

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-182863

(P2019-182863A)

(43) 公開日 令和1年10月24日(2019.10.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 8/9789 (2017.01)	A 6 1 K 8/9789	4 B 0 0 1
A 6 1 Q 19/00 (2006.01)	A 6 1 Q 19/00	4 B 0 1 4
A 6 1 Q 19/08 (2006.01)	A 6 1 Q 19/08	4 B 0 1 8
A 6 1 Q 1/02 (2006.01)	A 6 1 Q 1/02	4 B 1 1 5
A 2 3 L 33/105 (2016.01)	A 2 3 L 33/105	4 B 1 1 7

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-75395 (P2019-75395)
 (22) 出願日 平成31年4月11日 (2019.4.11)
 (31) 優先権主張番号 特願2018-77655 (P2018-77655)
 (32) 優先日 平成30年4月13日 (2018.4.13)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 日本国 (JP)

(71) 出願人 391019728
 養命酒製造株式会社
 東京都渋谷区南平台町16番25号
 (74) 代理人 100086689
 弁理士 松井 茂
 (74) 代理人 100157772
 弁理士 宮尾 武孝
 (72) 発明者 秋山 季理子
 東京都渋谷区南平台町16番25号 養命
 酒製造株式会社内
 (72) 発明者 松見 繁
 東京都渋谷区南平台町16番25号 養命
 酒製造株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 肌のハリ又はうるおいの改善用組成物

(57) 【要約】

【課題】天然植物素材を用いて、優れた機能性を有する組成物を提供する。

【解決手段】クロモジエキスを肌のハリ又はうるおいの改善用組成物の有効成分として用いる。前記クロモジエキスは、コラゲナーゼ及びエラスターゼの阻害作用を有するものであることが好ましい。また、前記クロモジエキスは、クロモジの水、有機溶媒、又は含水有機溶媒による抽出物を含むものであることが好ましい。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

クロモジエキスを有効成分として含有することを特徴とする肌のハリ又はうるおいの改善用組成物。

【請求項 2】

前記クロモジエキスは、コラゲナーゼ及びエラスターゼの阻害作用を有するものである、請求項 1 記載の肌のハリ又はうるおいの改善用組成物。

【請求項 3】

前記クロモジエキスは、クロモジの水、有機溶媒、又は含水の有機溶媒による抽出物を含むものである、請求項 1 又は 2 記載の肌のハリ又はうるおいの改善用組成物。

10

【請求項 4】

前記クロモジエキスは、クロモジの熱水、低級脂肪族アルコール、又は含水の低級脂肪族アルコールによる抽出物を含むものである、請求項 1 又は 2 記載の肌のハリ又はうるおいの改善用組成物。

【請求項 5】

外用である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の肌のハリ又はうるおいの改善用組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、天然植物素材を有効成分として含有する、肌のハリ又はうるおいの改善用組成物に関する。

20

【背景技術】

【0002】

クスノキ科植物のクロモジは北海道の南部から九州まで広く分布している落葉低木であり、その枝葉は烏樟（うしょう）と呼ばれ、古くから消化器系を助ける生薬や民間薬の原料として用いられてきた。また、良い香りがあるのが特徴で、和菓子に添える高級爪楊枝や、水蒸気蒸留して採取した精油がアロマなどに利用されている。

【0003】

従来、このクロモジには、種々の機能が報告されている。例えば、特許文献 1 には、クスノキ科クロモジ樹皮の抽出物からなるメラニン産生抑制剤が記載されている。また、特許文献 2 には、クロモジ等の植物の抽出物を有効成分とする抗ヘリコバクター・ピロリ剤が記載されている。また、特許文献 3 には、クロモジ等のクスノキ科の植物の一部の粉砕物またはその脂溶性溶媒抽出エキスを含有するアルコール障害予防剤が記載されている。また、特許文献 4 には、クロモジ属 (*Lindera Thunb.*) に属する植物の抽出物を有効成分とするプロテアーゼ阻害剤が記載されている。また、特許文献 5 には、クロモジ等のクスノキ科植物の水蒸気蒸留水含有することを特徴とする化粧品組成物が記載されている。また、特許文献 6 には、クロモジ等の植物の抽出物を有効成分とする抗インフルエンザウイルス剤が記載されている。また、特許文献 7 には、クロモジ等の植物又はそのエキスを含有することを特徴とする血圧降下剤が記載されている。また、特許文献 8 には、クロモジ等の植物エキスを有効成分として含有するメイラード反応阻害剤が記載されている。また、特許文献 9 には、クロモジ等の植物の処理物を含有することを特徴とする IgE 産生抑制組成物及び抗アレルギー組成物が記載されている。また、特許文献 10 には、クロモジ等の植物の抽出物を有効成分として含有することを特徴とするセラミダーゼ活性阻害剤が記載されている。

