

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2019年10月3日(03.10.2019)



(10) 国際公開番号

WO 2019/188491 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/575 (2006.01) A61P 17/16 (2006.01)
A23L 33/10 (2016.01) A61P 21/00 (2006.01)
A61K 8/63 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)

SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/011149

(22) 国際出願日: 2019年3月18日(18.03.2019)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2018-066007 2018年3月29日(29.03.2018) JP

添付公開書類:

一 国際調査報告(条約第21条(3))

(71) 出願人: 森永乳業株式会社(MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1088384 東京都港区芝五丁目3番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 齊藤 万里江(SAITO, Marie); 〒2528583 神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社内 Kanagawa (JP). 三澤 江里子(MISAWA, Eriko); 〒2528583 神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 辻田 朋子(TSUJITA, Tomoko); 〒2206008 神奈川県横浜市西区みなとみらい二丁目3番1号 クイーンズタワーA 8階 みなとみらい特許事務所内 Kanagawa (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) Title: ANTI-AGING COMPOSITION

(54) 発明の名称: 抗老化用組成物

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a novel anti-aging composition. A means for solving the problem is to use at least one compound selected from the group consisting of a lophenol compound and a cyclolanostane compound as an active ingredient of an anti-aging composition.

(57) 要約: 本発明の課題は、新規な抗老化用組成物を提供することである。当該課題を解決する手段は、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される1又は複数の化合物を、抗老化用組成物の有効成分として用いることである。



WO 2019/188491 A1

明 細 書

発明の名称： 抗老化用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、抗老化用組成物に関する。

背景技術

[0002] 老化は、遺伝的要因や、環境要因により生じる（非特許文献1）。老化により、身体機能の減退、生理機能の減退、疾病リスクの増大、皮膚の老化現象等が生じることが知られている。皮膚の老化現象としてはしわやたるみが代表的である（非特許文献2）。

[0003] ところで、近年、老化とオートファジーの関連についての研究がなされている（非特許文献3～6）。

[0004] オートファジーは、細胞内に蓄積した異常タンパク質や不要となった細胞内小器官、病原性微生物などを分解する役割を担っている（非特許文献4）。また、オートファジーによる分解産物（アミノ酸やペプチド）が新たなタンパク質合成や抗原提示に利用されることが知られている（非特許文献5）。すなわち、不要となった成分を連続的に除去し、新たに合成された成分で置換することにより、細胞の恒常性が保証され、老化過程が遅延することが知られている（非特許文献6）。

[0005] オートファジーを誘導する因子として、Atg遺伝子（Atg5、Atg7等）が知られ（非特許文献4）、Atg5過剰発現マウス（オートファジーが活性化されたモデルマウス）の寿命の延長が確認されたことが報告されている（非特許文献7）。

また、オートファジーと皮膚老化との関係も報告されている（非特許文献8）。

[0006] オートファジー制御薬剤として、リンパ脈管筋腫症の治療薬であるラパマイシン、抗糖尿病薬メトホルミン、向精神薬カルバマゼピン、抗マラリア薬クロロキン、ヒドロキシクロロキンなどが知られている（非特許文献9）。

[0007] また、オートファジー活性化作用を有する成分のスクリーニング方法により選択される抗老化用組成物として、ユキノシタ科アジサイ属アマチャより得られる植物抽出物、イチヨウ科イチヨウ属イチヨウより得られる植物抽出物、シソ科タツミソウ属コガネバナより得られる植物抽出物、フフトモモ科テンニンカ属テンニンカより得られる植物抽出物、バラ科サクラ属サクラより得られる植物抽出物、ラン科の植物より得られる植物抽出物が知られている（特許文献1）。

[0008] ところで、植物ステロールのうち、シクロラノスタン骨格を有する化合物やロフェノール骨格を有する化合物には、動脈硬化モデル動物において、血中過酸化脂質量を低減させる作用があること、胸部大動脈のプラーク形成数を抑制する作用があることが見出され、抗酸化剤としての用途が提案されている（特許文献2）。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：特開2013-99305号公報

特許文献2：国際公開第2010/058795号パンフレット

非特許文献

[0010] 非特許文献1：「細胞と老化」、日本老年医学会雑誌、一般社団法人 日本老年医学会、1995年、32巻、4号、p. 259-265

非特許文献2：「加齢に伴う皮膚の変化」、獨協医学会雑誌、獨協医学会、2008年、35巻、3号、p. 227-236

非特許文献3：「オートファジーと老化」、医学のあゆみ、医歯薬出版株式会社、2015年、253巻、9号、p. 723-727

非特許文献4：「老化におけるオートファジーとサーカディアンリズムの協奏」、化学と生物、公益社団法人-日本農芸化学会、2017年、55巻、7号、p. 448-449

非特許文献5：「オートファジーの生理機能とヒト疾患への関与」、実験医学、羊土社、2013年、31巻、9号、p. 1384-1379

非特許文献6 : Yogendra S. Rajawat et al., Ageing Research Reviews 8, 2009, p.199-213

非特許文献7 : 「オートファジーと老化」、日本臨牀、日本臨牀社、2016年、74巻、9号、p. 1461-1463

非特許文献8 : Kanae Tashiro et al., Biochemical and Biophysical Research Communications 443, 2014, p.167-172

非特許文献9 : 「病原体に対する治療薬候補としてのオートファジー誘導ペプチドの同定」、生化学、公益社団法人-日本生化学会、2015年、87巻、4号、p. 481-484

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0011] 本発明は、新規な抗老化用組成物を提供することを課題とする。

特に、本発明は、日常的に安全に摂取または適用でき、抗老化作用を有する機能性素材、ならびにこれを利用した医薬組成物、飲食品組成物及び化粧品組成物を提供することを課題とする。

本発明は、特に、オートファジー活性化作用を示す、抗老化用組成物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

[0012] 本発明者らは、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される1又は複数の化合物にオートファジー活性化作用があることを見出し、本発明を完成させた。

[0013] すなわち、前記課題を解決する第一の発明は、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される1又は複数の化合物を有効成分として含有する、抗老化用組成物である。

[0014] 第一の発明には、以下の形態が含まれる。

[0015] 本発明の好ましい形態では、シクロラノスタン化合物は、9, 19-シクロラノスタン-3-オール、及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールからなる群から選択される。

- [0016] 本発明の好ましい形態では、ロフェノール化合物は、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール、及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールからなる群から選択される。
- [0017] 本発明の好ましい形態では、前記抗老化用組成物は、前記化合物を総量で0.00001質量%以上含む。
- [0018] 本発明の抗老化用組成物は、好ましくはオートファジーを活性化させるために用いられる。
- [0019] 本発明の抗老化用組成物は、好ましくは美白用又は保湿用に用いられる。
- [0020] 本発明の抗老化用組成物は、好ましくは皮膚萎縮、乾癬、感染症、骨格筋減少症、糸球体硬化症、又は腎不全の予防又は改善のために用いられる。
- [0021] 本発明の抗老化用組成物は、好ましくは飲食品組成物又は化粧品組成物である。
- また、本発明の抗老化用組成物は、好ましくは医薬組成物である。
- [0022] また、前記課題を解決する第二の発明は、抗老化用組成物の製造における、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される化合物の使用であり、前記化合物の好ましい形態は前述した通りである。
- [0023] また、第二の発明には、以下の形態が含まれる。
- [0024] 本発明の好ましい形態では、抗老化用組成物の製造における、前記化合物を総量で0.00001質量%以上含む組成物の使用である。
- [0025] 本発明の好ましい形態では、前記組成物は、好ましくはオートファジーを活性化させるために用いられる。
- [0026] 本発明の好ましい形態では、前記組成物は、好ましくは美白用又は保湿用に用いられる。
- [0027] 本発明の好ましい形態では、前記組成物は、皮膚萎縮、乾癬、感染症、骨格筋減少症、糸球体硬化症、又は腎不全の予防又は改善のために用いられる。
- [0028] また、前記課題を解決する第三の発明は、抗老化のために用いられるロフ

エノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される化合物であり、前記化合物の好ましい形態は前述した通りである。

[0029] また、第三の発明には、以下の形態が含まれる。

[0030] 本発明の好ましい形態では、前記化合物は、好ましくはオートファジーを活性化させるために用いられる。

[0031] 本発明の好ましい形態では、前記化合物は、好ましくは美白用又は保湿用に用いられる。

[0032] 本発明の好ましい形態では、前記化合物は、皮膚萎縮、乾癬、感染症、骨格筋減少症、糸球体硬化症、又は腎不全の予防又は改善のために用いられる。

[0033] また、前記課題を解決する第四の発明は、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される化合物を、対象に投与することを含む、抗老化方法であり、前記化合物の好ましい形態は前述した通りである。

[0034] また、第四の発明には、以下の形態が含まれる。

[0035] 本発明の好ましい形態では、前記ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される化合物を、総量で0.00001質量%以上含有する組成物を前記対象に投与する。

[0036] 本発明の好ましい形態では、前記抗老化方法は、好ましくはオートファジーを活性化する方法である。

[0037] 本発明の好ましい形態では、前記抗老化方法は、好ましくは美白方法又は保湿方法である。

[0038] 本発明の好ましい形態では、前記抗老化方法は、皮膚萎縮、乾癬、感染症、骨格筋減少症、糸球体硬化症、又は腎不全の予防又は改善方法である。

図面の簡単な説明

[0039] [図1]化合物1又は化合物2に暴露した肝がん由来細胞を、オートファジーマーカーで処理した後の顕微鏡写真である。オートファゴソーム形成を示す蛍光部分は矢印で示す。

[図2]化合物1又は化合物2に暴露した3次元皮膚モデルに紫外線を照射した後、Thymine Dimer抗体にて抗体染色した顕微鏡写真である。

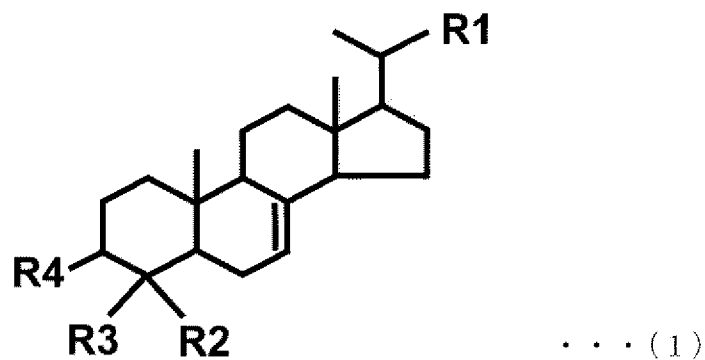
発明を実施するための形態

[0040] 次に、本発明の好ましい形態について詳細に説明する。ただし、本発明は以下の好ましい形態に限定されず、本発明の範囲内で自由に変更することができる。尚、本明細書において百分率は特に断りのない限り質量による表示である。

