

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4425163号  
(P4425163)

(45) 発行日 平成22年3月3日(2010.3.3)

(24) 登録日 平成21年12月18日(2009.12.18)

(51) Int. Cl. F I  
**A 6 1 K 8/97 (2006.01)** A 6 1 K 8/97  
**A 6 1 Q 19/08 (2006.01)** A 6 1 Q 19/08

請求項の数 1 (全 13 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2005-56934 (P2005-56934)                  (22) 出願日 平成17年3月2日(2005.3.2)                  (65) 公開番号 特開2006-241036 (P2006-241036A)                  (43) 公開日 平成18年9月14日(2006.9.14)                  審査請求日 平成18年11月28日(2006.11.28)</p> <p>前置審査</p>	<p>(73) 特許権者 599098518                  株式会社ディーエイチシー                  東京都港区南麻布2丁目7番1号                  (74) 代理人 100086829                  弁理士 伊藤 将夫                  (72) 発明者 手原 隆夫                  東京都港区南麻布2丁目7番1号 株式会                  社ディーエイチシー社内</p> <p>審査官 福井 美穂</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗老化化粧品

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記の(A)~(D)を含有することを特徴とする抗老化化粧品

- (A) 主たる効果がコラーゲン産生促進剤であるクロレラ抽出物
  - (B) 主たる効果がエストロゲン様作用剤であるダイズ抽出物、カッコン抽出物、プエラリア・ミリオフィカ抽出物、レッドクローバー抽出物から選ばれる1種以上
  - (C) 主たる効果が活性酸素消去剤であるワレモコウ抽出物、茶抽出物、ボタンピ抽出物、オリーブ葉抽出物から選ばれる1種以上
  - (D) 主たる効果が抗炎症剤であって、ヒアルロニダーゼ阻害能を有する下記(イ)~(ハ)のいずれかの抽出物の組み合わせ。
- (イ) アロエベラ抽出物及びドクダミ抽出物  
 (ロ) アロエベラ抽出物及びアルテア抽出物  
 (ハ) アロエベラ抽出物、ドクダミ抽出物、及びアルテア抽出物

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗老化化粧品に関する。詳しくは、コラーゲン産生促進剤であるクロレラ抽出物、エストロゲン様作用剤、活性酸素消去剤、及び抗炎症剤を併用することにより、皮膚のシワ(皺)やはり(張り)、弾力保持作用に相乗効果を発揮し、うるおいのある若々

しい肌を維持する抗老化化粧品に関する。

【背景技術】

【0002】

老化皮膚では、線維芽細胞の活性低下に伴い、真皮マトリックス成分であるコラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸等の質的、量的な変化が起こり、シワや皮膚弾性の低下といった老化症状が見られる。真皮マトリックスの90%以上を占めるコラーゲンのシワに対する影響は大きい。これまで、これら老化症状の予防のため、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、線維芽細胞増殖促進剤、ヒアルロン酸産生促進剤、コラーゲン産生促進剤などが検討されてきた(特許文献1、特許文献2、特許文献3、特許文献4、特許文献5参照)。

10

【0003】

また、皮膚は常に外界と生体内からの酸化障害に晒されている。紫外線、放射線、化学物質、乾燥などの外的障害と生体内の細胞代謝によって生じる活性酸素・フリーラジカルは、皮膚老化の要因の一つと考えられる。紫外線によって産生された活性酸素・フリーラジカルは、脂質の過酸化、DNA障害、蛋白変性、代謝異常などの光酸化障害をもたらすとともに、急逝・慢性炎症、細胞外マトリックスの変性を引き起こし、シワやたるみに繋がると考えられている。これまで、活性酸素消去剤も多数検討されてきた(特許文献6、特許文献7参照)。

【0004】

一方、エストロゲン及びエストロゲン様作用化合物が、皮膚層の厚みを増加させ、老化する皮膚におけるシワの形成を減少させることが既知である。閉経後に起こる皮膚乾燥、皮膚弾力性及びふくらの損失のような皮膚における変化は、エストロゲン産生の不足に起因する。エストロゲン療法は、老化する皮膚に関係するこれらの変化の多くを予防するか又は遅らせる。そのため植物抽出物からエストロゲン様作用を有する化合物が検討されてきた(非特許文献1、特許文献8、特許文献9)。

20

【0005】

しかしながら、これまで検討されてきた抗老化化粧品は、加齢皮膚のシワやはり、弾力保持作用、うるおいのある若々しい肌を維持するための実際の製品への配合において、効果、配合量、安定性、安全性の面から有効な結果を得るに至っていない。以下に従来の公知文献を挙げる。

30

【0006】

【非特許文献1】Creidら、Effect of a conjugated estrogen cream on aging facial skin, Maturitas, 19, P. 211, 1994