30

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献 1】特開平 07 - 277941 号公報

【特許文献 2】特開平 11 - 001429 号公報

50

【特許文献3】特開2000-344675号公報
 【特許文献4】特開2001-122728号公報
 【特許文献5】特開2001-226218号公報
 【特許文献6】特開2004-059463号公報
 【特許文献7】特開2007-051129号公報
 【特許文献8】特開2010-077123号公報
 【特許文献9】特開2010-180141号公報
 【特許文献10】特開2017-124984号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0005】

本発明の目的は、天然植物素材を用いて、優れた機能性を有する組成物を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者らは、上記目的を達成するため鋭意研究した結果、クスノキ科植物のクロモジから抽出したクロモジエキスには、コラゲナーゼやエラスターゼの阻害作用があることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0007】

すなわち、本発明は、第1には、クロモジエキスを有効成分として含有することを特徴とする肌のハリ又はうるおいの改善用組成物を提供するものである。

20

【0008】

上記肌のハリ又はうるおいの改善用組成物においては、前記クロモジエキスは、コラゲナーゼ及びエラスターゼの阻害作用を有するものであることが好ましい。

【0009】

また、上記肌のハリ又はうるおいの改善用組成物においては、前記クロモジエキスは、クロモジの水、有機溶媒、又は含水の有機溶媒による抽出物を含むものであることが好ましい。

【0010】

また、上記肌のハリ又はうるおいの改善用組成物においては、前記クロモジエキスは、クロモジの熱水、低級脂肪族アルコール、又は含水の低級脂肪族アルコールによる抽出物を含むものであることが好ましい。

30

【0011】

また、上記肌のハリ又はうるおいの改善用組成物においては、該組成物は、外用であることが好ましい。

【発明の効果】

【0012】

本発明によれば、クスノキ科植物のクロモジから抽出したクロモジエキスには、コラゲナーゼやエラスターゼの阻害作用があることが明らかとなった。これにより、そのクロモジエキスを有効成分にして、優れた機能性を有する、肌のハリ又はうるおいの改善用組成物を提供することができる。また、その組成物は、化粧品等の外用の利用形態にも適している。

40

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】試験例1においてクロモジエキスによるコラゲナーゼの阻害作用を検証した結果を示す図表である。

【図2】試験例2においてクロモジエキスによるエラスターゼの阻害作用を検証した結果を示す図表である。

【発明を実施するための形態】

【0014】

50

本発明は、クスノキ科植物のクロモジから抽出したクロモジエキスには、コラゲナーゼやエラスターゼの阻害作用があることを見出し、これに基づき、肌のハリ又はうるおいの改善用組成物を提供するものである。すなわち、例えば、コラゲナーゼによるコラーゲンの減少、機能低下などを抑制し、また、エラスターゼによるエラスチンの減少、機能低下などを抑制し、肌のハリ又はうるおいの改善作用を発揮させるものである。よって、ヒトや動物の生体に作用する機能性を備えた組成物を提供するものであり、以下では、説明の便宜のために「機能性組成物」あるいは単に「組成物」という場合がある。

【0015】

本発明に用いられるクロモジエキスの基原としては、クロモジ属 (*Lindera*) に属する植物であればよく、例えば、クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb.)、オオバクロモジ (*Lindera umbellata* var. *membranacea* (Maxim.) Momiyama)、ヒメクロモジ (*Lindera umbellata* var. *lancea* Momiyama)、ケクロモジ (*Lindera sericea* (Sieb. et Zucc.) Blume)、ウスゲクロモジ (*Lindera sericea* var. *glabrata* Blume)、シロモジ (*Lindera triloba* (Sieb. et Zucc.) Blume)、アメリカクロモジ (*Lindera benzoin* (L.) Blume)、ヤマコウバシ (*Lindera glauca* Blume)、ダンコウバイ (*Lindera obtusiloba* Blume)、テンダイウヤク (*Lindera strychnifolia* (Sieb. et Zucc.) F. Vill.) などが挙げられる。これらの中でも、特に、クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb.) が好ましい。

10

20

【0016】

上記植物の部位としては、特に制限はなく、例えば、幹枝、幹、枝葉、葉、樹皮、根、根茎、根皮、茎、花、種子、果皮、果肉、果実、地上部、地下部、全木などが挙げられる。これらの中でも、特に、幹枝が好ましい。

