04$	18	$1.0E-04$	4	000	000	000	000
黄酮	$1.0E-05$	20	$1.0E-05$	6	XXX	000	000	000

图5

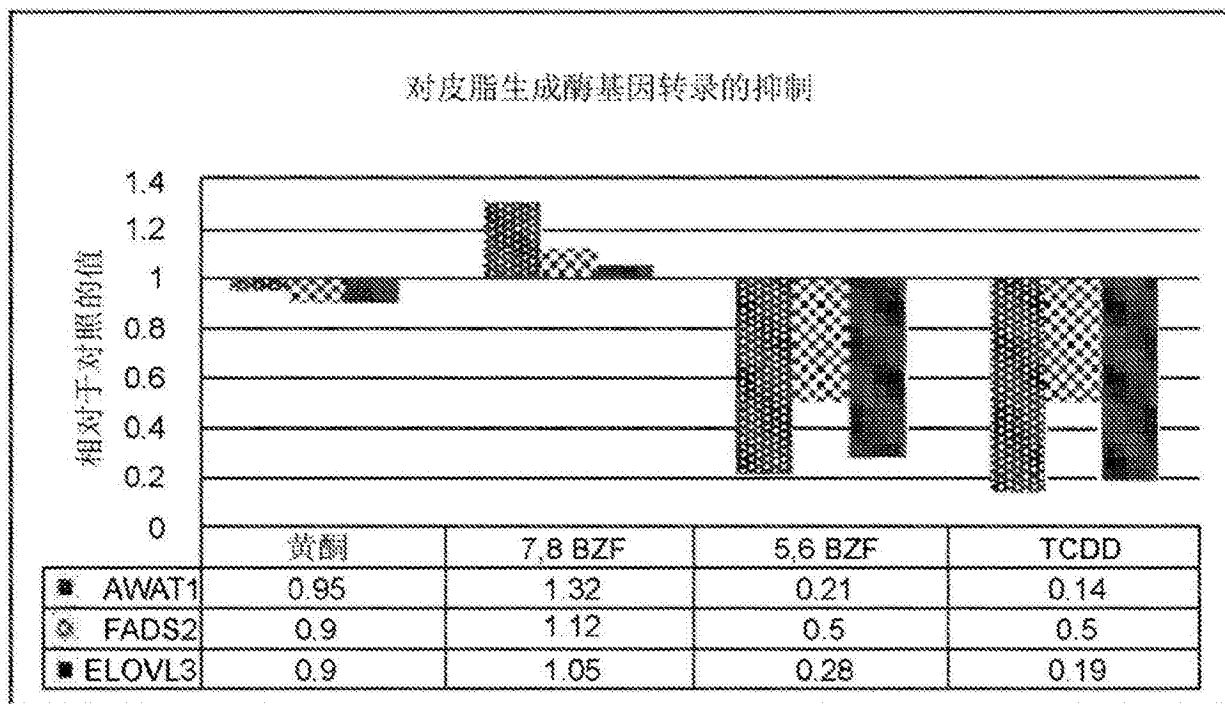