【特許文献1】特開平10-45615

【特許文献2】特開2003-34631

【特許文献3】特開2001-158728

【特許文献4】特開2001-316275

【特許文献5】特開2002-29923

【特許文献6】特開2004-168732

【特許文献7】特開2004-238310

40

【特許文献8】特開2002-29980

【特許文献9】特開2004-67590

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明は、加齢皮膚のシワやはり、弾力保持作用に相乗効果を発揮し、うるおいのある若々しい肌を維持するのに有用な抗老化化粧品を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、このような状況に鑑みて、皮膚のシワの改善、はり(張り)や弾力保持作

50

用に相乗効果を発揮し、うるおいのある若々しい肌を維持する抗老化化粧品について鋭意研究を重ねた結果、(A)高いコラーゲン産生促進作用を有するクロレラ抽出物、(B)主としてダイズ抽出物、カッコン抽出物、プエラリア・ミリオフィカ抽出物、レッドクローバー抽出物等から選ばれる1種以上からなるエストロゲン様作用剤、(C)主としてワレモコウ抽出物、茶抽出物、ボタンピ抽出物、オリーブ葉抽出物等から選ばれる1種以上からなる活性酸素消去剤及び(D)主としてドクダミ抽出物、アルテア抽出物、アロエベラ抽出物等から選ばれる1種以上からなる抗炎症剤を配合した化粧品に優れた抗老化効果を見出し、発明を完成するに至った。

【0009】

本願発明は下記の請求項1により構成されている。

10

請求項1：下記の(A)～(D)を含有することを特徴とする抗老化化粧品

(A)主たる効果がコラーゲン産生促進剤であるクロレラ抽出物

(B)主たる効果がエストロゲン様作用剤であるダイズ抽出物、カッコン抽出物、プエラリア・ミリオフィカ抽出物、レッドクローバー抽出物から選ばれる1種以上

(C)主たる効果が活性酸素消去剤であるワレモコウ抽出物、茶抽出物、ボタンピ抽出物、オリーブ葉抽出物から選ばれる1種以上

(D)主たる効果が抗炎症剤であって、ヒアルロニダーゼ阻害能を有する下記(イ)～(ハ)のいずれかの抽出物の組み合わせ。

(イ)アロエベラ抽出物及びドクダミ抽出物

(ロ)アロエベラ抽出物及びアルテア抽出物

20

(ハ)アロエベラ抽出物、ドクダミ抽出物、及びアルテア抽出物

【発明の効果】

【0010】

本願発明に係る抗老化化粧品によれば、(A)本発明の高いコラーゲン産生促進作用を有するクロレラ抽出物、(B)主としてダイズ抽出物、カッコン抽出物、プエラリア・ミリオフィカ抽出物等から選ばれる1種以上のエストロゲン様作用剤、(C)主としてワレモコウ抽出物、ボタンピ抽出物、オリーブ葉抽出物等からなる1種以上の活性酸素消去剤及び(D)主としてドクダミ抽出物、アルテア抽出物、アロエベラ抽出物等からなる1種以上の抗炎症剤を配合したから、これらの相乗効果により、皮膚の老化の防止・改善、弾力のある、しわやたるみのない、若々しい肌の状態を維持することができるという効果を有する。

30

以下、本発明について詳細に説明する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

本発明で使用するクロレラ抽出物とは、緑藻綱クロロコックム目クロレラ属、クロレラ(*Chlorella vulgaris*)の抽出物である。クロレラ抽出物は、クロレラを水で、加温抽出し、濃縮後、活性炭処理し、30%1,3-ブチレングリコール溶液としたものである。

【0012】

本発明で使用するエストロゲン様作用剤は、一般に女性ホルモン様作用を有するとして広く使用されているもので良く、ダイズ抽出物、カッコン抽出物、プエラリア・ミリオフィカ抽出物、レッドクローバー抽出物である。抽出法として、通常イソフラボノイド含有量を高めた抽出物を使用する。抽出方法は、特に限定されないが、以下の方法にて製造したものを使用した。

40

【0013】

本発明で使用するダイズ抽出物とは、マメ科(Leguminosae)、ダイズ属(*Glycine*)ダイズ(*Glycine max*)の種子の抽出物である。ダイズ抽出物は、ダイジン、ゲニスチンなどのイソフラボノイドを含有し、エストロゲン様作用を有することは、広く知られている。通常カラム処理して、イソフラボン濃度を高めた抽出物を使用する。

【0014】

本発明で使用するカッコン抽出物とは、マメ科(Leguminosae)、クズ属(*Pueraria*)

50

、クズ (*Pueraria lobata*) の根の抽出物である。カッコン抽出物は、プエラリン、ダイゼインなどのイソフラボン含有し、エストロゲン作用を有することは、広く知られている。通常カラム処理して、イソフラボン濃度を高めた抽出物を使用する。

