

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7184397号  
(P7184397)

(45)発行日 令和4年12月6日(2022.12.6)

(24)登録日 令和4年11月28日(2022.11.28)

(51)国際特許分類	F I	
A 6 1 K 31/192 (2006.01)	A 6 1 K 31/192	
A 2 3 L 33/10 (2016.01)	A 2 3 L 33/10	
A 2 3 L 2/52 (2006.01)	A 2 3 L 2/00	F
A 6 1 K 8/365(2006.01)	A 2 3 L 2/52	
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 K 8/365	
請求項の数 2 (全39頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2021-150297(P2021-150297)	(73)特許権者	591082421 丸善製薬株式会社 広島県尾道市向東町14703番地の1 0
(22)出願日	令和3年9月15日(2021.9.15)	(74)代理人	100108833 弁理士 早川 裕司
(62)分割の表示	特願2020-5754(P2020-5754)の分割	(74)代理人	100162156 弁理士 村雨 圭介
原出願日	平成27年10月20日(2015.10.20)	(74)代理人	100201606 弁理士 田岡 洋
(65)公開番号	特開2021-191795(P2021-191795 A)	(72)発明者	西谷 洋輔 広島県福山市新市町相方1089-8 丸善製薬株式会社 総合研究所内
(43)公開日	令和3年12月16日(2021.12.16)	審査官	鶴見 秀紀
審査請求日	令和3年10月15日(2021.10.15)		
(31)優先権主張番号	特願2014-214884(P2014-214884)		
(32)優先日	平成26年10月21日(2014.10.21)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	日本国(JP)		
最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 皮膚化粧品、頭髮化粧品および飲食品

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

ジヒドロフェルラ酸を有効成分とすることを特徴とする血中遊離脂肪酸低減剤。

【請求項2】

ジヒドロフェルラ酸を配合したことを特徴とする血中遊離脂肪酸低減用飲食品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗肥満剤、サイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、ジペプチジルペプチダーゼIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、抗炎症剤、皮膚化粧品、頭髮化粧品、および飲食品に関するものである。

【背景技術】

【0002】

近年、飽食や運動不足等の生活習慣が原因となって体脂肪が増加し、肥満が増えている。このような肥満の増加は、人間ばかりでなく、ペットや家畜においても見られる。肥満は、高脂血症や動脈硬化等の生活習慣病の原因になるため、美容の面で問題となるばかりでなく、健康の面でも大きな問題となる。

【0003】

ここで、サイクリックAMP(cAMP)は、生体内の脂肪分解に関与することが知られている。cAMPは生体内に存在するリパーゼを活性化し、活性化されたリパーゼによ

って脂肪が脂肪酸とグリセロールとに分解される。しかし、cAMPホスホジエステラーゼが活性化されるとcAMPの分解が誘発され、リパーゼの活性化が阻害される。そのため、cAMPホスホジエステラーゼの活性を阻害することにより細胞内におけるcAMPが増量し、脂肪の分解を促進することができるものと考えられる。

#### 【0004】

また、炎症反応を引き起こす血小板凝集は、血小板中のサイクリックAMP(cAMP)の濃度と関係があり、cAMPホスホジエステラーゼによってcAMPが分解されてcAMPの濃度が低下すると、血小板は凝集しやすくなることが知られている。従って、cAMPホスホジエステラーゼの作用を抑制してcAMP濃度の低下を防止すれば、血小板凝集を防止でき、これによりアレルギー性疾患や炎症性疾患等を予防、治療または改善できると考えられる。cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用を有するものとして、ツベイモシドI(特許文献1参照)等が知られている。

10

#### 【0005】

肥満は、脂質代謝に異常をきたし、前述したとおり脂質異常症等の生活習慣病の原因となる。ここで、脂質異常症は、血清脂質すなわちコレステロール、トリグリセリド、リン脂質および遊離脂肪酸等のうち1種以上の成分が異常に増加して様々な障害を招く疾病である。コレステロールは、動物生体膜の構成成分であるとともにステロイドホルモン等の出発物質であり、動物にとって極めて重要な物質である。しかし、血中コレステロールが過剰であると、血管の内側にコレステロール等が蓄積して動脈硬化の原因となり、虚血性心疾患や脳梗塞などの致命的な疾患に至るおそれがある。一方、遊離脂肪酸は、脂肪細胞から血中に放出され体内のエネルギー源として利用されるが、余剰分は肝臓に取り込まれ中性脂肪に再合成される。血中遊離脂肪酸が過剰であると、慢性的に中性脂肪が過剰の状態となって脂質異常の状態が継続し動脈硬化の危険性を高める。また、血中遊離脂肪酸が過剰であると、インスリン抵抗性が高まって糖尿病の病態が進行するおそれがある。

20

#### 【0006】

そのため、肥満に起因した高すぎる血中脂質(例えば、血中コレステロールや血中遊離脂肪酸等)を低減することができれば、肥満症に伴って進行する動脈硬化や糖尿病の症状を予防、緩和または改善することができると考えられる。血中コレステロール低減作用、および血中遊離脂肪酸低減作用を有する成分として、焙煎した黄杞葉の抽出物(特許文献2)が知られている。

30

#### 【0007】

ジペプチジルペプチダーゼIV(以下、「DPPIV」ともいう。)は、セリンプロテアーゼの一つであって、N末端から2番目のプロリンまたはアラニンを認識し、そのC末端側を切断する酵素活性を有する。DPPIVは、腎臓、肝臓、腸管、胎盤等の組織の上皮および内皮細胞、ならびにT細胞の細胞表面に発現しており、その酵素活性等を介して様々な生理現象に関与すると考えられている。

#### 【0008】

DPPIVの基質として、インクレチンと呼ばれるホルモンが挙げられる。インクレチンは、栄養素の刺激により腸管から分泌され、血糖依存的に膵細胞からインスリン分泌を促進するホルモンの総称であり、GLP-1やGIP等が知られている。これらインクレチンは、血糖依存的なインスリン分泌の促進だけでなく、膵細胞からのグルカゴン分泌の抑制、血圧の低下、胃排出の抑制、さらには視床下部に作用しての摂食抑制等の作用を有している(非特許文献1参照)。しかし、インクレチンはDPPIVにより分解されるため、例えばGLP-1の生体内における半減期は1.5分程度であることが知られている。そのため、DPPIVの酵素活性を阻害することができれば、インクレチンの生体内における半減期を延長することができ、これにより、前述したインクレチンの作用を通じ2型糖尿病、肥満、高血圧症、インスリン抵抗性等の治療に有用であると期待されている。

40

#### 【0009】

また、DPPIVはT細胞活性化マーカーの一つであるCD26と同一であり、多くの

50

免疫調節ペプチドを基質とし、その活性を制御することが知られている。そのため、D P P I Vの活性を制御することにより、関節リウマチ等の自己免疫疾患や移植による拒絶反応等の免疫反応を制御し得ると考えられる。さらに、D P P I Vは、いくつかの神経ペプチドや成長ホルモンの代謝；癌における浸潤、転移、血管新生等；H I Vのリンパ球への感染等への関与が知られている。そのため、D P P I Vの活性を阻害することにより、疼痛、神経変性疾患および神経精神疾患等の神経障害（例えば坐骨神経痛、アルツハイマー病、うつ病等）；成長ホルモン欠損症および成長ホルモンが治療に使用される疾患；癌（例えばT - 細胞リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病、甲状腺癌、基底細胞癌、乳癌等）；H I V感染症（A I D S）等の疾患を治療することができると考えられる。

#### 【 0 0 1 0 】

皮膚を構成する表皮と真皮との境界部には、基底膜が存在する。基底膜は、表皮と真皮とを繋ぎ止めるだけでなく、皮膚機能の維持に重要な役割を果たしている（非特許文献2参照）。基底膜の主要骨格は、I V型コラーゲンからなる網目構造をしている。基底膜と表皮との境界に存在し、基底膜と表皮とを繋ぎとめているのがラミニン5を主成分とする各種糖蛋白質で、かかるラミニン5は、表皮に存在する表皮角化細胞より産生される。若い皮膚においては、基底膜の働きにより表皮、真皮の相互作用が恒常性を保つことで水分保持、柔軟性、弾力性等が確保され、肌は外見的にも張りや艶があってみずみずしい状態に維持される。

#### 【 0 0 1 1 】

ところが、紫外線の照射、空気の著しい乾燥、過度の皮膚洗浄等、ある種の外的因子の影響があったり、加齢が進んだりすると、基底膜の主要構成成分であるラミニン5は分解・変質を起こし、基底膜構造が破壊される（非特許文献3参照）。その結果、皮膚は保湿機能や弾力性が低下し、角質は異常剥離を始めるから、肌は張りや艶を失い、荒れ、シワ等の老化症状を呈するようになる。このように、皮膚の老化に伴う変化、即ち、シワ、くすみ、きめの消失、弾力性の低下等には、基底膜成分の減少、基底膜の構造変化が関与しており、ラミニン5の産生を促進することにより、皮膚の老化症状を予防ないし改善することができると考えられる。

#### 【 0 0 1 2 】

ラミニンは、鎖、鎖および鎖の種々の組み合わせからなり、現在のところ15種類（ラミニン1～ラミニン15）が知られている。このうちラミニン5（3 3 2）は、皮膚、消化器、腎臓、肺等の上皮組織の基底膜に多量に存在する。ラミニン5の各鎖をコードする遺伝子の先天的な異常に起因する遺伝子疾患（致死型先天性表皮水疱症、Herlitz junctional epidermolysis bullosa）においては、全身の表皮が剥離する致死性の症状を示すことが知られている。そして、ラミニン5は、他の細胞外マトリックス分子と比べ、強度に細胞を接着させ（細胞接着活性が高く）、細胞運動を強く促進する（細胞運動活性が高い）ことが知られている。

#### 【 0 0 1 3 】

このように、ラミニン5は、細胞運動活性が高いことから、損傷皮膚中の細胞移動を促進し、損傷治癒を促すことが知られている（特許文献3参照）。すなわち、ラミニン5の産生を促進することは、基底膜の構造が破壊されるような皮膚損傷の治癒を促す上で重要である。

#### 【 0 0 1 4 】

近年、皮膚の老化に伴う変化を誘導する因子として、マトリックスメタロプロテアーゼ（M M P s ; Matrix metalloproteinases）の関与が指摘されている。このM M P sの中でも、ゼラチナーゼ群に属する酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ - 2（M M P - 2）は、基底膜の主要構成成分であるI V型コラーゲンやラミニン5を分解する酵素として知られている。M M P - 2の発現および活性は紫外線の照射により大きく増加し、紫外線による基底膜成分の減少、基底膜の構造変化の原因となり、皮膚におけるシワやたるみの形成等の大きな要因となることが明らかとなっている（非特許文献4参照）。また、M M P - 2は、血管内皮細胞下に存在する基底膜を構成するI V型コラーゲン等を分解し

