

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3909290号

(P3909290)

(45) 発行日 平成19年4月25日(2007.4.25)

(24) 登録日 平成19年1月26日(2007.1.26)

(51) Int. Cl.		F I	
A 6 1 K	8/60	(2006.01)	A 6 1 K 8/60
A 6 1 K	8/66	(2006.01)	A 6 1 K 8/66
A 6 1 Q	19/02	(2006.01)	A 6 1 Q 19/02

請求項の数 3 (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願2002-555783 (P2002-555783)	(73) 特許権者	503208345
(86) (22) 出願日	平成13年12月28日(2001.12.28)		コデ インコーポレイティッド
(65) 公表番号	特表2004-517857 (P2004-517857A)		大韓民国 157-840 ソウル ガン
(43) 公表日	平成16年6月17日(2004.6.17)		セオ-グデウチョン-ドン 647-26
(86) 国際出願番号	PCT/KR2001/002285		ソウル インダストリー サービス セ
(87) 国際公開番号	W02002/055047		ンター C-302
(87) 国際公開日	平成14年7月18日(2002.7.18)	(74) 代理人	100091683
審査請求日	平成15年8月6日(2003.8.6)		弁理士 ▲吉▼川 俊雄
(31) 優先権主張番号	2001/1236	(72) 発明者	パーク, デク ホーン
(32) 優先日	平成13年1月10日(2001.1.10)		大韓民国 449-846 キョンギ-ド
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		, ヨンギン-シ, スジ-oup, ピュンデ
			クチョン-リ 700-1 ヒュンダイ
			アパートメント 106-601

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルブチンとグルコシダーゼを有効成分として含有する美白剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

使用前は別々の容器に分離されているアルブチンおよびグルコシダーゼを有効成分としてなり、皮膚に使用する直前に該成分を混合して酵素反応を開始させることを特徴とする皮膚美白用組成物。

【請求項 2】

0.05 ~ 5.0%のアルブチンおよびアルブチン3%あたり75 ~ 150 unitのグルコシダーゼを含むことを特徴とする、請求項第1項に記載の皮膚美白用組成物。

【請求項 3】

アルブチンおよびカプセル化されたグルコシダーゼからなることを特徴とする、請求項第1項に記載の皮膚美白用組成物。

【発明の詳細な説明】

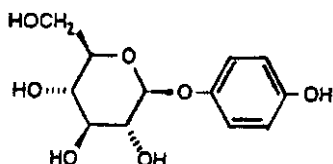
【0001】

(技術分野)

本発明はアルブチン(Arbutin)とグルコシダーゼ(Glucosidase)を含有する美白剤に関するものであり、さらに詳細には、下記化学式1に示されているアルブチンと、ヒドロキノン(Hydroquinone)およびグルコース(Glucose)にアルブチンを加水分解するグルコシダーゼとを含有している美白剤、またはアルブチンとグルコシダーゼとが分離されており、皮膚に使用する直前に混合する美白剤に関するものである。

【 0 0 0 2 】

化学式 1



【 0 0 0 3 】

(背景技術)

一般的に、皮膚の色素沈着が発生するのは、皮膚に紫外線が照射されたメラニン細胞 (Melanocyte) においてメラニンが合成されるためである。メラニンはチロシンが連続的に酸化することにより合成される。チロシンはグルコシダーゼ、酸化酵素により触媒作用が及ぼされ、ドパキノン (DOPAquinone) に変化する。ドパキノンは自発的に酸化過程を経てメラニンを生成する。メラニンは保護のために太陽の紫外線を吸収するが、肝斑、すなわち特定の位置における黒い点など皮膚の色素性疾患を引き起こす。そのため皮膚を白くするために、色素を取り除く配合が化粧品に含まれている。

10

【 0 0 0 4 】

皮膚の色素を取り除くのはメラニン生成のプロセスを抑制することにより可能である。ヒロドキシ、アルブチン、コウジ酸 (Kojic acid) およびその誘導体が皮膚の色素を取り除くために使用されている。上記成分を含むベアベリーの植物抽出物 (韓国出願公開公報番号 2000-035398)、マルベリーおよびりんごの植物抽出物 (韓国特許公告番号 1988-147412) が皮膚の色素を取り除くために化粧品に含まれている。

