

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4054730号
(P4054730)

(45) 発行日 平成20年3月5日(2008.3.5)

(24) 登録日 平成19年12月14日(2007.12.14)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 8/97 (2006.01)	A 6 1 K 8/97
A 6 1 K 8/67 (2006.01)	A 6 1 K 8/67
A 6 1 Q 19/02 (2006.01)	A 6 1 Q 19/02
A 6 1 K 36/28 (2006.01)	A 6 1 K 35/78 T
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1

請求項の数 4 (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2003-273744 (P2003-273744)
 (22) 出願日 平成15年7月11日(2003.7.11)
 (65) 公開番号 特開2005-29546 (P2005-29546A)
 (43) 公開日 平成17年2月3日(2005.2.3)
 審査請求日 平成18年5月12日(2006.5.12)

(73) 特許権者 593106918
 株式会社ファンケル
 神奈川県横浜市中区山下町89番地1
 (74) 代理人 100105061
 弁理士 児玉 喜博
 (74) 代理人 100122954
 弁理士 長谷部 善太郎
 (72) 発明者 高橋 美奈子
 神奈川県横浜市戸塚区上品濃12-13
 株式会社ファンケル 中央研究所内
 (72) 発明者 金 辰也
 神奈川県横浜市戸塚区上品濃12-13
 株式会社ファンケル 中央研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 α-グルコシダーゼ活性化剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

エチナシ抽出物を有効成分とする α-グルコシダーゼ活性化剤。

【請求項2】

請求項1記載の α-グルコシダーゼ活性化剤とアスコルビン酸誘導体を含むことを特徴とする皮膚外用剤。

【請求項3】

アスコルビン酸誘導体が2-O-β-D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸であることを特徴とする請求項2記載の皮膚外用剤。

【請求項4】

請求項1記載の α-グルコシダーゼ活性化剤を含むことを特徴とする美白剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は α-グルコシダーゼを活性化させる α-グルコシダーゼ活性化剤およびアスコルビン酸誘導体を配合することを特徴とした皮膚外用剤に関する。

【背景技術】

【0002】

L-アスコルビン酸は、表皮メラノサイトのメラニン生成抑制や紫外線による炎症抑制、真皮繊維芽細胞のコラーゲン産生促進などについて優れた効果を有しており、肌のしみ

・そばかす等の予防や治療を目的とした美白化粧品や、しわの予防や皮膚保湿を目的とした老化防止化粧品の配合成分として、汎用されている成分である。

【0003】

しかしながら、L-アスコルビン酸は自身が酸化されることにより直接還元性を示すことから、光、酸化、熱に対して不安定でありその効果を失いやすいという性質を持っており、L-アスコルビン酸を安定化させる方法として、脂肪酸とのエステル化（特許文献1）や糖誘導体化（特許文献2）が提案されている。

【0004】

その中でもグルコースにより誘導体化させた2-O-β-D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸は、直接還元性を示さず安定性に優れ、さらに生体内で生成され代謝される物質であり安全性に優れている。

10

【0005】

2-O-β-D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸は、表皮及び真皮内でβ-D-グルコシダーゼにより徐々にL-アスコルビン酸とグルコースに分解され、L-アスコルビン酸としての効果を発揮することが認められているが、同じL-アスコルビン酸の誘導体であるL-アスコルビルリン酸マグネシウムより皮膚内でのアスコルビン酸転換速度が遅いことが明らかになっている。（非特許文献1）。

【0006】

したがって、2-O-β-D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸の様々な効果を高めるためには、皮膚内のβ-D-グルコシダーゼ活性を高めればよい。しかし、外用剤の塗布で皮膚内のβ-D-グルコシダーゼの活性を向上させる方法はこれまで試みられたことはなく、このような効果を有する物質は今まで知られていなかった。また、皮膚のβ-D-グルコシダーゼを活性化する物質を含有する美白剤は知られていない。

20

【0007】

【特許文献1】特公昭55-45546号公報

【特許文献2】特願平1-127072号公報

【非特許文献1】FRAGRANCE JOURNAL 1997, No.9, p28-36

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

グルコースにより誘導体化させたアスコルビン酸誘導体は、直接還元性を示さず安定性に優れ、さらに生体内で生成され代謝される物質であり安全性に優れている。アスコルビン酸誘導体は、表皮及び真皮内でβ-D-グルコシダーゼによりL-アスコルビン酸に分解されて効果を発揮する。したがって、皮膚内でのアスコルビン酸転換速度がアスコルビン酸の効果を発揮するための律速となっており、各種誘導体をすみやかにL-アスコルビン酸に分解させ、L-アスコルビン酸としての効果を発揮させることが必要である。本発明は、β-D-グルコシダーゼ活性化作用を有する物質を配合した優れた美白、老化防止作用皮膚外用剤を提供することが課題である。