[0041] 本発明の抗老化用組成物は、ロフェノール化合物（化合物1）及びシクロラノスタン化合物（化合物2）からなる群から選択される1又は複数の化合物を有効成分として含有する。ロフェノール化合物（化合物1）は、以下の一般式（1）で表される。

[0042] [化1]

化合物1

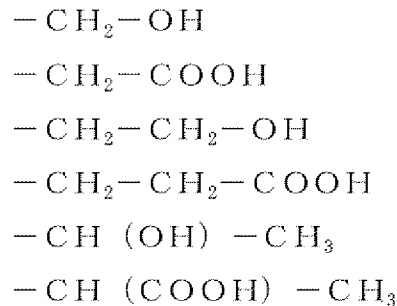


[0043] 一般式（1）中、R1は、炭素数5～16の直鎖若しくは分岐鎖状のアルキル基、又は2重結合を1つ若しくは2つ含むアルケニル基である。また、前記アルキル基又はアルケニル基は、1又は2の水素原子がヒドロキシル基及び／又はカルボニル基に置換された置換アルキル基又は置換アルケニル基であってもよい。

また、R2、R3は各々独立に水素原子又は炭素数1～3のアルキル基である。ここで、前記炭素原子数1～3のアルキル基としては、メチル基、エ

チル基等が好ましく、メチル基が特に好ましい。また、前記アルキル基は、少なくとも1の水素原子がヒドロキシル基及び／又はカルボニル基に置換された置換アルキル基であってもよい。

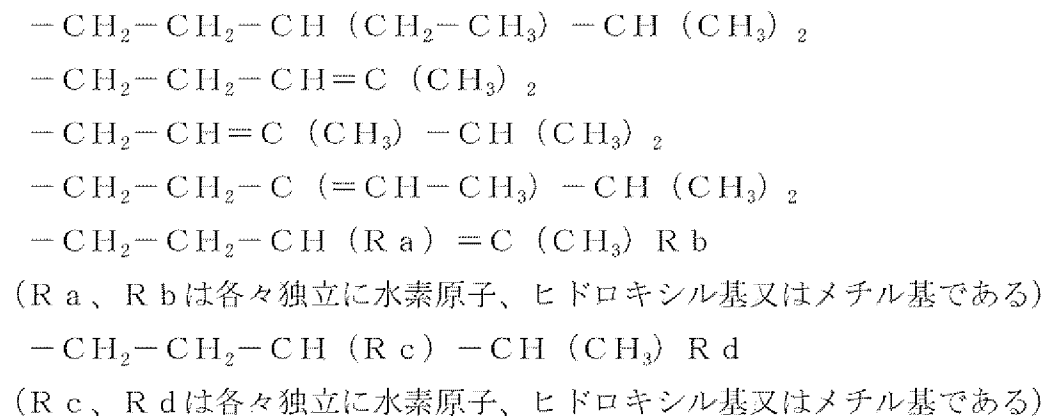
[0044] [化2]



[0045] また、R 4は環を構成する炭素原子とともにC=Oを形成するか、又は-OH、-OCOCH₃の何れかである。

[0046] 前記一般式(1)中、R 1は、下記式で表される基の何れかであることが好ましい。

[0047] [化3]

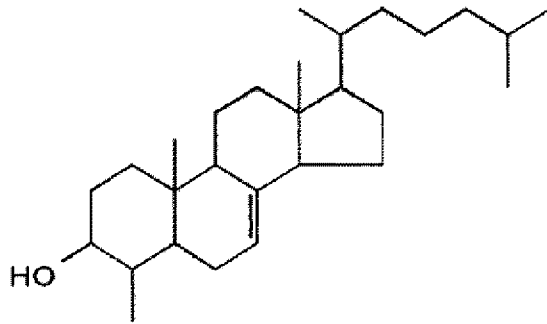


[0048] また、前記一般式(1)中、R 2及びR 3の一方が水素原子であり、他方がメチル基であることが好ましく、R 4が水素基であることが好ましい。

[0049] 化合物1として、好ましくは、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールが挙げられる。各化合物は、それぞれ、以下の式で表される構造を有する。

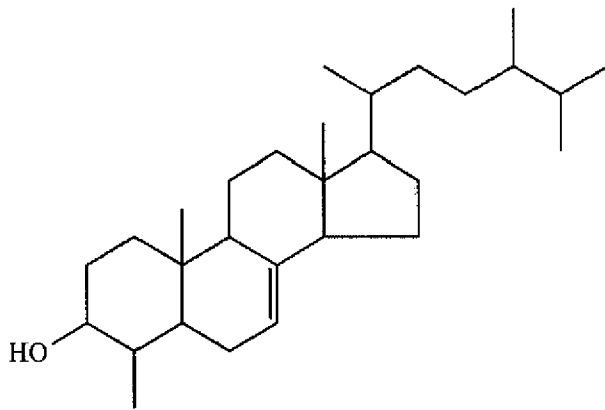
[0050]

[化4]



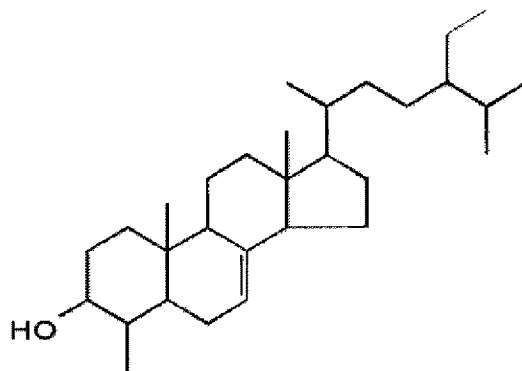
4-メチルコレスト-7-エン-3-オール

[0051] [化5]



4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール

[0052] [化6]



4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オール

[0053] 化合物1は、公知の製造方法に準じて化学的に製造することができる。

例えば、Vitali Matyash et al., PLOS B

I O L O G Y, V o l u m e 2, I s s u e 10, e 280, 2004 に記載されたサプリメントデータに準じて、合成することが可能である。

[0054] また、化合物 1 が植物に含まれていることは知られており、公知のロフェノールの製造方法に準じて、化合物 1 を製造することができる（生物化学実験法 24、脂肪脂質代謝実験法、山田晃弘著、学会出版センター、第 174 ページ、1989 年）。

例えば、化合物 1 が含まれている植物より、熱水抽出法、有機溶媒抽出法、超臨界抽出法又は亜臨界抽出法などの方法を用いて抽出することが可能である（例えば、特許第 3905913 号公報参照）。化合物 1 は、例えばユリ科、マメ科、イネ科、ナス科及びバショウ科の植物から抽出することができる。

前記のようにして製造した化合物 1 は、例えば、マススペクトル（MS）法、及び核磁気共鳴スペクトル（NMR）法等によって、その分子量や構造等を決定又は確認することができる。

[0055] また、化合物 1 は、医薬組成物に許容される塩であってもよい。医薬組成物に許容される塩として、金属塩（無機塩）と有機塩との両方が含まれ、それらのリストは「レミントン・ファーマシューティカル・サイエンスズ（Remington's Pharmaceutical Sciences）、第 17 版、1985 年、第 1418 頁」に掲載されているものが例示される。

具体的には塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、ニリン酸塩、及び臭化水素酸塩などの無機酸塩や、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、パモ酸塩、サリチル酸塩、及びステアリン酸塩などの有機酸塩が非限定的に含まれる。

また、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム等の金属の塩、リジン等のアミノ酸との塩とすることもできる。また、前記化合物若しくはその医薬組成物に許容される塩の水和物等の溶媒和物も使用

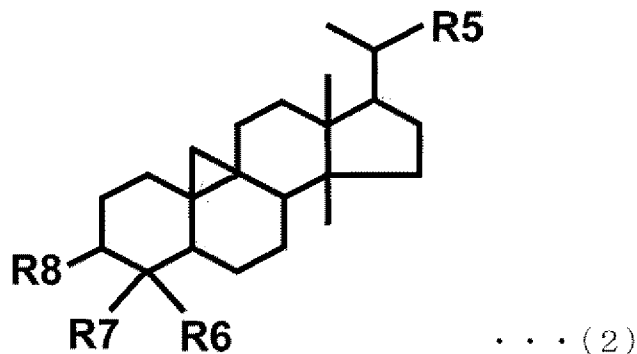
できる。

[0056] シクロラノスタン化合物（化合物 2）は、以下の一般式（2）で表される

。

[0057] [化7]

化合物 2

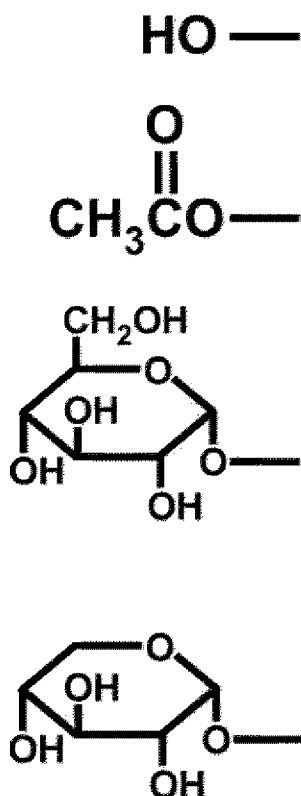


[0058] 一般式（2）中、R 5 は、炭素数 6～8 の直鎖状又は分岐鎖状のアルキル基、2 重結合を 1 つ又は 2 つ含むアルケニル基である。また、前記アルキル基又はアルケニル基は、1 又は 2 の水素原子がヒドロキシル基及び／又はカルボニル基に置換された置換アルキル基又は置換アルケニル基であってもよい。