【 0 0 1 5 】

本発明で使用するプエラリア・ミリオフィカ抽出物とは、マメ科 (*Leguminosae*)、クズ属 (*Pueraria*)、*Pueraria milifica* の根の抽出物である。プエラリア・ミリオフィカ抽出物は、プエラリン、ダイジン、ダイゼインなどのイソフラボノイド含有し、エストロゲン作用を有することは、広く知られている。通常カラム処理して、イソフラボン濃度を高めた抽出物を使用する。

【 0 0 1 6 】

本発明において用いるレッドクローバー (*Trifolium pretense*) とは、マメ科の一種で、日本ではアカツメクサと呼ばれ、その成分にはポリフェノールの一種であるイソフラボンが含まれ、高いエストロゲン様作用を有することが知られているものである。

【 0 0 1 7 】

本発明で使用する活性酸素消去剤は、一般に広く使用されている活性酸素消去作用が期待されるものの中で、効果及び安全性の高い、ワレモコウ抽出物、茶抽出物、ボタンピ抽出物、オリーブ葉抽出物である。

【 0 0 1 8 】

本発明で使用するワレモコウ抽出物とは、バラ科 (*Rosaceae*)、ワレモコウ属 (*Sanguisorba*)、ワレモコウ (*Sanguisorba officinalis*) の根茎の抽出物である。

【 0 0 1 9 】

本発明で使用するボタンピ抽出物とは、ボタン科 (*Paeoniaceae*)、ボタン属 (*Paeonia*)、ボタン (*Paeonia suffruticosa*) の根皮の抽出物である。

【 0 0 2 0 】

本発明で使用するオリーブ葉抽出物とは、モクセイ科 (*Oleaceae*)、オリーブ属 (*Olea*)、オリーブ (*Olea europaea*) の葉の抽出物である。

【 0 0 2 1 】

本発明において用いる茶類としては、緑茶 (煎茶、焙じ茶、玉露、かぶせ茶、てん茶等)、ウーロン茶、紅茶等の不発酵茶、半発酵茶、発酵茶を挙げることができる。

【 0 0 2 2 】

本発明で使用する抗炎症剤は、主としてヒアルロニダーゼ阻害能を有するドクダミ抽出物、アルテア抽出物、アロエベラ抽出物等である。これらは、通常、水抽出後、活性炭処理したものを使用する。

【 0 0 2 3 】

本発明で使用するドクダミ抽出物とは、ドクダミ科 (*Saururaceae*)、ドクダミ属 (*Houttuynia*)、ドクダミ (*Houttuynia cordata*) の全草の抽出物である。

【 0 0 2 4 】

本発明で使用するアルテア抽出物とは、アオイ科 (*Malvaceae*)、タチアオイ属 (*Althaea*)、ピロードアオイ (*Althaea officinalis*) の根の抽出物である。

【 0 0 2 5 】

本発明で使用するアロエベラ抽出物とは、ユリ科 (*Liliaceae*)、アロエ属 (*Aloe*)、アロエベラ (*Aloe vera* L.) の葉の葉肉の抽出物である。

【 0 0 2 6 】

次に製造例を挙げて本発明に使用した抽出物を詳細に説明する。

(製造例 1) クロレラ抽出物の製造

クロレラ 100 g に精製水 3000 g を加え、70 ℃ にて 5 時間抽出し、冷後、ろ過する。ろ液を減圧下、1000 g まで濃縮する。濃縮液に活性炭を加え、50 ℃ にて、脱色脱臭する。ろ過後、ろ液に 30% 1, 3 - ブチレングリコール 1000 g を加え、更にろ過し、クロレラ抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、2.8% であった。

【 0 0 2 7 】

10

20

30

40

50

(製造例2) ダイズ抽出物の製造

ダイズ100gに精製水1000gを加え、1昼夜静置した後、さらに精製水2000gを加え、80℃にて8時間抽出し、冷後、ろ過する。ろ液を減圧下、100gまで濃縮する。濃縮液を合成吸着体ダイヤイオンHP-20を充填したカラムに通液する。30vol%エタノール溶液にて洗浄後、50vol%エタノール溶液にて溶出し、溶出液を減圧乾固し、50%1,3-ブチレングリコール溶液100gを加えて溶解した後、ろ過してダイズ抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、0.56%であった。

【0028】

(製造例3) カッコン抽出物の製造

カッコン100gに無水エタノール2000mLを加え、室温で5日間抽出する。これをろ過し、ろ液を減圧下濃縮乾固した後、50vol%エタノール溶液200mLに溶解する。溶解液を合成吸着体ダイヤイオンHP-20を充填し、50vol%エタノールで平衡にしたカラムに通液する。50vol%エタノール溶液にて洗浄後、70vol%エタノール溶液にて溶出し、溶出液を減圧乾固し、50%1,3-ブチレングリコール溶液300gを加えて溶解した後、ろ過してカッコン抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、1.53%であった。