30

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者は、β-D-グルコシダーゼの活性を上昇させる特定成分を見出し、アスコルビン酸誘導体と共に適用することにより、優れた美白、老化防止作用を持つ皮膚外用剤が得られることを見出し、本発明を完成させた。

40

すなわち、本発明は、

(1) エチナシ抽出物を有効成分とするβ-D-グルコシダーゼ活性化剤、

(2) (1)記載のβ-D-グルコシダーゼ活性化剤とアスコルビン酸誘導体を含有することを特徴とする皮膚外用剤、

(3) アスコルビン酸誘導体が2-O-β-D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸であることを特徴とする(2)記載の皮膚外用剤、

(4) (1)記載のβ-D-グルコシダーゼ活性化剤を含有することを特徴とする美白剤、

50

に関する。

【発明の効果】

【0010】

本発明により、 α -グルコシダーゼの活性を上昇させる特定成分とアスコルビン酸誘導体と一緒に適用することにより、優れた美白、老化防止作用を持つ皮膚外用剤を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

本発明においては、美白剤として皮膚内の α -グルコシダーゼ活性を上昇させる α -グルコシダーゼ活性化剤を含有させる。

【0012】

本発明の α -グルコシダーゼ活性化剤には、エチナシ抽出物配合することができる。なお、本発明外の α -グルコシダーゼ活性化剤として、酵母抽出物、ビフィズス菌抽出物、乳酸菌抽出物を参考として示す。

【0013】

本発明におけるエチナシとは、キク科、多年草植物であるエキナセア・プルプレア・メンチ (*Echinacea purpurea* Moench)、エキナセア・アングスチフォリア (*Echinacea angustifolia*)、エキナセア・パリダ (*Echinacea pallida*) である。葉、茎、芽、花、木質部、木皮部 (以上、地上部)、根部など全ての部位が利用可能である。

【0014】

本発明に使用される抽出物は生鮮エチナシを乾燥し細切りし、水若しくは1, 3-ブチレングリコール、エタノール等の有機溶媒の単独若しくは混合物にて常温若しくは加熱下に抽出して、淡黄色若しくは黄褐色の抽出液として得られる。これらは、市販されているものを使用することができる。

【0015】

本発明の皮膚外用剤へのエチナシ抽出物の配合量としては、それぞれ0.001~20質量%、好ましくは0.01~10質量%が好ましいが、用いる剤型、使用対象等の様々の条件に応じて、その配合量を適宜設定できる。

【0016】

酵母抽出物としては、酵母の極性溶媒による抽出物、酵母を自己消化、酸加水分解又は酵素分解等により溶菌させた後ろ過したもの、或いは前記溶菌液を乾燥し、それより極性溶媒で抽出した物を用いることができる。抽出には、*Eremascus*属、*Endomyces*属等*Endomycetaceae*科に属する酵母や、*Schizosaccharomyces*属、*Nadsonia*属、*Saccharomycodes*属、*Hanseniaspora*属、*Wickerhamia*属、*Saccharomyces*属、*Kluyveromyces*属、*Lodderomyces*属、*Wingea*属、*Endomycopsis*属、*Pichia*属、*Hansenula*属、*Pachysolen*属、*Citeromyces*属、*Debaryomyces*属、*Schwanniomyces*属、*Dekkera*属、*Saccharomycopsis*属、*Lipomyces*属等の*Saccharomycotina*科に属する酵母、*Spermophthora*属、*Eremothecium*属、*Crebrothecium*属、*Ashbya*属、*Nematospora*属、*Metschnikowia*属、*Coccidiascus*属等の*Spermophthoraceae*科に属する酵母などの子う菌酵母が好ましく用いられる。酵母抽出物の配合量は0.001~20質量%、好ましくは0.01~10質量%である。

【0017】

ビフィズス菌抽出物は、例えばビフィドバクテリウム・ビフィダム (*Bifidobacterium bifidum*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*)、ビフィドバクテリウム・アドレスセンティス (*Bifidobacterium adolescentis*)、ビフィドバクテリウム・インファンティス (*Bifidobacterium infantis*) 等のビフィズス菌の表面培養物を生理食塩水で洗浄し、超音波処理により不活性化することにより得られるものである。ビフィズス菌抽出物の配合量は0.001~20質量%、好ましくは0.01~10質量%である。