また、R 6, R 7 は各々独立に水素原子又はメチル基である。また、R 8 は環を構成する炭素原子とともに C=O を形成するか、又は下記式の何れかである。

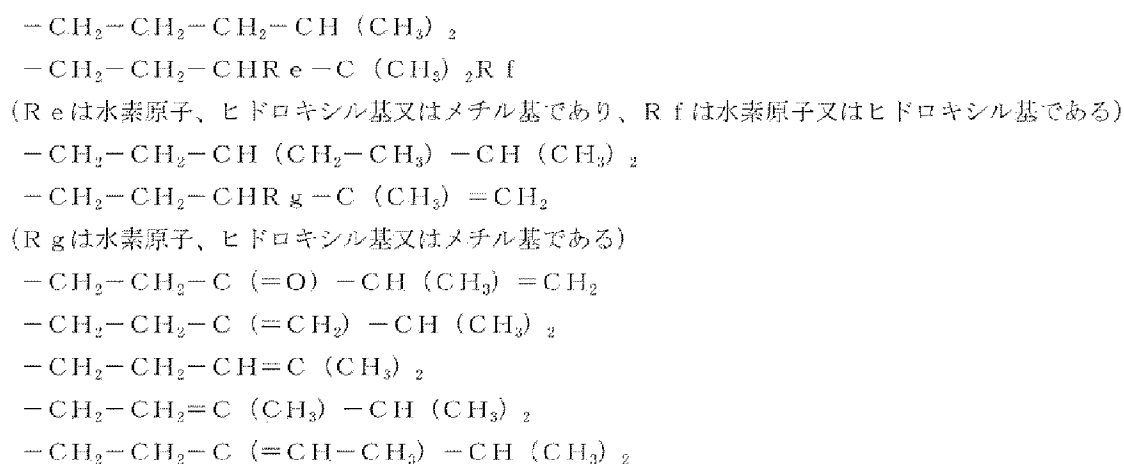
[0059]

[化8]



[0060] 前記一般式(2)中、R⁵は、下記式で表される基の何れかであることが好ましい。

[0061] [化9]

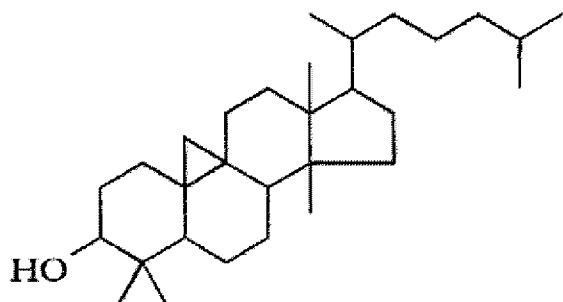


[0062] また、前記一般式(2)中、R⁶及びR⁷の一方が水素原子であり、他方がメチル基であることが好ましく、R⁸が水酸基であることが好ましい。

[0063] 化合物2としては、好ましくは、9, 19-シクロラノスタン-3-オー

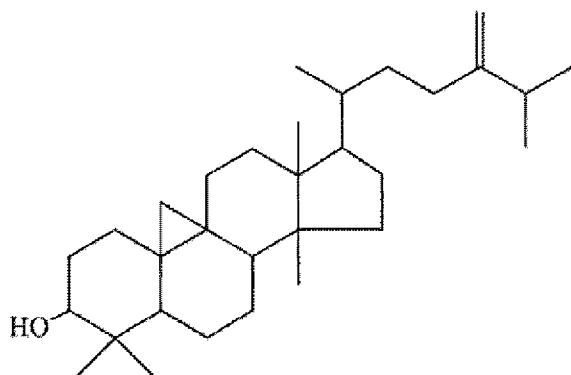
ル及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールが挙げられる。各化合物は、それぞれ、以下の式で表される構造を有する。

[0064] [化10]



9, 19-シクロラノスタン-3-オール

[0065] [化11]

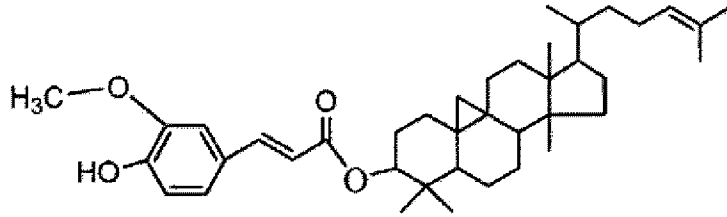


24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール

[0066] 化合物2は、公知の製造方法に準じて化学的に製造することができる。例えば、24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール（慣用名：24-メチレンシクロアルタノール）は、特開昭57-018617号公報や国際公開第2012/023599号（γ-オリザノールから合成する方法）に開示される方法にて製造することが可能である。また、化合物2は、特開2003-277269号公報に開示される方法にて、シクロアルテノールフェルレート加水分解物を出発物質として製造することが可能である。

[0067]

[化12]



シクロアルテノールフェルレート

[0068] また、化合物2も、ユリ科、マメ科、イネ科、ナス科及びバショウ科などの植物に含まれていることが知られている（[フィトケミストリー (Phytochemistry), 米国、1977年、第16巻、第140~141ページ]、[ハンドブック・オブ・フィトケミカル・コンスティチュエント・オブ・GRAS・ハーブ・アンド・アザー・エコノミック・プランツ (Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants), 1992年、米国、シーアールシープレス]、又は[ハーゲルス・ハントブーフ・デア・ファルマツォイティシエン・プラクシス (Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis), 第2~6巻、1969~1979年、ドイツ、シュプリングァー・フェアラクベルリン] 参照)。よって、化合物2は、これらの植物より、有機溶媒抽出法又は熱水抽出法などの公知の方法を用いて抽出することが可能である（例えば、特許第3924310号公報参照）。化合物2は、ユリ科アロエ属の植物から抽出することが好ましい。

前記のようにして製造した化合物は、例えば、マススペクトル (MS) 法、及び核磁気共鳴スペクトル (NMR) 法等によって、その分子量や構造等を決定又は確認することができる。

[0069] また、化合物2は、医薬組成物に許容される塩であってもよい。このような塩は化合物1について例示したとおりである。

[0070] 本発明の抗老化用組成物は、化合物1及び化合物2から選ばれる1又は複数の化合物を有効成分として含有する。また、化合物1及び化合物2のそれ

それぞれについて、1又は複数を有効成分とすることができる。有効成分は、化合物1又は化合物2のいずれか単独であっても化合物1及び化合物2の混合物であってもよいが、化合物1及び化合物2の混合物がより好ましい。すなわち、好ましい態様において、化合物1から選ばれる1又は複수와、化合物2から選ばれる1又は複数の混合物を有効成分として含有する。

化合物1又は化合物2を単独で用いる場合としては、化合物1（主に、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール、若しくは4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オール）、又は化合物2（主に、9, 19-シクロラノスタン-3-オール若しくは24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール）の何れかであることが好ましい。

中でも抗老化用組成物の有効成分として使用する場合において考慮される溶解性等の物性の点で、化合物1としては4-メチルコレスト-7-エン-3-オールが特に好ましく、化合物2としては9, 19-シクロラノスタン-3-オールが特に好ましい。

また、化合物1と化合物2を対比した場合では、化合物1（主に、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール又は4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オール）であることがより好ましい。

また、化合物1又は化合物2各々においても、1種の化合物を用いてもよいし、複数の化合物を混合して用いてもよい。

本発明の抗老化用組成物は、好ましくは、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール、4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オール、9, 19-シクロラノスタン-3-オール、24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールからなる群から選択される1又は複数の化合物を有効成分として含有する。

[0071] 化合物1及び化合物2の両者を組み合わせる場合（化合物1と化合物2との混合物）において、化合物1及び化合物2の質量比の範囲は、例えば以下

が挙げられる。

化合物 1 : 化合物 2 は、好ましくは 5 : 1 ~ 1 : 5、さらに好ましくは 3 : 1 ~ 1 : 3、特に好ましくは 2 : 1 ~ 1 : 2 である。

[0072] 本発明の抗老化用組成物における前記化合物の含有量は、症状等に応じて適宜選択することができるが、総量で、好ましくは少なくとも 0.00001 質量%以上、より好ましくは少なくとも 0.0001 質量%以上、さらに好ましくは少なくとも 0.0005 質量%以上、特に好ましくは少なくとも 0.001 質量%以上である。また本発明の抗老化用組成物における当該量の上限は特に制限されないが、総量で、90 質量%以下、好ましくは 70 質量%以下、より好ましくは 50 質量%以下が例示される。

[0073] また、本発明の抗老化用組成物は、化合物 1 及び化合物 2 からなる群から選択される 1 又は複数の化合物を 0.00001 質量%以上含む組成物を、有効成分として含有する形態とすることもできる。

このような組成物としては、例えば、前述した化合物 1 を含む植物から得られた抽出物、化合物 2 を含む植物から得られた抽出物、及び化合物 1 及び化合物 2 の両者を含む植物から得られた抽出物、並びにこれらの混合物が挙げられる。

[0074] ここで、化合物 1、化合物 2 を含む植物としては、例えば、ユリ科、マメ科、イネ科、ナス科及びバショウ科などの植物を挙げることができる。

[0075] 天然の植物に含まれる例として、アロエ・ベラ中には、化合物 1（主に、4-メチルコレステ-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴステ-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマステ-7-エン-3-オール）、及び化合物 2（主に、9, 19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール）が含まれていることが知られている。

[0076] そのため、アロエ・ベラを原料として、4-メチルコレステ-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴステ-7-エン-3-オール、若しくは4-メチルスチグマステ-7-エン-3-オール（化合物 1）の何れか、又は9

、19-シクロラノスタン-3-オール、若しくは24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール（化合物2）の何れかをそれぞれ精製して、化合物1：化合物2が5：1～1：5、好ましくは3：1～1：3、特に好ましくは2：1～1：2で含む混合物を得ることが可能である。このようにして得られた組成物は、本発明の抗老化用組成物の有効成分として好適である。

[0077] ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される1又は複数の化合物を投与することにより、未摂取の場合と比べ投与対象の老化を予防または抑制することが可能である。なお本発明における「老化」とは、成熟期以降に起こる生理機能の衰退を意味し、遺伝的な要因や外界からのストレスに対し、適応力が低下することで起こる変化を意味する。

本発明の抗老化用組成物は、老化を未然に防ぐように予防的に利用されることが好ましい。本発明の抗老化用組成物が適用される対象は、皮膚の老化の徴候を呈していない対象、通常25歳以下の個人とすることもできるが、好ましくは、25歳以上、さらに好ましくは35歳以上、特に好ましくは45歳以上の老化の徴候を呈している個人である。老化の徴候を呈している個人に適用することにより、老化の徴候を改善し、又は老化の進行を抑制することができる。

[0078] 後述する実施例に示すとおり、本発明の抗老化用組成物の有効成分である化合物1及び化合物2からなる群から選ばれる1又は複数の化合物は、オートファジーを活性化する作用を有する。

[0079] ここで、前述したように、オートファジーの活性化が老化抑制に寄与することは知られている（「オートファジーと老化」、医学のあゆみ、医歯薬出版株式会社、2015年、253巻、9号、p. 723-727、及び「オートファジーと老化」、日本臨牀、日本臨牀社、2016年、74巻、9号、p. 1461-1463等）。