10

【0029】

(製造例4) プエラリア・ミリオフィカ抽出物の製造

プエラリア・ミリオフィカ100gに30vol%エタノール溶液2000gを加え、室温にて3日間抽出する。これをろ過し、ろ液を減圧下、200gまで濃縮する。濃縮液を合成吸着体ダイヤイオンHP-20を充填したカラムに通液する。30vol%エタノール溶液にて洗浄後、70vol%エタノール溶液にて溶出し、溶出液を減圧乾固し、乾固物を50%1,3-ブチレングリコール300gに溶解した後、ろ過してプエラリア・ミリオフィカ抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、1.31%であった。

20

【0030】

(製造例5) レッドクローバー抽出物の製法

レッドクローバー100gに30vol%エタノール溶液2000gを加え、50℃にて8時間抽出する。これをろ過し、ろ液を減圧下、濃縮乾固する。乾固物を50%1,3-ブチレングリコール200gに溶解した後、ろ過してレッドクローバー抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、1.84%であった。

30

【0031】

(製造例6) ワレモコウ抽出物の製法

ワレモコウ100gに50vol%エタノール溶液1000gを加え、室温にて3日間抽出する。これをろ過し、ろ液を減圧下、濃縮乾固する。乾固物を30%1,3-ブチレングリコール1000gに溶解した後、ろ過してワレモコウ抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、1.74%であった。

【0032】

(製造例7) ボタンピ抽出物の製法

ボタンピ100gに50%エタノール溶液2000gを加え、室温にて3日間抽出する。これをろ過し、ろ液を減圧下、濃縮乾固する。乾固物を30%1,3-ブチレングリコール1000gに溶解した後、ろ過してボタンピ抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、1.13%であった。

40

【0033】

(製造例8) オリーブ葉抽出物の製法

オリーブ葉100gに50vol%エタノール溶液2000gを加え、50℃にて8時間抽出する。これをろ過し、ろ液を減圧下、濃縮乾固する。乾固物を30%1,3-ブチレングリコール1000gに溶解した後、ろ過してオリーブ葉抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、1.52%であった。

【0034】

(製造例9) 茶抽出物の製法

50

緑茶 100 g に 50 vol% エタノール 2000 g を加え、室温にて 3 日間抽出後、これをろ過する。ろ液を減圧下、濃縮乾固する。乾固物を 30% 1, 3 - ブチレングリコール 1000 g に溶解した後ろ過して茶葉抽出物を得る。製品の蒸発残留物は、1.95% であった。

【0035】

(製造例 10) ドクダミ抽出物

ドクダミ 100 g に水 3000 g を加え、70 にて 8 時間抽出する。これをろ過し、ろ液に活性炭を加え、50 にて処理する。ろ過後、ろ液を減圧下、濃縮乾固する。乾固物を 30% 1, 3 - ブチレングリコール 1000 g に溶解した後、ろ過してドクダミ抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、1.38% であった。

10

【0036】

(製造例 11) アルテア抽出物

アルテア 100 g に水 2000 g を加え、70 にて 8 時間抽出する。これをろ過し、ろ液に活性炭を加え、50 にて処理する。ろ過後、ろ液を減圧下、濃縮乾固する。乾固物を 30% 1, 3 - ブチレングリコール 1000 g に溶解した後、ろ過してアルテア抽出物を製する。製品の蒸発残留物は、1.75% であった。

【0037】

(製造例 12) アロエベラ抽出物

アロエベラの生の葉肉を圧搾して得られる液汁に活性炭を加え、アロインを吸着除去した後、減圧下濃縮する。濃縮液にイソプロピルアルコールを加え、アロエベラ多糖類を凝集させる。凝集物をろ取し、乾燥してアロエベラ多糖類粉末を得る。アロエベラ多糖類粉末を 30% 1, 3 - ブチレングリコールに 0.5% 溶解し、アロエベラ抽出物を製する。

20

【0038】

本発明の抗老化粧料は、皮膚外用剤、浴用剤にも配合できるが、その配合量は特に規定するものではない。配合する製品の種類、性状、品質、期待する効果の程度により異なるが、乾燥固形物に換算して好ましくは、0.0001% ~ 0.5%、特に 0.001% ~ 0.2% が効果の面から好ましい。

【0039】

本発明の抗老化粧料は、必要に応じて、本発明の効果を損なわない範囲で、医薬品、医薬部外品、化粧品などに使用される成分や添加剤を併用して製造することができる。例えば、精製水、低級アルコール、多価アルコール、油脂、ロウ、鉱物油、脂肪酸、粉体、金属セッケン、pH調整剤、界面活性剤、増粘剤、色素、植物・動物・微生物原料由来の抽出物、ビタミン類、アミノ酸類、ホルモン類、殺菌剤、防腐剤、角質溶解剤、酵素、清涼剤、安定化剤、金属イオンキレート剤、血行促進剤、美白剤、紫外線防止剤、抗酸化剤、精油、消臭剤、香料等適宜用いることができる。