【0018】

10

20

30

40

50

乳酸菌抽出物は、例えばストレプトコッカス・ラクチス (Streptococcus lactis) , ストレプトコッカス・サーモフィルス (Streptococcus thermophilus) , ストレプトコッカス・クレモリス (Streptococcus cremolus) 等の乳酸球菌、ラクトバチルス・ブルガリクス (Lactobacillus bulgaricus) , ラクトバチルス・カゼイ (Lactobacillus casei) , ラクトバチルス・プランタルム (Lactobacillus plantarum) , ラクトバチルス・サリバリウス (Lactobacillus salivarius) , ラクトバチルス・アシドフィルス (Lactobacillus acidophilus) 等の乳酸桿菌などをスキムミルク、ペプトン、グルコース等、通常乳酸菌の培養に用いられる窒素源、炭素源、あるいはそれにニコチン酸またはニコチンアミド等のビタミンや酵母エキス、緩衝液等の添加剤を添加した培地を用いて培養して得る事が出来、必要に応じて遠心分離、濾過などにより固形物を除去したものや加熱などにより殺菌処理を行ったものも用いる事が出来る。また、培養物に防腐剤として多価アルコールを加えた後、澱びきしたのもも用いる事が出来る。乳酸菌抽出物の配合量は 0 . 0 0 1 ~ 2 0 質量%、好ましくは 0 . 0 1 ~ 1 0 質量%である。

10

【 0 0 1 9 】

本発明の皮膚外用剤は、化粧品、医薬部外品、医薬として用いることができ、例えば、水溶液、油剤、乳液、懸濁液等の液剤、ゲル、クリーム等の半固形剤、粉末、顆粒、カプセル、マイクロカプセル、固形等の固形剤の形態で適用可能である。従来から公知の方法でこれらの形態に調製し、ローション剤、乳剤、ゲル剤、クリーム剤、軟膏、硬膏、ハップ剤、エアゾル剤等の種々の剤型とすることができる。これらを身体に塗布、貼付、噴霧等により適用することができる。化粧品としては、化粧水、乳液、クリーム、パック等の顔用化粧品、ハンドクリーム、レッグクリーム、ボディローション等の身体用化粧品等とすることができる。

20

【 0 0 2 0 】

本発明組成物には、植物油のような油脂類、高級脂肪酸、高級アルコール、シリコーン、アニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤、非イオン界面活性剤、防腐剤、糖類、金属イオン封鎖剤、水溶性高分子のような高分子、増粘剤、粉体成分、紫外線吸収剤、紫外線遮断剤、ヒアルロン酸のような保湿剤、香料、pH調整剤等を含有させることができる。ビタミン類、皮膚活性剤、血行促進剤、常在菌コントロール剤、活性酸素消去剤、抗炎症剤、殺菌剤等の他の薬効成分、生理活性成分を含有させることもできる。

30

【 0 0 2 1 】

添加成分として使用する油脂類としては、例えば、オリーブ油、ツバキ油、月見草油、マカデミアナッツ油、ナタネ油、トウモロコシ油、ゴマ油、ホホバ油、胚芽油、小麦胚芽油、トリオクタン酸グリセリン、等の液体油脂、カカオ脂、ヤシ油、硬化ヤシ油、パーム油、パーム核油、モクロウ、モクロウ核油、硬化油、硬化ヒマシ油等の固体油脂、ミツロウ、キャンデリラロウ、綿ロウ、ヌカロウ、ラノリン、酢酸ラノリン、液状ラノリン、サトウキビロウ等のロウ類が挙げられる。

【 0 0 2 2 】

炭化水素類としては、例えば、流動パラフィン、スクワレン、スクワラン、マイクロクリスタリンワックス等が挙げられる。

40

【 0 0 2 3 】

高級脂肪酸として、例えば、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、ドコサヘキサエン酸 (D H A)、エイコサペンタエン酸 (E P A) 等が挙げられる。

【 0 0 2 4 】

高級アルコールとして、例えば、ベヘニルアルコール、ラウリルアルコール、ステアリルアルコール、セチルアルコール、セトステアリルアルコール等の直鎖アルコール、モノステアリルグリセリンエーテル、ラノリンアルコール、コレステロール、フィトステロー