【0017】

本発明においては、上記植物を基原として抽出物を調製して、それを有効成分として用いる。より具体的には、クロモジの抽出物たるクロモジエキスを、上記した機能性の関与成分として用いるものである。その抽出に用いられる抽出溶媒としては、適宜適当な溶媒を用いればよいが、典型的には水、有機溶媒、又は含水の有機溶媒が挙げられる。有機溶媒としては、特に、例えば、メタノール、エタノール、1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、プロパノール、グリセリン、イソプレングリコール、1,3-プロパンジオール、ペンチレングリコール等の低級脂肪族アルコール、酢酸エチル、アセトン、クロロホルム、*n*-ヘキサンなどの水に相溶性のある有機溶媒が挙げられる。これら有機溶媒は二種以上を混合して用いることもできる。また、含水の有機溶媒を用いる場合には、有機溶媒の含有量は、0体積%超~100体積%未満の範囲であり得るが、10体積%以上であることが好ましく、10~80体積%であることがより好ましく、20~70体積%が更により好ましく、30~50体積%が特に好ましい。また、その抽出にエタノール又は含水エタノールを用いる場合には、エタノール含量10体積%以上の含水エタノールが好ましく、エタノール含量10~80体積%の含水エタノールがより好ましく、エタノール含量20~70体積%の含水エタノールが更により好ましく、エタノール含量30~50体積%の含水エタノールが特に好ましい。

30

40

【0018】

抽出の具体的手法としては、一般的な抽出手段を採用することができ、例えば、クロモジの幹枝の乾燥物を適当に裁断した後、その全質量に対して1~50倍、好ましくは5~20倍量の抽出溶媒を加え、1~24時間程度、室温~使用溶媒の沸点の範囲で浸漬・加熱抽出を行うことができる。必要に応じて、加圧下に抽出を行ってもよい。抽出後には、必要に応じて濾過を行ったり、得られた抽出液を減圧濃縮したり、凍結乾燥したりして、溶媒を除去したりしてもよく、適宜目的とする抽出物を調製することができる。乾燥手段

50

としては、減圧乾燥や噴霧乾燥であってもよい。なお、例えば、抽出溶媒が水である場合には、抽出温度は5～100であることが好ましく、30～100であることがより好ましく、50～100であることが更により好ましい。また、抽出溶媒がエタノール又は含水エタノールである場合には、抽出温度は5～70であることが好ましく、30～70であることがより好ましく、50～70であることが更により好ましい。

【0019】

上記のようにして得られたクロモジエキスは、後述の実施例で示されるように、コラゲナーゼやエラスターゼの活性を阻害する効果に優れている。よって、これを生体に作用させることにより、肌のハリ又はうるおいを改善するのに、効果的に用いられ得る。なお、「改善」とは、本発明による組成物を適用しない場合に比べて、適用したほうが肌のハリ又はうるおいの状態を適用者にとってより良い状態にさせることを意味するとともに、日頃からそのようなより良い状態を崩さずに維持するための予防的適用をも含む意味である。

【0020】

本発明による組成物は、例えば皮膚外用等、非経口的に投与されるものであってよい。そのための形態としては、特に制限はなく、溶液、乳液の形態や、分散剤、懸濁剤、安定剤などを添加した形態や、パップ剤、ローション剤、軟膏剤、チンキ剤、クリーム剤等の形態で用いることができる。

【0021】

一方、本発明による組成物は、例えば、経口的に投与されるものであってよい。経口投与のための形態としては、特に制限はなく、上記に説明したクロモジエキスと、経口摂取用として許容される基材や担体、溶媒等を用いて、固体状物、液状物、乳化状物、ペースト状物、ゼリー状物等の形態とすることができる。また、錠剤、顆粒剤、散剤、液剤、カプセル剤等の形態とすることができる。また、上記に説明したクロモジエキスを適当な担体、好ましくは脂肪酸トリグリセライドと混合し、液状のままソフトカプセル等に充填し、調製することもできる。

【0022】

製剤化においては、非経口剤や経口剤となす場合に限られず、必要に応じて、通常使用されている賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、界面活性剤、溶解補助剤、還元剤、緩衝剤、吸着剤、流動化剤、帯電防止剤、抗酸化剤、甘味剤、矯味剤、清涼化剤、遮光剤、着香剤、香料、芳香剤、コーティング剤、可塑剤等の製剤添加物の1種または2種以上を適宜選択して添加してもよい。

【0023】

そのような製剤添加物としては、具体的には、例えば、結晶セルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、クロスカルメロースナトリウム、マルトデキストリン、エチルセルロース、乳糖、ソルビトール、無水ケイ酸、ケイ酸マグネシウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ステアリン酸、オレイン酸、流動パラフィン、第二リン酸カルシウム、セバチン酸ジブチル、マクロゴール、プロピレングリコール、コーンスターチ、デンプン、アルファー化デンプン、ゼラチン、ポビドン、クロスポビドン、グリセリン、ポリソルベート80、クエン酸、アセスルファミカリウム、アスパルテーム、炭酸ナトリウム、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム等を挙げることができる。