従って、本発明の抗老化用組成物は、好ましくは、オートファジーを活性化するために用いられる。また、本発明の抗老化用組成物は、好ましくはオ

オートファジーの活性化に基づいて老化を抑制するための抗老化用組成物である。

[0080] 本発明の抗老化用組成物が予防又は改善の対象とする老化現象としては、皮膚の老化が挙げられる。皮膚の老化は、真皮や皮下組織の減少などの形態学的変化、及びセラミドやアミノ酸量の低下などの生化学的変化を含む。

このような皮膚の老化に対し、オートファジーは、分解産物としてアミノ酸を供給し、皮膚の真皮を構成するタンパク質の新規生合成に寄与する（「オートファジーと疾患」領域融合レビュー，3，e006（2014））。

また、若年真皮線維芽細胞をリソソームプロテアーゼ阻害剤で処理すると、自食作用が低下した老化真皮線維芽細胞の状態を模倣し、Ⅰ型プロコラーゲン、ヒアルロナン及びエラスチンの線維芽細胞含量が変化し、コラーゲン原線維の崩壊を引き起こすことから、オートファジーは、Ⅰ型プロコラーゲン、ヒアルロナン及びエラスチンの線維芽細胞含量の維持に寄与する（Kanae Tashiro et al., Biochemical and Biophysical Research Communications 443, 2014, p.167-172）。

従って、本発明の抗老化用組成物は、特に、保湿のため、皮膚萎縮の予防又は改善のために用いることができる。

前記保湿は、潤い、皮膚水分量低下の防止、透明感の向上、ハリ・ツヤの向上、皮膚の柔軟性の向上、毛穴縮小、乾燥肌予防を含む。

前記皮膚萎縮の予防又は改善は、肉割れや妊娠線の予防又は改善を含む。

[0081] また、前記老化現象としては、メラニン排出不全によるメラニンの沈着が挙げられる。

皮膚の表皮に存在するメラニンは、色素細胞（メラノサイト）中のメラノソームと呼ばれる細胞内小器官で生産される（国際公開第2013/162012号）。メラニンの生成に対し、オートファジーは、細胞内小器官のバルク分解機能を有するため、オートファジー活性の増強がメラニン量の低下に寄与する（国際公開第2013/162012号）。

[0082] 従って、本発明の抗老化用組成物は、美白のために用いることができる。

ここで、美白は、しみ、くすみの予防又は改善、皮膚色調の明調化、透明感の向上を含む。

[0083] また、前記老化現象としては、感染症、乾癬が挙げられる。

加齢に伴い免疫機能が低下すると感染症の発症リスクが増大するが、オートファジーの異常は、感染症などの発症と密接に関連する（「オートファジーと疾患」領域融合レビュー，3，e006（2014））。

そして、感染症に罹患すると、免疫防御において重要な役割を果たすTh17細胞が生産されるが、制御異常が生じ、Th17細胞が過剰に生産されるようになると、自己免疫疾患である乾癬の発症要因となる（「感染症や乾癬におけるIL-23とTh17細胞」Jpn. J. Clin. Immunol.，34（1）13～19（2011））。

従って、本発明の抗老化用組成物は、感染症、乾癬の予防又は改善のために用いることができる。

[0084] ここで、感染症としては、真正細菌感染症、真菌感染症、寄生性原虫感染症、ウイルス感染症、その他の感染性疾患を挙げることができる。

また、乾癬としては、尋常性乾癬、関節症性乾癬（乾癬性関節炎を含む）、膿疱性乾癬（汎発性膿疱性乾癬を含む）、滴状乾癬、乾癬性紅皮症を挙げることができる。

[0085] また、前記老化現象としては、肝細胞がん、肺腺がん、リンパ腫、アルツハイマー型認知症、Lewy型認知症、脳血管性認知症、てんかん、骨格筋減少症、糸球体硬化症、腎不全、加齢性白内障、加齢黄斑変性、心血管系疾患、糖尿病、肝疾患（急性肝炎、慢性肝炎）、肝硬変等が挙げられる。

本発明の抗老化用組成物は、これらの疾患、症状の予防又は改善に用いることができる。

[0086] また、本発明の抗老化用組成物は、オートファジーの不全が原因で起こる疾患の改善のために用いることができる。このような疾患として、クローン病、SENDA病、Vici症候群が挙げられる。

[0087] また、後述する試験で示すように、本発明の抗老化用組成物の有効成分で

ある化合物 1 及び化合物 2 からなる群から選ばれる 1 又は複数の化合物は、オートファジー活性化作用に加え、DNA 損傷抑制作用を有することが見出された。

元来、生物には DNA 損傷修復機能が備わっているが、この機能は老化と共に低下することが知られている（笹邊ら、日本生物学的精神医学会誌 24 巻 4 号、p. 199-191）。

従って、本発明の抗老化用組成物は、DNA 損傷抑制作用という点から見ても抗老化の効果を発揮する。

[0088] 本発明の抗老化用組成物は、医薬組成物とすることができる。本発明の医薬組成物は、経口的、又は非経口的にヒトを含む哺乳動物に投与することができる。

[0089] また、本発明の医薬組成物は、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される 1 又は複数の化合物を総量で、より好ましくは少なくとも 0.0001 質量%以上、さらに好ましくは少なくとも 0.0005 質量%以上、特に好ましくは少なくとも 0.001 質量%以上含む組成物を有効成分として含む形態とすることが好ましい。

[0090] 本発明の医薬組成物の形態は特に限定されず、用法に応じて適宜選択できる。具体的には、錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、貼付剤、点眼剤、点鼻剤等を例示できる。

[0091] 本発明の医薬組成物の投与時期は特に限定されず、対象となる疾患に応じて、適宜選択することが可能である。また、投与量は製剤形態、用法、患者の年齢、性別、その他の条件、症状の程度等に応じて決定されることが好ましい。

本発明の医薬組成物の投与量は、用法、患者の年齢、性別、疾患の程度、その他の条件等により適宜選択される。通常、有効成分の量に換算して、好ましくは 0.0001~100mg/日、より好ましくは、0.001~50mg/日、特に好ましくは 0.01~10mg/日の範囲を目安とする。

[0092] 本発明の医薬組成物は、医薬組成物に汎用される添加剤を含有してもよい。添加剤としては、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味矯臭剤、希釈剤、界面活性剤、注射剤用溶剤等が挙げられる。

[0093] 本発明の医薬組成物は、前記化合物を有効成分として医薬組成物用担体に配合することで製造することができる。本発明の医薬組成物は、例えば、前記化合物を、前述した添加剤とともに製剤化することで製造することができる。

また、本発明の医薬組成物は、前記化合物を含む公知の植物等を原料として、熱水や各種溶媒を用いた抽出、超臨界抽出、亜臨界抽出することにより得た抽出物を、前述した添加剤とともに製剤化することで製造することもできる。

特に、化合物 1 及び化合物 2 を前記特定の質量比の範囲で含む本発明の医薬組成物は、各化合物を前記質量比の範囲で混合することで製造することができる。また、このような医薬組成物は、化合物 1 及び化合物 2 が含まれている公知の植物等を原料として、熱水や各種溶媒を用いた抽出、超臨界抽出、亜臨界抽出等の方法にて製造することも可能である。

[0094] 本発明の医薬組成物は、例えば、ユリ科、マメ科、イネ科、ナス科及びバショウ科などの植物から得ることができる。

[0095] 本発明の医薬組成物は、前記化合物が有効成分として機能し、前述した症状、疾患の予防又は改善作用を有する。

[0096] また、本発明の抗老化用組成物は、飲食品組成物とすることができる。本発明において、「飲食品組成物」には、人間が摂取する飲食品の他、人間以外の動物が摂取する飼料も含まれる。

[0097] 本発明の飲食品組成物は、化合物 1 及び化合物 2 からなる群から選択される化合物を、有効成分として含有する。該化合物は、1 種、すなわち化合物 1 又は化合物 2 の何れか単独であっても、化合物 1 及び化合物 2 の混合物であってもよい。

化合物 1 又は化合物 2 を単独で用いる場合としては、化合物 1（主に、4

ーメチルコレストー7-エン-3-オール、4-メチルエルゴストー7-エン-3-オール、若しくは4-メチルスチグマストー7-エン-3-オール)、又は化合物2(主に、9, 19-シクロラノスタン-3-オール若しくは24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール)の何れかであることが好ましい。

中でも飲食品組成物の有効成分として使用する場合において考慮される溶解性等の物性の点で、化合物1としては4-メチルコレストー7-エン-3-オールが特に好ましく、化合物2としては9, 19-シクロラノスタン-3-オールが特に好ましい。

また、化合物1と化合物2を対比した場合では、化合物1(主に、4-メチルコレストー7-エン-3-オール、4-メチルエルゴストー7-エン-3-オール又は4-メチルスチグマストー7-エン-3-オール)であることがより好ましい。

また、化合物1又は化合物2各々においても、1種の化合物を用いてもよいし、複数の化合物を混合して用いてもよい。

本発明の飲食品組成物は、好ましくは、4-メチルコレストー7-エン-3-オール、4-メチルエルゴストー7-エン-3-オール、4-メチルスチグマストー7-エン-3-オール、9, 19-シクロラノスタン-3-オール、24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールからなる群から選択される1又は複数の化合物を有効成分として含有する。

[0098] 化合物1及び化合物2の両者を組み合わせる場合(化合物1と化合物2との混合物)において、化合物1及び化合物2の質量比の範囲は、例えば以下が挙げられる。

化合物1:化合物2は、好ましくは5:1~1:5、さらに好ましくは3:1~1:3、特に好ましくは2:1~1:2である。

[0099] 本発明の飲食品組成物における前記化合物の含有量は、症状等に応じて適宜選択することができるが、総量で、好ましくは少なくとも0.00001質量%以上、より好ましくは少なくとも0.0001質量%以上、さらに好

ましくは少なくとも0.0005質量%以上、特に好ましくは少なくとも0.001質量%以上である。また本発明の飲食品組成物における当該量の上限は特に制限されないが、総量で、90質量%以下、好ましくは70質量%以下、より好ましくは50質量%以下が例示される。

[0100] また、本発明の飲食品組成物は、化合物1及び化合物2からなる群から選択される化合物を0.00001質量%以上含む組成物を、有効成分として含有する。該化合物は、1種でも、複数種でもよい。

このような組成物としては、例えば、前述した化合物1を含む植物から得られた抽出物、化合物2を含む植物から得られた抽出物、及び化合物1及び化合物2の両者を含む植物から得られた抽出物、並びにこれらの混合物が挙げられる。

[0101] 例えば、天然の植物に含まれる例として、アロエ・ベラ中には、化合物1（主に、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オール）、及び化合物2（主に、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オール）が含まれていることが知られている。