50

ル、オクチルドデカノール等の分枝鎖アルコール等が挙げられる。

【 0 0 2 5 】

シリコーンとして、例えば、鎖状ポリシロキサンのジメチルポリシロキサン、メチルフェニルポリシロキサン等、環状ポリシロキサンのデカメチルシクロペンタシロキサン等が挙げられる。

【 0 0 2 6 】

アニオン界面活性剤として、例えば、ラウリン酸ナトリウム等の脂肪酸塩、ラウリル硫酸ナトリウム等の高級アルキル硫酸エステル塩、P O Eラウリル硫酸トリエタノールアミン等のアルキルエーテル硫酸エステル塩、N - アシルサルコシン酸、スルホコハク酸塩、N - アシルアミノ酸塩等が挙げられる。

10

【 0 0 2 7 】

カチオン界面活性剤として、例えば、塩化ステアリルトリメチルアンモニウム等のアルキルトリメチルアンモニウム塩、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム等が挙げられる。

【 0 0 2 8 】

両性界面活性剤として、例えば、アルキルベタイン、アミドベタイン等のベタイン系界面活性剤等が挙げられる。

【 0 0 2 9 】

非イオン界面活性剤として、例えば、ソルビタンモノオレエート等のソルビタン脂肪酸エステル類、硬化ヒマシ油誘導体が挙げられる。

20

【 0 0 3 0 】

防腐剤として、例えば、メチルパラベン、エチルパラベン等を挙げることができる。

【 0 0 3 1 】

金属イオン封鎖剤として、例えば、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、エデト酸、エデト酸ナトリウム塩等のエデト酸塩を挙げることができる。

【 0 0 3 2 】

高分子として、例えば、アラビアゴム、トラガカントガム、ガラクトン、グアーガム、カラギーナン、ペクチン、寒天、クインスシード、デキストラン、プルラン、カルボキシメチルデンプン、カゼイン、ゼラチン、メチルセルロース、メチルヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム (C M C)、アルギン酸ナトリウム、カルボキシビニルポリマー (C A R B O P O L 等) 等のビニル系高分子、等を挙げることができる。

30

【 0 0 3 3 】

増粘剤として、例えば、カラギーナン、トラガカントガム、クインスシード、カゼイン、デキストリン、ゼラチン、C M C、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、グアーガム、キサンタンガム、ベントナイト等を挙げることができる。

【 0 0 3 4 】

粉末成分としては、例えば、タルク、カオリン、雲母、シリカ、ゼオライト、ポリエチレン粉末、ポリスチレン粉末、セルロース粉末、無機白色顔料、無機赤色系顔料、酸化チタンコーテッドマイカ、酸化チタンコーテッドタルク、着色酸化チタンコーテッドマイカ等のパール顔料、赤色 2 0 1 号、赤色 2 0 2 号等の有機顔料を挙げることができる。

40

【 0 0 3 5 】

紫外線吸収剤としては、例えば、パラアミノ安息香酸、サリチル酸フェニル、パラメトキシケイ皮酸イソプロピル、パラメトキシケイ皮酸オクチル、2 , 4 - ジヒドロキシベンゾフェノン、等を挙げることができる。

【 0 0 3 6 】

紫外線遮断剤として、例えば、酸化チタン、タルク、カルミン、ベントナイト、カオリン、酸化亜鉛等を挙げることができる。

【 0 0 3 7 】

保湿剤として、例えば、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、ジプロピレ

50

ングリコール、1,3-ブチレングリコール、1,2-ペンタンジオール、グリセリン、ジグリセリン、ポリグリセリン、キシリトール、マルチトール、マルトース、ソルビトール、ブドウ糖、果糖、コンドロイチン硫酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、ピロリドンカルボン酸、シクロデキストリン等が挙げられる。

【0038】

薬効成分としては、例えば、ビタミンA油、レチノール等のビタミンA類、リボフラビン等のビタミンB₂類、ピリドキシン塩酸塩等のB₆類、L-アスコルビン酸リン酸エステル等のビタミンC類、パントテン酸カルシウム等のパントテン酸類、ビタミンD₂、コレカルシフェロール等のビタミンD類； α -トコフェロール、酢酸トコフェロール、ニコチン酸DL- α -トコフェロール等のビタミンE類等のビタミン類を挙げることができる。