【0024】

本発明による肌のハリ又はうるおいの改善用組成物においては、上記に説明したクロモジエキスを有効成分とし、更に、ビタミン、ミネラル、アミノ酸、脂肪酸、食物繊維等の他の成分を添加してもよい。

【0025】

本発明による肌のハリ又はうるおいの改善用組成物においては、有効成分たる上記クロモジエキスを全体中に乾燥分換算で0.001～99質量%含有していることが好ましく、0.01～70質量%含有していることがより好ましく、0.05～50質量%含有していることが更により好ましい。

10

20

30

40

50

【0026】

本発明による肌のハリ又はうるおいの改善用組成物をヒトに外用の形態で用いる場合、その施与・塗布量としては、例えば、上記に説明したクロモジエキスの乾燥分換算で塗布面積あたりに0.01~10mg/cm²程度であることが好ましく、0.05~5mg/cm²程度であることがより好ましい。また、経口投与する場合、その投与量としては、年齢や体重によっても異なるが、例えば、成人1日当たり、上記に説明したクロモジエキスの乾燥分換算で1.0mg~50g程度であることが好ましく、5.0mg~20g程度であることがより好ましく、10mg~10g程度であることが更により好ましい。

【0027】

本発明による肌のハリ又はうるおいの改善用組成物の使用形態としては、特に制限はない。例えば、化粧品、医薬部外品、サプリメント、機能性食品、医薬品などの形態であってよい。なお、これらの形態は、ヒト用だけに限られず、動物用であってもよい。より具体的には、化粧品、医薬部外品、サプリメント、機能性表示食品、特定保健用食品、健康食品、機能性食品、栄養補助食品、医薬品、動物用化粧品、動物用医薬部外品、動物用サプリメント、動物用健康食品、動物用機能性食品、動物用栄養補助食品、動物用医薬品など各種の製品形態で使用されることが可能であり、あるいはそれら製品と組み合わせて使用されることが可能である。

10

【0028】

本発明による肌のハリ又はうるおいの改善用組成物の使用形態としては、化粧料組成物の形態であってもよい。すなわち、上記に説明したクロモジエキスを化粧料に所定量配合することにより、所定の機能性を発揮させるための化粧料組成物となすことができる。具体的には、例えば、乳液、石鹸、洗顔料、入浴剤、クリーム、化粧水、日焼け・日焼け止めローション、パック、シャンプー、リンス、トリートメント、洗浄料等が挙げられる。

20

【0029】

本発明による肌のハリ又はうるおいの改善用組成物の使用形態としては、食品組成物の形態であってもよい。すなわち、上記に説明したクロモジエキスを飲食物に所定量配合することにより、所定の機能性を発揮させるための食品組成物と成すことができる。具体的には、例えば、固形状、粉末状、顆粒状のものとしては、ビスケット、クッキー、ケーキ、スナック、煎餅などの各種の菓子類、パン、粉末飲料（粉末コーヒー、粉末ココアなど）、飴、キャラメル等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。また、液状、乳化状、ペースト状、ゼリー状のものとしては、ドリンク、ゼリー、ムースなどの各種製品や薬用酒等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。更には、これら飲食物に配合するために用いられる食品添加用の組成物の形態であってもよい。

30

【実施例】

【0030】

以下に実施例を挙げて本発明について更に具体的に説明するが、これらの実施例は本発明の範囲を限定するものではない。

【0031】

[調製例1] (熱水抽出物 ロット1)

40

クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb.) の幹枝の乾燥物を裁断した後、その全量の10倍量の水を加えて加熱し、沸騰後1時間、浸漬・加熱抽出を行った。抽出後は濾過により不溶物を除き、得られた濾液を減圧濃縮後、凍結乾燥にて溶媒を除去して、乾燥粉末状のクロモジエキス末を得た。

【0032】

[調製例2] (熱水抽出物 ロット2)

クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb.) の幹枝の乾燥物を裁断した後、その全量の10倍量の水を加えて加熱し、沸騰後1時間、浸漬・加熱抽出を行った。抽出後に濾過し、得られた濾液の一部を抽出液試料とし、残りを減圧乾固して溶媒を除去し、乾燥粉末状のクロモジエキス末を得た。

50

【 0 0 3 3 】

[調製例 3] (3 0 % エタノール抽出物 (室温、1 週間))

クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb.) の幹枝の乾燥物を裁断した後、その全量の 5 倍量の 3 0 % エタノール / 7 0 % 水 - 混合液を加え、室温に 1 週間静置して抽出を行った。抽出後に濾過し、得られた濾液を減圧乾固して溶媒を除去し、乾燥粉末状のクロモジエキス末を得た。

【 0 0 3 4 】

[調製例 4] (3 0 % エタノール抽出物 (6 0 、3 時間))

クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb.) の幹枝の乾燥物を裁断した後、その全量の 5 倍量の 3 0 % エタノール / 7 0 % 水 - 混合液を加え、6 0 で 3 時間抽出を行った。抽出後に濾過し、得られた濾液を減圧乾固して溶媒を除去し、乾燥粉末状のクロモジエキス末を得た。

10

【 0 0 3 5 】

[調製例 5] (5 0 % エタノール抽出物 (6 0 、3 時間))

クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb.) の幹枝の乾燥物を裁断した後、その全量の 5 倍量の 5 0 % エタノール / 5 0 % 水 - 混合液を加え、6 0 で 3 時間抽出を行った。抽出後に濾過し、得られた濾液を減圧乾固して溶媒を除去し、乾燥粉末状のクロモジエキス末を得た。

【 0 0 3 6 】

[調製例 6] (1 0 0 % エタノール抽出物)

クロモジ (*Lindera umbellata* Thunb.) の幹枝の乾燥物を裁断した後、その全量の 5 倍量の 1 0 0 % エタノールを加え、室温に 1 週間静置して抽出を行った。抽出後に濾過し、得られた濾液の一部を抽出液試料とし、残りを減圧乾固して溶媒を除去し、乾燥粉末状のクロモジエキス末を得た。

20

【 0 0 3 7 】

< 試験例 1 >

調製例 1 で得られたクロモジエキス末 (熱水抽出物) を用いて、コラゲナーゼの阻害作用を検証した。

【 0 0 3 8 】

評価にはコラゲナーゼアッセイキット (「コラゲノキット CLN-100」、コラーゲン技術研修会) を使用し、上記クロモジエキス末を所定濃度となるよう滅菌蒸留水に溶解して試験サンプルとした。そして、キットに記載の方法に従い、コラゲナーゼ (オタマジヤクシ由来) に対し、クロモジエキス末によるコラゲナーゼ阻害活性を評価した。

30

【 0 0 3 9 】

具体的には、キットに記載の方法に従い、1 unit / mL になるように希釈した酵素液と試験サンプルが 9 : 1 になるように混合した検体溶液を調製後、検体溶液 1 0 0 μ L と基質溶液 (A 液 : B 液 = 1 : 1) 1 0 0 μ L を混合して 3 5 で 1 2 0 分間反応させた。その後、反応停止液 (C 液) 5 μ L を添加して攪拌後、3 0 0 0 r p m で 1 0 分間遠心分離した上清を、黒色の 9 6 穴マイクロプレートに 2 0 0 μ L ずつ分注し、マイクロプレートリーダーを用いて、励起波長 4 9 5 n m / 蛍光波長 5 2 0 n m における蛍光強度を測定した。

40

【 0 0 4 0 】

コラゲナーゼ阻害率は下記式 (1) にて算出した。

【 0 0 4 1 】

コラゲナーゼ阻害率 (%) = (1 - A / B) × 1 0 0 ... (1)

(式 (1) 中、A は試験サンプル添加系の蛍光値であり、B は試験サンプル非添加系の蛍光値 (コントロール : 全発色) である。)

また、I C₅₀ (5 0 % 阻害濃度) は、常法に従い、コラゲナーゼ反応系に添加した試験サンプルの濃度とそのときの阻害率の関係性に基づいて算出した。

【 0 0 4 2 】

50

結果を表 1 及び図 1 に示す。

【 0 0 4 3 】

【 表 1 】

〔コラゲナーゼ阻害活性〕

サンプル名	反応濃度 (mg/mL)	阻害率 (%)	IC50 (mg/mL)
クロモジエキス末 (熱水抽出物)	0.001	30.0 ± 1.5	0.029
	0.01	33.9 ± 13.6	
	0.1	71.9 ± 10.2	
	1.0	85.6 ± 2.0	
	2.0	87.8 ± 2.0	
	5.0	99.1 ± 1.2	
	10	97.0 ± 3.7	
EDTA・2Na (陽性対照)	60 mmol/L	52.5 ± 6.1	-

(平均値±標準偏差、n = 3)

10

【 0 0 4 4 】

その結果、表 1 及び図 1 に示されるように、クロモジエキス末 (熱水抽出物) は、コラゲナーゼ活性を濃度依存的に阻害した。また、 IC_{50} の値は 0.029 mg/mL であった。

20

【 0 0 4 5 】

< 試験例 2 >

調製例 1 で得られたクロモジエキス末 (熱水抽出物) を用いて、エラスターゼの阻害作用を検証した。

【 0 0 4 6 】

評価にはエラスターゼアッセイキット (「Sensolyte Green Elastase Assay Kit」、AnaSpec社) を使用し、上記クロモジエキス末を所定濃度となるよう滅菌蒸留水に溶解して試験サンプルとした。そして、キットの記載の方法に従い、エラスターゼ (ブタ脾臓由来) に対し、クロモジエキス末によるエラスターゼ阻害活性を評価した。