图6

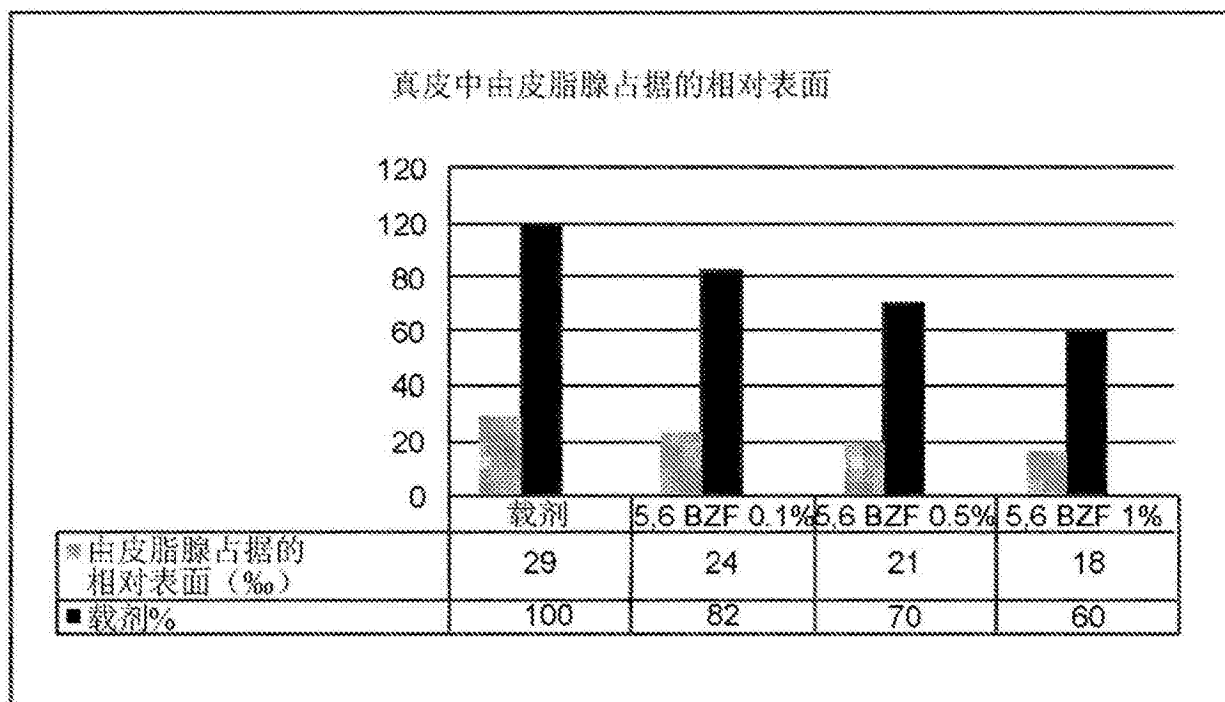


图7

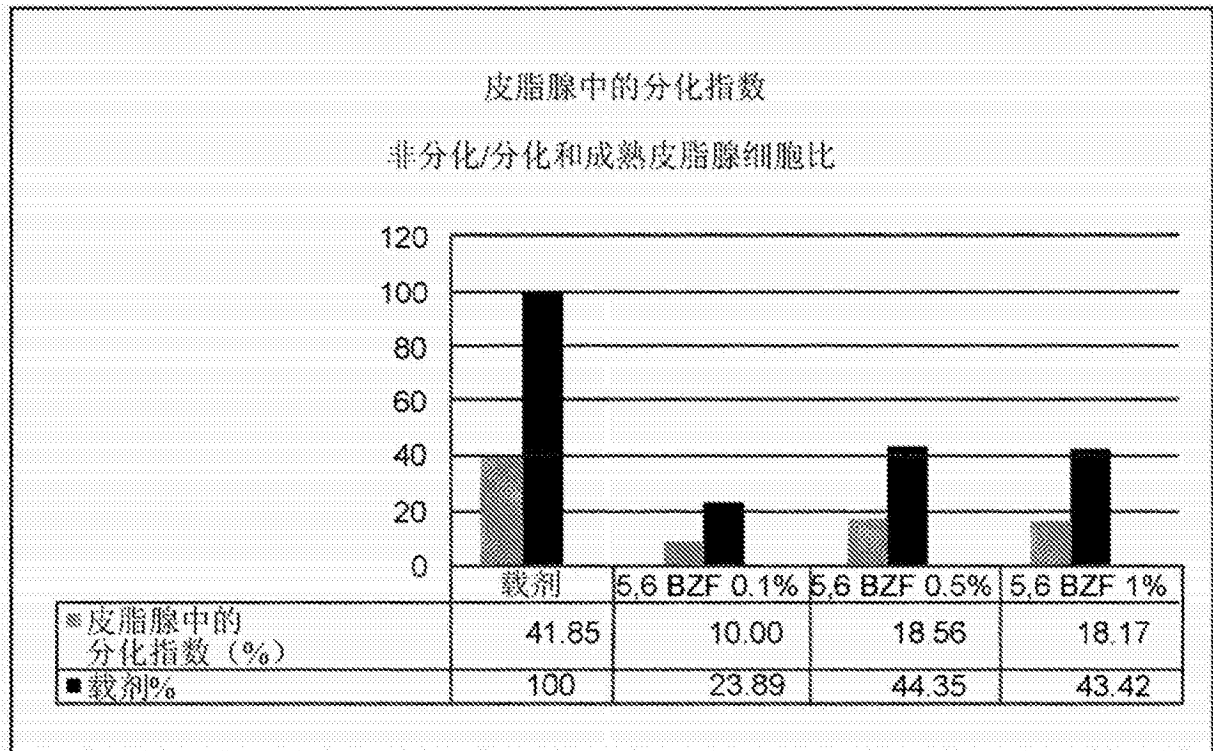