10

20

30

40

50

、分解された血管内皮細胞は間質へ遊走していき、間質中で増殖し、管腔を形成し、新生血管を構築していく。そして、この新生された血管が腫瘍細胞に到達して、栄養源と酸素とを腫瘍細胞に供給し、腫瘍が大きくなっていくことが知られている（非特許文献5参照）。

【0015】

したがって、MMP-2の活性を阻害することにより、基底膜成分の減少、基底膜の構造変化を抑制し、皮膚機能を改善することができるとともに、血管新生を抑制し、腫瘍細胞の増殖を抑制することができると考えられる。MMP-2阻害作用を有するものとしては、例えば、クロバナツルアズキからの抽出物（特許文献4参照）等が知られている。

【0016】

一方、MMPsの中でも、コラゲナーゼ群に属する酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ-1（MMP-1）は、前述した真皮細胞外マトリックスの主要構成成分であるコラーゲンを分解する酵素として知られている。MMP-1の発現は紫外線の照射により大きく増加し、コラーゲンの減少・変性の一因となり、皮膚のシワの形成、弾力性の低下等の大きな要因となると考えられている。また、MMP-1の活性が亢進すると、細胞外マトリックスが破壊される。細胞外マトリックスの破壊は、癌の浸潤・転移、関節リュウマチ、変形性膝関節症、歯周病、加齢黄斑変性症等、様々な疾患と関連することが知られている。

【0017】

したがって、MMP-1の活性を阻害することにより、皮膚の老化症状を予防、治療または改善することができるとともに、細胞外マトリックスの破壊と関連する疾患等を治療・予防することができると考えられる。MMP-1活性阻害作用を有するものとしては、例えば、コロソリン酸（特許文献5参照）等が知られている。

【0018】

皮膚の表皮および真皮は、表皮細胞、線維芽細胞ならびにこれらの細胞の外にあって皮膚構造を支持するコラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸等の細胞外マトリックスにより構成されている。若い皮膚においては線維芽細胞の増殖は活発であり、線維芽細胞、コラーゲン等の皮膚組織の相互作用が恒常性を保つことにより水分保持、柔軟性、弾力性等が確保され、肌は外見的にも張りや艶があっぴみずみずしい状態に維持される。

【0019】

ところが、紫外線の照射、空気の著しい乾燥、過度の皮膚洗浄等、ある種の外的因子の影響があったり、加齢が進んだりすると、細胞外マトリックスの主要構成成分であるエラスチンおよびヒアルロン酸の産生量が減少するとともに、分解や変質を引き起こす。その結果、皮膚の保湿機能や弾力性が低下し、角質の異常剥離が生じるため、肌は張りや艶を失い、肌荒れ、シワ等の老化症状を呈するようになる。このように、皮膚の老化に伴う変化、すなわち、シワ、くすみ、きめの消失、弾力性の低下等には、エラスチン、ヒアルロン酸等のマトリックス成分の減少・変性等が関与している。したがって、エラスチンまたはヒアルロン酸の産生を促進することは、皮膚の老化を予防、治療または改善する上で重要である。

【0020】

ここで、これらの細胞外マトリックス成分のうち、ヒアルロン酸は、ムコ多糖の一種であり、細胞間の空隙に充填されることにより細胞を保持する機能を有し、さらに細胞間隙への水分の保持、組織への潤滑性や柔軟性の付与、機械的障害等の外力に対する抵抗等、数多くの機能を有している。ヒアルロン酸の産生を促進することができれば、皮膚の荒れ、しわ、くすみ、きめの消失、弾力性の低下および保湿機能の低下等といった皮膚の老化症状を予防、治療または改善できると考えられる。

【0021】

また、ヒアルロン酸は、皮膚組織の他にも、軟骨、関節液、臍帯、眼硝子体、その他の結合組織に存在する。このうち、関節液に含まれるヒアルロン酸は、関節軟骨の表面を覆い、ヒアルロン酸が有する潤滑機能、軟骨に対する被覆・保護機能等により、関節の円滑

10

20

30

40

50

な作動に役立っている。一方、慢性関節リウマチ等の関節炎において、関節液におけるヒアルロン酸の濃度が低下していることが知られている。したがって、ヒアルロン酸の産生を促進することで、慢性関節リウマチ、変形性関節炎、化膿性関節炎、痛風性関節炎、外傷性関節炎、または骨関節炎等の関節炎を予防または治療することができると考えられる。さらに、創傷または熱傷の治癒過程において、肉芽（組織）が形成するが、肉芽中にヒアルロン酸が著しく増加することが知られている。そのため、ヒアルロン酸の産生を促進することで、創傷または熱傷の治癒を促進することができると考えられる。ヒアルロン酸産生促進作用を有するものとしては、クスノハガシワからの抽出物（特許文献6参照）等が知られている。

#### 【0022】

他方、前述の細胞外マトリックス成分のうち、エラスチンは、皮膚組織に弾力性を与える線維である。エラスチンの産生を促進することができれば、しわ、たるみが起こりにくくなり、張りの消失、弾力性の低下等の皮膚の老化症状を予防、治療または改善できると考えられる。

#### 【0023】

また、エラスチンは皮膚組織の他に、肺や血管等、身体において弾力性を要する組織に広く発現している。加齢に伴ってこれらの組織から正常なエラスチンが減少すると、肺や血管等において弾力性が低下し、肺気腫等の肺疾患や高血圧、動脈瘤等の血管性疾患の原因となることが知られている。そのため、エラスチンの産生を促進することができれば、肺や血管等における弾力性の低下が起こりにくくなり、肺気腫等の肺疾患や高血圧、動脈瘤等の血管性疾患等を予防ないし治療できると考えられる。エラスチン産生促進作用を有するものとして、例えば、グミ科ヒッポファエ属に属する植物からの抽出物が知られている（特許文献7参照）。

#### 【0024】

前述したコラーゲン等の細胞外マトリックス成分は、線維芽細胞により産生される。若い皮膚においては、線維芽細胞の増殖は活発であり、線維芽細胞、コラーゲン等の皮膚組織の相互作用が恒常性を保つことにより水分保持、柔軟性、弾力性等が確保され、肌は外見的にも張りや艶があってみずみずしい状態に維持される。しかし、紫外線、空気の著しい乾燥、過度の皮膚洗浄等、ある種の外的因子の影響があったり、加齢が進んだりすると、線維芽細胞の増殖が遅くなり皮膚の保湿機能や弾力性が低下する。そして、皮膚は張りや艶を失い、荒れ、シワ等の老化症状を呈するようになる。そのため、線維芽細胞の増殖を促進することは、皮膚の老化を予防、治療または改善するうえで非常に重要であると考えられる。

#### 【0025】

また、線維芽細胞は、外傷や火傷等の創傷の治癒過程において重要な役割を果たしているほか、皮膚疾患（例えば、褥瘡、熱傷潰瘍、糖尿病性潰瘍等の皮膚潰瘍）の治癒過程にも重要である。そのため、線維芽細胞の増殖を促進することにより創傷や皮膚疾患を治療することができると考えられる。さらに、再生医療の分野において、自己治癒が困難な創傷（重度の熱傷等）を負った患者の治療法として、患者自身の皮膚断片から皮膚細胞を培養・増殖させ、これを患者に移植する方法が知られているが、細胞増殖促進剤の使用により皮膚細胞の培養期間短縮が期待される。従来、線維芽細胞増殖促進作用を有するものとして、クスノハガシワからの抽出物（前述した特許文献6参照）等が知られている。

#### 【0026】

表皮は、外部刺激を緩和し、水分等の体内成分の逸失を制御する働きをしており、最下層である基底層から始まって、有棘層、顆粒層、角質層へと連なる4層構造から構成されている。各層に存在する大部分の細胞は、基底層から分化した角化細胞である。基底層で分裂、増殖した角化細胞は、有棘層、顆粒層を通過しながら分化し角質細胞となって、強固な架橋結合をもったケラチン蛋白線維で構成された角質層を構成し、最終的には垢として角質層から脱落する。

#### 【0027】

10

20

30

40

50

角質層は皮膚の最外殻に存在しており、外界からの刺激に対する物理的なバリアとしての役割を果たしている。皮膚ではこのバリア機能を持たせるため、角化細胞が基底層で産生されてから垢となって剥がれ落ちるまでのサイクル（角化）を通常4週間の周期で繰り返し、表皮の新陳代謝を行っている。しかしながら、この角質層も加齢によって新陳代謝機能が衰え、こじわ、くすみ、色素沈着、肌荒れ等の皮膚トラブルを発生することになる。そのため、角化細胞の増殖を促進し、肌の新陳代謝機能を回復させることにより、こじわ、くすみ、色素沈着等の皮膚の老化を改善できるものと考えられる。従来、表皮角化細胞増殖促進作用を有するものとして、土貝母抽出物（特許文献8参照）等が知られている。

#### 【0028】

皮膚細胞では、水チャンネルとして知られるアクアポリンが、細胞膜上に発現して、細胞間隙の水をはじめとする低分子物質を細胞内へ取り込む役割を担っていることが知られている。ヒトでは、13種類のアクアポリン（AQP0～AQP12）の存在が知られている。表皮細胞においては、主としてAQP3が存在しており、水に加えて、水分保持作用に参与するグリセロールや尿素等の低分子化合物をも取り込む役割を担っていると考えられている。

10

#### 【0029】

しかしながら、AQP3は加齢とともに減少し、このことが水分保持機能の低下の一因であることが示唆されているため、AQP3の発現を促進することにより、加齢による水分保持能やバリア機能等を制御することが可能であると考えられる（非特許文献6参照）。AQP3発現促進作用を有するものとして、例えば、スターフルーツの葉部からの抽出物（特許文献9参照）等が知られている。

20

#### 【0030】

糖質は、ヒトを初めとする生物においてエネルギー源として非常に重要である。しかし一方で、糖質はタンパク質と糖化反応（グリケーション）を起こすことが知られている。糖化反応は、糖質のカルボニル基とタンパク質等のアミノ基との非酵素的な反応を第一段階とし、 Schiff塩基からアマドリ化合物を経て最終的に最終糖化産物（以下、「AGEs」ということがある。）を形成する一連の反応である。糖化反応により、タンパク質が非酵素的に糖により修飾されるため、これにより当該タンパク質の変性やタンパク質間の架橋等が起こり、その結果タンパク質の機能を低下させる。