[0102] そのため、アロエ・ベラを原料として、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール、若しくは4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オール（化合物1）の何れか、又は9,19-シクロラノスタン-3-オール、若しくは24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オール（化合物2）の何れかをそれぞれ精製して、化合物1：化合物2が5：1～1：5、好ましくは3：1～1：3、特に好ましくは2：1～1：2で含む混合物を得ることが可能である。このようにして得られた組成物は、本発明の飲食品組成物の有効成分として好適である。

[0103] また、本発明の飲食品組成物は、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される1又は複数の化合物を総量で、より好ま

しくは少なくとも0.0001質量%以上、さらに好ましくは少なくとも0.0005質量%以上、特に好ましくは少なくとも0.001質量%以上含む組成物を有効成分として含む形態とすることが好ましい。

[0104] 本発明の飲食品組成物は、老化により引き起こされる症状や疾患の予防又は改善に有効である。

本発明の飲食品組成物は、好ましくは、保湿のため、美白のため、皮膚萎縮の予防又は改善のため、感染症又は乾癬の予防のため、骨格筋減少の予防又は改善のために用いられる。

[0105] また、飲食品組成物における前記化合物の量は、その形態に応じて、前記化合物を、総量で、好ましくは0.0001~100mg/日、より好ましくは0.001~50mg/日、特に好ましくは0.01~10mg/日の範囲で摂取するのに適した量とすることもできる。従って、本発明の飲食品組成物は、前記化合物を、総量で、好ましくは0.0001~100mg/日、より好ましくは0.001~50mg/日、特に好ましくは0.01~10mg/日摂取するように用いられることが好ましい。

[0106] 前記飲食品は、好ましくは保健機能食品である。「保健機能食品」とは、疾患の予防効果、又は疾患の発生リスクの低減効果が、直接的又は間接的に表示された食品、及び事業者の責任で科学的根拠を基に商品パッケージに機能性を表示するものとして、消費者庁に届け出られた食品を意味する。例えば、現在、日本において、特定保健用食品、機能性表示食品、健康補助食品等の態様で販売される食品が挙げられる。

[0107] 前記飲食品の形態としては特に制限されないが、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果汁飲料、乳酸菌飲料等の飲料（これらの飲料の濃縮原液及び調製用粉末を含む）が、前記化合物を効率よく摂取する観点から特に好ましい。

[0108] また、機能性飲食品の形態としては、顆粒状、タブレット状又は液状のサプリメントであることも、摂取者が有効成分の摂取量を把握しやすいという点で好ましい。

[0109] また、このような機能性飲食品には、「抗老化のため」、「老化により引

き起こされる症状の予防又は改善のため」、「オートファジーの活性を向上させるため」、「肌の美白のため」、「肌の保湿のため」、「感染症の予防のため」、「乾癬の予防のため」、「皮膚萎縮の予防又は改善のため」、「骨格筋減少の予防のため」の用途の表示が付された形態とすることも好ましい。すなわち、本発明の飲食品は、例えば「抗老化のため」の用途が付された、化合物1及び化合物2からなる群から選択される1又は複数の化合物を有効成分として含有する、抗老化のための飲食品として販売することが好ましい。

[0110] 前記「表示」は、需要者に対して前記用途を知らしめる機能を有するすべての表示を含む。すなわち、前記用途を想起・類推させうるような表示であれば、表示の目的、表示の内容、表示する対象物・媒体等の如何に拘わらず、すべて前記「表示」に該当する。また、前記「表示が付された」とは、前記表示と飲食品（製品）を関連付けて認識させようとする表示行為が存在していることをいう。表示行為は、需要者が前記用途を直接的に認識できるものであることが好ましい。具体的には、本発明の飲食品に係る商品又は商品の包装への前記用途の記載行為、商品に関する広告、価格表若しくは取引書類（電磁的方法により提供されるものを含む）への前記用途の記載行為が例示できる。

[0111] 一方、表示される内容（表示内容）としては、行政等によって認可された表示（例えば、行政が定める各種制度に基づいて認可を受け、そのような認可に基づいた態様で行う表示）であることが好ましい。

例えば、健康食品、機能性飲食品、経腸栄養食品、特別用途食品、保健機能食品、特定保健用食品、栄養機能食品、機能性表示食品、医薬組成物用部外品等の表示を例示することができる。特に、消費者庁によって認可される表示、例えば、特定保健用食品制度、これに類似する制度にて認可される表示を例示できる。後者の例としては、特定保健用食品としての表示、条件付き特定保健用食品としての表示、身体の構造や機能に影響を与える旨の表示、疾病リスク低減表示等を例示することができ、詳細に言えば、健康増進法

施行規則（平成15年4月30日日本国厚生労働省令第86号）に定められた特定保健用食品としての表示（特に保健の用途の表示）、及びこれに類する表示が、典型的な例として列挙することが可能である。

[0112] 前記用途を表す文言は、老化により起こる症状を予防、改善する作用又は効果を表現する文言であれば、本発明の範囲に含まれることは言うまでもない。

また、本発明の飲食品は、前記用途の表示に加え、前記有効成分の表示、さらには、前記用途と前記有効成分の関連性を示す表示を含むことも好ましい。そのような表示としては「老化が気になる方へ」「アンチエイジングを必要とする方へ」「長生きしたい方へ」「若返りたい方へ」「シワをなくしたい方へ」等、需要者に対して抗老化の効果を認識させるような種々の用途に基づく表示も可能である。

[0113] 前記飲食品は、化合物1及び化合物2からなる群から選ばれる1又は複数の化合物を、有効成分として配合することで製造することができる。本発明の飲食品は、例えば、前記化合物を、飲食品原料に混合して、加工することで製造することができる。

また、前記飲食品は、前記化合物を含む公知の植物等を原料として、熱水や各種溶媒を用いた抽出、超臨界抽出、亜臨界抽出することにより得た抽出物を、飲食品原料とともに加工することで製造することもできる。

[0114] また、前記飲食品の形態を、顆粒状、タブレット状又は液状のサプリメントとする場合には、有効成分である前記化合物を、例えば、ラクチュロース、マルチトール、及びラクチトール等の糖類、及びそれ以外の糖類、例えばデキストリン、デンプン等；ゼラチン、大豆タンパク、トウモロコシタンパク等のタンパク質；アラニン、グルタミン、イソロイシン等のアミノ酸類；セルロース、アラビアゴム等の多糖類；大豆油、中性脂肪酸トリグリセリド等の油脂類等とともに、製剤化することも好ましい。

[0115] また、本発明の抗老化用組成物は、化粧品組成物とすることができる。

[0116] 本発明の化粧品組成物に含まれる有効成分の種類及び比率の好ましい形態

は、本発明の飲食品組成物と同じである。

[0117] 本発明の化粧品組成物における前記化合物の含有量は、症状等に応じて適宜選択することができるが、総量で、好ましくは少なくとも0.0002質量%以上、より好ましくは少なくとも0.002質量%以上、さらに好ましくは少なくとも0.02質量%以上、特に好ましくは少なくとも0.01質量%以上である。また本発明の化粧品組成物における当該量の上限は特に制限されないが、総量で、90質量%以下、好ましくは70質量%以下、より好ましくは50質量%以下が例示される。

[0118] 本発明の化粧品組成物は、老化により引き起こされる皮膚の症状や疾患の予防又は改善に有効である。

本発明の化粧品組成物は、特に、美白のため、保湿のため、又は皮膚萎縮の予防又は改善のため、に用いることが好ましい。

[0119] 「化粧品組成物」には、薬事法における化粧品および医薬部外品が含まれ、皮膚に使用する化粧品、浴用剤、芳香品等が挙げられる。

[0120] 化粧品組成物には、通常用いられる成分を適宜配合することができる。また、化粧品組成物の形態も特に制限されない。

本発明の化粧品組成物としては、例えば、せっけん、合成化粧せっけん、液状ボディ洗浄料（ボディーソープ）、洗顔料等の洗浄料、クレンジングクリーム、洗浄用化粧水、化粧水、乳液、美容液、ローション、液状パック、ペースト状パック等のパック、粉白粉、水白粉、練白粉等の白粉、打粉、ファンデーション、口紅、頬紅等の化粧品、アイライナー、アイシャドウ等の目のまわりの化粧料、日焼け止め化粧料、サンタン化粧料、除毛化粧料等の化粧料、或いはシェービングローション、アフターシェービングローション等のひげそり用化粧料等が挙げられるが、これらに限定されない。

[0121] 本発明の化粧品組成物は、上記化合物を有効量含んでなるものであり、使用により、抗老化作用を発揮できるものである。

[0122] また、化粧品組成物には前記化合物の他、化粧品に通常用いられる成分を本発明の目的、作用、効果を損なわない範囲で適宜選択して添加して使用する

ことができる。このような成分としては例えば界面活性剤、油分、保湿剤、柔軟剤、感触向上剤、油性剤、乳化剤、酸化防止剤、防腐剤、防黴剤、エモリエント剤、pH調整剤、キレート剤、安定化剤、紫外線吸収剤、アルコール類、シリコン化合物、増粘剤、粘度調整剤、可溶化剤、パール化剤、香料、清涼剤、殺菌剤、抗菌剤、天然抽出物、着色剤、褪色防止剤、精製水その他の溶剤、噴射剤等が挙げられるが、これらに限定されない。

実施例

[0123] [試験1] 肝がん由来細胞を用いたオートファジー観察

本試験では、肝がん由来細胞HepG2を化合物1又は化合物2に暴露し、オートファジー活性化の有無を観察した。

[0124] (1) 試験方法

(1-1) 試験用培地の調製

化合物1 (4-メチルコレステロール-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴステロール-7-エン-3-オール、及び4-メチルスチグマステロール-7-エン-3-オールのモル比1:1:1の混合物)、及び化合物2 (9, 19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールのモル比1:1の混合物)をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。DMSOに溶解した各化合物を、ウシ胎児血清(以下、FBS)を添加したダルベッコ改変イーグル培地(DMEM:DSファーマバイオメディカル社製)に添加し、化合物1又は化合物2を100 μ M、DMSOを0.2%、FBSを10%含有する試験用培地を調製した。

併せて、陰性対照として、DMSO0.2%、FBS10%を含有するDMEMを調製した。また、陽性対照として、ラパマイシン500nM、FBS10%含有するDMEMを調製した。

[0125] (1-2) 肝がん由来細胞HepG2の培養

肝がん由来細胞HepG2 (DSファーマバイオメディカル社製) 4 \times 10³個をLab-TekTM 8ウェルチェンバーズライド(サーモフィッシュャーサイエンティフィック社製)に播種し、FBSを10%含有するDM

