

明 細 書

発明の名称：

アニオン性ポリマー及びカチオン性ポリマー若しくはペプチドを含む複合粒子並びにその製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、皮膚外用剤の原料として利用され得るナノ粒子、及びそのナノ粒子の製造方法に関するものである。

背景技術

[0002] 皮膚外用剤の有効成分を角質細胞層内に送達するためには、従来以下のようない点が問題とされてきた。

皮膚の角質細胞層は、外界からの異物の侵入を防ぐためにバリア機能を有しており、有効成分が角質細胞層内に到達しにくい。特に、有効成分が高分子化合物である場合には、高分子化合物が低浸透性であるため角質細胞層内に浸透しにくく、有効成分が皮膚表面に残留してしまう。

[0003] このような状況において、有効成分を角質細胞層内に送達するためのキャリアとして、ナノ粒子の開発が進められてきた。

特許文献1には、核酸、オリゴ核酸、又はその誘導体；カチオン性ポリマー又はカチオン性脂質若しくはそれを含む集合体；及びアニオン性ポリマーを含む複合体の凍結乾燥体が記載されている。

[0004] 特許文献2には、直径1 μm 未満の活性成分の投与用のナノ粒子を得る方法であって、a) ヒアルロナン塩の水溶液を調製し、b) カチオン性ポリマーの水溶液を調製し、c) ポリアニオン塩を前記ヒアルロナン塩溶液に加え、d) 前記b) およびc) において得られた溶液を攪拌混合し、自然発生的にナノ粒子を得ることを含んでおり、前記a)、b) またはc) において得られた溶液のうち1つに、あるいは前記d) において得られたナノ粒子の懸濁液に、前記活性成分を溶解させ、ナノ粒子に吸着させる、方法が記載されている。

- [0005] 特許文献3には、生物学的に活性な分子を放出するためのナノ粒子を含んでなる系であって、前記ナノ粒子が、a)少なくとも50重量%のキトサンまたはキトサン誘導体、およびb)50重量%未満のポリエチレングリコール(PEG)またはPEG誘導体を含んでなる共役物を含んでおり、前記料成分a)とb)とが、キトサンアミノ基を介して共有結合しており、前記ナノ粒子が架橋剤により架橋していることを特徴とする系が記載されている。
- [0006] 特許文献4には、平均サイズ1マイクロメートル未満のナノ粒子を含み、ナノ粒子がa)ヒアルロナンまたはその塩；およびb)キトサンまたはその誘導体、を含む生物活性分子の放出のための系であって、キトサンまたはその誘導体の分子量が90kDa未満であることを特徴とする系が記載されている。また、生物活性分子として核酸等を含む系、網状化剤としてトリポリリン酸塩を含む系が記載されている。
- [0007] 特許文献5には、ヒアルロナンとキトサンを含む二元複合体と、さらにアニオン性ポリマーを含む三元複合体が記載されている。

先行技術文献

特許文献

- [0008] 特許文献1：国際公開第2007/132873号パンフレット
特許文献2：特表2007-520424号公報
特許文献3：特表2008-533108号公報
特許文献4：特表2009-537604号公報
特許文献5：特開2014-114272号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0009] 特許文献5に記載されているように、ヒアルロナンはキトサンと容易に複合粒子を形成する。しかし、キトサン以外にどのような特性のポリマーが、どのような条件でヒアルロナンと複合粒子を形成しうるのか不明であった。
- そこで、第1の本発明の解決しようとする課題は、ヒアルロナンを粒子化

する新規の技術を提供することにある。

[0010] また、特許文献５に記載されているように、ヒアルロナンとキトサンは中性付近（ $\text{pH} 6.5$ ）において容易に複合粒子を形成する。

本発明者らはアニオン性ポリマーと複合粒子を形成し得るポリマーを種々検討する過程において、このような中性条件下では、ヒアルロナンとペプチドは粒子径の小さい複合粒子を形成しにくいことを発見した。

そこで、第２の本発明の解決しようとする課題は、アニオン性ポリマーとペプチドを含む複合粒子の製造に好適な新規の技術を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0011] ＜第１の発明＞

本発明者らは鋭意研究努力により、ヒアルロナンと複合粒子を形成し得るカチオン性ポリマーの特性として、カチオン化度が重要であることを見出し、本発明を完成させた。

すなわち、上記課題を解決する第１の本発明は、アニオン性ポリマー、並びに、カチオン化度が 0.2 以上であるカチオン性ポリマー（キトサンを除く）を含む複合粒子である。

本発明の複合粒子は、有効成分を皮膚内に送達するためのキャリアとして有用である。

[0012] 本発明の好ましい形態では、アニオン性ポリマーが、ヒアルロナン及び／又はポリグルタミン酸である。

かかる形態の本発明の複合粒子は、保湿成分であるヒアルロナンやポリグルタミン酸を皮膚内部に送達することが可能である。

[0013] 本発明の好ましい実施の形態では、カチオン性ポリマーが、アリル系アミン重合体及び／又はカチオン化多糖類である。

これらのカチオン性ポリマーを用いることによって、複合粒子の安定性を向上させることができる。

[0014] 本発明の好ましい形態では、カチオン性ポリマーが、第１級～第３級のアミンである。

第1級～第3級のアミンであるカチオン性ポリマーを含む本発明の複合粒子は、皮膚内部に浸透後、崩壊する性質を有する。そのため、かかる形態の本発明の複合粒子は、本来、皮膚内部に浸透させることが不可能である非凝集状態のアニオン性ポリマーを、皮膚内部に導入することができる。

[0015] 本発明の好ましい形態では、カチオン性ポリマーが、ペプチドである。
ペプチドを用いることによって、複合粒子の安定性を向上させることができる。

[0016] 本発明は上述の複合粒子を含む皮膚外用組成物にも関する。
本発明の皮膚外用組成物は、アニオン性ポリマーを皮膚内部に浸透させることができる。

[0017] 本発明は、上述の複合粒子の製造方法にも関する。すなわち、本発明の製造方法は、水系溶媒中において、アニオン性ポリマー、並びに、カチオン化度が0.2以上であるカチオン性ポリマー（キトサンを除く）を混合することを特徴とする。

本発明によれば、容易に上述の複合粒子を製造することができる。

[0018] 本発明の好ましい形態では、
(A) アニオン性ポリマー水溶液と、
(B) 前記カチオン性ポリマーの水溶液と、
を別途調製し、これら水溶液を混合することを特徴とする。
このように(A)と(B)の水溶液を別途調製する形態とすることで、複合粒子の凝集を防ぐことができる。

[0019] さらに、前記(A)の水溶液における前記アニオン性ポリマーの濃度が、
1.7 mM以下であることが好ましい。
また、前記(B)の水溶液における前記カチオン性ポリマーの合計濃度が、
1.7 mM以下であることが好ましい。
(A)と(B)の水溶液におけるポリマーの濃度を前記範囲とすることにより、凝集しにくい複合粒子を製造することができる。