30

【0040】

本発明の抗老化粧料は、一般皮膚化粧料に限定されるものではなく、医薬品、医薬部外品、薬用化粧料等を包含するものである。本発明の皮膚外用剤組成物の剤型は、可溶化系、乳化系、粉末分散系等何れでもよく、用途も、化粧水、乳液、クリーム、パック等の基礎化粧料、ファンデーション等のメイクアップ化粧料、シャンプー、リンス、石けん、ボディシャンプーなどのトイレットリー製品、浴用剤等を問わない。

40

【0041】

次に本発明で使用する各抽出物の各スクリーニング試験について説明する。

(参考試験 1) コラーゲン産生促進作用の評価

クロレラ抽出物のコラーゲン産生促進作用の試験には、製造例 1 で示した活性炭処理後の状態を凍結乾燥したものを PBS (-) にて 0.01% 溶液としたものを試験試料とした。正常ヒト皮膚線維芽細胞を 0.5% FBS 含有 MEM を用いて、96 穴プレートに  $2.0 \times 10^4$  cells/well になるように播種し、24 時間培養後、PBS (-) にて洗浄後、試料を添加した無血清培地に交換し、48 時間培養する。培養後、培養上清中に含まれる I 型コラーゲンを ELISA 法にて定量した。100  $\mu$ L の培養上清を ELI

50

S A用プレートに添加し、18時間室温に保管した。0.05% Tween-20を含むPBS (PBS-T)で洗浄後、1%スキムミルク/PBS-Tで2時間ブロッキングした。抗ヒトI型コラーゲン抗体、ペルオキシダーゼ標準抗ラットIgG抗体で処理し、ペルオキシダーゼ用発色キットを用いて発色させた。450nmの吸光度から培養上清中に含まれるI型コラーゲン量を求め、単位蛋白当たりとして算出した。蛋白定量は、Lowry法を用いた。コントロールのI型コラーゲン量を100とした相対値として評価した。結果は、152.3%であった。

#### 【0042】

(参考試験2) エストロゲン様作用の評価

エストロゲン様作用の測定は、抽出物についてエストロゲン様作用活性をエストロゲン依存性細胞の増殖に対する影響を調べる方法 (In vitro cell. Dev. Biol. 28A, 595-602, 1992) で測定した。ヒト乳がん細胞由来のMCF-7細胞を5% FBS (チャコール・デキストラン処理)、1mMピルビン酸ナトリウムを含有するEagles MEM (フェノールレッド除去) を用いて、 $5 \times 10^4$  cell/mLの密度で浮遊させた細胞懸濁液0.1mLを96穴マイクロカルチャープレートに播種し、37、5%CO<sub>2</sub>下で24時間培養した。その後各濃度の試料をカルチャープレートに添加し、6日間培養を行なった。培養後MTT還元法にて細胞濃度の測定を行い、エストロゲン様作用とした。本発明で使用するダイズ抽出物、カッコン抽出物、プエラリア・ミリオフィカ抽出物、レッドクローバー抽出物には、高いエストロゲン様作用が確認された。

#### 【0043】

(参考例3)

活性酸素消去能の測定は、製造例5~8の抽出物を用いて、SOD様活性及びDPPHラジカル消去能を測定した。SOD様活性は、NBT法 (XOD系と組み合わせたBeauchampsらの方法 Anal. Biochem., 44, 279~287, 1971) に従った。DPPHラジカル (ジフェニルピクリルヒドラジルラジカル) 消去能の測定は、DPPHラジカル (Sigma社) をエタノールに溶解し0.1mM溶液とし、0.1mM DPPHラジカル溶液3mLを試験管にとり、各濃度に精製水にて希釈した試験溶液0.5mLを加え、室温で10分間放置後、波長517nmで吸光度を測定する方法で行った。試験結果を表2に示す。

#### 【0044】

【表1】

	SOD様活性 (50%活性)	DPPHラジカル消去 IC <sub>50</sub>
ワレモコウ抽出物	0.052 mg/mL	0.022 mg/mL
ボタンビ抽出物	0.089 mg/mL	0.043 mg/mL
オリーブ葉抽出物	0.076 mg/mL	0.034 mg/mL
茶抽出物	0.080 mg/mL	0.039 mg/mL