EMで、37℃、5% CO₂濃度の培養条件にて24時間培養した。その後、細胞を(1-1)で調製した試験用培地に移し、同条件で24時間培養した。

なお、陰性対照では、同条件で24時間の培養時間、陽性対照では、同条件で16時間の培養時間とした。

[0126] (1-3) 観察用試料の調製

各試験用培地での培養後、培地を回収し、CYTO-ID (登録商標) Autophagy detection kit (エンゾライフサイエンス社製) に付属の0.5% FBSを含有するWash Bufferを用いて細胞を洗浄した。その後、細胞を、オートファジー検出用の蛍光プローブであるCYTO-ID (登録商標) Green (エンゾライフサイエンス社製) 及び核染色試薬であるHoechst (登録商標) 33342 (ヘキスト社製) を含有する緩衝液に浸し、37℃、5% CO₂濃度の条件下で30分間静置した。

[0127] 静置後の細胞を4%ホルムアルデヒド液で固定した。固定された細胞は、VECTASHIELD Mounting Medium (ベクターラボラトリーズ社製) に封入して観察用試料とした。

[0128] (1-4) オートファゴソーム形成の観察

(1-3) で得られた観察用試料における緑色の蛍光を、倒立蛍光顕微鏡を用いて観察することで、オートファジー活性を示すオートファゴソーム形成の有無を評価した。

図1に観察結果(顕微鏡写真)を示す。

[0129] (2) 結果及び考察

図1に示されるように、陽性対照、化合物1又は化合物2を含む試験用培地で培養した細胞において、オートファゴソームの形成を示す緑色の蛍光が確認された(図1の矢印部分)。

この結果から、化合物1及び化合物2によって、細胞のオートファジーが誘導されたことが分かった。

一方、陰性対照では、緑色の蛍光は確認されなかった。

[0130] [試験2] 肝がん由来細胞を用いたオートファジー活性の定量的評価

試験1で観察された化合物1又は化合物2のオートファジーの活性作用を定量的に検出した。

[0131] (1) 試験方法

(1-1) 肝がん由来細胞HepG2の培養

肝がん由来細胞HepG2 2.5×10^4 個を96ウェルプレート (Falcon社製) に播種し、10%FBSを含有するDMEMで、37℃、5% CO₂濃度の条件下で24時間培養した。その後、細胞を試験1の(1)(1-1)で調製した試験用培地を用いて同条件で24時間培養した。また、陰性対照、陽性対照についても試験1と同様に培養をした。続いて、クロキンを、最終濃度が10μMとなるように各培地に添加し、37℃、5% CO₂濃度の条件下で6時間培養し、リソソーム活性を阻害した。

[0132] (1-2) 測定用試料の調製

培養した細胞を、CYTO-ID (登録商標) Autophagy detection kitに付属の0.5% FBSを含有するWash Bufferを用いて洗浄した。

その後、オートファジー検出用の蛍光プローブであるCYTO-ID (登録商標) Green及び核染色試薬であるHoechst (登録商標) 33342を含有する緩衝液に浸し、37℃、5% CO₂濃度の条件下で30分間静置した。静置後、上記Wash Bufferを用いて2回の洗浄を行い測定用試料とした。なお、核染色試薬による染色は、細胞数の標準化を行うために行った。

[0133] (1-3) オートファジーの活性の測定

各ウェルにキット付属のAssay Buffer (エンゾライフサイエンス社製) を100μL添加し、蛍光マイクロプレートリーダーSH-9000 (コロナ電気社製) を用いて、蛍光強度を測定した。オートファジー検出用の蛍光プローブ由来の蛍光は、励起フィルター480nm及び蛍光フィ

ルター530nmの条件で測定した。また、各染色試薬由来の蛍光は、励起フィルター340nm、蛍光フィルター480nmの条件で測定した。

[0134] (2) 試験結果

蛍光マイクロプレートリーダーにて測定した、化合物1又は化合物2に暴露された細胞の蛍光強度の測定結果を表1に示す。なお、各群3ウェルとし表中のp値は、Student t検定による有意確率を示す。

[0135] [表1]

表1

	オートファジー誘導 (CYTO-ID 蛍光強度 /Hoechst33342 蛍光強度)	標準誤差	有意確率 (対陰性対照)
陽性対照	93	14	0.01
陰性対照	33	3	1.00
化合物1 ロフェノール化合物	48	6	0.06
化合物2 シクロラノスタン化合物	49	2	0.07

[0136] (3) 考察

表1に示されるとおり、化合物1又は化合物2に暴露した細胞で、陰性対照に対して有意に高い蛍光強度が測定された。これより、化合物1又は2にはオートファジー活性化作用を有することが確認された。

また、別途、化合物1又は化合物2を1.0μM含む培地を用いた試験を同様に行った。その結果、化合物1又は化合物2によるオートファジー活性化作用は濃度依存的であることも確認された。

[0137] [試験3] DNA損傷抑制作用の評価

本試験では、ヘアレスマウスを用いて、化合物1、化合物2、もしくはこれらを含む組成物のDNA損傷に対する修復作用について検討した。

[0138] (1) 飼料の調製

化合物1及び化合物2をAIN-93G飼料に添加し、化合物1及び化合

物2を総量で0.00002% (0.2 ppm) 含む試験飼料を作製した。また、対照飼料として、通常のAIN-93Gを用いた。なお、試験飼料における化合物1及び化合物2の質量比は、アロエ粉末に含まれる各化合物の質量比に依存するため、5:1~1:5の範囲内である。以下の方法により、DNA損傷の生成、ならびにDNA損傷修復酵素の発現に対する作用について検討した。

[0139] (2) 試験方法

H o s : H R - 1 マウス (7 週 齢、メス) は、星野試験動物飼育所 (日本エスエルシー) より購入した。15匹のマウスを1週間の予備飼育の後、5匹ずつ以下の3つの設定群に群分けした。

[0140] [表2]

表2

設定群	処理内容
UVB非照射群	紫外線照射なし
対照群	紫外線照射あり、通常飼料
試験飼料群	紫外線照射あり、試験飼料

[0141] 群分け後、UVB非照射群及び対照群には、そのままAIN-93G飼料を与え、試験飼料群には、化合物1及び化合物2を含有する試験飼料を与えて、14日間飼育した。14日目に対照群及び試験飼料群に、UVB180 mJ/cm²を単回照射した。UVB非照射群にはUVB照射は行わなかった。

UVB非照射群については14日間の飼育終了後に、対照群及び試験飼料群については、UVB照射前と照射24時間後に、背部皮膚組織を採取し、DNA光産物量を測定するとともに、光修復酵素の発現量変化を測定した。

DNA光産物量については、DNA損傷の指標となる、シクロブタン型二量体 (CPD) および6-4光産物 (6-4PP) の量を、OxiSelect Cellular UV-Induced DNA Damage ELISA Kit (CPD) およびOxiSelect Cellular UV-Induced DNA Damage ELISA Kit (6-

4 P P) を用いて測定した。(PLOS ONE October 2013, Vol. 8 Issue 10 e77308参照)。

また、光修復酵素の発現量についてはヌクレオチド修復に関わる修復酵素であるXPAおよびXPCの発現をリアルタイムRT-PCR法により測定した。RT-PCRのオリゴヌクレオチドは、タカラバイオ社のXPA MA128484、XPC MA096119を利用した。

[0142] (3) 試験結果

結果を表3および表4に示す。表4に示すXPAおよびXPCの発現量は、UVB非対照群に対する相対値として示す。

[0143] [表3]

表3

設定群	CPD	6-4PP
UVB 非照射群	10.6±1.0	632.4±163.2
対照群	744.2±312.2	1574.8±247.4
試験飼料群	514.9±99.2	1181.6±151.4

(ng/mgDNA)

[0144] 表3の結果からも明らかなように、CPD及び6-4PPの産生は、紫外線の照射により顕著に増加することが確認された(対照群)。この対照群に対し、試験飼料群では、CPD及び6-4PPの産生が有意に抑制されていることが確認された。

[0145] [表4]

表4

群	XPA	XPC
UVB 非照射群	1.00±0.04	1.00±0.09
対照群	0.57±0.03	0.64±0.03
試験飼料群	0.74±0.05	0.83±0.04

[0146] 表4の結果から明らかなように、ヌクレオチド修復に関わる修復酵素であるXPAおよびXPCの発現量は、紫外線の照射により有意に低値を示すことが確認された(対照群)。これに対し、試験飼料群では、これらの修復酵

素の発現が有意に回復することが明らかになった。

[0147] [試験4]

本試験では、3次元皮膚モデルEFT-400 (MatTek社製)を用いて、シクロラノスタン化合物、またはロフェノール化合物を添加培養することにより、紫外線照射によって誘導されるDNA損傷の形成を抑制させる作用について検討を行った。

[0148] (1) 試験方法

(1-1) 試験用培地の調製

化合物1又は化合物2をDMSOに溶解し、それをEFT-400-ASY培地 (MatTek社製:クラボウ株式会社より入手) に添加することにより、化合物1又は化合物2を1 μ M、DMSOを0.2%含む試験用培地を調製した。

また、陰性対照として、DMSOを0.2%含む試験用培地を調製した。

[0149] (1-2) 皮膚モデルの培養

3次元皮膚モデルは、EFT-400専用培地 (MatTek社製) で37°C、5%CO₂条件下で培養した。前述した試験用培地、又は対照培地を用いて、3次元皮膚モデルを4日間培養した。5日目に培地を回収後、3次元皮膚モデルをPBS(-)で洗浄した後、PBS(-)2.5mLに3次元皮膚モデルを浸し、UVB120mJ/cm²を照射した。3次元皮膚モデルを、再び試験用培地又は対照培地に移して6時間培養した。併せて、UVBを照射せずにDMSOを0.2%含む試験用培地で6時間培養した。

3次元皮膚モデルをホルマリン固定、パラフィン包埋し、5 μ mの厚さに薄切した。切片は、EDTAバッファー存在下で熱処理し、1次抗体としてMonoclonal anti-Thymine Dimer CPD抗体 H3(abcam)5 μ g/mLを、2次抗体として100倍希釈したRabbit anti-mouse Immunoglobulin-FITC(DACO)を用いて、Thymine Dimerの染色を行った。

[0150] (2) 試験結果

図1に紫外線照射した3次元皮膚モデルの組織切片をThymine Dimer抗体にて抗体染色した顕微鏡写真を示す。

UVB非照射群においては、DNA損傷の指標であるThymine Dimer (CPD)の形成は確認されなかった。

紫外線を照射した対照群においては、DNA損傷の指標であるThymine Dimer (CPD)の形成が確認されたことから、紫外線の照射により細胞のDNA損傷が誘発されていることが示された。一方、化合物1又は化合物2の存在下で培養することにより、紫外線照射条件においてもThymine Dimerの形成が減少しており、被験物質が紫外線照射によるDNA損傷を抑制することが示された。