[0020] 本発明は上述の製造方法により製造された複合粒子にも関する。

本発明の複合粒子は、安定性に優れる。

[0021] <第2の発明>

また、本発明者は鋭意研究努力の結果、ヒアルロナンとペプチドをpH5以下の酸性領域にある水系溶媒中で混合することにより、微小な複合粒子を製造することができることを見出した。

[0022] すなわち、上記課題を解決する第2の本発明は、pHが5以下の水系溶媒中でアニオン性ポリマーとペプチドとを混合することを特徴とする、アニオン性ポリマーとペプチドを含む複合粒子の製造方法である。

本発明の製造方法によれば、比較的粒子径の小さいアニオン性ポリマーとペプチドを含む複合粒子を製造することができる。

[0023] 本発明の好ましい形態では、アニオン性ポリマーがヒアルロナンである。

本発明はヒアルロナンを含む複合粒子の製造に応用することが好ましい。

[0024] アニオン性ポリマーと、酸性及び／又は中性のアミノ酸残基を含むペプチドとは、中性付近において複合粒子を形成することが困難である。

そのため、本発明は、酸性及び／又は中性のアミノ酸残基を含むペプチドに適用することが好ましい。

[0025] 本発明の好ましい形態では、前記ペプチドが水溶性コラーゲン、オリゴペプチドー20及びポリリジンからなる群から選ばれる1種又は2種以上である。

本発明はこれら人体に有用な作用を有するペプチドを含む複合粒子の製造に応用することが好ましい。

[0026] 本発明の好ましい形態では、前記ペプチドが水溶性コラーゲンであるときに水系溶媒のpHを3以下とする。

このような形態とすることで、粒子径の小さな複合粒子を製造することができる。

[0027] 本発明の好ましい形態では、前記ペプチドがオリゴペプチドー20であるときに前記水系溶媒のpHを3.5以下とする。

このような形態とすることで、粒子径の小さな複合粒子を製造することが

できる。

- [0028] 本発明の好ましい形態では、前記ペプチドがポリリジンであるときに、前記水系溶媒のpHが4.4以下とする。

このような形態とすることで、粒子径の小さな複合粒子を製造することができる。

- [0029] 本発明の好ましい形態では、前記アニオン性ポリマーの水溶液と、前記ペプチドの水溶液と、を別途調製し、これら水溶液を混合する。

このようにアニオン性ポリマーの水溶液と、ペプチドの水溶液とを別途調製する形態とすることで、複合粒子の凝集を防ぐことができる。

- [0030] 本発明は上述の製造方法により製造した複合粒子を含む複合粒子含有組成物の製造方法にも関する。

すなわち、本発明の複合粒子含有組成物の製造方法は、上述の製造方法により複合粒子を製造した後、水系溶媒と他の成分を混合する工程を含み、混合後の組成物と前記水系溶媒のpHが異なってもよいことを特徴とする。

上述の製造方法により製造された複合粒子は、その後pHが変動しても消失することはない。そのため、本発明によれば複合粒子含有組成物を容易に製造することができる。

- [0031] また、本発明は、アニオン性ポリマーとペプチドを含む複合粒子であって、前記ペプチドが水溶性コラーゲン、オリゴペプチド-20及びポリリジンからなる群から選ばれる1種又は2種以上であり、粒子径が500nm以下であることを特徴とする、複合粒子にも関する。

本発明の複合粒子はアニオン性ポリマーとペプチドを皮膚内部に浸透させる目的で用いることができる。

- [0032] 本発明の好ましい形態では、前記アニオン性ポリマーがヒアルロナンである。

本発明の複合粒子によればヒアルロナンを皮膚内部に導入することができる。

発明の効果

[0033] 第1の本発明の複合粒子は、アニオン性ポリマーを皮膚内へ浸透させることができる。また、本発明の複合粒子の製造方法によれば、上述の複合粒子を容易に製造することができる。

[0034] 第2の本発明の製造方法によれば、アニオン性ポリマーとペプチドを含む、比較的粒子径の小さな複合粒子を提供することができる。

また、本発明の複合粒子によれば、皮膚内部にアニオン性ポリマーとペプチドを浸透させることができる。

図面の簡単な説明

[0035] [図1] P B S の添加量と複合粒子の粒子径との関係を表すグラフ。

[図2] 複合粒子配合製剤と無配合製剤を適用した皮膚抽出液の H P L C 定量分析結果を表すグラフ。

[図3] 複合粒子配合製剤を適用した皮膚抽出液と、濃度既知であるフルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウムを含む複合粒子の標準水溶液、フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウム単独の標準水溶液を F F F 分析した結果を表すチャート。

[0036] <第1の発明>

<1>複合粒子

(1) アニオン性ポリマー

本発明の複合粒子は必須要素としてアニオン性ポリマーを含む。アニオン性ポリマーとしては人体に対して害のない限り制限されることはないが、好適にはポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸等のアニオン性ポリアミノ酸、寒天、ヒアルロナン、コンドロイチン硫酸、デキストラン硫酸、ヘパラン硫酸、デルマタン硫酸、フコイダン、ケラタン硫酸、ヘパリン、カラギナン、サクシノグルカン、アラビアゴム、キサンタンガム、アルギン酸、ペクチン、カルボキシメチルセルロース等のアニオン性多糖類、ポリアクリル酸、並びに、これらの塩等を挙げることができる。特に、ヒアルロナン、ポリグルタミン酸及びこれらの塩を好適に例示することができる。

アニオン性ポリマーは、市販品を用いることが可能である。

[0037] ヒアルロナン塩及びポリグルタミン酸塩を形成する塩としては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、マグネシウム、塩基性アミノ酸塩などが挙げられる。

[0038] 本発明で用いられるアニオン性ポリマーの分子量は制限されないが、好ましくは100～100000kDa、より好ましくは200～50000kDaである。

[0039] より具体的には、アニオン性ポリマーとして、ヒアルロナン又はその塩を用いる場合には、分子量が、好ましくは100～2000kDa、さらに好ましくは200～1500kDaのものをを用いることができる。

[0040] また、アニオン性ポリマーとして、ポリグルタミン酸又はその塩を用いる場合には、分子量が、好ましくは500～30000kDa、より好ましくは1000～20000kDa、さらに好ましくは1500～15000kDaのものをを用いることができる。

[0041] アニオン性ポリマーのアニオン化度は特に限定されないが、カチオン性ポリマーとの複合粒子の形成を促進する観点から、下限は好ましくは0.1以上、より好ましくは0.2以上である。

一方、カチオン性ポリマーとの複合粒子形成の観点からは、アニオン性ポリマーのアニオン化度に特に上限はない。目安として、アニオン化度が2以下のアニオン性ポリマーを用いることができる。