图8

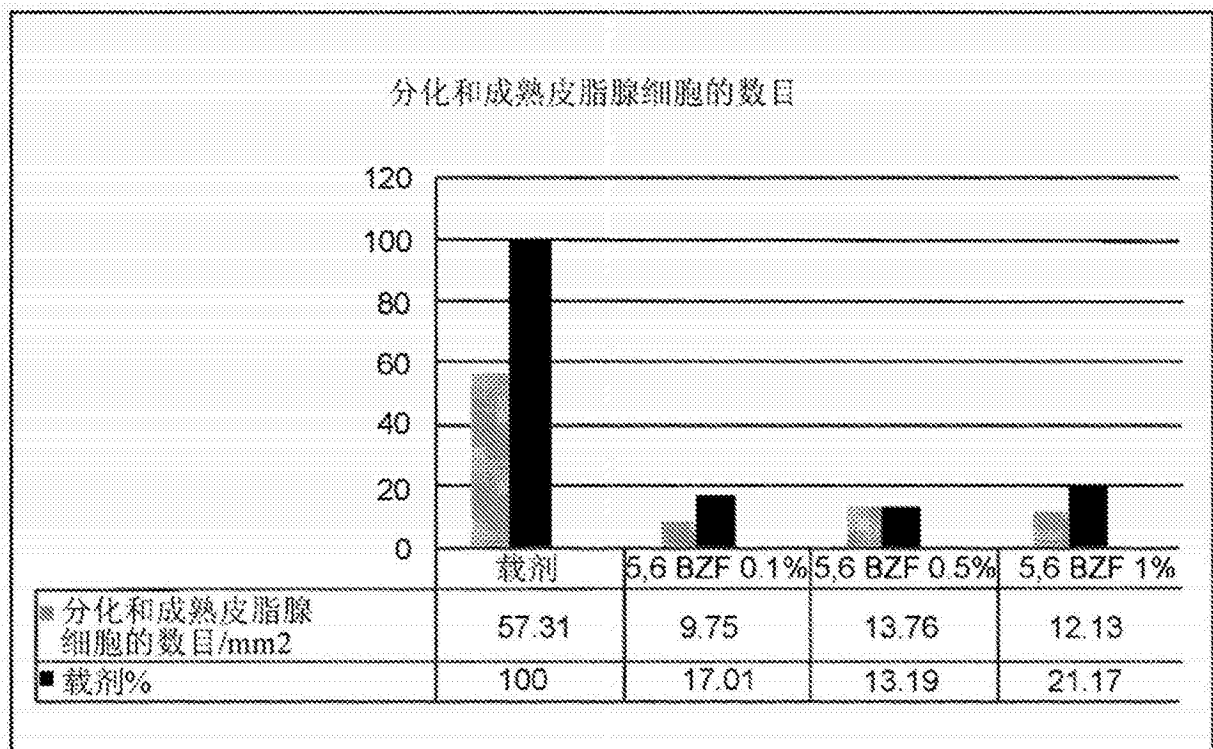


图9

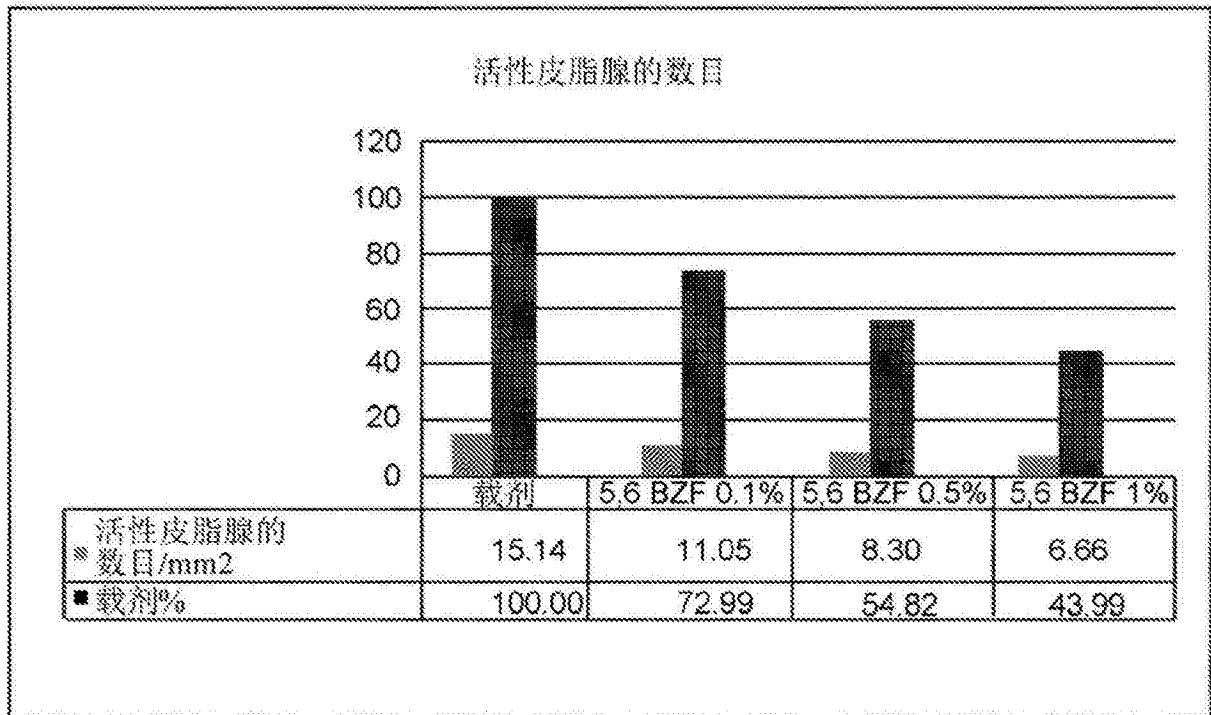


图10