#### 【0045】

(試験例4) ヒアルロニダーゼ活性阻害作用の評価

ヒアルロニダーゼは、結合組織に分布するヒアルロン酸の加水分解酵素であり、炎症時において活性化され、結合組織のマトリックスを破壊し、炎症系の細胞及び血管の透過性を高める役割を演じると考えられている。また起炎酵素として知られており、抗炎症剤や抗アレルギー剤により阻害されることも知られている。従って、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用は、抗アレルギー活性の一つとされている。陽性対照として、阻害活性が既に知られているクロモグリク酸ナトリウム (藤沢薬品工業製) を試験に用いた。試験方法は、Morgan-Elson法を応用する方法にて行なった。試料の適当量を0.1M酢酸緩衝液 (pH 3.5に調製) にて希釈した溶液0.2mLにヒアルロニダーゼ (Sigma社製, Type IV-S, 最終酵素活性を400 Nfunit/mL) 0.1mLを加え、37にて20分間で放置後、活性化剤としてcompound 48/80 (Sigma社製) の酢酸緩衝液溶液 (0.1mg/mL) 0.

2 mLを加え、更に37 にて20分間放置する。これにヒアルロン酸カリウム（和光純薬工業製）溶液（最終濃度0.4 mg/mL）0.5 mLを加え、37 にて40分間放置する。次に、氷上にて0.4 N水酸化ナトリウム溶液0.2 mLを加えて反応を停止させた後、ホウ酸溶液（ホウ酸4.95 gに水50 mLを加え、1 N水酸化ナトリウム溶液にてpH 9.1に調製した後、水を加えて100 mLとする）0.2 mLを加え、混和後沸騰水浴中にて3分間加熱し酵素を失活させる。次に氷上にて室温まで冷却し、p-ジメチルアミノベンズアルデヒド試薬（和光純薬工業製、10 gに10 N塩酸溶液12.5 mL、酢酸87.5 mLを混合溶解し、使用直前に酢酸にて10倍に希釈する）6 mLを加え、37 にて20分間放置した後、585 nmにて吸光度を測定する。なお、試料溶液の代わりに酢酸緩衝液を入れたものを対照とし、各資料溶液、対照について酵素を入れないものをブランクとし、次式により阻害活性率を求め、試料濃度を調整することにより50%阻害活性濃度（IC50）を求めた。

阻害率（%）= [ 1 - ( 試料溶液の吸光度 - 試料溶液ブランクの吸光度 ) / ( 対照溶液の吸光度 - 対照溶液ブランクの吸光度 ) ] × 100

本発明にて使用するドクダミ抽出物、アルテア抽出物、アロエベラ抽出物には、高いヒアルロニダーゼ活性阻害作用が確認された。

#### 【0046】

以下に、実施例を挙げて本発明について更に詳細に説明を加えるが、本発明がこれら実施例にのみ限定されるものではない。

（実施例1～2）

以下に示す処方に従って、化粧水を作成した。即ち、処方成分を室温で攪拌し、可溶化して化粧水を得た。

（成分）

（重量%）

(1) 1, 3 - ブチレングリコール	6.0%
(2) グリセリン	5.0%
(3) 必須成分又は比較成分（表2）	5.0%
(4) ペンチレングリコール	3.0%
(5) フェノキシエタノール	0.5%
(6) 精製水	残余

#### 【0047】

#### 【表2】

	比較例							実施例		
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3
配合成分	配合量（重量%）									
クロレラ抽出物	5.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	2.6	2.3	2.6
大豆抽出物		1.0			0.4	0.5		0.4	0.3	
カッコン抽出物		0.5			0.3			0.4	0.3	
プエラリアミリオフィカ抽出物		0.5				0.2			0.3	0.4
レッドクローバー抽出物					0.3	0.3				0.3
ワレモコウ抽出物			0.5				0.5		0.3	0.2
ボタンピ抽出物			0.5					0.4	0.3	0.3
オリーブ抽出物			1.0		0.5			0.4	0.3	
茶抽出物					0.5		0.5			0.4
ドクダミ抽出物				0.5		0.5		0.4	0.3	0.3
アルテア抽出物				0.5		0.5	0.5		0.3	0.2
アロエベラ抽出物				1.0			0.5	0.4	0.3	0.3

#### 【0048】

## (実施例3)

茶色モルモット(30週齢)を用いた光老化モデルを用いて、実施例1、2及び比較例1~7の化粧水を検体として、くすみ改善を試験した。茶色モルモット1群5匹の背部を剃毛し、これに0.5×MED(最小紅斑濃度)の紫外線を5日間照射してくすみモデルを作成した。モルモットの背部2cm×2cmの塗布部位を設け、検体0.01mL/回/日、これを8週間塗布した。対照例として、実施例化粧水の必須成分を精製水に置換したものをを用いた。光老化改善効果は、最後の塗布の24時間後に対照群の平均のくすみ具合と比較して、++:著しく改善、+:明らかに改善、±:わずかに改善、-:改善せずの基準で各モルモット毎に判定した。結果を表3に示す。これにより、本発明の抗老化用化粧料である実施例1及び2の化粧水は、比較例の化粧水に比べ、光老化改善効果に優れていることがわかる。