[0042] ここで、「アニオン化度」とは、以下の式により算出することができる値のことをいう。

$$\{ (\text{ポリマーに含まれるアニオン性官能基の数}) - (\text{ポリマーに含まれるカチオン性官能基の数}) \} / \text{ポリマーを構成するモノマーの総量}$$

[0043] (2) カチオン性ポリマー

本発明においてカチオン性ポリマーとは、少なくとも水中でカチオン性を示すポリマーのことをいい、全体としてカチオン性となる両性ポリマーも含まれる。

[0044] 本発明においては、カチオン化度が0.2以上であるポリマーを用いる。かかるカチオン性ポリマーを用いることにより、容易にアニオン性ポリマーと複合粒子を形成させることができる。

一方、アニオン性ポリマーとの複合粒子形成の観点からは、カチオン性ポリマーのカチオン化度に特に上限はない。目安として、カチオン化度が2以下のカチオン性ポリマーを用いることができる。

[0045] ここで、「カチオン化度」とは、以下の式により算出することができる値のことをいう。

$$\{ (\text{ポリマーに含まれるカチオン性官能基の数}) - (\text{ポリマーに含まれるアニオン性官能基の数}) \} / \text{ポリマーを構成するモノマーの総量}$$

[0046] 本発明で用いられるカチオン性ポリマーは、カチオン性の官能基を有するものであるのならば、天然物でも合成物でも構わない。

カチオン性ポリマーに含まれるカチオン性官能基としては、アミノ基、グアニジノ基及びイミノ基等が挙げられる。本発明のカチオン性ポリマーは、これらの基をポリマーの側鎖、または主鎖中に含有するものである。

[0047] アニオン性ポリマーとしては、カチオン化多糖類、アリル系アミン重合体、アミノ基含有（メタ）アクリル酸重合体などを例示でき、特にカチオン化多糖類、アリル系アミン重合体を好ましく例示できる。

[0048] カチオン化多糖類としてはカチオン化セルロース、カチオン化グアーガム、カチオン化デンプンなどを例示できる。

[0049] アリル系アミン重合体とは、アリル基とアミノ基を有する単量体が、アリル重合により重合したものである。単量体が有するアリル基の数は特に限定されないが、好ましくは1又は2である。

アリル系アミン重合体としては、アリルアミン塩酸塩重合体、アリルアミンアミド硫酸塩重合体、アリルアミン塩酸塩・ジアリルアミン塩酸塩共重合体、アリルアミン酢酸塩・ジアリルアミン酢酸塩共重合体、アリルアミン塩酸塩・ジアルキルアリルアミン塩酸塩共重合体、部分アルコキシカルボニル化アリルアミン重合体、部分アルキルカルボニル化アリルアミン酢酸塩重合

体、部分尿素化ポリアリルアミン重合体、ジアリルアミン塩酸塩重合体、アルキルジアリルアミン塩酸塩重合体、アルキルジアリルアミンアミド硫酸塩重合体、アルキルジアリルアミン酢酸塩重合体、ジアリルジメチルアンモニウムクロリド重合体、ジアリルメチルエチルアンモニウムエチルサルフェイト重合体、ジアリルアミン塩酸塩・二酸化硫黄共重合体、ジアリルアミン酢酸塩・二酸化硫黄共重合体、ジアリルメチルエチルアンモニウムエチルサルフェイト・二酸化硫黄共重合体、アルキルジアリルアミン塩酸塩・二酸化硫黄共重合体、ジアリルジアルキルアンモニウムクロリド・二酸化硫黄共重合体、ジアリルジアルキルアンモニウムクロリド・アクリルアミド共重合体等を例示することができる。

[0050] アミノ基含有（メタ）アクリル酸重合体としては、（メタ）アクリル酸重合体のカルボキシル基部分に、アミノ基を含有する側鎖構造がエステル結合又はアミド結合により結合している構造のものであれば特に限定されない。当該側鎖構造は直鎖状であっても分岐状であっても構わない。側鎖に含まれるアミノ基は第1級～第3級の何れであってもよく、第4級アンモニウムの形態であってもよい。

[0051] 本発明の好ましい実施の形態では、第1級～第3級のアミンであるカチオン性ポリマーを用いる。より好ましい実施形態では、第1級～第3級のアミンであるアリル系アミン重合体を用いる。

第1級～第3級のアリル系アミン重合体として、具体的には、アリルアミン塩酸塩重合体、アリルアミンアミド硫酸塩重合体、アリルアミン塩酸塩・ジアリルアミン塩酸塩共重合体、アリルアミン酢酸塩・ジアリルアミン酢酸塩共重合体、アリルアミン塩酸塩・ジアルキルアリルアミン塩酸塩共重合体、部分アルコシカルボニル化アリルアミン重合体、部分アルキルカルボニル化アリルアミン酢酸塩重合体、部分尿素化ポリアリルアミン重合体、ジアリルアミン塩酸塩重合体、アルキルジアリルアミン塩酸塩重合体、アルキルジアリルアミンアミド硫酸塩重合体、アルキルジアリルアミン酢酸塩重合体、ジアリルアミン塩酸塩・二酸化硫黄共重合体、ジアリルアミン酢酸塩・二

酸化硫黄共重合体、アルキルジアリルアミン塩酸塩・二酸化硫黄共重合体等を例示することができる。

[0052] 全体としてカチオン性となることからカチオン性ポリマーに分類できる両性ポリマーとしては、ジアルキルアミノエチルメタクリレート重合体の酢酸両性化物、メタクリロイルエチルベタイン／メタクリレートコポリマー、アクリル酸オクチルアクリルアミド／アクリル酸ヒドロキシプロピル／メタクリル酸ブチルアミノエチル共重合体、塩化ジメチルジアリルアンモニウム／アクリル酸共重合体、塩化ジメチルジアリルアンモニウム／アクリル酸／アクリルアミド共重合体、塩化メタクリルアミドプロピルトリメチルアンモニウム／アクリル酸／アクリル酸メチル共重合体を好ましく例示することができる。

[0053] また、カチオン性ポリマーとして、全体としてカチオン性を示すペプチドを用いることが好ましい。

ペプチドの種類は特に限定されないが、全アミノ酸残基に対する塩基性アミノ酸残基の割合が、好ましくは70%以上、より好ましくは80%以上、さらに好ましくは90%以上、さらに好ましくは99%以上である塩基性ペプチドを用いることが好ましい。