#### 【0031】

糖化反応は、コラーゲン等の細胞外マトリックス構成タンパク質を修飾・構造変化させることにより直接的な障害を引き起こすほか、糖化タンパク質をリガンドとする受容体により認識されることで細胞応答を引き起こす等の影響をもたらす。特に、血液中のグルコース濃度が高い糖尿病の患者にとって、糖化反応の影響は深刻である。糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、糖尿病性腎症等の糖尿病合併症は、タンパク質の糖化がその一因であることが知られている。また、血管壁における糖化反応は、内皮細胞の障害や変性タンパク質の蓄積などにより、動脈硬化の進展をもたらすことが知られている。さらに、コラーゲンを初めとする細胞外マトリックス成分は、骨や皮膚などの組織における乾燥重量の過半を占めている。そのため、例えば、コラーゲンが糖化され異常に架橋された状態となると、骨や軟骨組織においては骨粗鬆症や変形性関節症等を発症し、皮膚においては弾力性の低下、黄色化等によるくすみ等を生じる。さらに、異常に架橋したコラーゲン等はコラゲナーゼ等による分解を受けにくくなるため、コラゲナーゼ等の発現が誘導され、正常なコラーゲンまで分解されてしまうなどの問題が生じてしまう。

30

40

#### 【0032】

このため、糖化反応を何らかの形で抑制する、例えば、AGEsの形成を抑制することができれば、前述した疾患、すなわち糖尿病合併症、動脈硬化、骨粗鬆症、変形性関節症などの予防または治療に有用であると期待される。さらには、皮膚の弾力性低下やくすみ等の予防または改善にも効果があるものと期待される。

#### 【0033】

多くのステロイドホルモンは産生臓器から分泌された分子型で受容体と結合してその作

50

用を発現するが、アンドロゲンと総称される男性ホルモンの場合、例えば、テストステロンは標的臓器の細胞内に入ってテストステロン 5 $\beta$ -レダクターゼにより 5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン (5 $\alpha$ -DHT) に還元されてから受容体と結合し、アンドロゲンとしての作用を発現する。

#### 【0034】

アンドロゲンは重要なホルモンであるが、それが過度に作用すると、男性型脱毛症、多毛症、脂漏症、座瘡(ニキビなど)、前立腺肥大症、前立腺腫瘍、男児性早熟等、さまざまな好ましくない症状を誘発する。そこで、従来から、これらの各種症状を改善するために過剰のアンドロゲンの作用を抑制する方法、具体的には、テストステロンを活性型 5 $\alpha$ -DHT に還元するテストステロン 5 $\beta$ -レダクターゼの作用を阻害することにより、活性な 5 $\alpha$ -DHT が生じるのを抑制する方法などが知られている。これまでに、テストステロン 5 $\beta$ -レダクターゼ阻害作用を有するものとして、例えば、東紫蘇からの抽出物(特許文献10参照)等が知られている。

10

#### 【0035】

毛髪は、成長期、退行期および休止期からなる周期的なヘアサイクル(毛周期)に従って成長および脱落を繰り返している。このヘアサイクルのうち、休止期から成長期にかけての新たな毛包が形成されるステージが、発毛に最も重要であると考えられており、このステージにおける毛包上皮系細胞の増殖・分化に重要な役割を果たしているのが、毛乳頭細胞であると考えられている。毛乳頭細胞は、毛根近傍にある外毛根鞘細胞とマトリックス細胞とからなる毛包上皮系細胞の内側において、基底膜に包まれている毛根の根幹部分に位置する細胞であり、毛包上皮系細胞に働きかけてその増殖を促進する等、毛包上皮系細胞の増殖・分化および毛髪の形成において重要な役割を担っている(非特許文献7参照)。

20

#### 【0036】

このように、毛乳頭細胞は、毛包上皮系細胞の増殖・分化および毛髪の形成において重要な役割を果たしており、毛乳頭細胞の増殖を促進することで、脱毛症を予防ないし改善することができると考えられる。これまでに、毛乳頭細胞増殖促進作用を有するものとしては、例えば、ワイルドタイム抽出物(特許文献11参照)等が知られている。

#### 【0037】

皮膚においてメラニンは、紫外線から生体を保護する役目も果たしているが、過剰生成や不均一な蓄積は、皮膚の黒化やシミの原因となる。一般にメラニンは、色素細胞の中で生合成される酵素チロシナーゼの働きによって、チロシンからドーパ、ドーパからドーパキノンに変化し、ついで 5,6-ジヒドロキシインドフェノール等の中間体を経て形成されるものとされている。したがって、皮膚の色黒(皮膚色素沈着症)、シミ、ソバカス等を予防、治療または改善するためには、メラニンの産生を抑制することが考えられる。

30

#### 【0038】

従来、皮膚色素沈着症、シミ、ソバカス等の予防、治療または改善には、ハイドロキノン等の化学合成品を有効成分とする美白剤を外用する処置が行われてきた。しかしながら、ハイドロキノン等の化学合成品は、皮膚刺激、アレルギー等の副作用のおそれがある。そこで、安全性の高い天然原料を有効成分とする美白剤の開発が望まれており、メラニン産生抑制作用を有するものとしては、例えば、サウスウレア(Saussurea)属植物からの抽出物(特許文献12参照)等が知られている。

40

#### 【0039】

炎症性疾患、例えば、接触性皮膚炎(かぶれ)、乾癬、尋常性天疱瘡、アトピー性皮膚炎、その他肌荒れを伴う各種皮膚炎症性疾患、関節リウマチ、変形性関節症、喘息等の原因および発症機構は、多種多様である。その原因として、主にヒアルロニダーゼの活性の亢進によるもの、ヒスタミンの遊離によるもの、シクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)の活性の亢進によるものなどが知られている。

#### 【0040】

ヒアルロニダーゼは、ヒアルロン酸の加水分解酵素である。体組織への親和性を保つヒ

50

アルロン酸塩は、含水系の中では紫外線、酸素等によって分解され、分子量の低下に伴って保水効果も減少する。また、ヒアルロン酸は、生体内において細胞間組織として存在し、血管透過性にも関与している。さらに、ヒアルロニダーゼは、肥満細胞中に存在するが、その活性化により起こる脱顆粒により遊離され、炎症系ケミカルメディエーターとして作用する。したがって、ヒアルロニダーゼの活性を阻害することで、保湿の強化および炎症の予防ないし軽減が期待される。ヒアルロニダーゼ活性阻害作用を有するものとして、例えば、オスベッキア属植物からの抽出物（特許文献13参照）等が知られている。

【0041】

ヒスタミン遊離は、肥満細胞内のヒスタミンが細胞外に遊離する現象であり、遊離されたヒスタミンが炎症反応を引き起こす。そのため、ヒスタミン遊離を阻害または抑制する物質により、アレルギー性疾患および炎症性疾患を予防または治療する試みがなされている。しかし、ヒスタミンの遊離を直接的に評価することは困難であり、ヒスタミンの遊離と同時に遊離されることが確認されているヘキソサミニダーゼの遊離を指標にヒスタミンの遊離を評価することができる。したがって、ヘキソサミニダーゼの遊離を抑制することにより、同時にヒスタミンの遊離も抑制でき、これにより炎症性疾患等の予防、治療または改善に効果があるものと考えられる。

10

【0042】

また、ヒスタミンは局所伝達物質として細胞間の情報伝達を仲介しており、消化器官においては胃酸分泌を亢進し、中枢神経系における神経伝達物質として機能し、覚醒状態の維持に寄与することが知られている。ここで、ヒスタミン遊離が過剰となると、消化器官においては胃酸過多による潰瘍の原因となり、中枢神経系においては睡眠障害の一因となる。前述したように、ヘキソサミニダーゼの遊離を抑制することにより、同時にヒスタミンの遊離も抑制できることから、これにより、胃酸過多を原因とする胃潰瘍、睡眠障害等を予防、治療または改善できると考えられる。ヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用を有するものとして、例えば、藤茶からの抽出物（特許文献14参照）等が知られている。

20

【0043】

炎症は、発赤、浮腫、発熱、痛み、機能障害等の症状を示す複雑な反応である。微視的に見ると、炎症は、血漿漏出を起こす血管反応、白血球の浸潤、炎症性細胞による組織破壊等の共通する反応からなり、発熱反応や痛覚過敏等の中枢神経系も関与する、全身反応も引き起こす場合もある。このような炎症の個々の反応には、プロスタグランジンが重要な役割を果たしており、この炎症時におけるプロスタグランジンの産生には、主として誘導型のシクロオキシゲナーゼであるシクロオキシゲナーゼ-2が関与することが明らかとなっている。このため、炎症反応の防止および予防を図る目的で、アスピリンに代表される多くのシクロオキシゲナーゼ阻害剤が用いられている（非特許文献8参照）。

30

【0044】

なお、ジヒドロフェルラ酸については、フェルラ酸やフェルラ酸エチルを含有する培地にてある種の乳酸菌を培養すると、ジヒドロフェルラ酸が検出されることが知られている（非特許文献9，特許文献15参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

40

【0045】

【文献】特開2006-056855号公報

特開平7-274832号公報

特開2006-063033号公報

特開2007-217352号公報

特開2006-265232号公報

特開2003-146837号公報

特開2005-022993号公報

特開2006-056854号公報

特開2009-191039号公報

50

特開 2010 - 184915 号公報  
 特開 2006 - 219407 号公報  
 特開 2002 - 201122 号公報  
 特開 2003 - 055242 号公報  
 特開 2003 - 012532 号公報  
 特開 2014 - 003929 号公報

【非特許文献】

【0046】

【文献】「日本薬理学雑誌」，2005年，Vol.125，p.379-384

J. Cell. Biol.，1992年，Vol.199，p.695-703

10

J. Invest. Dermatol.，1979年，Vol.73，p.59-66

Nature，1996年，Vol.379，p.335-339

「血管新生とマトリックスメタロプロテアーゼ」，第120回日本医学会シンポジウム記録集 血管新生の基礎と臨床，2001年12月13日，p.43-49

「フレグランスジャーナル」，2006年，Vol.34，p.19-23

Trends Genet.，1992年，Vol.8，p.55-61

「薬理学アトラス」，福原武彦監訳，文光堂，1995年，p.184

J. Sci. Food Agric.，2012年，Vol.92，pp.2291-2296

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

20

【0047】

本発明は、天然物由来の化合物の中から抗肥満作用、サイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、ジペプチジルペプチダーゼIV活性阻害作用、抗老化作用、育毛作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、または抗炎症作用を有するものを見出し、それを有効成分とする抗肥満剤、サイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、ジペプチジルペプチダーゼIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤、ならびに当該化合物を配合した皮膚化粧品、頭髮化粧品および飲食品を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0048】