20

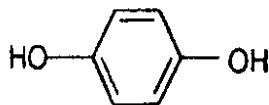
【 0 0 0 5 】

しかし、アスコルビン酸、グルタチオン、マルベリー抽出物など色素を取り除く作用物質は安定性がなく、皮膚炎を誘発する。さらに、最も良く効く抑制剤であるコウジ酸およびその誘導体は、大量に色素を取り除くそれらを含む作用物質を生成するためのコストが高い。太陽の光と熱はアルブチンの脱色を誘発し、チロシナーゼの抑制効果が減少する。それゆえに、アルブチンはヒロドキノンより色素を取り除く効果が少ないと認識されている。最も強力な美白化合物であるヒロドキノンは、処方箋なしで購入できる軟膏または皮膚科医の処方箋に広く使用されている。肝斑のような色素沈着過度に対する色素を取り除く効果を有するというヒドロキノンの臨床的な研究が多数報告されている。(アルントなど JAMA, 194: 965-967, 1965)。化学式 2 に示されているヒロドキノンは、メラニン形成のプロセスに含まれる重要な酵素であるチロシナーゼを抑制する。特に、チロシナーゼはチロシンのヒドロキシナーゼの作用によるジヒドロキシフェニルアラニン (dopa) への変換、および酸化酵素によるドーパのドパキノンへの変換に触媒作用を及ぼす。

30

【 0 0 0 6 】

化学式 2



40

【 0 0 0 7 】

ヒドロキノンは一定の効果があるが、不安定で反応性蒸着であり、ミセルおよびエマルションといった化粧品の製法において脱色しやすい。残念なことに、低濃度のヒドロキノンをさえ、アレルギー性の接触性皮膚炎および急性または慢性の皮膚炎を誘発する。(Choudat et al., J Ind. Med. 45(6): 376-80, 1988) このような副作用を避けるため、患者の感受性に合わせて投薬量が厳しく管

50

理されるべきである。(Pearl E. et al., Arch. Dermatol. 131: 1453-1457, 1995)

【0008】

アルブチンはベータ-D-グルコースと結合しているヒドロキノンの配糖体である。アルブチンは美白用化粧品に利用されているが、皮膚に吸収されにくくヒドロキノンより美白効果が劣っている。チロシナーゼの働きを抑制するアルブチンの効果はヒドロキノンの1/1000である。(Kazuhisa MaedaおよびMinoru Fukuda、アルブチン: Mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture, J. Pharm. Exp. Therap. 1996; 276(2): 765-769)

10

【0009】

窒素を加えた界面活性剤を使用した方法がアルブチンの皮膚への吸収を促進するために用いられている。(米国特許第5、759、528号)新しい美白誘導体の開発の関する多数の報告および研究が進行しているが、未だに成功したという報告はほとんど発行されていない。結論として、アルブチンは安定性があり皮膚のトラブルが少ないにもかかわらず、皮膚への吸収率が低く、またヒドロキノンよりも美白効果が低いため、広く使用されてはいない。

【0010】

現在、ヒドロキノンは最も効果のある美白剤である。皮膚への毒性および不安定性といった副作用や問題のため、皮膚への刺激が少なく、安定性が高く新しい効果的な美白剤が必要とされている。

20

【0011】

前述およびその他の不利点を打開するために、本発明は皮膚に使用する直前にアルブチンおよびグルコシダーゼを混合することにより、皮膚炎を最小限に抑え、安定性を最大限にする新しい皮膚の美白剤を提供する。

【0012】

(発明の開示)

本発明の目的は人間の皮膚の色素脱失において高い効果を示す、毒性、刺激、およびアレルギー性のない組成物を提供することである。

【0013】

本発明のその他の目的は、使用前は別々の容器に分離されているアルブチンおよびグルコシダーゼを有効成分としてなり、皮膚に使用する直前に該成分を混合して酵素反応を開始させることを特徴とする皮膚美白用組成物を提供することである。

30

【0014】

混合時におけるアルブチン含有量は全体量の0.05~5.0%、できれば0.1~3.5%に調整するのがよい。混合時においてグルコシダーゼ含有量はアルブチンの3%に対して75~150unitに調節するのがよい。アルブチンまたはグルコシダーゼの濃度が不十分であれば十分な美白効果にはならず、またアルブチンまたはグルコシダーゼが多すぎれば炎症の原因にはなる。