特に塩基性アミノ酸残基のみから構成される塩基性ペプチドを好ましく例示できる。

[0054] 塩基性ペプチドとしては、アルギニン及びリジンにより構成されるペプチドを特に好適に例示できる。

具体的にはポリリジンやポリアルギニンを用いることが好ましい。

[0055] また、ペプチドとしては、単一のアミノ酸残基により構成されているペプチドと、2種以上のアミノ酸残基により構成されているペプチドの何れを用いてもよい。

[0056] (3) 複合粒子

本発明の複合粒子は、上述したアニオン性ポリマー及びカチオン性ポリマーを必須成分として含む。

複合粒子におけるアニオン性ポリマーと、カチオン性ポリマーの質量比は、仕込み量ベースで、好ましくは10 : 1 ~ 1 : 10、より好ましくは5 : 1 ~ 5 : 1、さらに好ましくは2 : 1 ~ 1 : 2、さらに好ましくは1.5 : 1 ~ 1 : 1.5である。

[0057] 複合粒子には上記必須成分以外の任意の成分が含まれていてもよいが、複合粒子全体に占める、上記必須成分の総含有量は、好ましくは50質量%以上、より好ましくは70質量%以上、さらに好ましくは90質量%以上、さらに好ましくは99質量%以上である。

[0058] 複合粒子の平均粒子径は、好ましくは1000 nm以下、より好ましくは500 nm以下、より好ましくは300 nm以下、さらに好ましくは100 nm以下である。

[0059] (4) 複合粒子の製造方法

上述の複合粒子の製造方法は特に限定されないが、本発明の製造方法によって製造することが好ましい。以下、本発明の複合粒子の製造方法の具体的な実施形態について説明する。

[0060] 本発明の製造方法は、水系溶媒中において、アニオン性ポリマー、並びに、カチオン化度が0.2以上であるカチオン性ポリマー（キトサンを除く）を混合することを特徴とする。

本発明の製造方法によれば、必須成分であるポリマーを水系溶媒中で混合するという簡易な操作によって複合粒子を製造することができる。

[0061] 水系溶媒とは、水（例えば、精製水、イオン交換水、水道水等）または水溶性成分の水溶液のことをいう。水溶性成分としては、本発明の効果を損なわないものであれば特に制限無く用いることができ、例えば、通常化粧料や医薬部外品等に配合される粉末類、保湿剤、増粘剤、防腐剤等の添加物が挙げられる。なお、高融点の水溶性成分を配合する場合は、予め加熱して水に均一溶解させておくことができるが、水溶性成分が溶解した後は水溶液を室温程度に戻してから複合粒子の製造に用いることが好ましい。

[0062] 予めアニオン性ポリマー水溶液と、カチオン性ポリマー水溶液をそれぞれ

別途調製し、これらを混合する実施の形態とすることが好ましい。

このように別途調製した各ポリマー水溶液を混合する形態とすることによって、複合粒子が凝集することを防ぐことができる。

- [0063] アニオン性ポリマー水溶液を予め調製する場合には、当該水溶液におけるアニオン性ポリマーの濃度は、好ましくは1.7 mM以下、より好ましくは1 mM以下、さらに好ましくは0.9 mM以下であることが好ましい。

このような濃度に調節しておくことにより、後の工程でカチオン性ポリマーと混合した際に、粒子の不要な凝集を回避することができる。

- [0064] カチオン性ポリマー水溶液を予め調製する場合には、当該水溶液における各ポリマーの濃度は、好ましくは1.7 mM以下、より好ましくは1 mM以下、さらに好ましくは0.9 mM以下である。

このような濃度に調節しておくことにより、後の工程でアニオン性ポリマー水溶液と混合した際に、粒子の不要な凝集を回避することができる。

- [0065] 混合後の溶液に対するアニオン性ポリマーの濃度は、好ましくは0.9 mM以下、より好ましくは0.5 mM以下である。

混合後の溶液に対するカチオン性ポリマーの濃度は、好ましくは0.9以下、より好ましくは0.5 mM以下である。

- [0066] 混合の方法としては、各溶液を一度に混合する方法、一つの溶液に、他の溶液を滴下する方法などが挙げられる。いずれも、溶液を攪拌しながら混合を行うことが、凝集を回避する観点から好ましい。

- [0067] このように製造した複合粒子は、任意の成分と組み合わせることにより、皮膚外用組成物の形態とすることが好ましい。皮膚外用組成物としては、医薬品、医薬部外品、化粧品の何れの形態であってもよい。

- [0068] 任意の成分としては、例えば、脂肪酸セッケン（ラウリン酸ナトリウム、パルミチン酸ナトリウム等）、ラウリル硫酸カリウム、アルキル硫酸トリエタノールアミンエーテル等のアニオン界面活性剤類、塩化ステアリルトリメチルアンモニウム、塩化ベンザルコニウム、ラウリルアミンオキサ이드等のカチオン界面活性剤類、イミダゾリン系両性界面活性剤（2-ココイル-2

ーイミダゾリニウムヒドロキサイドー1ーカルボキシエチロキシ2ナトリウム塩等)、ベタイン系界面活性剤(アルキルベタイン、アミドベタイン、スルホベタイン等)、アシルメチルタウリン等の両性界面活性剤類、ソルビタン脂肪酸エステル類(ソルビタンモノステアレート、セスキオレイン酸ソルビタン等)、グリセリン脂肪酸類(モノステアリン酸グリセリン等)、プロピレングリコール脂肪酸エステル類(モノステアリン酸プロピレングリコール等)、硬化ヒマシ油誘導体、グリセリンアルキルエーテル、POEソルビタン脂肪酸エステル類(POEソルビタンモノオレート、モノステアリン酸ポリオキエチレンソルビタン等)、POEソルビット脂肪酸エステル類(POEソルビットモノラウレート等)、POEグリセリン脂肪酸エステル類(POEグリセリンモノイソステアレート等)、POE脂肪酸エステル類(ポリエチレングリコールモノオレート、POEジステアレート等)、POEアルキルエーテル類(POE2-オクチルドデシルエーテル等)、POEアルキルフェニルエーテル類(POEノニルフェニルエーテル等)、プルロニック型類、POE・POPアルキルエーテル類(POE・POP2-デシルテトラデシルエーテル等)、テトロニック類、POEヒマシ油・硬化ヒマシ油誘導体(POEヒマシ油、POE硬化ヒマシ油等)、ショ糖脂肪酸エステル、アルキルグルコシド等の非イオン界面活性剤類、ピロリドンカルボン酸ナトリウム、乳酸、乳酸ナトリウム等の保湿成分類、表面処理されていても良い、マイカ、タルク、カオリン、合成雲母、炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム、無水ケイ酸(シリカ)、酸化アルミニウム、硫酸バリウム等の粉体類、表面処理されていても良い、酸化コバルト、群青、紺青、酸化亜鉛の無機顔料類、表面処理されていても良い、酸化鉄二酸化チタン焼結体等の複合顔料、表面処理されていても良い、雲母チタン、魚鱗箔、オキシ塩化ビスマス等のパール剤類、レーキ化されていても良い赤色202号、赤色228号、赤色226号、黄色4号、青色404号、黄色5号、赤色505号、赤色230号、赤色223号、橙色201号、赤色213号、黄色204号、黄色203号、青色1号、緑色201号、紫色201号、赤色204号等