30

【 0 0 4 7 】

具体的には、キットに記載の方法に従い、黒色の 96 穴マイクロプレートに試験サンプル $10 \mu\text{L}$ 、酵素液 $40 \mu\text{L}$ を入れて攪拌し、 37°C で 10 分間静置した。その後、予め 37°C でインキュベートしておいた基質液 $50 \mu\text{L}$ を添加し、 37°C で 60 分間反応させた。反応液は 60 分後に励起波長 494 nm / 蛍光波長 538 nm における蛍光強度を測定した。

【 0 0 4 8 】

エラスターゼ阻害率は下記式 (2) にて算出した。

【 0 0 4 9 】

エラスターゼ阻害率 (%) = $(1 - A / B) \times 100 \dots (2)$

40

(式 (2) 中、A は試験サンプル添加系の蛍光値であり、B は試験サンプル非添加系の蛍光値 (コントロール: 全発色) である。)

【 0 0 5 0 】

結果を表 2 及び図 2 に示す。

【 0 0 5 1 】

【表 2】

[エラスターゼ阻害活性]

サンプル名	反応濃度 (mg/mL)	阻害率 (%)		
		n = 1	n = 2	平均値
クロモジエキス末 (熱水抽出物)	0.01	-3.3	8.5	2.6
	0.10	-8.0	27.5	9.7
	0.2	5.1	20.5	12.8
	1.0	20.6	22.4	21.5
	5.0	32.3	22.0	27.1
Elastase inhibitor (陽性対照)	0.1 μ mol/L	47.5	52.0	49.8

10

【0052】

その結果、表 2 及び図 2 に示されるように、クロモジエキス末（熱水抽出物）は、エラスターゼ活性を濃度依存的に阻害した。

【0053】

< 試験例 3 >

調製例 2 ~ 6 で得られたクロモジ抽出液又はエキス末を用いて、コラゲナーゼの阻害作用を検証した。試験は、コラゲナーゼ（オタマジャクシ由来）をコラゲナーゼ（E . c o l l i 由来組換）に代えた以外は、試験例 1 と同様にして行った。

20

【0054】

結果を表 3 に示す。なお、表 3 には、調製例 2 ~ 6 においてクロモジ抽出液又はエキス末を調製したときの収率についても、併せて示した。

【0055】

【表 3】

【コラゲナーゼ阻害活性】

サンプル名	エキス収率 (質量%)	阻害率 (%)										IC ₅₀ (mg/mL)	
		反応濃度 (mg/mL)											
		0.00005	0.0005	0.005	0.05	0.1	0.25	0.5					
エキス末	1.6	100%イタノール抽出物 (室温、7days)	34.2	35.5	25.7	74.3	100.8	114.7	113.7	0.014			
		50%イタノール抽出物 (60°C、3hrs)	22.3	21.4	17.9	77.2	106.9	112.8	103.3	0.016			
		30%イタノール抽出物 (60°C、3hrs)	26.0	18.9	17.9	65.1	95.7	112.6	110.8	0.020			
		30%イタノール抽出物 (室温、7days)	25.0	22.9	18.1	58.4	78.9	109.8	113.7	0.024			
熱水抽出物 (100°C、1hr)	3.7	18.0	11.2	13.6	49.7	75.4	110.1	109.4	0.030				
サンプル名	エキス収率 (質量%)	上：反応液量(μL) 下：阻害率(%)										IC ₅₀ (μL)	
		0.076	0.76	7.6	76	152	380	-					
抽出液	1.9	100%イタノール抽出物 (室温、7days)	7.2	7.1	17.1	85.0	107.2	114.8	-	23.3			
		50%イタノール抽出物 (60°C、3hrs)	0.0314	0.314	3.14	31.4	62.8	157	313	12.9			
		熱水抽出物 (100°C、1hr)	9.1	14.3	16.2	65.3	94.8	113.6	115.7				
			0.0676	0.676	6.76	67.6	135.2	338	-	61.2			
	4.9	3.8	3.7	8.9	39.2	61.0	99.4	-					
Collagenase inhibitor (陽性対照) (EDTA・2Na) 3mmol/L	-												
					102.6								

【 0 0 5 6 】

10

20

30

40

50

その結果、表 3 に示されるように、エタノール又は含水エタノールによる抽出でも、クロモジエキスは、コラゲナーゼ活性を濃度依存的に阻害した。また、 IC_{50} の値からも分かるように、同じ反応濃度で比べると、クロモジエキスは、エタノール又は含水エタノールによる抽出のほうが、熱水抽出に比べて、コラゲナーゼに対する阻害活性がより顕著であった。