10

【0049】

【表3】

検体	++	+	±	-
比較例1		1	3	1
比較例2		2	3	
比較例3		1	4	
比較例4		1	4	
比較例5		2	3	
比較例6		2	3	
比較例7		2	3	
実施例1	3	2		
実施例2	3	2		
実施例3	3	2		

20

【0050】

## (実施例4)皮膚の抗老化試験

皮膚の抗老化効果を調べるために、上記実施例1、2及び比較例2で用いた抽出物を配合したクリームを用いて、以下の方法により、しわに対する改善効果と、肌のはり、たるみに対する改善効果について評価試験を行った。

【0051】

無作為に抽出した年齢30~50歳の健常な女性80名を4グループに分け被験者とし、必須成分及び比較成分を含むクリーム及び必須成分の代わりに精製水を含む対照例クリームをそれぞれ顔面皮膚に連日2ヶ月使用した後、しわに対する改善効果と肌のはり、たるみに対する改善効果について調べた。

【0052】

## (実施例5~6)クリーム

下記成分(1)~(10)、別に下記成分(11)~(15)を75に加温溶解しそれぞれA液及びB液とする。A液にB液を加えて乳化し、クリームを調製した。

40

(成分)	(重量%)
(1) ホホバ油	3.0%
(2) スクワラン	2.0%
(3) メチルポリシロキサン	0.5%
(4) ステアリルアルコール	0.5%
(5) セチルアルコール	0.5%
(6) トリ(カプリル・カプリン酸)グリセリル	12.5%
(7) モノステアリン酸グリセリル	5.0%

50

( 8 ) モノステアリン酸ジグリセリル	1 . 5 %
( 9 ) モノステアリン酸デカグリセリル	3 . 0 %
( 1 0 ) 防腐剤	適量
( 1 1 ) キサンタンガム	0 . 1 %
( 1 2 ) 必須成分又は比較成分	4 . 0 %
( 1 3 ) 1 , 3 - ブチレングリコール	5 . 0 %
( 1 4 ) 防腐剤	適量
( 1 5 ) 精製水	残余

## 【 0 0 5 3 】

「しわに対する改善効果」

目尻のしわの状態を視覚評価した。

( 判定基準 )

著効 : しわがほとんどめだたなくなった。

有効 : しわがかなり目立たなくなった。

やや有効 : しわが以前より目立たなくなった。

効果なし : 変化なし。

「肌のはり、たるみに対する改善効果」

肌のはり、たるみを視覚評価した。

( 判定基準 )

著効 : 使用前に比べ肌に非常にはりがあり、たるみがない。

有効 : 使用前に比べ肌にやはりがあり、たるみがない。

やや有効 : 使用前に比べ肌にやはりがあり、たるみが減少した。

効果なし : 変化なし。

試験の結果を表 4 に示す。

10

20

## 【 0 0 5 4 】

## 【 表 4 】

しわに対する効果					
判定	実施例 1	実施例 2	実施例 3	比較例	対照例
著効	1	2	2	0	0
有効	9	8	9	1	0
やや有効	8	10	8	12	2
効果なし	2	0	1	7	18
はり、たるみに対する効果					
判定	実施例 1	実施例 2	実施例 3	比較例	対照例
著効	2	3	2	0	0
有効	8	12	10	2	0
やや有効	9	5	6	14	3
効果なし	1	0	2	4	17

30

40

## 【 0 0 5 5 】

表 3 から明らかのように、実施例のクリームを用いた場合には、比較例のクリームを用いた場合よりも、目尻のしわ及び肌のはり、たるみの点で改善されていることが認められた。これにより、高いコラーゲン産生促進作用を有するクロレラ抽出物、ダイズ抽出物、カッコン抽出物、プエラリア・ミリオフィカ抽出物から選ばれる 1 種以上のエストロゲン

50

様作用剤、ワレモコウ抽出物、ボタンピ抽出物、オリーブ葉抽出物からなる1種以上の活性酸素消去剤及びドクダミ抽出物、アルテア抽出物、アロエベラ抽出物からなる1種以上の抗炎症剤を配合した化粧品に優れた抗老化効果が確認された。

【0056】

以下にさらに、本発明の処方実施例を示す。

【0057】

(実施例7)化粧水

下記成分(8)~(10)を混合溶解させA液とし、これとは別に下記成分(1)~(7)及び(11)を混合溶解させてB液とし、A液とB液を均等に混合し、化粧水を調整した。