10

【0039】

プラセンタエキス、グルタチオン等の美白剤、ローヤルゼリー、ぶなの木エキス、海洋深層水等の皮膚活性剤、カプサイシン、ジンゲロン、カンタリスチンキ、イクタモール、カフェイン、タンニン酸、 α -オリザノール等の血行促進剤、グリチルリチン酸誘導体、アズレン等の消炎剤、アルギニン、ロイシン、トリプトファン等のアミノ酸類、常在菌コントロール剤のマルトースシヨ糖縮合物、塩化リゾチーム等を挙げることができる。

さらに、カミツレエキス、ユキノシタエキス、パセリエエキス、バナバエキス、シャクヤクエキス、グレープフルーツエキス、スイカズラエキス、コメエキス、ブドウエキス、ホップエキス、ビワエキス、オウバクエキス、ヨクイニンエキス、センブリエキス、メリロートエキス、バーチエキス、カンゾウエキス、サボンソウエキス、ヘチマエキス、トウガラシエキス、レモンエキス、ゲンチアナエキス、シソエキス、アロエ(アロエベラ)エキス、ローズマリーエキス、セージエキス、タイムエキス、茶エキス、海藻エキス、キューカンバーエキス、チョウジエキス、ニンジンエキス、マロニエエキス、ハマメリスエキス、キウイエキス、センテラアジアチカエキス、リンゴエキス等の各種抽出物を挙げることができる。

20

【0040】

上記植物の抽出物は市販のものを使用できるが、それぞれの植物を水又はエタノール、1,3-ブチレングリコール、1,2-ペンタンジオール、プロピレングリコール等のような有機溶媒を用いて抽出することにより製造することができる。抽出にあたって、原料である植物に応じてその果実、種子、葉、茎、根等をそのまま、または細切、乾燥、粉碎等の処理を行った後、抽出を行う方が効率的である。抽出は抽出溶媒に浸漬して行うことができ、攪拌することや、抽出溶媒中でホモジナイズ又は加圧することもできる。抽出温度は、5~100程度が適切であり、抽出時間は、5分~10日間程度の間で、適宜設定することができる。

30

【0041】

この α -グルコシダーゼ活性化剤を皮膚に適用することで、皮膚内の α -グルコシダーゼが活性化され、それによって皮膚内に存在するアスコルビン酸誘導体や外部から適用されたアスコルビン酸誘導体が効率よく、しかも速やかに活性型アスコルビン酸に変換され、その結果、皮膚の美白作用が促進される。

40

【0042】

また、皮膚内の α -グルコシダーゼの活性を上昇させる α -グルコシダーゼ活性化剤としてエチナシ抽出物、酵母抽出物、ビフィズス菌抽出物、乳酸菌抽出物からなる群より選択される1種または2種以上とアスコルビン酸誘導体である2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸を一緒に適用することにより、より一層優れた美白、老化防止作用を持つ皮膚外用剤が得られる。

【0043】

これは前述したように、皮膚内の α -グルコシダーゼ活性が上昇することによって、2-O- α -D-グルコピラノシル-L-アスコルビン酸から活性型のアスコルビン酸への変換効率が改善され、その結果、美白効果が増強されるためである。

50

【実施例】

【0044】

以下に試験例及び実施例を示し、本発明を詳細に説明するが、本発明の技術的範囲をこれに限定するものではない。

【0045】

[試験例1： - グルコシダーゼ活性測定試験]

エチナシ葉エキス、加水分解酵母エキス、酵母エキス、ボタンピエキス、セージエキスについて、 - グルコシダーゼ活性作用を以下の方法により評価した。

各抽出物に0.05% - グルコシダーゼを添加し、 - グルコシダーゼ活性をキッコーマン株式会社製の糖化力分別定量キットにより測定した。このキットは、基質の4 - ニトロフェノール - グルコシドに - グルコシダーゼが作用して生じる4 - ニトロフェノールが400nmに吸光波長を持つことを利用し、この400nmにおける吸光度を検出することにより、 - グルコシダーゼ活性を測定するキットである。

10

【0046】

- グルコシダーゼ活性を式(1)より算出し、各種抽出物を添加しないコントロールの - グルコシダーゼ活性を100%として式(2)より - グルコシダーゼ活性賦活率(%)を評価した。

【0047】

式(1) - グルコシダーゼ活性 = (A - A0) - (A1 - A2) × 0.171

Aは酵素と各種抽出物を添加した時の吸光度

A0は酵素と各種抽出物に反応停止液を添加した時の吸光度

A1は各種抽出物のみ添加した時の吸光度

A2は各種抽出物に反応停止液添加した時の吸光度

20

【0048】

式(2) - グルコシダーゼ活性化率(%)