【0015】

上記アルブチンは天然アルブチン、合成アルブチン、またはバイオテクノロジーにより生成されたアルブチンでよい。できれば、ベアベリーの葉またはベアベリー抽出物自体から分離された天然アルブチンをこの発明では使用するのがよい。

40

【0016】

グルコシダーゼは、配糖体の結合をグルコースおよびアグリコン(Aglycon)に加水分解する酵素である。グルコシダーゼは酵母、細菌、菌類および動物の消化器に広く見られる。最近、グルコシダーゼの遺伝子の複製が作られ、バイオテクノロジーにおいて生成が可能である。上記に記された本発明を実施するためのグルコシダーゼの源は制限されない。本発明では、グルコシダーゼを含む植物または微生物の抽出物が化粧品に加えらる。できれば、前記植物はアーモンド、大麦またはオート麦がよく、前記微生物は黒色

50

アスペルギルス (*Aspergillus niger*) がよい。本発明で使用するアルブチンをヒドロキノンに加水分解するグルコシダーゼの起源は問わない。本発明の組成物では、アルブチンおよびグルコシダーゼは使用前は別々の容器に分離されており皮膚に使用する直前に混合する。そして、アルブチンはヒドロキノンおよびグルコースに加水分解し、美白効果はメラニン形成を抑制するヒドロキノンにより実現される。本発明の組成物は安全性および安定性において優れている。

【0017】

本発明の組成物は、肌洗浄用化粧液（トナー）、ローション、ジェル、エマルジョン、クリームおよび軟膏といった化粧品に加えらる。保存料、酸化防止剤、色素、香水、界面活性剤、増粘剤、保湿剤、UV吸収剤または界面活性剤を、必要に応じて組成物に加えることができる。補助剤および/またはその他の成分の量は、好ましくは混合時の全重量の0.01~20%に調節するのがよい。

10

【0018】

本発明の組成物は、局所的に色素化した皮膚に対して使用することを意図し、液体、ジェル、単一または複合エマルジョン、マイクロカプセルまたはリポソームの方法において通常は薬用として提供することができる。この組成物において、構成物にアルブチンおよびグルコシダーゼを含有している場合、含有物の1つグルコシダーゼは、できれば皮膚に使用するまで、加水分解反応を妨げるために、マイクロカプセル、リポソームまたは脂質の小囊に入れておければ、その結果、安定性を最大にすることができる。

【0019】

有機物質の分析に一般的に使用される薄層クロマトグラフィー（TLC）法を利用して、グルコシダーゼによりヒドロキノンおよびグルコースにアルブチンを完全に加水分解されることを確認した。

20

【0020】

アルブチンおよびグルコシダーゼを含む混合製剤がヒドロキノンのみの単独製剤より安定性があるを確認するために、アルブチンおよびグルコシダーゼを含む混合製剤を37で10分間反応させ、冷水で冷却して反応を終了させた。吸光度は400nmで測定し、変色度はヒドロキノン溶液の脱色の範囲に対するアルブチン溶液の脱色範囲の割合で表されている。これによりアルブチンおよびグルコシダーゼを含む混合製剤の安定性が、ヒドロキノンの単独製剤の安定性より優れていることが確認された。グルコシダーゼの濃度が減少するにつれて、安定性が増加するのは、加水分解がグルコシダーゼの濃度に比例して促進されるからである。

30

【0021】

本発明の別の実施例において、この組成物の安全性は健康な成人の志願者に閉塞性の傷当てを使用した皮膚炎により試験された。結果として、ヒドロキノンが放出されるにもかかわらず、アルブチンおよびグルコシダーゼを含む混合製剤では炎症は示されなかった。しかし、同様に実験した同じ濃度のヒドロキロンは陽性の炎症を示した。これにより、皮膚が次第に増加する刺激剤の量に対しては、高い濃度の刺激剤よりも適合できることが判断できる。