【 0 0 5 7 】

< 試験例 4 >

調製例 2 ~ 6 と同様にして別ロットで得られたクロモジ抽出液又はエキス末を用いて、エラスターゼの阻害作用を検証した。試験は、試験例 1 同様に IC_{50} (5 0 % 阻害濃度) を算出した以外は、試験例 2 と同様にして行った。

10

【 0 0 5 8 】

結果を表 4 に示す。

【 0 0 5 9 】

【表 4】

【エラスターゼ阻害活性】

サンプル名	エキス収率 (質量%)	阻害率 (%)					IC ₅₀ (mg/mL)	
		反応濃度 (mg/mL)						
		0.001	0.01	0.02	0.05	0.1		
100%エタノール抽出物 (室温、7days)	1.9	4.3	23.5	34.8	62.0	91.4	0.032	
50%エタノール抽出物 (60°C、3hrs)	4.2	5.8	8.5	16.3	34.2	54.5	0.088	
30%エタノール抽出物 (60°C、3hrs)	4.2	-0.5	1.3	19.9	48.5	55.1	0.068	
30%エタノール抽出物 (室温、7days)	4.0	-1.3	5.5	8.8	35.8	57.1	0.079	
熱水抽出物 (100°C、1hr)	4.9	1.4	3.0	-1.0	9.2	36.8	0.215	
サンプル名	エキス収率 (質量%)	上：反応液量(μL)					IC ₅₀ (μL)	
		下：阻害率(%)						
		1.9	19	38	95	190		
100%エタノール抽出物 (室温、7days)	1.9	4.0	0.2	34.8	64.5	80.1	69.7	
抽出液	4.2	0.78	7.8	15.6	39	78	45.3	
		-13.6	1.6	18.5	41.1	69.1		
熱水抽出物 (100°C、1hr)	4.9	1.69	16.9	33.8	84.5	169	406.9	
		-11.1	-0.2	-1.6	9.0	34.5		
Elastase inhibitor (陽性対照) (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-CMK)	-	0.01 μmol/L					6.2	-
		100 μmol/L					103.5	

【 0 0 6 0 】

10

20

30

40

50

その結果、表4に示されるように、エタノール又は含水エタノールによる抽出でも、クロモジエキスは、エラストラーゼ活性を濃度依存的に阻害した。また、 IC_{50} の値からも分かるように、同じ反応濃度で比べると、クロモジエキスは、エタノール又は含水エタノールによる抽出のほうが、熱水抽出に比べて、エラストラーゼに対する阻害活性がより顕著であった。

【0061】

(処方例1)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有するエモリエントクリームを調製した。

(1) エモリエントクリーム：

(組成)	(重量部)	
ミツロウ	2.0	10
ステアリルアルコール	5.0	
ステアリン酸	8.0	
スクアラン	10.0	
自己乳化型プロピレングリコール	3.0	
モノステアレートポリオキシエチレン		
セチルエーテル(20EO)	1.0	
香料	0.5	
酸化防止剤	微量	
防腐剤	微量	20
プロピレングリコール	4.8	
グリセリン	3.0	
ヒアロルン酸ナトリウム	0.1	
調製例1のクロモジエキス末	0.1	
トリエタノールアミン	1.0	
精製水	61.5	
全量	100.0	

【0062】

(処方例2)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有する乳液状ファンデーションを調製した。

(2) 乳液状ファンデーション：

(組成)	(重量部)	
ステアリン酸	2.4	
モノステアリン酸プロピレングリコール	2.0	
セトステアリルアルコール	0.2	
液状ラノリン	2.0	
流動パラフィン	3.0	
ミリスチン酸イソプロピル	8.5	
パラオキシ安息香酸プロピル	微量	
精製水	64.1	40
カルボキシメチルセルロースナトリウム	0.2	
ベントナイト	0.5	
プロピレングリコール	3.8	
ヒアロルン酸ナトリウム	0.1	
調製例1のクロモジエキス末	0.1	
トリエタノールアミン	1.1	
パラオキシ安息香酸メチル	微量	
酸化チタン	8.0	
タルク	4.0	
着色含量	微量	50

香料	微量	
スクアラン	10.0	
全量	100.0	

【0063】

(処方例3)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有する飴を調製した。

(3) 飴:

(組成)	(重量部)	
粉末ソルビトール	89.70	
香料	0.25	10
調製例1のクロモジエキス末	10.00	
ソルビトールシード	0.05	
全量	100.00	

【0064】

(処方例4)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有するガムを調製した。

(4) ガム:

(組成)	(重量部)	
ガムベース	20.00	
炭酸カルシウム	2.00	20
ステビオサイド	0.10	
調製例1のクロモジエキス末	10.00	
乳糖	66.90	
香料	1.00	
全量	100.00	