30

上記課題を解決するために、本発明の抗肥満剤、サイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、ジペプチジルペプチダーゼIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤は、ジヒドロフェルラ酸を有効成分とすることを特徴とする。また、本発明の皮膚化粧品、頭髮化粧品および飲食品は、ジヒドロフェルラ酸を配合したことを特徴とする。

【発明の効果】

【0049】

本発明によれば、ジヒドロフェルラ酸を有効成分として用いることにより、作用効果に優れた抗肥満剤、サイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、ジペプチジルペプチダーゼIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤を提供することができる。さらに、ジヒドロフェルラ酸を配合することにより、上記作用に優れた皮膚化粧品、頭髮化粧品および飲食品を提供することができる。

40

【発明を実施するための形態】

【0050】

以下、本発明の実施の形態について説明する。

本実施形態の抗肥満剤、サイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、ジペプチジルペプチダーゼIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤は、ジヒドロフェルラ酸を有効成分とするものである。また、本実施形態の皮膚化粧品、頭髮化粧品および飲食品は、ジヒドロフェルラ酸が配合されるものである。

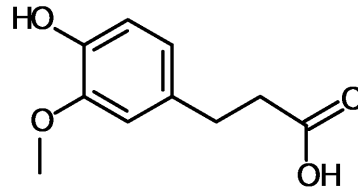
【0051】

50

ジヒドロフェルラ酸 (dihydroferulic acid) は、下記式で表される化学構造を有するケイ皮酸誘導体である。

【 0 0 5 2 】

【 化 1 】



10

【 0 0 5 3 】

ジヒドロフェルラ酸は、例えば、フェルラ酸もしくはフェルラ酸エチル等のフェルラ酸誘導体、またはこれらを含む組成物（例えば、植物の破砕物または抽出物等）を、フェノール酸還元酵素を有する微生物により醗酵させ、フェルラ酸をジヒドロフェルラ酸に変換した後、得られた醗酵物を抽出・単離・精製することにより製造することもできる。フェルラ酸を含む組成物としては、例えば、コーヒー、コムギ、トウモロコシ、トマト、マテ、ヨモギ、ゴボウ等の植物の破砕物および抽出物などが挙げられる。さらには、フェルラ酸は木本植物におけるリグニンの構成成分であるため、フェルラ酸を含む組成物として、リグニンまたはこれを含む組成物を利用してもよい。一方、フェノール酸還元酵素を有する微生物としては、例えば、*Lactobacillus plantarum*、*Lactobacillus fermentum*、*Lactobacillus gasserii*、*Lactobacillus johnsonii*、*Lactobacillus crispatus*、*Lactobacillus acidophilus*、*Lactobacillus amylovorus*、*Lactobacillus delbrueckii*、*Lactobacillus buchneri*、*Lactobacillus kefirianofaciens*、*Lactobacillus gallinarum*、*Enterococcus faecalis*等の乳酸菌などが挙げられる。

20

【 0 0 5 4 】

上記植物または醗酵物などからジヒドロフェルラ酸を抽出・単離・精製する方法は特に限定されず、常法に従って行うことができる。例えば、抽出処理は、抽出原料としての上記植物または醗酵物を乾燥した後、そのまままたは粗砕機を用いて粉碎し、抽出溶媒による抽出に供すればよい。乾燥は天日で行ってもよいし、通常使用される乾燥機を用いてもよい。また、ヘキサン等の非極性溶媒によって脱脂等の前処理を施してから抽出原料として使用してもよい。脱脂等の前処理を行うことにより、極性溶媒による抽出処理を効率よく行うことができる。

30

【 0 0 5 5 】

抽出溶媒としては、極性溶媒を使用することが好ましく、例えば、水、親水性有機溶媒等が挙げられ、これらを単独でまたは2種以上を組み合わせ、室温または溶媒の沸点以下の温度で使用することが好ましい。

【 0 0 5 6 】

抽出溶媒として使用し得る水としては、純水、水道水、井戸水、鉱泉水、鉱水、温泉水、湧水、淡水等のほか、これらに各種処理を施したものが含まれる。水に施す処理としては、例えば、精製、加熱、殺菌、濾過、イオン交換、浸透圧調整、緩衝化等が含まれる。したがって、本実施形態において抽出溶媒として使用し得る水には、精製水、熱水、イオン交換水、生理食塩水、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等も含まれる。

40

【 0 0 5 7 】

抽出溶媒として使用し得る親水性有機溶媒としては、メタノール、エタノール、プロピルアルコール、イソプロピルアルコール等の炭素数1~5の低級脂肪族アルコール；アセトン、メチルエチルケトン等の低級脂肪族ケトン；1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン等の炭素数2~5の多価アルコール等が挙げられる。

50

## 【 0 0 5 8 】

2種以上の極性溶媒の混合液を抽出溶媒として使用する場合、その混合比は適宜調整することができる。例えば、水と低級脂肪族アルコールとの混合液を抽出溶媒として使用するには、水と低級脂肪族アルコールとの混合比が9：1～1：9（容量比）であることが好ましく、7：3～2：8（容量比）であることがさらに好ましい。また、水と低級脂肪族ケトンとの混合液を使用するには、水と低級脂肪族ケトンとの混合比が9：1～2：8（容量比）であることが好ましく、水と多価アルコールとの混合液を使用するには、水と多価アルコールとの混合比が5：5～1：9（容量比）であることが好ましい。

## 【 0 0 5 9 】

抽出処理は、抽出原料に含まれる可溶性成分を抽出溶媒に溶出させ得る限り特に限定はされず、常法に従って行うことができる。例えば、抽出原料の5～15倍量（質量比）の抽出溶媒に、抽出原料を浸漬し、常温または還流加熱下で可溶性成分を抽出させた後、濾過して抽出残渣を除去することにより抽出液を得ることができる。得られた抽出液から溶媒を留去するとペースト状の濃縮物が得られ、この濃縮物をさらに乾燥すると乾燥物が得られる。

## 【 0 0 6 0 】

以上のようにして得られた抽出液、当該抽出液の濃縮物または当該抽出液の乾燥物からジヒドロフェルラ酸を単離・精製する方法は、特に限定されるものではなく、常法により行うことができる。例えば、抽出物を展開溶媒に溶解し、シリカゲルやアルミナ等の多孔質物質、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体やポリメタクリレート等の多孔性樹脂等を用いたカラムクロマトグラフィーに付して、ジヒドロフェルラ酸を含む画分を回収する方法等が挙げられる。この場合、展開溶媒は使用する固定相に応じて適宜選択すればよいが、例えば固定相としてシリカゲルを用いた順相クロマトグラフィーにより抽出物を分離する場合、展開溶媒としてはクロロホルム：メタノール=95：5等が挙げられる。さらに、カラムクロマトグラフィーにより得られたジヒドロフェルラ酸を含む画分を、ODSを用いた逆相シリカゲルクロマトグラフィー、再結晶、液-液向流抽出、イオン交換樹脂を用いたカラムクロマトグラフィー等の任意の有機化合物精製手段を用いて精製してもよい。

## 【 0 0 6 1 】

〔抗肥満剤，サイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤，ジペプチジルペプチダーゼIV活性阻害剤，抗老化剤，育毛剤，抗男性ホルモン剤，美白剤，抗炎症剤〕

以上のようにして得られるジヒドロフェルラ酸は、優れた抗肥満作用、サイクリックAMP（cAMP）ホスホジエステラーゼ活性阻害作用、ジペプチジルペプチダーゼIV（DPPIV）活性阻害作用、抗老化作用、育毛作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、および抗炎症作用を有しているため、抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤の有効成分として用いることができる。本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤は、医薬品、医薬部外品、化粧品等の幅広い用途に使用することができる。

## 【 0 0 6 2 】

なお、本実施形態に係る抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤の有効成分として、単離したジヒドロフェルラ酸に替えて、ジヒドロフェルラ酸を含有する組成物を用いてもよい。ここで、本実施形態における「ジヒドロフェルラ酸を含有する組成物」には、ジヒドロフェルラ酸を含有する植物を抽出原料として得られる抽出物、ジヒドロフェルラ酸を含有する醗酵物、および当該醗酵物を抽出原料として得られる抽出物が含まれる。また、「抽出物」には、抽出処理により得られる抽出液、当該抽出液の希釈液もしくは濃縮液、または当該抽出液を乾燥して得られる乾燥物が含まれる。

## 【 0 0 6 3 】

10

20

30

40

50

本実施形態に係る抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPⅣ活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤の有効成分として、ジヒドロフェルラ酸を含有する組成物を用いる場合は、精製してジヒドロフェルラ酸の純度を高めたものを使用することが好ましい。ジヒドロフェルラ酸の純度を高めたものを有効成分として使用することによって、より一層作用効果に優れた抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPⅣ活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤を得ることができる。

【0064】

ジヒドロフェルラ酸が有する抗肥満作用は、例えば、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、血中コレステロール低減作用、血中遊離脂肪酸低減作用、およびDPPⅣ活性阻害作用からなる群より選択される1種または2種以上の作用に基づいて発揮される。ただし、ジヒドロフェルラ酸が有する抗肥満作用は、上記作用に基づいて発揮される抗肥満作用に限定されるものではない。

10

【0065】

また、ジヒドロフェルラ酸は、その血中脂質低減作用（特に血中コレステロール低減作用および血中遊離脂肪酸低減作用）を利用して、血中脂質低減剤、血中コレステロール低減剤または血中遊離脂肪酸低減剤の有効成分として使用してもよい。

【0066】

ジヒドロフェルラ酸が有する抗老化作用は、例えば、ラミニン5産生促進作用、マトリックスメタロプロテアーゼ-2(MMP-2)活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、マトリックスメタロプロテアーゼ-1(MMP-1)活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、アクアポリン3(AQP3)mRNA発現促進作用、および最終糖化産物(AGEs)形成抑制作用からなる群より選択される1種または2種以上の作用に基づいて発揮される。ただし、ジヒドロフェルラ酸が有する抗老化作用は、上記作用に基づいて発揮される抗老化作用に限定されるものではない。

20

【0067】

また、ジヒドロフェルラ酸は、そのラミニン5産生促進作用、MMP-2活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3mRNA発現促進作用、またはAGEs形成抑制作用を利用して、それぞれラミニン5産生促進剤、MMP-2活性阻害剤、ヒアルロン酸産生促進剤、表皮角化細胞増殖促進剤、エラスチン産生促進剤、MMP-1活性阻害剤、線維芽細胞増殖促進剤、AQP3mRNA発現促進剤、またはAGEs形成抑制剤の有効成分として使用してもよい。