【0022】

さらに、アルブチンおよびグルコシダーゼを含有する混合製剤が志願者の腕の皮膚に人工的にUV照射により誘発される色素沈着に使用した。結果はアルブチンおよびグルコシダーゼを含有する混合製剤は、アルブチンのみを含有する単独製剤またはヒドロキノンのみを含有する単独製剤よりもより有効であることが示された。

40

【0023】

（発明を実施するための最良の形態）

以下は本発明の実施例による詳細な説明である。しかし、この実施例は1例であり、これらの技術が本発明の範囲内において修正、および改良される可能性があることは言うまでもないことである。

【0024】

50

実施例 1 : グルコシダーゼによるアルブチンからの加水分解生成物

0.05%アルブチン (sigma、USA) および 20 unit/ml ベータ 1、4 グルコシダーゼ (sigma、USA、EC 3.2.1.21) を 0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) において、37 で 30 分間反応させた。反応後、ヒドロキノン生成物は、n-ブタノール、エタノールおよび水を 5:3:2 の割合の混合物において薄層クロマトグラフィーを使用することにより確認された。その後、TLC 板を乾かし、チャリング溶液 (10% CuSO₄ in 8% H₃PO₄) をスプレーし、すぐに熱線銃で乾かした。斑点の R_f 値が計算される。

【0025】

表 1 に従って、ヒドロキノンおよびグルコースのみ TLC で観察した。その結果、グルコシダーゼによりアルブチンが完全に加水分解していることが推察される。 10

表 1

物質	R _f 値
アルブチン	0.2
ヒドロキノン	0.9
グルコース	0.1
アルブチン+グルコシダーゼ	0.9、1.0

* R_f = 溶質が展開した距離 / 溶液により広がった全体の距離 20

【0026】

実施例 2 : 混合製剤の安定性試験

アルブチン グルコシダーゼの混合製剤の安定性は、ヒドロキノンのみの単独製剤と比較した色素の脱色程度により試験した。アルブチン 100 mM とグルコシダーゼ 1、10、20 unit/ml の組合せをそれぞれ、37 で 10 分間、1 ml の酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) において反応させた後、冷水で冷却して反応を終了させた。その後、冷却済みの 20% トリクロロ酢酸 (Trichloroacetic acid) 1 ml 混合液を加えグルコシダーゼの働きを取り去った。前記混合製剤は 1200 rpm で遠心分離した。各溶液を 37 で 24 時間培養し、吸光度は 400 nm で測定した。ヒドロキノンの色素脱失の程度は 100% としてみなされ、ヒドロキノンと比較するその他のサ 30
ンプルの割合を計算した。対象として、100 mM アルブチンおよび 100 mM ヒドロキノン溶液 (sigma、USA) が使用された。表 2 において、グルコシダーゼの濃度の減少に伴い安定性が増加するのは、加水分解がグルコシダーゼの濃度に比例して促進されるからである。

表 2

物質	吸光度 (400 nm)	変色率 (ヒドロキノン溶液の脱色に対する割合)
バッファ溶液	0.002	0.5%
ヒドロキノン溶液	0.356	100%
アルブチン溶液	0.005	1.40%
アルブチン + 1 u l グルコシダーゼ	0.012	3.37%
アルブチン + 10 u l グルコシダーゼ	0.094	26.4%
アルブチン + 20 u l グルコシダーゼ	0.168	47.2%

* ヒドロキノンの変色率は 100% とみなされ、他の溶液はヒドロキノン溶液と比較で表 50

される。

【 0 0 2 7 】

実施例 3 : アルブチンとグルコシダーゼによる皮膚の 1 次的な炎症の抑制効果

健康な大人 30 名にアルブチンおよびグルコシダーゼの混合製剤に対する皮膚の炎症を調べるために閉塞した傷当ての試験を実施した。試験用の傷当てには実施例 2 のアルブチンおよびグルコシダーゼの溶液が含まれており、志願者の腕の下部分に貼られ、24 時間後傷当てが取られた。皮膚の状態は、傷当てを除去後 30 分から 48 時間後まで観察された。炎症の程度は表 3 a で示されているとおりに分類している。

表 3 b は炎症試験の結果を示している。ヒドロキノン溶液が非常に強い皮膚の炎症を起こした一方、アルブチン グルコシダーゼ混合溶液ではほとんど皮膚の炎症はみられなかった。