= (各種抽出物添加時の - グルコシダーゼ活性 /
コントロールの - グルコシダーゼ活性) × 100

【0049】

結果を図1に示す。図1のように、エチナシ葉エキスでは0.1%適用時に313%、酵母エキスでは0.01%適用時に204%、加水分解酵母エキスでは0.1%適用時に278%の、非常に高い - グルコシダーゼ活性化率を示した。同時に比較したボタンピエキス及びセージエキスには活性上昇が見られないことから、この3つの抽出物は - グルコシダーゼ活性を特異的に活性化させていることがわかる。

30

【0050】

[試験例2：細胞内アスコルビン酸変換効果測定試験]

ヒト表皮角化細胞を60mm ディッシュに播種し、サブコンフルエントの状態まで培養した後、アスコルビン酸誘導体及び各種抽出物を添加した培地に置換した。各種抽出物として、エチナシ葉エキス、加水分解酵母エキス、酵母エキス、セージエキス、ボタンピエキスをそれぞれ用いた。24時間培養後、培養上清を採取し、トリプシン処理によって回収した細胞の一部をコールターカウンターを用いて最終細胞数を計測すると共に、残りを10000rpmで5分間遠心分離して細胞画分を得た。細胞画分は、リン酸緩衝溶液(Ca²⁺ + Mg²⁺ 不含)を適量加えて懸濁後、再度10000rpmで5分間遠心分離し、洗浄した。蒸留水200μlを得られた細胞画分に添加、懸濁したものを、超音波で10分間処置後0.45μm径PVDF膜で濾過し、ろ液を被験試料とした。被験試料中のL - アスコルビン酸量を、下記条件の高速液体クロマトグラフィー法にて定量した。

40

【0051】

HPLC条件：

システム Class LC - 10

カラム L - カラムODS

50

カラム温度 40
 移動相 0.1Mリン酸-リン酸2水素ナトリウム緩衝液(pH2.0)
 流量 0.7mL/min
 注入量 20μl
 検出器 UV240nm

【0052】

得られたクロマトグラムが示すL-アスコルビン酸のピークエリア平均値から、アスコルビン酸量を求め、それぞれの最終細胞数からメラノサイト 2.5×10^6 個分にあたるアスコルビン酸量を算出し、得られた値を-グルコシダーゼによるアスコルビン酸変換量とした。アスコルビン酸誘導体のみを添加した培地を用いて培養した細胞から得られた被験試料をコントロールとして、各抽出物を添加したもののアスコルビン酸変換量を評価した結果を図2に示す。

10

【0053】

図2に示したように、ヒト表皮角化細胞 2.5×10^6 個あたりにつき、エチナシ葉エキスでは166.6pmol、加水分解酵母エキスでは111.5pmol、酵母エキスでは111.5pmolのアスコルビン酸が検出され、コントロールに対してエチナシ葉エキスは171.6%、加水分解酵母エキスと酵母エキスでは114.8%という、高いアスコルビン酸変換効果が確認された。同時に比較したセージエキス及びボタンピエキスについてはコントロールよりも濃度が低く、アスコルビン酸への変換が阻害されていることから、エチナシ葉エキス、加水分解酵母エキス、酵母エキスはアスコルビン酸誘導体のアスコルビン酸への変換に特異的効果があり、-グルコシダーゼ活性化剤の添加によりアスコルビン酸分解酵素活性が活性化されていることがわかる。

20

【0054】

[試験例3：メラニン生成抑制試験]

メラニン生成抑制試験は、ヒト由来の表皮メラニン細胞を用いて、エチナシ葉エキス、加水分解酵母エキス、酵母エキス、セージエキス、ボタンピエキスをそれぞれ評価した。培養液としてはMedium154S・HMGS培地(倉敷紡績株式会社製)を用い、各抽出物を終濃度で $10^{-2} \sim 10^{-5}$ 重量%になるように添加したものを、それぞれ被験試料とした。60mmディッシュに表皮メラニン細胞を播種し、CO₂インキュベーター(37℃、5%CO₂、95%飽和蒸気下)で24時間培養した。培養液を除いた後、アスコルビン酸誘導体及び各種抽出物を添加した培地又は抽出物を添加していない培養液に交換し、さらに72時間培養を続けた。尚、抽出物を添加していない培養液を適用した細胞を対照とした。培養終了後、倒立顕微鏡下で細胞内のメラニン生成を観察し、対照との比較から、下記判定基準により視感判定した。結果を表1に示す。