【0065】

(処方例5)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有するキャラメルを調製した。

(5) キャラメル:

(組成)	(重量部)	
グラニュー糖	32.00	30
水飴	20.00	
粉乳	30.00	
硬化油	4.00	
食塩	0.60	
香料	0.03	
水	3.37	
調製例1のクロモジエキス末	10.00	
全量	100.00	

【0066】

(処方例6)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有する炭酸飲料を調製した。

(6) 炭酸飲料:

(組成)	(重量部)	
グラニュー糖	8.00	
濃縮レモン果汁	1.00	
L-アスコルビン酸	0.10	
クエン酸	0.09	
クエン酸ナトリウム	0.05	
着色料	0.05	40

炭酸水	80.71	
調製例 1 のクロモジエキス末	10.00	
全量	100.00	

【0067】

(処方例 7)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有するジュースを調製した。

(7) ジュース：

(組成)	(重量部)	
冷凍濃縮オレンジ果汁	5.00	
果糖ブドウ糖液糖	1.00	10
クエン酸	0.10	
L-アスコルビン酸	0.09	
調製例 1 のクロモジエキス末	10.00	
香料	0.20	
色素	0.10	
水	83.51	
全量	100.00	

【0068】

(処方例 8)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有する乳酸菌飲料を調製した。

(8) 乳酸菌飲料：

(組成)	(重量部)	
乳固形 2.1% 発酵乳	14.76	
果糖ブドウ糖液糖	13.31	
ペクチン	0.50	
クエン酸	0.08	
香料	0.15	
水	61.20	
調製例 1 のクロモジエキス末	10.00	
全量	100.00	30

【0069】

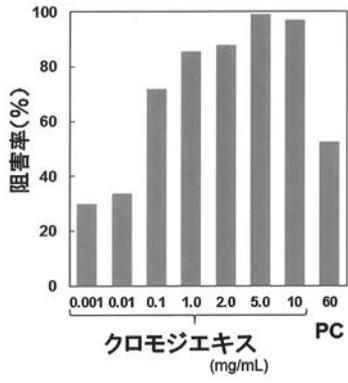
(処方例 9)

以下に示す組成でクロモジエキスを含有するアルコール飲料を調製した。

(9) アルコール飲料：

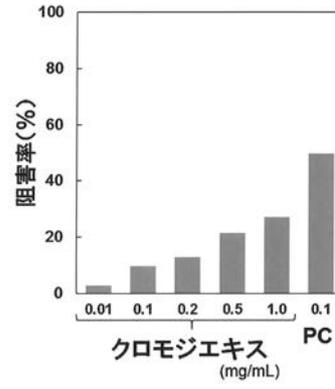
(組成)	(重量部)	
50%エタノール	32.00	
砂糖	8.60	
果汁	2.40	
調製例 1 のクロモジエキス末	10.00	
水	47.00	40
全量	100.00	

【 図 1 】



PC : EDTA · 2Na (mmol/L)

【 図 2 】



PC : エラスターゼ阻害剤 MeOSuc- Ala-Ala-Pro-Val-CMK (μmol/L)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)
A 2 3 G	3/48	(2006.01)	A 2 3 G	3/48		4 C 0 8 3
A 2 3 G	3/34	(2006.01)	A 2 3 G	3/34	1 0 1	
A 2 3 G	4/06	(2006.01)	A 2 3 G	4/06		
A 2 3 L	2/52	(2006.01)	A 2 3 L	2/00	F	
A 2 3 L	2/02	(2006.01)	A 2 3 L	2/52		
A 2 3 C	9/123	(2006.01)	A 2 3 L	2/52	1 0 1	
A 2 3 C	9/13	(2006.01)	A 2 3 L	2/02	B	
C 1 2 G	3/04	(2019.01)	A 2 3 C	9/123		
			A 2 3 C	9/13		
			C 1 2 G	3/04		

(72)発明者 下出 昭彦

東京都渋谷区南平台町 1 6 番 2 5 号 養命酒製造株式会社内

(72)発明者 丸山 徹也

東京都渋谷区南平台町 1 6 番 2 5 号 養命酒製造株式会社内

F ターム(参考) 4B001 AC02 AC03 AC45 AC99 EC05
 4B014 GB07 GG08 GG11 GG14 GK03 GK05 GK12 GL01 GL10
 4B018 LB01 LB08 MD48 ME14 MF01
 4B115 LH01 LH11 LH12
 4B117 LC04 LG02 LG05 LG18 LK04 LK08 LK12 LK13 LK16 LK21
 LL01 LL03
 4C083 AA082 AA111 AA112 AB242 AB432 AB442 AC022 AC072 AC102 AC122
 AC242 AC352 AC392 AC402 AC482 AC542 AD272 AD332 AD512 CC05
 CC12 DD31 EE12