10

表 3 a

記号	
? +	あいまいな反応、かすかな紅斑
+	弱い反応 (水泡なし)、紅斑、丘疹
++	強い反応 (水泡なし)、紅斑、丘疹、小水疱
+++	非常に強い陽性反応、大水疱
---	陰性

20

表 3 b

物質	反応	
	24 時間	48 時間
バッファ溶液	—	—
ヒドロキノン溶液	+++	—
アルブチン溶液	—	—
アルブチン + 1 u l グルコシダーゼ	—	—
アルブチン + 10 u l グルコシダーゼ	—	—
アルブチン + 20 u l グルコシダーゼ	—	—

30

【 0 0 2 8 】

実施例 4 : アルブチンとグルコシダーゼ混合製剤の皮膚美白効果

上記の実施例に基づいた実用的な製剤ができ、皮膚の美白に使用された。製剤 1 はアルブチンを含有し、製剤 2 はグルコシダーゼを含有している。両製剤は別々に準備され、使用直前に混合し、製剤 1 と製剤 2 を 10 : 1 の割合で混合した後、皮膚に使用した後、各々の効果を比較した。

25 歳 ~ 30 歳の大人の志願者 10 名を選び、生体研究を 6 週間行った。志願者の前腕下部に、各 1.5 MED で UV の光 (UV lamp ; Philips TL20w / 12 UV、TM02 / 09 UV) を照射したことにより、直径 1.5 cm の円形状の 4 箇所色素沈着された。この色素沈着は 2 日にわたり 1 日に 2 回行われた。実験の製剤として製剤 1 および製剤 2 を 10 : 1 の割合で混合したものと比較製剤 1、2、3 とを、6 週間に渡り 1 日に 2 回使用し、皮膚の美白効果を観察した。結果として、脱色作用物質を使用しない製剤、アルブチンのみを含む製剤では皮膚の美白効果は示されなかった。ヒドロキノンを含む製剤は皮膚の美白効果を有するが、皮膚のトラブルの原因となることが確認された。これに対して、アルブチンおよびグルコシダーゼを含有する混合製剤では、副作用もなく、その他の製剤より、より優れた脱色効果が示された。

40

表 4 a

50

成分 (%)	製剤1	製剤2	比較製剤1	比較製剤2	比較製剤3
アルブチン	3.0	—	—	3.0	—
グルコシダーゼ	—	1000unit	—	—	—
ヒドロキノン	—	—	—	—	2.0
グリセリン	10.0	1.0	10.0	10.0	10.0
プロピレングリコール	5.0	0.5	5.0	5.0	5.0
セルロースガム	0.3	0.03	0.3	0.3	0.3
ヒアルロン酸	10.0	1.0	10.0	10.0	10.0
pH調整剤	適量	適量	適量	適量	適量
脱イオン水	100まで	100まで	100まで	100まで	100まで

10

表 4 b

製剤	皮膚の脱色効果			
	効果あり	多少効果あり	効果なし	副作用あり
製剤1と2(10:1)の混合物	6	3	1	—
比較製剤1	—	2	8	—
比較製剤2	—	3	7	—
比較製剤3	5	2	—	3

20

【0029】

本発明における混合製剤を含むエッセンスの好ましい例は、次のとおりである。

製剤1と製剤2を10:1の割合で手のひらで混合してから、顔に前記混合製剤を使用する。

製法例1 本発明の成分を利用したエッセンスの調合

製剤1		製剤2	
成分	割合 (%)	成分	割合 (%)
アルブチン	3.0	グルコシダーゼ	1000unit
グリセリン	10.0	グリセリン	1.0
プロピレングリコール	5.0	プロピレングリコール	0.5
セルロースガム	0.3	セルロースガム	0.03
ヒアルロン酸	10.0	ヒアルロン酸	1.0
pH調整剤	適量	pH調整剤	適量
香料	少量	香料	少量
保存料	少量	保存料	少量
顔料	少量	脱色剤	少量
脱イオン水	100まで	脱イオン水	10まで