30

【0055】

(判定基準)

○：コントロールに比べ白い(メラニン生成抑制作用に優れる)

△：コントロールに比べやや白い(メラニン生成抑制作用にやや優れる)

×：コントロールと同程度の白さ(メラニン生成抑制作用なし)

【0056】

40

【表 1】

試験例3:ヒト表皮メラニン細胞によるメラニン生成抑制試験結果

抽出物	判定
エチナシ葉エキス	○
加水分解酵母エキス	○
酵母エキス	○
セージエキス	×
ポタンピエキス	○

10

【0057】

〔試験例4:美白効果確認試験〕

各群10人ずつのA、B2群からなる女性被験者20人による連用塗布試験を実施し、本発明の美白効果について評価した。A群は実施例1、B群は比較例1の美容液をそれぞれ用い、右半顔のみに1日2回2ヶ月間塗布した。試験開始直前及び試験開始2ヶ月後に、メグザメーター(Mexameter MX-16、C+K社製)を用いて各半顔のメラニン量を測定した。美容液を塗布した右半顔のメラニン量から、美容液を塗布していない左半顔のメラニン量を引いたものを、無塗布部を基準としたときの塗布部のメラニン量(Mr)とし、試験開始直前(Mr0)と試験開始2ヶ月後(Mr1)のM値の差をメラニン量として式(3)より算出し、その変化量の多少により、美白効果を評価した。

20

【0058】

式(3) $\text{メラニン量} = (Mr1 - Mr0)$

Mr0は試験開始直前のMr値

Mr1は試験開始2ヶ月後のMr値

30

結果を図3に示す。

【0059】

さらに、被験者に右半顔のシミ改善度を自己評価させ、期間終了後の評価で、改善を5点、やや改善を3点、変化なしを1点、改善されなかったを0点として、各群の合計点数を求め次の基準にしたがってシミ改善度を評価した。

【0060】

シミ改善度 = シミ改善度の評価

31点~50点 =

21点~30点 =

11点~20点 =

0点~10点 = ×

40

【0061】

【表 2】

試験例4: 美白効果確認試験における処方例とシミ改善度評価

	配合成分	実施例1	比較例1
1	精製水	79.4	79.7
2	1, 3-ブチレングリコール	13.0	13.0
3	エタノール	4.6	4.6
4	アスコルビン酸2-グルコシド	2.0	2.0
5	エチナシ葉エキス	0.2	0.0
6	シャクヤクエキス	0.1	0.1
7	加水分解酵母エキス	0.1	0.0
8	グリチルリチン酸ジカリウム	0.1	0.1
9	水酸化カリウム	0.38	0.38
10	キサンタンガム	0.12	0.12
シミ改善度		◎	△

【0062】

図3の結果より、実施例1の美容液を使用したA群はメラニン量が-1.47を示し、使用開始前に比べてメラニン量が低下したのに対して、比較例1の美容液を使用したB群はメラニン量が0.63となり、使用開始2ヶ月後にメラニン量が若干増加していた。また表2においても、実施例1を用いたA群は著しいシミの改善がみられ、本発明品の優れた美白効果が示された。

【0063】

以下に、本発明の例を示す。

【0064】

[実施例3] シートマスク

	質量%
(1) 精製水	81.5
(2) 1, 3-ブチレングリコール	6.0
(3) エタノール	3.5
(4) グリセリン	5.0
(5) アスコルビン酸2-グルコシド	2.0
(6) スクレロチウムガム	0.3
(7) アロエエキス(1)	0.1
(8) エチナシ葉エキス	0.5
(9) クエン酸三ナトリウム	0.2
(10) クエン酸	0.02
(11) ビフィズス菌発酵エキス	0.2