30

【0068】

ジヒドロフェルラ酸が有する育毛作用は、例えば、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用および/または毛乳頭細胞増殖促進作用に基づいて発揮される。ただし、ジヒドロフェルラ酸が有する育毛作用は、上記作用に基づいて発揮される育毛作用に限定されるものではない。また、ジヒドロフェルラ酸は、そのテストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用または毛乳頭細胞増殖促進作用を利用して、それぞれテストステロン5-レダクターゼ活性阻害剤または毛乳頭細胞増殖促進剤の有効成分として使用してもよい。

40

【0069】

ジヒドロフェルラ酸が有する抗男性ホルモン作用は、例えば、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用に基づいて発揮される。ただし、ジヒドロフェルラ酸が有する抗男性ホルモン作用は、上記作用に基づいて発揮される抗男性ホルモン作用に限定されるものではない。

【0070】

ジヒドロフェルラ酸が有する美白作用は、例えば、メラニン産生抑制作用に基づいて発揮される。ただし、ジヒドロフェルラ酸が有する美白作用は、上記作用に基づいて発揮される美白作用に限定されるものではない。また、ジヒドロフェルラ酸は、そのメラニン産

50

生抑制作用を利用して、メラニン産生抑制剤の有効成分として使用してもよい。

【0071】

ジヒドロフェルラ酸が有する抗炎症作用は、例えば、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキササミニダーゼ遊離抑制作用、およびシクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)活性阻害作用からなる群より選択される1種または2種以上の作用に基づいて発揮される。ただし、ジヒドロフェルラ酸が有する抗炎症作用は、上記作用に基づいて発揮される抗炎症作用に限定されるものではない。また、ジヒドロフェルラ酸は、そのヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキササミニダーゼ遊離抑制作用、またはCOX-2活性阻害作用を利用して、それぞれヒアルロニダーゼ活性阻害剤、ヘキササミニダーゼ遊離抑制剤、またはCOX-2活性阻害剤の有効成分として使用してもよい。

10

【0072】

本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、または抗炎症剤は、ジヒドロフェルラ酸またはジヒドロフェルラ酸を含有する組成物のみからなるものでもよいし、ジヒドロフェルラ酸またはジヒドロフェルラ酸を含有する組成物を製剤化したものでもよい。

【0073】

本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤は、デキストリン、シクロデキストリン等の薬学的に許容し得るキャリアーその他任意の助剤を用いて、常法に従い、粉末状、顆粒状、錠剤状、液状等の任意の剤形に製剤化することができる。この際、助剤としては、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味・矯臭剤等を用いることができる。抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤は、他の組成物(例えば、皮膚化粧品、頭髪化粧品等)に配合して使用することができるほか、軟膏剤、外用液剤、貼付剤等として使用することができる。

20

【0074】

本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、または抗炎症剤を製剤化した場合、ジヒドロフェルラ酸またはジヒドロフェルラ酸を含有する組成物の含有量は、特に限定されるものではなく、目的に応じて適宜設定することができる。

30

【0075】

なお、本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、または抗炎症剤は、必要に応じて、抗肥満作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、DPPIV活性阻害作用、抗老化作用、育毛作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、または抗炎症作用を有する他の天然抽出物等を、ジヒドロフェルラ酸またはジヒドロフェルラ酸を含有する組成物とともに配合して有効成分として用いることができる。

【0076】

本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、または抗炎症剤の患者に対する投与方法としては、経皮投与、経口投与等が挙げられるが、疾患の種類に応じて、その予防または治療等に好適な方法を適宜選択すればよい。また、本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、または抗炎症剤の投与量も、疾患の種類、重症度、患者の個人差、投与方法、投与期間等によって適宜増減すればよい。

40

【0077】

本実施形態の抗肥満剤は、有効成分であるジヒドロフェルラ酸が有するcAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、血中コレステロール低減作用、血中遊離脂肪酸低減作用、およびDPPIV活性阻害作用からなる群より選択される1種または2種以上の作用を通じ、cAMPの産生を促進し、脂肪細胞において脂肪の分解を促進することができる

50

もに、血中脂質の値を低減し、またインクレチンの生体内における半減期を延長することができる。この結果、本実施形態の抗肥満剤は、肥満症、それに伴う動脈硬化、糖尿病、メタボリック症候群等の様々な疾患を予防または改善することができる。ただし、本実施形態の抗肥満剤は、後述する cAMP ホスホジエステラーゼ活性阻害剤または DPP IV 活性阻害剤としての用途のほか、前述した用途以外にも、血中コレステロール低減作用、または血中遊離脂肪酸低減作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。

【0078】

例えば、本実施形態の抗肥満剤または前述した血中脂質低減剤、血中コレステロール低減剤、もしくは血中遊離脂肪酸低減剤は、肥満症に起因しない脂質異常症（例えば、血中コレステロールや血中遊離脂肪酸が高い症状）を改善し、肥満症を伴わない動脈硬化、糖尿病、メタボリック症候群等の様々な疾患を予防または改善することができる。

10

【0079】

本実施形態の cAMP ホスホジエステラーゼ活性阻害剤は、有効成分であるジヒドロフェルラ酸が有する cAMP ホスホジエステラーゼ活性阻害作用を通じて、cAMP の産生を促進するため、血小板の凝集を抑制することができ、これによりアレルギー疾患や各種炎症性疾患等を予防、治療または改善することができる。また、本実施形態の cAMP ホスホジエステラーゼ活性阻害剤は、ジヒドロフェルラ酸が有する cAMP ホスホジエステラーゼ活性阻害作用を通じて、脂肪細胞において脂肪の分解を促進することができ、この結果、肥満症、およびこれに伴う動脈硬化、糖尿病、メタボリック症候群等の様々な生活習慣病を予防または改善することができる。ただし、本実施形態の cAMP ホスホジエステラーゼ活性阻害剤は、これらの用途以外にも cAMP ホスホジエステラーゼ活性阻害作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。

20

【0080】

本実施形態の DPP IV 活性阻害剤は、ジヒドロフェルラ酸が有する DPP IV 活性阻害作用を通じて、2型糖尿病、肥満、高血圧症、インスリン抵抗性等を予防または治療することができるとともに、関節リウマチ等の自己免疫疾患や移植拒絶反応を予防または治療することができる。ただし、本実施形態の DPP IV 活性阻害剤は、これらの用途以外にも DPP IV 活性阻害作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。例えば、本実施形態の DPP IV 活性阻害剤は、ジヒドロフェルラ酸が有する DPP IV 活性阻害作用を通じて、疼痛、神経変性疾患、および神経精神疾患等の神経障害（例えば坐骨神経痛、アルツハイマー病、うつ病等）；成長ホルモン欠損症および成長ホルモンが治療に使用される疾患；癌（例えば T-細胞リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病、甲状腺癌、基底細胞癌、乳癌等）； HIV 感染症（AIDS）等の疾患を予防または治療することができる。

30

【0081】

本実施形態の抗老化剤は、有効成分であるジヒドロフェルラ酸が有するラミニン5産生促進作用、MMP-2 活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1 活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3 mRNA 発現促進作用、および A $\beta$  形成抑制作用からなる群より選択される1種または2種以上の作用を通じて、皮膚のシワの形成、弾力性の低下、保湿機能の低下等の皮膚の老化症状を予防、治療または改善することができる。ただし、本実施形態の抗老化剤は、これらの用途以外にもラミニン5産生促進作用、MMP-2 活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1 活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3 mRNA 発現促進作用または A $\beta$  形成抑制作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。

40

【0082】

例えば、本実施形態の抗老化剤または前述したラミニン5産生促進剤は、ジヒドロフェルラ酸が有する作用により、ラミニン5の産生を促進することができる。これにより、基底膜構造の再構築を誘導し、皮膚における創傷を治療・改善することができる。また、本

50

実施形態の抗老化剤または前述したラミニン5産生促進剤は、ラミニン5の欠乏（欠損）に起因する疾患（表皮水疱症等）の予防または治療剤として用いることができる。

【0083】

前述した用途の他、本実施形態の抗老化剤または前述したMMP-2活性阻害剤、もしくはMMP-1活性阻害剤は、ジヒドロフェルラ酸が有するMMP-2活性阻害作用またはMMP-1活性阻害作用を通じて、細胞外マトリックスの破壊が病態と関連していることが知られている疾患等（例えば、癌の浸潤・転移、関節リュウマチ、変形性膝関節症、歯周病、加齢黄斑変性症等）の治療・予防の用途に使用することができる。また、本実施形態の抗老化剤またはMMP-2活性阻害剤は、そのMMP-2活性阻害作用により、血管新生を抑制し、腫瘍細胞の増殖を抑制することができる。

10

【0084】

前述した用途の他、本実施形態の抗老化剤または前述したヒアルロン酸産生促進剤は、そのヒアルロン酸産生促進作用により、慢性関節リュウマチ、変形性関節炎、化膿性関節炎、痛風性関節炎、外傷性関節炎、骨関節炎等の関節炎の予防、治療または改善；創傷または熱傷の治癒の促進；などの用途に用いることができる。また、本実施形態の抗老化剤または前述した表皮角化細胞増殖促進剤は、ジヒドロフェルラ酸が有する表皮角化細胞増殖促進作用を通じて、肌の新陳代謝を回復させ、こじわ、くすみ、色素沈着等の予防、治療または改善；再生医療；などの用途に使用することができる。

【0085】

前述した用途の他、本実施形態の抗老化剤または前述したエラスチン産生促進剤は、そのエラスチン産生促進作用により、肺気腫等の肺疾患；高血圧、動脈瘤等の血管性疾患；などの予防、治療または改善の用途に用いることができる。また、本実施形態の抗老化剤または前述した線維芽細胞増殖促進剤は、ジヒドロフェルラ酸が有する線維芽細胞増殖促進作用を通じて、外傷や火傷等の創傷の治癒促進；皮膚疾患（例えば、褥瘡，熱傷潰瘍，糖尿病性潰瘍等の皮膚潰瘍）の治療または改善；再生医療；などの用途に使用することができる。

20

【0086】

前述した用途の他、本実施形態の抗老化剤または前述したAQP3mRNA発現促進剤は、ジヒドロフェルラ酸が有するAQP3mRNA発現促進作用を通じて、加齢による水分保持能やバリア機能等を改善することができる。

30

【0087】

前述した用途の他、本実施形態の抗老化剤または前述したAGES形成抑制剤は、ジヒドロフェルラ酸が有するAGES形成抑制作用を通じて、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、糖尿病性腎症等の糖尿病合併症；タンパク質の糖化反応に起因する動脈硬化；タンパク質の糖化反応に起因する骨粗鬆症や変形性関節症等；などを予防または治療することができる。また、本実施形態の抗老化剤または前述したAGES形成抑制剤は、そのAGES形成抑制作用を通じて、タンパク質の糖化反応に起因する毛髪の損傷を予防または抑制することができ、これにより毛髪のゴワつきを予防または抑制し、毛髪の弾力性やしなやかさ等を回復し、また毛髪にハリ・コシを付与することができる。