の有機色素類、ポリエチレン末、ポリメタクリル酸メチル、ナイロン粉末、オルガノポリシロキサンエラストマー等の有機粉体類、エタノール、イソプロパノール等の低級アルコール類、ビタミンA又はその誘導体、ビタミンB6塩酸塩、ビタミンB6トリパルミテート、ビタミンB6ジオクタノエート、ビタミンB2又はその誘導体、ビタミンB12、ビタミンB15又はその誘導体等のビタミンB類、 α -トコフェロール、 β -トコフェロール、 γ -トコフェロール、ビタミンEアセテート等のビタミンE類、ビタミンD類、ビタミンH、パントテン酸、パンテチン、ピロロキノリンキノン等のビタミン類などが例示できる。

[0069] <第2の発明>

本発明の製造方法は、アニオン性ポリマーとペプチドをpH5以下の水系溶媒中で混合することを技術的特徴とする。以下、発明の要素についてそれぞれ詳述する。

[0070] 本発明に用いることができるアニオン性ポリマーの実施の形態は、上記<第1の発明>における説明をそのまま適用することができる。

[0071] 本発明に用いることができるペプチドとしては、人体に対して害のない限り制限されることはなく、同一アミノ酸残基からなるペプチドであっても、複数種のアミノ酸残基からなるペプチドであってもよい。

ペプチドは天然物であっても合成物でもよく、また、天然物又は合成物であるタンパク質を分解することで得られたペプチドを用いてもよい。また化学的な修飾が施されたペプチドを用いることもできる。

[0072] 具体的には、水溶性コラーゲン、オリゴペプチド-24（EGF様合成ペプチド、13個のアミノ酸配列、分子量1271）、アセチルデカペプチド-3（FGF様合成ペプチド）、オリゴペプチド-34（TGF β 様合成ペプチド、13個のアミノ酸配列、分子量1468）、オリゴペプチド-20（IGF様合成ペプチド、12個のアミノ酸配列、分子量1476）、ポリリジン、ポリアルギニンなどを例示することができ、特に水溶性コラーゲン、オリゴペプチド-20及びポリアルギニンを好適に例示できる。

[0073] 本発明の製造方法においては、上述したアニオン性ポリマーとペプチドを水系溶媒中で混合する。

ここで、水系溶媒とは、水（例えば、精製水、イオン交換水、水道水等）または水溶性成分の水溶液のことをいう。水溶性成分としては、本発明の効果を損なわないものであれば特に制限無く用いることができ、例えば、通常化粧料や医薬部外品等に配合される粉末類、保湿剤、増粘剤、防腐剤等の添加物が挙げられる。なお、高融点の水溶性成分を配合する場合は、予め加熱して水に均一溶解させておくことができるが、水溶性成分が溶解した後は水溶液を室温程度に戻してから複合粒子の製造に用いることが好ましい。

[0074] 水系溶媒のpHの上限は5以下であり、好ましくは4.5以下であり、より好ましくは4.2以下である。

また、水系溶媒のpHの下限は特に制限されないが、好ましくは1以上であり、より好ましくは2以上であり、より好ましくは2.5以上である。

[0075] アニオン性ポリマーと組み合わせるペプチドとして水溶性コラーゲンを用いる場合には、水系溶媒のpHは好ましくは4以下、より好ましくは3.5以下、さらに好ましくは3以下とする。

この場合のpHの下限は特に制限されないが、好ましくは2以上、より好ましくは2.5以上、さらに好ましくは2.7以上とすることができる。

[0076] また、アニオン性ポリマーと組み合わせるペプチドとしてオリゴペプチド-20を用いる場合には、水系溶媒のpHは好ましくは4.5以下、より好ましくは4以下、さらに好ましくは3.5以下とする。

この場合のpHの下限は特に制限されないが、好ましくは2以上、より好ましくは2.5以上、さらに好ましくは2.7以上、より好ましくは2.75以上とすることができる。

[0077] さらに、アニオン性ポリマーと組み合わせるペプチドとしてポリリジンを用いる場合には、水系溶媒のpHは好ましくは4.7以下、より好ましくは4.4以下、さらに好ましくは4.2以下とする。

この場合のpHの下限は特に制限されないが、好ましくは2以上、より好

ましくは2.5以上、さらに好ましくは3以上、より好ましくは3.5以上とすることができる。

[0078] 水系溶媒中でアニオン性ポリマーとペプチドとを混合する際の形態は特に限定されない。

本発明においては、予めアニオン性ポリマー水溶液と、ペプチド水溶液をそれぞれ別途調製し、これらを混合する実施の形態とすることが好ましい。

このように別途調製した各ポリマー水溶液を混合する形態とすることによって、複合粒子が凝集することを防ぐことができる。

予め調製するアニオン性ポリマー水溶液とペプチド水溶液のそれぞれのpHは特に限定されず、混合後の水系溶媒のpHが上記範囲となればよい。

[0079] 混合後の水系溶媒のpHを調製するための工程を特に設けず、予め目的のpHに調製しておいたアニオン性ポリマー水溶液とペプチド水溶液を混合する形態としてもよい。

[0080] また、アニオン性ポリマー水溶液とペプチド水溶液を混合した後に、酸性の水溶液を加えることで、水系溶媒のpHを調整する実施の形態とすることが、製造工程を簡素化する観点から好ましい。

[0081] 水系溶媒のpHを調整するための酸性水溶液は特に限定されず、クエン酸、リン酸、リンゴ酸、乳酸などの有機酸の水溶液を好ましく例示することができる。

[0082] アニオン性ポリマー水溶液を予め調製する場合には、当該水溶液におけるアニオン性ポリマーの濃度は、好ましくは1.7mM以下、より好ましくは1mM以下、さらに好ましくは0.9mM以下であることが好ましい。

このような濃度に調節しておくことにより、後の工程でペプチドと混合した際に、粒子の不要な凝集を回避することができる。

[0083] ペプチド水溶液を予め調製する場合には、当該水溶液における各ポリマーの濃度は、好ましくは5.1mM以下、より好ましくは3mM以下、さらに好ましくは2.7mM以下である。

このような濃度に調節しておくことにより、後の工程でアニオン性ポリマ

一水溶液と混合した際に、粒子の不要な凝集を回避することができる。

なお、ここでいうペプチドのモル濃度は、構成するアミノ酸のそれぞれの分子量を構成比で乗じたものを1モルとし、算出する値である。

[0084] 混合後の溶液に対するアニオン性ポリマーの濃度は、好ましくは0.9 mM以下、より好ましくは0.5 mM以下である。

混合後の溶液に対するペプチドの濃度は、好ましくは2.7 mM以下、より好ましくは1.5 mM以下である。

[0085] 混合の方法としては、各溶液を一度に混合する方法、一つの溶液に、他の溶液を滴下する方法などが挙げられる。いずれも、溶液を攪拌しながら混合を行うことが、凝集を回避する観点から好ましい。