- (1 2) カルボキシメチルセルロースナトリウム 0 . 3
 (1 3) 水酸化カリウム 0 . 3 8

[製法] 室温下で、上記成分 (1) ~ (1 3) の成分を混合し攪拌溶解して得た液にシートマスクを含漬させた。

【 0 0 6 5 】

[実施例 4] 乳液

	質量%	
(1) 精製水	7 4 . 1	
(2) 1 , 3 - ブチレングリコール	7 . 5	
(3) カルボキシビニルポリマー	0 . 0 6	10
(4) グリセリン	3 . 0	
(5) 1 , 2 - ペンタンジオール	2 . 0	
(6) トリメチルグリシン	0 . 5	
(7) キサンタンガム	0 . 0 2	
(8) アマチャエキス	0 . 1	
(9) アスコルビン酸 2 - グルコシド	2 . 0	
(1 0) エチナシ葉エキス	0 . 4	
(1 1) 酵母エキス	2 . 0	
(1 2) スクワラン	2 . 0	
(1 3) ホホバ油	2 . 0	20
(1 4) メチルポリシロキサン	3 . 5	
(1 5) イソステアリン酸ソルビタン	0 . 3	
(1 6) ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	0 . 4	
(1 7) ショ糖脂肪酸エステル	0 . 0 2	
(1 8) 水酸化カリウム	0 . 1	

[製法] 上記成分 (1) ~ (1 1) を成分 A、(1 2) ~ (1 7) を成分 B とし、成分 A、B それぞれを 8 0 に加熱調整し、B を A に加え、ホモミキサーで攪拌混合後、4 0 まで冷却し、残りの成分 (1 8) を添加し 3 0 まで冷却した。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 6 6 】

30

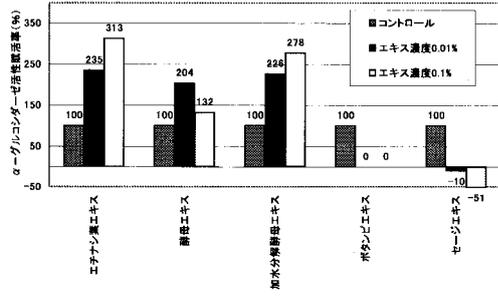
【 図 1 】 各抽出物の - グルコシダーゼ活性測定試験結果を示したものである。

【 図 2 】 各抽出物の細胞内におけるアスコルビン酸変換効果試験結果を示したものである。

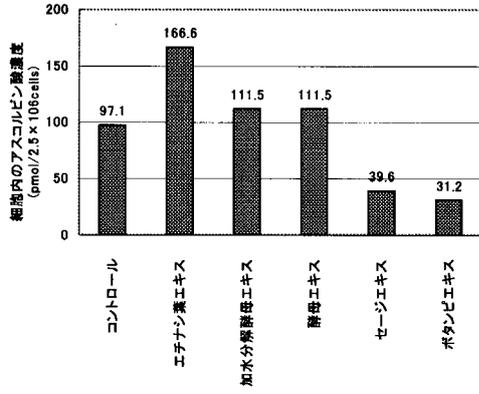
。

【 図 3 】 連用塗布による美白効果確認試験における、使用前後の皮膚メラニン量の変化を比較したものである。

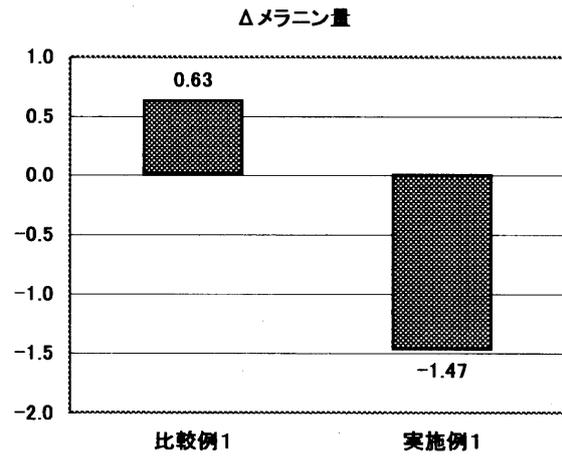
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



フロントページの続き

(72)発明者 桜井 哲人

神奈川県横浜市戸塚区上品濃12-13 株式会社ファンケル 中央研究所内

審査官 高岡 裕美

(56)参考文献 特開2001-098263(JP,A)

特開2002-128630(JP,A)

特開平07-017846(JP,A)

国際公開第02/055047(WO,A1)

Planta Med., 61 (1995), pp.510-514

新しい化粧品素材の効能・効果・作用(上), 株式会社シーエムシ -, 1998年 8月31日

, 第1刷, pp.155-157,160-162,247-251

フレグランスジャーナル, 1997年3月号, pp.62-70

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 8/00-8/99

A61K 36/28

A61Q 1/00-99/00

JMEDPlus(JDream2)

JST7580(JDream2)

JSTPlus(JDream2)