【0088】

本実施形態の育毛剤は、有効成分であるジヒドロフェルラ酸が有するテストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用および/または毛乳頭細胞増殖促進作用を通じて、男性型脱毛症、円形脱毛症、トリコチロマニア等の脱毛症等を予防、治療または改善することができ、特に男性型脱毛症の予防、治療または改善に好適である。ただし、本発明の育毛剤は、これらの用途以外にもテストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用または毛乳頭細胞増殖促進作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。

40

【0089】

例えば、本実施形態の育毛剤または前述した毛乳頭細胞増殖促進剤は、ジヒドロフェルラ酸が有する毛乳頭細胞増殖促進作用を通じて、毛乳頭細胞を活性化し、毛包上皮系細胞の増殖・分化および毛髪の形成を促進するとともに、毛周期において成長期

50

から退行期および休止期へと移行するのを防ぎ、成長期を延長させることができる。これにより、脱毛症を予防または改善することができる。また、本実施形態の育毛剤または前述した毛乳頭細胞増殖促進剤は、ジヒドロフェルラ酸が有する毛乳頭細胞増殖促進作用を通じて、毛乳頭細胞を用いた毛髪再生等の再生医療分野への応用に使用することもできる。

【0090】

本実施形態の抗男性ホルモン剤または前述したテストステロン5 $\alpha$ -レダクターゼ活性阻害剤は、有効成分であるジヒドロフェルラ酸が有するテストステロン5 $\alpha$ -レダクターゼ活性阻害作用を通じて、男性ホルモンが関与する疾患、例えば、男性型脱毛症、多毛症、脂漏症、座瘡（ニキビなど）、前立腺肥大症、前立腺腫瘍、男児性早熟等を予防、治療または改善することができる。ただし、本発明の抗男性ホルモン剤は、これらの用途以外にもテストステロン5 $\alpha$ -レダクターゼ活性阻害作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。

10

【0091】

本実施形態の美白剤は、有効成分であるジヒドロフェルラ酸が有するメラニン産生抑制作用を通じて、皮膚の黒化、シミ、ソバカス等の色素沈着を予防または改善することができる。ただし、本実施形態の美白剤は、これらの用途以外にもメラニン産生抑制作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。

【0092】

本実施形態の抗炎症剤は、有効成分であるジヒドロフェルラ酸が有するヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用、およびCOX-2活性阻害作用からなる群より選択される1種または2種以上の作用を通じて、接触性皮膚炎（かぶれ）、乾癬、尋常性天疱瘡、アトピー性皮膚炎、その他肌荒れに伴う各種皮膚炎症性疾患を予防、治療または改善することができる。ただし、本実施形態の抗炎症剤は、これらの用途以外にもヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用、またはCOX-2活性阻害作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。

20

【0093】

例えば、本実施形態の抗炎症剤または前述したヒアルロニダーゼ活性阻害剤、ヘキソサミニダーゼ遊離抑制剤、もしくはCOX-2活性阻害剤は、ジヒドロフェルラ酸が有するヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用、またはCOX-2活性阻害作用を通じて、関節リウマチ、変形性関節症、喘息などを予防、治療または改善することができる。また、本実施形態の抗炎症剤または前述したヘキソサミニダーゼ遊離抑制剤は、ジヒドロフェルラ酸が有するヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用を通じて、胃酸過多を原因とする胃潰瘍、睡眠障害等を予防、治療または改善することができる。

30

【0094】

また、本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、または抗炎症剤は、優れた抗肥満作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、DPPIV活性阻害作用、抗老化作用、育毛作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、または抗炎症作用を有するため、例えば、皮膚外用剤に配合するのに好適である。この場合に、ジヒドロフェルラ酸またはジヒドロフェルラ酸を含有する組成物をそのまま配合してもよいし、ジヒドロフェルラ酸またはジヒドロフェルラ酸を含有する組成物から製剤化した抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、または抗炎症剤を配合してもよい。

40

【0095】

ここで、皮膚外用剤としては、その区分に制限はなく、後述する皮膚化粧料のほか、経皮的に使用される医薬部外品、医薬品等を幅広く含むものである。

【0096】

また、本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、または抗炎症剤は、優れた抗肥満作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、DPPIV活性阻害作用、抗

50

老化作用、育毛作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、または抗炎症作用を有するので、これらの作用機構に関する研究のための試薬としても好適に利用することができる。

【0097】

〔皮膚化粧品，頭髮化粧品〕

ジヒドロフェルラ酸は、優れた抗老化作用、育毛作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、抗炎症作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、DPPIV活性阻害作用、および抗肥満作用を有しているため、皮膚化粧品または頭髮化粧品に配合するのに好適である。この場合、ジヒドロフェルラ酸またはジヒドロフェルラ酸を含有する組成物をそのまま配合してもよいし、ジヒドロフェルラ酸またはジヒドロフェルラ酸を含有する組成物から製剤化した抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、抗炎症剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、または抗肥満剤を配合してもよい。

10

【0098】

ジヒドロフェルラ酸または上記抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、抗炎症剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、もしくは抗肥満剤を配合することにより、皮膚化粧品または頭髮化粧品に抗老化作用、ラミニン5産生促進作用、MMP-2活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3 mRNA発現促進作用、AGES形成抑制作用、育毛作用、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用、毛乳頭細胞増殖促進作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、メラニン産生抑制作用、抗炎症作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキササミニダーゼ遊離抑制作用、COX-2活性阻害作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、DPPIV活性阻害作用、抗肥満作用、血中コレステロール低減作用、または血中遊離脂肪酸低減作用を付与することができる。

20

【0099】

これらの作用は、いずれも皮膚化粧品または頭髮化粧品に付与されることで好ましい作用を発揮するものであるが、中でも、抗老化作用、ラミニン5産生促進作用、MMP-2活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3 mRNA発現促進作用、AGES形成抑制作用、美白作用、メラニン産生抑制作用、抗炎症作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキササミニダーゼ遊離抑制作用、COX-2活性阻害作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用、または抗男性ホルモン作用が皮膚化粧品に付与されると、それらの作用が発揮されやすいため、特に好適である。

30

【0100】

また、前述した作用の中でも、育毛作用、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用、毛乳頭細胞増殖促進作用、抗男性ホルモン作用、抗炎症作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキササミニダーゼ遊離抑制作用、COX-2活性阻害作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、ラミニン5産生促進作用、ヒアルロン酸産生促進作用、エラスチン産生促進作用、線維芽細胞増殖促進作用、またはAGES形成抑制作用が頭髮化粧品に付与されると、それらの作用が発揮されやすいため、特に好適である。

40

【0101】

ジヒドロフェルラ酸、または上記抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、抗炎症剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、もしくは抗肥満剤を配合し得る皮膚化粧品または頭髮化粧品の種類は特に限定されるものではなく、皮膚化粧品としては、例えば、軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、ファンデーション等が挙げられ、また、頭髮化粧品としては、例えば、ヘアトニック、ヘアクリーム、ヘアリキッド、シャンプー、ポマード、リンス等が挙げられる。

【0102】

ジヒドロフェルラ酸、または上記抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、抗炎症剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、もしくは抗肥

50

満劑を皮膚化粧品または頭髪化粧品に配合する場合、その配合量は、皮膚化粧品または頭髪化粧品の種類に応じて適宜調整することができるが、好適な配合率は、約 0.0001 ~ 10 質量%であり、特に好適な配合率は、標準的な抽出物に換算して約 0.001 ~ 1 質量%である。

#### 【0103】

本実施形態の皮膚化粧品または頭髪化粧品は、ジヒドロフェルラ酸が有する抗老化作用、ラミニン5産生促進作用、MMP-2活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3mRNA発現促進作用、AGES形成抑制作用、育毛作用、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用、毛乳頭細胞増殖促進作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、メラニン産生抑制作用、抗炎症作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキササミニダーゼ遊離抑制作用、COX-2活性阻害作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、DPPIV活性阻害作用、抗肥満作用、血中コレステロール低減作用、または血中遊離脂肪酸低減作用を妨げない限り、通常の皮膚化粧品または頭髪化粧品の製造に用いられる主剤、助剤またはその他の成分、例えば、収斂剤、殺菌・抗菌剤、美白剤、紫外線吸収剤、保湿剤、細胞賦活剤、消炎・抗アレルギー剤、抗酸化・活性酸素除去剤、油脂類、ロウ類、炭化水素類、脂肪酸類、アルコール類、エステル類、界面活性剤、香料等を併用することができる。このように併用することで、より一般性のある製品となり、また、併用された他の有効成分との間の相乗作用が通常期待される以上の優れた効果をもたらすことがある。

#### 【0104】

本実施形態の皮膚化粧品は、ジヒドロフェルラ酸が有する抗老化作用、ラミニン5産生促進作用、MMP-2活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3mRNA発現促進作用、AGES形成抑制作用、美白作用、メラニン産生抑制作用、抗炎症作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキササミニダーゼ遊離抑制作用、COX-2活性阻害作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、育毛作用、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用、毛乳頭細胞増殖促進作用、抗男性ホルモン作用、DPPIV活性阻害作用、抗肥満作用、血中コレステロール低減作用、および血中遊離脂肪酸低減作用からなる群より選択される1種または2種以上の作用を通じて、皮膚のシワの形成、弾力性の低下、保湿機能の低下等の皮膚の老化症状の予防、治療または改善；創傷または熱傷の治癒の促進；肌荒れ、乾燥肌等のほか、乾燥性皮膚疾患（例えば、アトピー性皮膚炎、乾癬、魚鱗癬等）の予防、治療または改善；皮膚の黒化、シミ、ソバカス等の色素沈着の予防、治療または改善；接触性皮膚炎（かぶれ）、乾癬、尋常性天疱瘡、その他肌荒れに伴う各種皮膚炎症性疾患の予防、治療または改善；脂漏症、座瘡（ニキビなど）等の予防、治療または改善；肥満症、およびそれに伴う動脈硬化、糖尿病、メタボリック症候群等の生活習慣病の予防、治療または改善；などを行うことができる。

#### 【0105】

また、本実施形態の頭髪化粧品は、ジヒドロフェルラ酸が有する育毛作用、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用、毛乳頭細胞増殖促進作用、抗男性ホルモン作用、抗炎症作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキササミニダーゼ遊離抑制作用、COX-2活性阻害作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、抗老化作用、ラミニン5産生促進作用、MMP-2活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3mRNA発現促進作用、AGES形成抑制作用、美白作用、メラニン産生抑制作用、DPPIV活性阻害作用、抗肥満作用、血中コレステロール低減作用、および血中遊離脂肪酸低減作用からなる群より選択される1種または2種以上の作用を通じて、男性型脱毛症、円形脱毛症、トリコチロマニア等の脱毛症の予防、治療または改善；肌荒れ、乾燥肌等のほか、乾燥性皮膚疾患（例えば、アトピー性皮膚炎、乾癬、魚鱗癬等）の治療；接触性皮膚炎（かぶれ）、乾癬、尋常性天疱瘡、その他肌荒れに伴う各種皮膚炎症性