[0086] 本発明の製造方法によれば、中性付近の水系溶媒中でアニオン性ポリマーとペプチドを混合することで得られる複合粒子と同程度か、ペプチドの種類によっては、これよりも粒子径の小さな複合粒子を製造することができる。

[0087] そして、本発明はアニオン性ポリマーとペプチドを含む複合粒子にも関する。

皮膚内部へ複合粒子を浸透させる観点から、粒子径は500 nm以下、より好ましくは400 nm以下、さらに好ましくは300 nm以下とする。

なお、粒子径は粒子径分布測定装置を用いて光散乱法により測定することが可能である。

[0088] 本発明の複合粒子に用いることができるアニオン性ポリマーとペプチドに関しては、上述した製造方法に関する事項を適用することができる。

[0089] 本発明の複合粒子は、任意の成分と組み合わせることにより、複合粒子含有組成物とすることができる。本発明は、上述の製造方法により複合粒子を製造した後、水系溶媒と他の成分を混合する工程を含む複合粒子含有組成物の製造方法にも関する。

なお、一度形成された複合粒子はpHの変動により消失しない。そのため、水系溶媒と他の成分を混合した後の混合物のpHは水系溶媒のpHから変動していてもよい。

[0090] 複合粒子含有組成物は、皮膚外用組成物の形態とすることが好ましい。皮膚外用組成物としては、医薬品、医薬部外品、化粧品の何れの形態であってもよい。

[0091] 複合粒子は任意の成分と組み合わせてもよい。任意の成分は上記＜第1の発明＞において列挙した成分を例示できる。

実施例

[0092] ＜第1の発明＞

＜試験例1＞

表1に示すアニオン性ポリマー、カチオン性ポリマーの水溶液をそれぞれ別途調製した。アニオン性ポリマー水溶液は0.2 mM、カチオン性ポリマー水溶液は0.2～2 mM（うちペプチド水溶液は0.1～0.2 mM）となるように調製した。

次いで攪拌しながら各アニオン性ポリマー水溶液に、各カチオン性ポリマーの水溶液を滴下することで混合溶液を調製した。アニオン性ポリマー水溶液と、カチオン性ポリマーの水溶液の混合比は1：1とした。

[0093] [表1]

	成分名	原料例	アニオン化率
アニオン性ポリマー	ヒアルロン酸ナトリウム	ヒアルロン酸FCH-120	1
	ポリグルタミン酸ナトリウム	アミバジェールP	1
	成分名	原料例	カチオン化率※
カチオン性ポリマー	ジアルキルアミン塩重合体	MEポリマー-H40W	1
	アリルアミン塩重合体	PAA-HCl-3L	1
	ジアルキルアミン塩重合体	PAS-21Cl	1
	メチルジアルキルアミン塩重合体	PAS-M-1	1
	カチオン化セルコース	カチナールHC100	0.2～1
	アクリルアミド・ジアルキルメチルアミン塩重合体	マーコート3200	0.24～0.88
	カチオン化デンブ	ゼンサマー-CI-50	0.2～0.5
	カチオン化ポリビニルアルコール	イーセネックスK-454	0.1
	アクリル酸・アクリルアミド・ジアルキルメチルアミン塩重合体	マーコートプラス3330	0※
	ポリメタクリレート・シリコン	PMシリコン	0※
	アルギニン/リジン/ロイシンペプチド	Peptiskin	1～2
	ポリリジン	ポリリジン10	1

※ポリマー構造中、カチオン基と同様にアニオン量を含む場合、その差引きをした比率をカチオン化率とした。

[0094] 調製した各混合溶液をELS-Z2（大塚電子株式会社）を用いて測定し（動的光散乱法）、ブラウン運動が観測された場合には複合粒子が形成されたものと判定した。結果を表2に示す。

[0095] [表2]

	成分名	カチオン化度	用いたアニオン性ポリマー	
			ヒアルロン酸ナトリウム	ポリグルタミン酸ナトリウム
カチオン性ポリマー	ジアリルジメチルアミン塩酸塩重合体	1	○	○
	アリルアミン塩酸塩重合体	1	○	○
	ジアルキルアミン塩酸塩重合体	1	○	○
	メチルジアリルアミン塩酸塩重合体	1	○	○
	カチオン化セルロース	0.2~1	○	○
	アクリルアミド・ジアリルジメチルアミン塩酸塩重合体	0.24~0.98	○	○
	カチオン化デンプン	0.2~0.5	○	○
	カチオン化ポリビニルアルコール	0.1	×	×
	アクリル酸・アクリルアミド・ジアリルジメチルアミン塩酸塩重合体	0.1	×	×
	ポリメタクリレート・エチレン	0.1	×	×
	アルギニン/リジン/ヒスチジン	1~2	○	○

※ポリマー溶液中、カチオン基と陰性アニオン基を含む場合、その差引きした比率をカチオン化度とした。

○・・・複合粒子が形成されている

×・・・複合粒子が形成されていない

[0096] 表2に示すように、カチオン化度が0.2未満のカチオン性ポリマーは何れも、ヒアルロン酸ナトリウム及びポリグルタミン酸ナトリウムと複合粒子を形成しなかった。一方、カチオン化度が0.2以上のカチオン性ポリマーは何れも、ヒアルロン酸ナトリウム及びポリグルタミン酸ナトリウムと複合粒子を形成した。

この結果は、アニオン性ポリマーとの複合粒子の形成については、カチオン性ポリマーのカチオン化度が0.2以上であることが重要であることを示している。

[0097] <試験例2>

表3に示す濃度でヒアルロン酸ナトリウム水溶液とジアリルジメチルアミン塩酸塩重合体水溶液をそれぞれ別途調製し、これらを混合することにより実施例1～6の複合粒子の水溶液を調製した。

実施例1～6の水溶液中に形成された複合粒子の粒子径をELS-Z2（大塚電子株式会社）を用いて測定した（動的光散乱法）。結果を表3に示す。

[0098]

[表3]

[表3]

	ヒアルロン酸ナトリウム水 溶液濃度 (mM)	ジアリルジメチルアミン塩 酸塩重合体水溶液濃度 (mM)	複合粒子の粒径 (nm)	備考
実施例1	2.494	2.494	1156.1	凝集あり
実施例2	1.995	1.995	9237.6	凝集あり
実施例3	1.650	1.650	201.1	30分後凝集あり
実施例4	0.825	0.825	172.7	—
実施例5	0.500	0.500	149.8	—
実施例6	0.200	0.200	132.5	—