(成分)	(重量%)	
(1) クインスードエキス	8.0%	
(2) グリセリン	3.0%	
(3) 1,3-ブチレングリコール	5.0%	
(4) クロレラ抽出物(製造例1)	2.0%	
(5) カッココン抽出物(製造例3)	1.0%	
(6) ボタンピ抽出物(製造例7)	1.0%	
(7) アロエベラ抽出物(製造例12)	1.0%	
(8) ポリオキシエチレンソルビタンラウリン酸エステル	1.2%	
(9) エチルアルコール	5.0%	10
(10) 防腐剤	適量	
(11) 精製水	残余	20

【0058】

(実施例8)乳液

下記成分(1)~(10)、別に(11)~(15)及び(17)を75℃で加熱溶解させてそれぞれA液及びB液とし、A液にB液を加えて乳化し、攪拌しながら50℃まで冷却し、成分(16)を加え、乳液を調製した。

(成分)	(重量%)	
(1) ホホバ油	1.0%	
(2) スクワラン	2.0%	30
(3) ベヘニルアルコール	1.0%	
(4) トリ(カプリル・カプリン酸)グリセリル	2.0%	
(5) テトラグリセリン縮合シリノレイン酸	0.1%	
(6) モノオレイン酸プロピレングリコール	0.5%	
(7) モノステアリン酸グリセリン	1.0%	
(8) モノミレスチン酸ヘキサグリセリル	1.0%	
(9) モノミリスチン酸デカグリセリル	0.5%	
(10) 防腐剤	適量	
(11) クロレラ抽出物(製造例1)	3.0%	
(12) ダイズ抽出物(製造例2)	2.0%	40
(13) オリーブ葉抽出物(製造例8)	2.0%	
(14) ドクダミ抽出物(製造例10)	1.0%	
(15) 1,3-ブチレングリコール	3.0%	
(16) 香料	0.1%	
(17) 精製水	残余	

【0059】

(実施例9)石けん

石けん製造の定法により下記成分を混合し製した。

(成分)	(重量%)	
(1) 石けん素地	53.2%	50

( 2 ) スクロール	19.4%
( 3 ) ホホバ油	0.25%
( 4 ) クロレラ抽出物 ( 製造例 1 )	2.5%
( 5 ) カッココン抽出物 ( 製造例 3 )	2.0%
( 6 ) ワレモコウ抽出物 ( 製造例 6 )	2.0%
( 7 ) アルテア抽出物 ( 製造例 11 )	1.0%
( 8 ) 濃グリセリン	6.5%
( 9 ) ヒドロキシエタンジホスホン酸	0.15%
( 10 ) 常水	残余

## 【 0060 】

10

## ( 実施例 10 ) クレンジングジェル

下記成分 ( 1 ) ~ ( 3 )、別に ( 4 ) ~ ( 7 ) 及び ( 9 ) を 70 に加熱溶解させてそれぞれ A 液及び B 液とし、A 液に B 液を加えて均一になるまで攪拌する。攪拌しながら 50 まで冷却し、成分 ( 8 ) を加えてクレンジングジェルを製した。

( 成分 ) ( 重量 % )

( 1 ) モノミリスチン酸ヘキサグリセリル	20.0%
( 2 ) 流動パラフィン	58.8%
( 3 ) 防腐剤	適量
( 4 ) クロレラ抽出物 ( 製造例 1 )	1.0%
( 5 ) カッココン抽出物 ( 製造例 3 )	0.5%
( 6 ) オリーブ葉抽出物 ( 製造例 8 )	0.5%
( 7 ) アロエベラ抽出物 ( 製造例 12 )	0.5%
( 8 ) 濃グリセリン	5.9%
( 9 ) ソルビトール	5.0%
( 10 ) 香料	適量
( 11 ) 精製水	残余

20

## 【 0061 】

上記実施例 7 ~ 10 の化粧品は、いずれも皮膚の抗老化効果に優れるものであった。

## フロントページの続き

- (56)参考文献 特開平09 - 067266 (JP, A)  
特開平11 - 335293 (JP, A)  
特開2002 - 302419 (JP, A)  
特開2003 - 335625 (JP, A)  
特開2003 - 160495 (JP, A)  
特開2003 - 104835 (JP, A)  
特開2004 - 083476 (JP, A)  
特開2003 - 095970 (JP, A)  
特開2003 - 055245 (JP, A)  
特開2003 - 113068 (JP, A)  
特開2001 - 316275 (JP, A)  
特開2004 - 189698 (JP, A)  
特開2004 - 067590 (JP, A)  
特開2001 - 226286 (JP, A)  
特開2003 - 026560 (JP, A)  
特開2001 - 122765 (JP, A)  
特開2001 - 002550 (JP, A)  
特開2005 - 002013 (JP, A)  
特開2003 - 238432 (JP, A)  
特開2001 - 114637 (JP, A)  
特開2003 - 063942 (JP, A)  
特開2001 - 348335 (JP, A)  
特開2003 - 292432 (JP, A)  
特開平11 - 246336 (JP, A)  
特開2003 - 012489 (JP, A)

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 8、A61Q 19