化合物1又は化合物2を1 μ M含む飼料には、DNAの損傷を抑制する作用があることが認められた。

[0151] 以上試験1～4の結果から、化合物1又は化合物2は、オートファジー活性化作用、及びDNA損傷抑制作用を有することが明らかとなった。これより、化合物1又は化合物2は、抗老化組成物の有効成分として用いることができることが判った。

[0152] [製造例1]

次の組成からなる抗老化効果を有する医薬組成物を、以下の方法により製造した。

ロフェノール化合物と、及びシクロラノスタン化合物とを、ロフェノール化合物：シクロラノスタン化合物＝1：1の質量比で含有した混合物に、カルボキシメチルセルロース (CMC：第一工業製薬株式会社製)を添加し分散させて調製した前記混合物を0.001質量%含有する組成物を2質量%、中鎖脂肪酸 (MCT：理研ビタミン株式会社製) 2質量%、グリセリン脂肪酸エステル (理研ビタミン株式会社製)を4質量%、サポニン (丸善製薬株式会社製)を0.5質量%、エタノール (日本アルコール産業株式会社製)を0.2質量%、マルチトール (株式会社林原製)を1.3質量%、グリセリン (日油株式会社製)を78質量%、さらに水を添加して全量が100

質量%、となるように混合して、ロフェノール化合物（化合物1）及びシクロラノスタン化合物（化合物2）の混合物が最終濃度で0.00002質量%含有するシロップ状の製剤を製造した。

製造例1の医薬組成物は、オートファジー活性化作用を有し、抗老化のために用いることができる。

[0153] [製造例2]

次の組成からなる抗老化効果を有する飲食品組成物を、以下の方法により製造した。

ロフェノール化合物と、及びシクロラノスタン化合物とを、ロフェノール化合物：シクロラノスタン化合物＝6.1：3.9の質量比で含有した混合物を4質量%含有し、その他に中鎖脂肪酸（MCT：理研ビタミン株式会社製）2質量%、グリセリン脂肪酸エステル（理研ビタミン株式会社製）4質量%、サポニン（丸善製薬株式会社製）0.5質量%、エタノール（日本アルコール産業株式会社製）0.2質量%、マルチトール（株式会社林原製）1.3質量%、グリセリン（日油株式会社製）78質量%、水10質量%を混合して、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物を含有する食品添加剤を製造した。

[0154] 製造した食品添加剤を飲料に加えて均一に混合することにより、ロフェノール化合物（化合物1）及びシクロラノスタン化合物（化合物2）の混合物が最終濃度で0.00002質量%含有する飲食品組成物を製造した。

製造例2の飲食品組成物は、オートファジー活性化作用を有し、抗老化のために用いることができる。

[0155] [製造例3]

<クリーム>

以下に示す処方で抗老化効果を発揮するクリームを製造した。

(処方)

(1) ステアリン酸 5.0質量%

(2) ステアリルアルコール 4.0質量%

- (3) イソプロピルミリステート 18.0質量%
- (4) グリセリンモノステアリン酸エステル 3.0質量%
- (5) プロピレングリコール 10.0質量%
- (6) シクロラノスタン化合物およびロフェノール化合物混合物 0.0002質量%
- (7) 苛性カリ 0.2質量%
- (8) 亜硫酸水素ナトリウム 0.01質量%
- (9) 防腐剤 適量
- (10) 香料 適量
- (11) イオン交換水 残余

[0156] (製法)

イオン交換水に(5)～(7)を加えて溶解し、加熱して70℃に保って水相部を調製した。さらに前記水相部とは別に、残りの成分をすべて混合し、加熱融解して70℃に保って油相部を調製した。次に、水相部に油相部を徐々に加え、全部加え終わってからしばらくその温度に保った後、ホモミキサーで均一に乳化し、よく混合しながら30℃まで冷却してクリームを調製した。

[0157] [製造例4]

<乳液>

以下に示す処方方で、抗老化効果を発揮する乳液を製造した。

(処方)

- (1) ステアリン酸 2.5質量%
- (2) セチルアルコール 1.5質量%
- (3) ワセリン 5.0質量%
- (4) 流動パラフィン 10.0質量%
- (5) ポリオキシエチレン(10モル)モノオレイン酸エステル 2.0質量%
- (6) ポリエチレングリコール1500 3.0質量%

- (7) トリエタノールアミン 1.0質量%
- (8) カルボキシビニルポリマー 0.05質量%
- (9) シクロラノスタン化合物およびロフェノール化合物混合物 0.00002質量%
- (10) 亜硫酸水素ナトリウム 0.01質量%
- (11) エチルパラベン 0.3質量%
- (12) 香料 適量
- (13) イオン交換水 残余

[0158] (製法)

イオン交換水の一部に(8)を溶解して1液とした。さらに前記1液とは別に、残りのイオン交換水に(6)と(7)を加え、加熱溶解して70℃に保ち2液とした。また、前記1液および2液とは別に、残りの成分をすべて混合し、70℃で溶解して3液とした。次いで、2液に3液を加えた後、さらに、これに1液を加えてホモキサーで均一乳化し、乳化後よくかき混合しながら30℃まで冷却して乳液を調製した。

[0159] [製造例5]

以下に示す処方で、抗老化効果を発揮するサンスクリーン剤を製造した。

<サンスクリーン剤>

(処方)

- (1) 環状シリコン 21.9質量%
- (2) 酸化亜鉛 10.0質量%
- (3) 酸化チタン 10.0質量%
- (4) ジメチコン 5.5質量%
- (5) メトキシケイヒ酸オクチル 5.5質量%
- (6) グリセリン 3.0質量%
- (7) クオタニウム-18ベントナイト 1.0質量%
- (8) ジグリセリン 1.0質量%
- (9) フェノキシエタノール 0.1質量%

(10) シクロラノスタン化合物およびロフェノール化合物混合物 0.0002質量%

(11) 香料 適量

(12) メチルパラベン 0.1質量%

(13) エタノール 1.0質量%

(14) 1,3-ブチレングリコール 3.0質量%

(15) イオン交換水 残余

[0160] (製法)

(1) ~ (11) を室温で攪拌しながら分散し、A相とした。水と1,3-ブチレングリコールを室温で攪拌溶解し、B相とした。メチルパラベンとエタノールを室温で攪拌溶解し、C相とした。A相をディスパーでかき混ぜながら、B相とC相を加えて乳化した(1000rpm、3分間)。その後パドルでかき混ぜながら35℃まで冷却した。

[0161] 製造例3~5の化粧品組成物は、オートファジー活性化作用を有し、抗老化のために用いることができる。

産業上の利用可能性

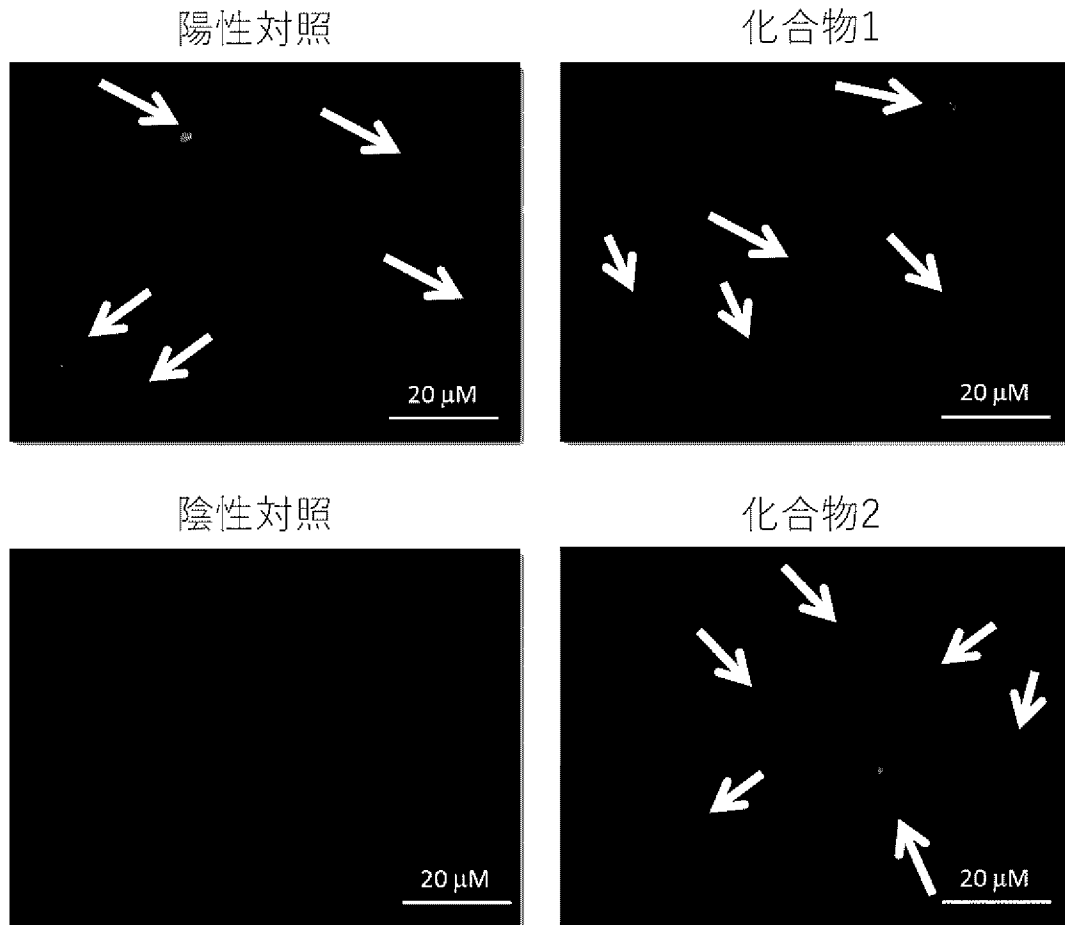
[0162] 本発明は、老化に起因する症状の予防又は改善、治療、並びに、美白や保湿をはじめとするアンチエイジング美容を目的とした飲食品組成物や化粧品組成物の製造に利用できる。