10

20

30

40

50

疾患の予防、治療または改善；毛髪のゴワつきの予防または抑制、毛髪の弾力性やしなやかさ等の回復、毛髪へのハリ・コシの付与；などを行うことができる。

【0106】

〔飲食品〕

ジヒドロフェルラ酸は、優れた抗肥満作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、DPPⅣ活性阻害作用、抗老化作用、育毛作用、抗男性ホルモン作用、美白作用、および抗炎症作用を有しているため、飲食品に配合するのに好適である。この場合、ジヒドロフェルラ酸をそのまま配合してもよいし、ジヒドロフェルラ酸から製剤化した抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPⅣ活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤を配合してもよい。

10

【0107】

ここで、飲食品とは、人の健康に危害を加えるおそれ少なく、通常の社会生活において、経口または消化管投与により摂取されるものをいい、行政区分上の食品、医薬品、医薬部外品等の区分に制限されるものではない。したがって、本実施形態における「飲食品」は、経口的に摂取される一般食品、健康食品（機能性飲食品）、保健機能食品（特定保健用食品、栄養機能食品）、医薬部外品、医薬品等を幅広く含むものである。

【0108】

ジヒドロフェルラ酸または上記抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPⅣ活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、抗炎症剤、もしくは美白剤を飲食品に配合することにより、抗肥満作用、血中コレステロール低減作用、血中遊離脂肪酸低減作用、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用、DPPⅣ活性阻害作用、抗老化作用、ラミニン5産生促進作用、MMP-2活性阻害作用、ヒアルロン酸産生促進作用、表皮角化細胞増殖促進作用、エラスチン産生促進作用、MMP-1活性阻害作用、線維芽細胞増殖促進作用、AQP3mRNA発現促進作用、AGES形成抑制作用、育毛作用、テストステロン5-レダクターゼ活性阻害作用、毛乳頭細胞増殖促進作用、抗男性ホルモン作用、抗炎症作用、ヒアルロニダーゼ活性阻害作用、ヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用、COX-2活性阻害作用、美白作用、またはメラニン産生抑制作用を飲食品に付与することができる。これらの作用は、飲食品に付与されることで作用効果が発揮されやすいため、好適である。

20

【0109】

ジヒドロフェルラ酸、またはジヒドロフェルラ酸から製剤化した抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPⅣ活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、もしくは抗炎症剤を飲食品に配合する場合、それらにおける有効成分の配合量は、使用目的、症状、性別等を考慮して適宜変更することができるが、添加対象となる飲食品の一般的な摂取量を考慮して、成人1日あたりの抽出物摂取量が約1~1000mgになるようにするのが好ましい。なお、添加対象飲食品が顆粒状、錠剤状またはカプセル状の飲食品の場合、ジヒドロフェルラ酸、またはジヒドロフェルラ酸から製剤化した抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPⅣ活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、もしくは抗炎症剤の添加量は、添加対象飲食品に対して通常0.1~100質量%であり、好ましくは5~100質量%である。

30

40

【0110】

本実施形態の飲食品は、ジヒドロフェルラ酸をその活性を妨げないような任意の飲食品に配合したものであってもよいし、ジヒドロフェルラ酸を主成分とする栄養補助食品であってもよい。

【0111】

本実施形態の飲食品を製造する際には、例えば、デキストリン、デンプン等の糖類；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、中鎖脂肪酸トリグリセリド等の油脂類などの任意の助剤を添加して任意の形状の飲食品にすることができる。

50

【0112】

ジヒドロフェルラ酸を配合し得る飲食品は特に限定されないが、その具体例としては、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果実飲料、乳酸飲料等の飲料（これらの飲料の濃縮原液および調整用粉末を含む）；アイスクリーム、アイスシャーベット、かき氷等の冷菓；そば、うどん、はるさめ、ぎょうざの皮、しゅうまいの皮、中華麺、即席麺等の麺類；飴、チューインガム、キャンディー、ガム、チョコレート、錠菓、スナック菓子、ビスケット、ゼリー、ジャム、クリーム、焼き菓子等の菓子類；かまぼこ、ハム、ソーセージ等の水産・畜産加工食品；加工乳、発酵乳等の乳製品；サラダ油、てんぷら油、マーガリン、マヨネーズ、ショートニング、ホイップクリーム、ドレッシング等の油脂および油脂加工食品；ソース、たれ等の調味料；スープ、シチュー、サラダ、惣菜、漬物；その他種々の形態の健康・栄養補助食品；錠剤、カプセル剤、ドリンク剤などが挙げられ、これらの飲食品にジヒドロフェルラ酸を配合するときに、通常用いられる補助的な原料や添加物を併用することができる。

10

【0113】

なお、本実施形態の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPIV活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、抗炎症剤、皮膚化粧品、頭髪化粧品、および飲食品は、ヒトに対して好適に適用されるものであるが、それぞれの作用効果が奏される限り、ヒト以外の動物（例えば、マウス、ラット、ハムスター、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、サル等）に対して適用することもできる。

20

【実施例】

【0114】

以下、試験例を示し、本発明を具体的に説明するが、本発明は下記の各例に何ら制限されるものではない。なお、本試験例においては、被験試料としてジヒドロフェルラ酸（東京化成工業社製、試料1）を使用した。

【0115】

〔試験例1〕サイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用試験

ジヒドロフェルラ酸（試料1）について、以下のようにしてサイクリックAMPホスホジエステラーゼ活性阻害作用を試験した。

【0116】

5 mmol / L の塩化マグネシウムを含有する 50 mmol / L Tris - HCl 緩衝液（pH 7.5）0.2 mL に、2.5 mg / mL ウシ血清アルブミン溶液 0.1 mL、0.1 mg / mL サイクリックAMPホスホジエステラーゼ溶液 0.1 mL、および被験試料溶液（試料1、試料濃度は下記表1を参照）0.05 mL を加え、37 にて5分間静置した。その後、0.5 mg / mL サイクリックAMP溶液 0.05 mL を加え、37 で60分間反応させた。反応終了後、3分間沸騰水浴上で煮沸することにより反応を停止させ、これを遠心（2260 × g, 10分間, 4 ）し、上清中の反応基質であるサイクリックAMPを、下記の高速液体クロマトグラフィー条件3にて分析した。また、コントロールとして、試料無添加の溶媒のみを加えて同様の操作を行った。

30

【0117】

< 高速液体クロマトグラフィー条件3 >

製品名：Chromatocorder 12（SYSTEM INSTRUMENTS社製）

固定相：Wakosil C<sub>18</sub>-ODS 5 μm（和光純薬工業社製）

カラム長：250 mm

移動相：1 mmol / L TBAP in 25 mmol / L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : CH<sub>3</sub>CN = 90 : 10

移動相流速：1.0 mL / min

検出：260 nm

40

【0118】

次に、サイクリックAMP標準品のピーク面積（A）、試料無添加時におけるサイクリックAMP標準品とサイクリックAMPホスホジエステラーゼとの反応溶液の上清のピー

50

ク面積 ( B 1 ) および被験試料添加時におけるサイクリック A M P 標準品とサイクリック A M P ホスホジエステラーゼとの反応溶液の上清のピーク面積 ( B 2 ) を求めた。得られた結果から、下記式により試料無添加時のサイクリック A M P 標準品の分解率 ( C ) および被験試料添加時のサイクリック A M P 標準品の分解率 ( D ) を算出した。

【 0 1 1 9 】

試料無添加での標準品分解率 ( C , % ) = ( 1 - B 1 / A ) × 1 0 0

被験試料添加での標準品の分解率 ( D , % ) = ( 1 - B 2 / A ) × 1 0 0

【 0 1 2 0 】

その後、上記式により算出した各分解率 ( C , D ) に基づいて、下記式によりサイクリック A M P ホスホジエステラーゼ活性阻害率 ( % ) を算出した。

c A M P ホスホジエステラーゼ活性阻害率 ( % ) = ( 1 - D / C ) × 1 0 0

結果を表 1 に示す。

【 0 1 2 1 】

【表 1】

濃度 ( $\mu$ M)	cAMPホスホジエステラーゼ 活性阻害率 (%)
250	19.0
500	17.0

【 0 1 2 2 】

表 1 に示すように、ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) は、優れたサイクリック A M P ホスホジエステラーゼ活性阻害作用を有することが確認された。

【 0 1 2 3 】

〔試験例 2〕血中脂質低減作用試験

ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) について、以下のようにして血中脂質低減作用を試験した。

【 0 1 2 4 】

4 週齢の T S O D マウス ( 清水実験材料社より購入 ) を十分検疫馴化した後、一般状態の観察および体重測定を行い、健康状態が良好な動物を選んで 5 週齢で使用した。動物は、温度 :  $22 \pm 3$  、湿度 :  $55 \pm 15$  %、換気 : 常時オールフレッシュ方式、照明 12 時間 / 日 ( 午前 6 時より午後 6 時 ) の条件にて、プラスチック製飼育ケージに収容して飼育した。飼料は実験動物用固形飼料ラボ M R ストック ( 日本農産工業社製 ) を自由接種させ、また飲料水は水道水を自動給水装置にて自由摂取させた。

【 0 1 2 5 】

5 週齢のマウスを、ジヒドロフェルラ酸 5 0 mg/kg/day 投与群、およびコントロール群 ( control ) に分け ( 各群 7 匹で構成、合計 1 4 匹 )、1 日 1 回ゾンデを用いた胃内投与を行い、7 週間飼養した。試験終了前日から 1 6 時間の絶食を行い、試験終了時にはイソフルラン麻酔下で採血を行った。採取した血液から、遠心分離 ( 3 , 0 0 0 rpm、1 0 分 ) により血漿を調製し、総コレステロールおよび遊離脂肪酸の量を測定した。なお、総コレステロール ( T-CHO ) の測定には D R I - C H E M 3 0 3 0 ( 富士フィルム社製 ) を用い、遊離脂肪酸 ( NEFA ) の測定には N E F A - C テストワコー ( 和光純薬工業社製 ) を用いた。