[0099] 表3に示すように、実施例1及び2の水溶液中には粒径が顕著に大きい粒子が確認できたことから、形成した複合粒子が凝集しているものと認められる。

実施例3の水溶液については、調製直後は比較的粒径の小さな複合粒子の形成が確認できた。しかし、30分間放置後に粒径の増大がみられたことから、水溶液の静置により複合粒子が凝集してしまうものと認められる。

一方、実施例4～6の水溶液では200nm未満の小さな粒径の複合粒子が形成されていることが確認できた。また、これを30分以上放置しても粒径の増大が確認されなかった。

[0100] 以上の結果は、アニオン性ポリマー水溶液と、カチオン性ポリマー水溶液を予め調製し、これらを混合することで複合粒子を製造するにあたっては、アニオン性ポリマー水溶液は1.7mM以下、また、カチオン性ポリマー水溶液又はペプチド水溶液は1.7mM以下の濃度で調製することが、複合粒子の凝集を回避する観点から好ましいことを示している。

[0101] <試験例3>

試験例1と同様の方法で、ヒアルロン酸ナトリウムと、表4に示す第1級アミン又は第4級アンモニウムであるカチオン性ポリマーとの複合粒子を含む水溶液を調製した。

[0102]

[表4]

カチオン基の級数	成分名
第1級アミン	ポリリジン
	プロタミン
第4級アンモニウム	カチオン化セルロース
	ジアリルジメチルアミン塩酸塩重合体

[0103] 調製した複合粒子の水溶液に、生体内で普遍的に見出されるイオンで構成されるP B S緩衝液を添加することによって、生体内を模倣した環境下に置かれた複合粒子がどのような挙動を示すのか調べた。

具体的には、調製した複合粒子の水溶液にP B Sを添加し、試験例2と同様の方法により水溶液中の複合粒子の粒径を測定した。結果を図1に示す。

[0104] 図1に示すように、ヒアルロン酸ナトリウムと、第4級アンモニウムであるジアリルジメチルアミン塩酸塩重合体またはカチオン化デンプンとの複合粒子は、P B Sの添加により粒径が増大した。

一方、ヒアルロン酸ナトリウムと、第1級アミンであるプロタミンまたはポリリジンとの複合粒子は、P B Sの添加量が100%のとき（皮膚内と同一の環境）に粒径がほぼ測定できない状態となった。

[0105] この結果は、アニオン性ポリマーと、第4級以外の第1級～第3級アミンであるカチオン性ポリマーとの複合粒子は、皮膚内などの生体環境下において崩壊することを示している。

つまり、この結果は、当該複合粒子が皮膚浸透性を有しながらも皮膚内部への到達後には崩壊し、構成要素であるポリマーを拡散する性質を有することを示唆している。

[0106] <試験例4>

表5に示す処方の乳化製剤を作製した。すなわち、水相をホモミキサーにて攪拌下、油相を投入し、乳化製剤を得た。

フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウムは、平均分子量 120万の岩井化学薬品社製のものを使用した。なお、フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウムは、文献J Gene Med 2008; 1

0 : 70-80に記載のある方法に従い、合成することもできる。

また、水相成分は、フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウム水溶液とポリリジン水溶液を先に攪拌混合し、そこへクエン酸溶液を添加した後、その他の水性成分を投入することにより調製した。

[0107] [表5]

[表5]		配合率(%)	
		実施例7	比較例1
水相	フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウム1.65mM水溶液	33	33
	ポリリジン1.32mM水溶液	27	0
	クエン酸1%水溶液	1	0
	アクリル酸・メタクリル酸アルキル共重合体	0.25	0.25
	1,3-ブチレングリコール	10	10
	水酸化カリウム	0.1	0.1
	純水	3.65	31.65
油相	アジピン酸ジイソプロピル	25	25

[0108] ヒト皮膚片（バイオプレディック社）を、有効透過面積1.77cm²の縦型拡散セルに装着し、レシーバー側（真皮側）にPBS 4mLを適用した。その後、実施例7及び比較例1の製剤をドナー側に1mL適用し、24時間の処理を行った。

[0109] 処理した皮膚を回収し、皮膚表層の余剰製剤を純水で数回洗い流した後、50%メタノール水溶液中でホモジナイズした後、遠心分離することで（15400×g、25℃、5分）、皮膚抽出液を得た。

[0110] この皮膚抽出液と、フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウム単独の標準水溶液を以下の条件でHPLC分析した。図2に実施例7および比較例1の各製剤を適用した皮膚抽出液中の蛍光強度測定結果を示す。なお、本蛍光は上記標準水溶液を分析した結果得られたフルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウム由来のピークに一致したもののみから算出した。

・分析装置：Agilent 1260

・カラム：YMC-Pack Diol-300、300×8.0mm I.D., S-5μm, 30nm

・移動相：10mM 酢酸アンモニウム／メタノール＝80／20

・流速：1.0mL／分

- ・ 温度：40℃
- ・ 波長： $\lambda_{ex}=494\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=521\text{ nm}$

[0111] さらに、実施例7の製剤を適用した皮膚抽出液と、フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウムとポリリジンを含む複合粒子の標準水溶液、フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウム単独の標準水溶液を以下の条件でFFF分析した。

- ・ 分析装置：AF2000MFFlowFFFSytem (AF4)
- ・ 分離チャンネル：AF2000Analyticalchannel (AF4) 350 μm
- ・ 移動相：10 mM 酢酸アンモニウム／メタノール＝80／20
- ・ 検出流速：0.5 mL／分
- ・ クロスフロー流速：1.0 mL／分
- ・ 波長： $\lambda_{ex}=494\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=521\text{ nm}$

[0112] 図3に示すように、実施例7の製剤を適用した皮膚抽出液とフルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウム単独の標準水溶液の溶出時間－強度曲線はほぼ一致している。

この結果は、フルオレセインアミン標識ヒアルロン酸ナトリウムとポリリジンからなる複合粒子は皮膚への浸透後に崩壊し、皮膚内に非凝集状態のヒアルロナンを放出することを示している。

[0113] 試験例3及び4の結果は、アニオン性ポリマーと、第1級～第3級アミンであるカチオン性ポリマーとの複合粒子は、内在性のアニオン性ポリマー（ヒアルロナンなど）と同じ状態のアニオン性ポリマーを皮膚内部に導入することができ、皮膚のバリア機能を向上させることができることを示している。

[0114] <第2の発明>

ヒアルロナン水溶液と、ポリリジン、オリゴペプチドー20及び水溶性コラーゲンの各ペプチド水溶液を別途調製した。なお、ヒアルロナン水溶液は80.2 $\mu\text{g/mL}$ 、ポリリジン水溶液は24.0 $\mu\text{g/mL}$ 、オリゴペプ

チドー 20 水溶液は 88.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、水溶性コラーゲン水溶液は 21.87 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように各水溶液を調製した。