請求の範囲

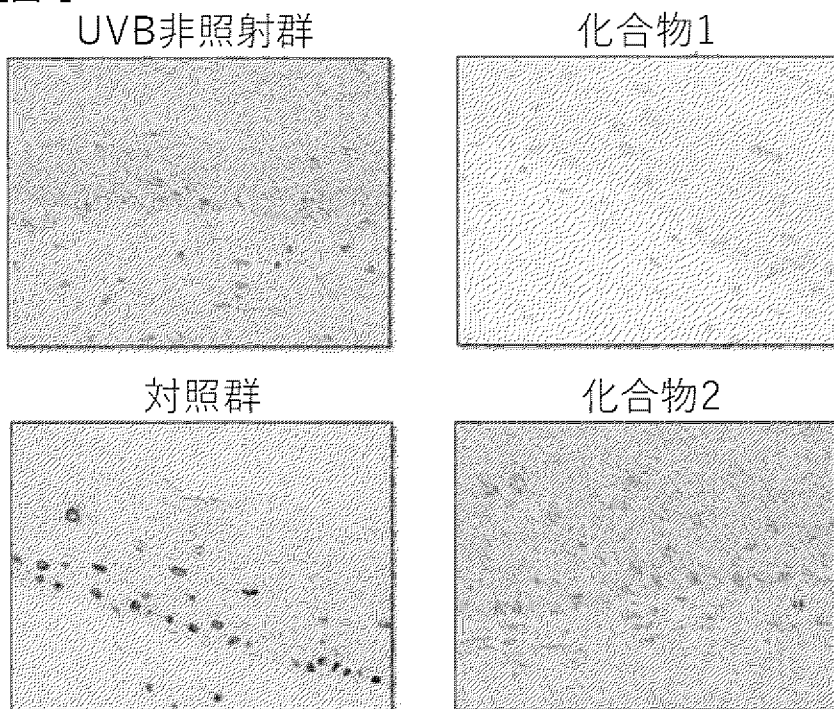
- [請求項1] ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される1又は複数の化合物を有効成分として含有する、抗老化用組成物。
- [請求項2] シクロラノスタン化合物が、9, 19-シクロラノスタン-3-オール、及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールからなる群から選択される、請求項1に記載の抗老化用組成物。
- [請求項3] ロフェノール化合物が、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール、及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールからなる群から選択される、請求項1又は2に記載の抗老化用組成物。
- [請求項4] 前記化合物を総量で0.00001質量%以上含有する、請求項1～3のいずれか一項に記載の抗老化用組成物。
- [請求項5] オートファジーを活性化させるための、請求項1～4のいずれか一項に記載の抗老化用組成物。
- [請求項6] 美白用又は保湿用である、請求項1～5のいずれか一項に記載の抗老化用組成物。
- [請求項7] 飲食品組成物又は化粧品組成物である、請求項1～6のいずれか一項に記載の抗老化用組成物。
- [請求項8] 医薬組成物である、請求項1～6に記載のいずれか一項に記載の抗老化用組成物。
- [請求項9] 乾癬、感染症、骨格筋減少症、皮膚萎縮、糸球体硬化症、又は腎不全の予防又は改善のために用いられる、請求項8に記載の抗老化用組成物。
- [請求項10] 抗老化用組成物の製造における、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される化合物の使用。
- [請求項11] 抗老化のために用いられる、ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選択される化合物。

[請求項12] ロフェノール化合物及びシクロラノスタン化合物からなる群から選
 択される化合物を、対象に投与することを含む、抗老化方法。

[図1]



[図2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/011149

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int.Cl. A61K31/575 (2006.01) i, A23L33/10 (2016.01) i, A61K8/63 (2006.01) i, A61P13/12 (2006.01) i, A61P17/00 (2006.01) i, A61P17/06 (2006.01) i, A61P17/16 (2006.01) i, A61P21/00 (2006.01) i, A61P31/00 (2006.01) i, A61P43/00 (2006.01) i, A61Q19/00 (2006.01) i, A61Q19/02 (2006.01) i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. A61K31/575, A23L33/10, A61K8/63, A61P13/12, A61P17/00, A61P17/06, A61P17/16, A61P21/00, A61P31/00, A61P43/00, A61Q19/00, A61Q19/02		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Published examined utility model applications of Japan		1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan		1971-2019
Registered utility model specifications of Japan		1996-2019
Published registered utility model applications of Japan		1994-2019
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), WPIDS/WPIX (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2016/084957 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 02 June 2016, claims, paragraphs [0033], [0036]-[0068], [0070]-[0072], [0091]-[0115] & US 2017/0319600 A1 & EP 3225242 A1 & CN 106999504 A & KR 10-2017-0088965 A	1-4, 7-11 5, 6
X Y	WO 2008/028097 A2 (NULIV HOLDING INC. et al.) 06 March 2008, paragraphs [0016], [0044]-[0094], claims & US 2008/0057010 A1 & CN 101134009 A	1, 2, 4, 7-11 5, 6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10.04.2019		Date of mailing of the international search report 14.05.2019
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/011149

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2010/058795 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 27 May 2010, paragraphs [0033]-[0058], [0096]-[0109], claims & US 2011/0212931 A1 & EP 2377874 A1 & CN 102216317 A & KR 10-2011-0084246 A	1, 4, 6-11 5
X Y	WO 2010/058794 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 27 May 2010, paragraphs [0080]-[0094], claims & US 2011/0212910 A1 & WO 2010/058794 A1 & CN 102216318 A & KR 10-2011-0084245 A	1, 4, 6-11 5
X Y	WO 2015/015815 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 05 February 2015, paragraphs [0003], [0020]-[0035], [0093], [0101]-[0111] (Family: none)	1, 2, 4, 6-11 5
X Y	WO 2015/015816 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 05 February 2015, paragraphs [0003], [0020]-[0035], [0101]-[0111] (Family: none)	1, 3, 4, 6-11 5
Y	RODRIGUES, D. et al, Mechanism of aloe vera extract protection against UVA: shelter of lysosomal membrane avoids photodamage, Photochemical and Photobiological Sciences, March 2016, vol. 15, no. 3, pp. 334-350	5
Y	JO, Y. K. et al, ARP101, a selective MMP-2 inhibitor, induces autophagy-associated cell death in cancer cells, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, vol. 404, pp. 1039-1043	5
Y	WO 2016/088968 A1 (CAREGEN CO., LTD.) 09 June 2016, claims & JP 2018-505850 A & US 2017/0267721 A1 & EP 3228626 A1 & CN 107001420 A	6
Y	JP 2007-326858 A (LIN, C. H.) 20 December 2007, claims & US 2008/0124405 A1 & EP 1880719 A2 & CN 101084944 A	6
Y	JP 2006-213644 A (NRL PHARMA INC.) 17 August 2006, claims (Family: none)	6
A	WO 2016/084956 A1 (MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) 02 June 2016, entire text & US 2017/0319599 A1 & EP 3225241 A1 & CN 106999503 A & KR 10-2017-0086120 A	1-11

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. A61K31/575(2006.01)i, A23L33/10(2016.01)i, A61K8/63(2006.01)i, A61P13/12(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P17/06(2006.01)i, A61P17/16(2006.01)i, A61P21/00(2006.01)i, A61P31/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, A61Q19/00(2006.01)i, A61Q19/02(2006.01)i</p>			
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>Int.Cl. A61K31/575, A23L33/10, A61K8/63, A61P13/12, A61P17/00, A61P17/06, A61P17/16, A61P21/00, A61P31/00, A61P43/00, A61Q19/00, A61Q19/02</p>			
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <p>日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2019年 日本国実用新案登録公報 1996-2019年 日本国登録実用新案公報 1994-2019年</p>			
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p> <p>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), WPIDS/WPIX (STN)</p>			
<p>C. 関連すると認められる文献</p>			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
X Y	WO 2016/084957 A1 (森永乳業株式会社) 2016.06.02, 請求の範囲, [0033], [0036]-[0068], [0070]-[0072], [0091]-[0115] & US 2017/0319600 A1 & EP 3225242 A1 & CN 106999504 A & KR 10-2017-0088965 A	1-4, 7-11 5, 6	
X Y	WO 2008/028097 A2 (NULIV HOLDING INC. et al) 2008.03.06, [0016], [0044]-[0094], CLAIMS & US 2008/0057010 A1 & CN 101134009 A	1, 2, 4, 7-11 5, 6	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。		<input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。	
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの</p> <p>「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)</p> <p>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</p>		<p>の日の後に公表された文献</p> <p>「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>「&」同一パテントファミリー文献</p>	
<p>国際調査を完了した日</p> <p>10.04.2019</p>		<p>国際調査報告の発送日</p> <p>14.05.2019</p>	
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁 (ISA/J P)</p> <p>郵便番号 100-8915</p> <p>東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>		<p>特許庁審査官 (権限のある職員)</p> <p>清野 千秋</p>	<p>4N 3127</p>
		<p>電話番号 03-3581-1101 内線 3488</p>	

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	WO 2010/058795 A1 (森永乳業株式会社) 2010. 05. 27, [0033]-[0058], [0096]-[0109], 請求の範囲 & US 2011/0212931 A1 & EP 2377874 A1 & CN 102216317 A & KR 10-2011-0084246 A	1-4, 6-11 5
X Y	WO 2010/058794 A1 (森永乳業株式会社) 2010. 05. 27, [0080]-[0094], 請求の範囲 & US 2011/0212910 A1 & WO 2010/058794 A1 & CN 102216318 A & KR 10-2011-0084245 A	1, 4, 6-11 5
X Y	WO 2015/015815 A1 (森永乳業株式会社) 2015. 02. 05, [0003], [0020]-[0035], [0093], [0101]-[0111] (ファミリーなし)	1, 2, 4, 6-11 5
X Y	WO 2015/015816 A1 (森永乳業株式会社) 2015. 02. 05, [0003], [0020]-[0035], [0101]-[0111] (ファミリーなし)	1, 3, 4, 6-11 5
Y	RODRIGUES, Daniela et al, Mechanism of Aloe Vera extract protection against UVA: shelter of lysosomal membrane avoids photodamage, Photochemical and Photobiological Sciences, 2016. 03, Vol. 15, No. 3, pp. 334-350	5
Y	JO, Yoon Kyung et al, ARP101, a selective MMP-2 inhibitor, induces autophagy-associated cell death in cancer cells, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, Vol. 404, pp. 1039-1043	5
Y	WO 2016/088968 A1 (ケアジェン カンパニー, リミテッド) 2016. 06. 09, 特許請求の範囲 & JP 2018-505850 A & US 2017/0267721 A1 & EP 3228626 A1 & CN 107001420 A	6
Y	JP 2007-326858 A (林 志雄) 2007. 12. 20, 特許請求の範囲 & US 2008/0124405 A1 & EP 1880719 A2 & CN 101084944 A	6
Y	JP 2006-213644 A (株式会社NR Lファーマ) 2006. 08. 17, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	6
A	WO 2016/084956 A1 (森永乳業株式会社) 2016. 06. 02, 全文 & US 2017/0319599 A1 & EP 3225241 A1 & CN 106999503 A & KR 10-2017-0086120 A	1-11