30

40

製法例2 本発明の成分を利用したオイルインウォーター化粧用エマルジョンの調合

製剤1		製剤2	
成分	割合 (%)	成分	割合 (%)
アルブチン	3.0	グルコシダーゼ	1000unit
ワックス	3.0	ワックス	0.3
流動パラフィン	4.0	流動パラフィン	0.4
グリセリン	10.0	グリセリン	1.0
カルボキシビニル ポリマー	0.1	カルボキシビニル ポリマー	0.01
ポリソルベート60	1.1	ポリソルベート60	0.11
プロピレングリコール	5.0	プロピレングリコール	0.5
pH調整剤	適量	pH調整剤	適量
香料、保存料、顔料	少量	香料、保存料、顔料	少量
脱イオン水	100まで	脱イオン水	10まで

10

製法例3 本発明の成分を利用したパックの調合

製剤1		製剤2	
成分	割合 (%)	成分	割合 (%)
アルブチン	3.0	グルコシダーゼ	1000unit
ポリビニルアルコール	14.0	ポリビニルアルコール	1.4
グリセリン	10.0	グリセリン	1.0
セルロースガム	0.3	セルロースガム	0.03
PEG 4000	1.0	PEG 4000	0.1
プロピレングリコール	5.0	プロピレングリコール	0.5
pH調整剤	適量	pH調整剤	適量
香料、保存料、顔料	少量	香料、保存料、顔料	少量
脱イオン水	100まで	脱イオン水	10まで

20

30

製法例4 本発明の成分を利用した栄養クリームの調合

製剤1		製剤2	
成分	割合 (%)	成分	割合 (%)
アルブチン	3.0	グルコシダーゼ	1000unit
流動パラフィン	10.0	流動パラフィン	1.0
プロピレングリコール	5.0	プロピレングリコール	0.5
ワックス	7.0	ワックス	0.7
グリセリン	10.0	グリセリン	1.0
ポリソルベート60	1.3	ポリソルベート60	0.13
pH調整剤	適量	pH調整剤	適量
香料、保存料、顔料	少量	香料、保存料、顔料	少量
脱イオン水	100まで	脱イオン水	10まで

40

【0030】

(産業における可能性)

本発明の皮膚の美白作用物質はアルブチンおよびグルコシダーゼを含んでおり、グルコシ

50

ダーゼの加水分解反応によりヒドロキノン徐徐に生成する。本発明の脱色効果はヒドロキノンの脱色効果より高く、皮膚のトラブルおよび保存中における不要な反応も見られなかった。したがって、本発明は化粧品または皮膚用または薬用の配合を用いる美白製品に適用することができる。

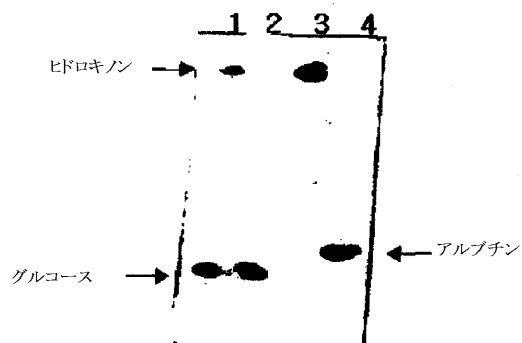
【図面の簡単な説明】

【図1】 図1はアルブチンがグルコシダーゼによりヒドロキノンおよびグルコースに加水分解されることを確認する薄層クロマトグラフィー（TLC）を示している。

アルブチン + グルコシダーゼ
グルコース
ヒドロキノン
アルブチン

10

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 ジャン, ドン イル

大韓民国 430 708 ギョンギ-ド, アニョン-シ, マナン-グ セオクス 2 ドン 2
7-1 ヒュンダイ アパートメント 107-1111

(72)発明者 キム, キュク ヒュン

大韓民国 463-025 ギョンギ-ド セオナム-シ ブンダン-グ, チョリム-ドン ヤン
ジマール 513 1303

審査官 天野 貴子

(56)参考文献 特開昭60-016906(JP, A)

特開2000-016922(JP, A)

特開平10-265492(JP, A)

特開平08-188591(JP, A)

特開2001-302440(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 8/01 - 8/99

A61Q 1/00 - 99/00

BIOSIS/MEDLINE/CA/EMBASE(STN)

JMEDPlus/JST7580/JSTPlus(JDream2)