[0115] 次に、攪拌しながらヒアルロナン水溶液に、各ペプチド水溶液を滴下することで混合溶液を調製した。この際、各ペプチド水溶液は、ヒアルロナン水溶液に対して、容積比で 0.8～1 の割合で滴下した。その後、1～3% のクエン酸水溶液を少量ずつ添加し、表 6～8 に示す pH となるように調整した。

[0116] [表6]

[表 6]

ヒアルロナン/ポリリジン微粒子系

pH	8.9	7.46	6.68	6.34	5.64	5.39	5.15	4.31	4.14	3.99	3.85	3.71
粒子径(nm)	-	178.3	176.8	185.8	780	1791.2	2420.1	490.6	223.4	195.5	192.5	189.6
微粒子形成	×	○	○	○	×	×	×	△	○	○	○	○

[0117] [表7]

[表 7]

ヒアルロナン/オリゴペプチド-20微粒子系

pH	5.27	3.35	3.13	2.79	2.78
粒子径(nm)	-	146.7	235	263.6	229.8
微粒子形成	×	○	○	○	○

[0118] [表8]

[表 8]

ヒアルロナン/水溶性コラーゲン微粒子系

pH	5.55	2.91	2.7
粒子径(nm)	-	197.2	297.6
微粒子形成	×	○	○

[0119] このようにして調製した混合溶液を ELS-Z2（大塚電子株式会社）により測定し、同溶液中に形成されたヒアルロナンとペプチドの複合粒子の粒子径を測定した。表 6～8 にその結果を示す。

また、同測定結果に基づき、混合溶液において形成された複合粒子を以下の基準に従い 3 段階評価した結果も表 6～8 に示す。

（微小な複合粒子の形成の有無の評価基準）

○：300 nm 未満の粒子を形成

△：300 nm 以上 500 nm 未満の粒子を形成

×：粒子の形成が見られない

[0120] 表6に示すように、ヒアルロナンとポリリジンの組み合わせに関しては、混合溶液のpHが中性付近であるときであっても微小な粒径を有する複合粒子が形成されていることが確認できた。しかし、混合溶液が5.15～5.64のpH領域にあるときには、微小な複合粒子は形成されなかった。

また、表7及び8に示すように、ヒアルロナンとオリゴペプチド-20の複合粒子、及びヒアルロナンと水溶性コラーゲンの複合粒子に関しては、混合溶液のpHが5より大きい領域については、微小な複合粒子は形成されなかった。

[0121] 一方、表6～8に示すように、何れのペプチドであっても、ヒアルロナンと混合する際の混合溶液のpHが5以下である場合には、粒子径500nm以下の微小な複合粒子が形成された。

この結果は、アニオン性ポリマーとペプチドを含む複合粒子を製造するに当たっては、これらポリマーをpH5以下の水系溶媒において混合することが、微小な複合粒子を製造する目的において重要であることを示している。

産業上の利用可能性

[0122] 本発明は化粧品に応用することができる。

請求の範囲

- [請求項1] アニオン性ポリマー、並びに、カチオン化度が0.2以上であるカチオン性ポリマー（キトサンを除く）を含む複合粒子。
- [請求項2] 前記アニオン性ポリマーが、ヒアルロナン及び／又はポリグルタミン酸であることを特徴とする、請求項1に記載の複合粒子。
- [請求項3] 前記カチオン性ポリマーが、アリル系アミン重合体及び／又はカチオン化多糖類であることを特徴とする、請求項1又は2に記載の複合粒子。
- [請求項4] 前記カチオン性ポリマーが、第1級～第3級のアミンであることを特徴とする、請求項1又は2に記載の複合粒子。
- [請求項5] 前記カチオン性ポリマーが、ペプチドであることを特徴とする、請求項1～4の何れか一項に記載の複合粒子。
- [請求項6] 請求項1～5の何れか一項に記載の複合粒子を含む皮膚外用組成物。
- [請求項7] 水系溶媒中において、アニオン性ポリマー、並びに、カチオン化度が0.2以上であるカチオン性ポリマー（キトサンを除く）を混合することを特徴とする、請求項1～5の何れか一項に記載の複合粒子の製造方法。
- [請求項8] （A）アニオン性ポリマー水溶液と、
（B）前記カチオン性ポリマーの水溶液と、
を別途調製し、これら水溶液を混合することを特徴とする、請求項7に記載の製造方法。
- [請求項9] 前記（A）の水溶液における前記アニオン性ポリマーの濃度が、1.7 mM以下であることを特徴とする、請求項8に記載の複合粒子の製造方法。
- [請求項10] 前記（B）の水溶液における前記カチオン性ポリマーの合計濃度が、1.7 mM以下であることを特徴とする、請求項8又は9に記載の製造方法。
- [請求項11] 請求項8～10の何れか一項に記載の製造方法により製造された複合

粒子。

- [請求項12] pHが5以下の水系溶媒中でアニオン性ポリマーとペプチドとを混合することを特徴とする、アニオン性ポリマーとペプチドを含む複合粒子の製造方法。
- [請求項13] 前記アニオン性ポリマーがヒアルロナンであることを特徴とする、請求項12に記載の製造方法。
- [請求項14] 前記ペプチドが酸性及び／又は中性のアミノ酸残基を含むペプチドであることを特徴とする、請求項12又は13に記載の製造方法。
- [請求項15] 前記ペプチドが水溶性コラーゲン、オリゴペプチドー20及びポリリジンからなる群から選ばれる1種又は2種以上であることを特徴とする、請求項12又は13に記載の製造方法。
- [請求項16] 前記ペプチドが水溶性コラーゲンであり、前記水系溶媒のpHが3以下であることを特徴とする、請求項12又は13に記載の製造方法。
- [請求項17] 前記ペプチドがオリゴペプチドー20であり、前記水系溶媒のpHが3.5以下であることを特徴とする、請求項12又は13に記載の製造方法。
- [請求項18] 前記ペプチドがポリリジンであり、前記水系溶媒のpHが4.4以下であることを特徴とする、請求項12又は13に記載の製造方法。
- [請求項19] 前記アニオン性ポリマーの水溶液と、前記ペプチドの水溶液と、を別途調製し、これら水溶液を混合することを特徴とする、請求項12～18の何れか一項に記載の製造方法。
- [請求項20] 請求項12～19の何れか一項に記載の製造方法により前記複合粒子を製造した後、前記水系溶媒と他の成分を混合する工程を含み、混合後の組成物と前記水系溶媒のpHが異なってもよいことを特徴とする、複合粒子含有組成物の製造方法。
- [請求項21] アニオン性ポリマーとペプチドを含む複合粒子であって、前記ペプチドが水溶性コラーゲン、オリゴペプチドー20及びポリリジンからなる群から選ばれる1種又は2種以上であり、粒子径が500nm以下

であることを特徴とする、複合粒子。

[請求項22] 前記アニオン性ポリマーがヒアルロナンであることを特徴とする、請求項21に記載の複合粒子。