結果を表 2 に示す。

【 0 1 2 6 】

10

20

30

40

50

【表 2】

群構成	血液パラメータ (mg/dL)	
	T-CHO	NEFA
コントロール	229	4.4
ジヒドロフェルラ酸 50 mg/kg/day	197	3.9

10

## 【0127】

表 2 に示すように、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）は、血中コレステロール低減作用および血中遊離脂肪酸低減作用に優れていることが確認された。

## 【0128】

〔試験例 3〕 DPP IV 活性阻害作用試験

ジヒドロフェルラ酸（試料 1）について、以下のようにしてジペプチジルペプチダーゼ IV（DPP IV）阻害作用を試験した。

## 【0129】

96 ウェルプレートにて、25 mM Tris-HCl 緩衝液（pH 8.0）にて調製した被験試料（試料 1，終濃度は下記表 3 を参照）25  $\mu$ L と、上記緩衝液にて調製した 0.4  $\mu$ g/mL DPP IV（rhCD26，R&Dシステム社製）溶液 25  $\mu$ L とを混合し、37  $^{\circ}$ C にて 5 分間プレインキュベーションした。その後、上記緩衝液にて調製した 0.5 mM Gly-Pro-p-NA-Tos（ペプチド研究所社製）50  $\mu$ L を添加し、37  $^{\circ}$ C にて 90 分間反応させた。反応終了後、波長 415 nm における吸光度を測定した。得られた結果から、下記式により DPP IV 阻害率（%）を算出した。

20

## 【0130】

$$\text{DPP IV 阻害率 (\%)} = \{ 1 - (C - D) / (A - B) \} \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A：試料無添加・酵素添加での波長 415 nm における吸光度

B：試料無添加・酵素無添加での波長 415 nm における吸光度

C：被験試料添加・酵素添加での波長 415 nm における吸光度

D：被験試料添加・酵素無添加での波長 415 nm における吸光度

30

結果を表 3 に示す。

## 【0131】

【表 3】

濃度 ( $\mu$ M)	DPPIV阻害率 (%)
625	5.1
2500	14.7
10000	99.1

40

## 【0132】

表 3 に示すように、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）は優れた DPP IV 阻害作用を示した。

## 【0133】

50

## 〔試験例 4〕ラミニン 5 産生促進作用試験

ジヒドロフェルラ酸（試料 1）について、以下のようにしてラミニン 5 産生促進作用を試験した。

## 【0134】

ヒト正常新生児表皮角化細胞（NH EK）を、80 cm<sup>2</sup> フラスコにてヒト正常表皮角化細胞用培地（KGM）を用いて 37・5% CO<sub>2</sub> - 95% air の条件下にて前培養し、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を 1.0 × 10<sup>5</sup> cell / mL の細胞密度となるように KGM から BPE を除いた培地（KGM - BPE）で希釈した後、24 ウェルプレートに 1 ウェルあたり 500 μL ずつ播種し、37・5% CO<sub>2</sub> - 95% air の条件下で二日間培養した。

10

## 【0135】

培養終了後、培地を除去し、KGM - BPE 培地に溶解した被験試料（試料 1，試料濃度は下記表 4 を参照）を各ウェルに 500 μL ずつ添加し、37・5% CO<sub>2</sub> - 95% air の条件下で 48 時間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加の KGM - BPE 培地を用いて同様に培養した。培養終了後、上清 100 μL を ELISA プレートに移し換え、37 で 2 時間プレートに吸着させた後、吸着させたラミニン 5 の量を、モノクローナル抗ヒトラミニン 5 抗体（マウス IgG，ケミコン社製）を用いた ELISA 法により測定した。得られた測定結果から、下記式によりラミニン 5 産生促進率（%）を算出した。

## 【0136】

$$\text{ラミニン 5 産生促進率 (\%)} = A / B \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A：被験試料添加時の波長 405 nm における吸光度

B：試料無添加時の波長 405 nm における吸光度

結果を表 4 に示す。

20

## 【0137】

## 【表 4】

濃度 (μM)	ラミニン5産生促進率 (%)
25	113.9
100	104.0

30

## 【0138】

表 4 に示すように、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）は優れたラミニン 5 産生促進作用を有することが確認された。

## 【0139】

## 〔試験例 5〕MMP - 2 活性阻害作用試験

MMP - 2 は、特開 2007 - 217352 号公報に記載の方法により調製したものをを用いた。すなわち、MMP - 2 タンパク質を、C 末端にヒスチジン 6 残基を持つ組換え体 proMMP タンパク質として大腸菌遺伝子発現系を用い大量発現させ、Ni - NTA 樹脂を用いた精製およびリフォールディングを行った後、活性型へ移行させた。これを酵素標品とし、適宜希釈し酵素溶液を調製した。

得られた酵素溶液を用い、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）について、以下のようにして MMP - 2 活性阻害作用を試験した。

## 【0140】

蛍光強度測定用 96 ウェルプレートを用い、被験試料（試料 1，試料濃度は下記表 5 を参照）20 μL、酵素溶液 40 μL および緩衝液（0.05 mol / L Tris，150

40

50

mmol/L NaCl, 10 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, 50 μmol/L ZnSO<sub>4</sub>, 0.02% NaN<sub>3</sub>, 0.05% Brij 35 (pH 7.5) 20 μLを混合し、37にて15分静置した。その後、4.16 μmol/Lに調製した蛍光基質ペプチド(MOCAC/DNP peptide) 120 μLを添加し、直ちに励起波長340 nm、蛍光波長420 nmにおける蛍光強度を測定し、これを基質添加直後の蛍光強度とした。測定後直ちに37で120分反応させ、この間、励起波長340 nm、蛍光波長420 nmにおける蛍光強度を15分毎に測定し、これらを基質添加後の蛍光強度とした。また同様の方法で空試験を行い補正した。得られた結果から、下記式によりMMP-2活性阻害率(%)を算出した。

【0141】

$$\text{MMP-2 活性阻害率 (\%)} = \{ 1 - (C - D) / (A - B) \} \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A: 試料無添加での基質添加120分後の420 nmにおける蛍光強度

B: 試料無添加での基質添加直後の420 nmにおける蛍光強度

C: 被験試料添加での基質添加120分後の420 nmにおける蛍光強度

D: 被験試料添加での基質添加直後の420 nmにおける蛍光強度

結果を表5に示す。

【0142】

【表5】

濃度 (μM)	MMP-2活性阻害率 (%)
509.7	53.5
1019.4	58.0
2038.7	55.7

【0143】

表5に示すように、ジヒドロフェルラ酸(試料1)は、優れたMMP-2活性阻害作用を有することが確認された。

【0144】

〔試験例6〕真皮ヒアルロン酸産生促進作用試験

ヒト正常皮膚線維芽細胞(NB1RGB)を、10% FBS含有MEM培地を用いて培養した後、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を1.6 × 10<sup>5</sup> cells/mLの細胞密度になるよう0.5% FBS含有MEM培地で希釈した後、96ウェルプレートに1ウェル当たり100 μLずつ播種し、一晚培養した。

【0145】

培養終了後、培地を除去し、0.5% FBS含有MEM培地に溶解した被験試料(試料1, 試料濃度は下記表6を参照)を各ウェルに100 μL添加し、3日間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加の0.5% FBS含有MEM培地を用いて同様に培養した。培養後、各ウェルの培地中のヒアルロン酸量を、ヒアルロン酸結合タンパク(HABP)を用いたサンドイッチ法により測定した。得られた結果から、下記式によりヒアルロン酸産生促進率(%)を算出した。

【0146】

$$\text{真皮ヒアルロン酸産生促進率 (\%)} = A / B \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A: 被験試料添加時のヒアルロン酸量

B: 被験試料無添加時のヒアルロン酸量

結果を表 6 に示す。

【 0 1 4 7 】

【表 6】

濃度 ( $\mu\text{M}$ )	真皮ヒアルロン酸産生促進率 (%)
25	123.0
50	111.3
100	104.2

10

【 0 1 4 8 】

表 6 に示すように、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）は、優れた真皮ヒアルロン酸産生促進作用を有することが確認された。

【 0 1 4 9 】

〔試験例 7〕表皮角化細胞増殖促進作用試験

ジヒドロフェルラ酸（試料 1）について、以下のようにして表皮角化細胞増殖促進作用を試験した。

20

【 0 1 5 0 】

正常ヒト新生児表皮角化細胞（NHEK）を、正常ヒト表皮角化細胞増殖培地（KGM）を用いて培養した後、トリプシン処理にて細胞を回収した。回収した細胞を  $3.0 \times 10^4$  cells/mL の細胞密度になるように KGM 培地で希釈した後、コラーゲンコートした 96 ウェルプレートに 1 ウェルあたり  $100 \mu\text{L}$  ずつ播種し、一晚培養した。培養終了後、KGM 培地に溶解した被験試料（試料 1，試料濃度は下記表 7 を参照）を各ウェルに  $100 \mu\text{L}$  添加し、3 日間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加の KGM 培地を用いて同様に培養した。

【 0 1 5 1 】

表皮角化細胞増殖促進作用は、MTT アッセイ法を用いて測定した。すなわち、3 日間培養後、培地を除去し、終濃度  $0.4 \text{ mg/mL}$  で PBS (-) 緩衝液に溶解した MTT を各ウェル  $100 \mu\text{L}$  ずつ添加した。2 時間培養した後に、細胞内に生成したブルーホルマザンを 2 - プロパノール  $100 \mu\text{L}$  で抽出した。抽出後、波長  $570 \text{ nm}$  における吸光度を測定した。同時に濁度として波長  $650 \text{ nm}$  における吸光度を測定し、両者の差をもってブルーホルマザン生成量とした。得られた結果から、下記式により表皮角化細胞増殖促進率 (%) を算出した。

30

【 0 1 5 2 】

$$\text{表皮角化細胞増殖促進率 (\%)} = S t / C t \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

S t : 被験試料を添加した細胞でのブルーホルマザン生成量

C t : 試料無添加の細胞でのブルーホルマザン生成量

40

結果を表 7 に示す。

【 0 1 5 3 】

50

【表 7】

濃度 ( $\mu\text{M}$ )	表皮角化細胞増殖促進率 (%)
6.25	116.7
25	121.7
100	112.2

10

## 【0154】

表 7 に示すように、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）は、優れた表皮角化細胞増殖促進作用を有することが確認された。

## 【0155】

〔試験例 8〕エラスチン産生促進作用試験

ジヒドロフェルラ酸（試料 1）について、以下のようにしてエラスチン産生促進作用を試験した。

## 【0156】

ヒト正常線維芽細胞（NB1RGB）を、10% FBS 含有ダルベッコ MEM 培地を用いて培養した後、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を  $2.2 \times 10^5$  cells/mL の細胞密度になるように上記培地で希釈した後、96 ウェルマイクロプレートに 1 ウェル当たり 100  $\mu\text{L}$  ずつ播種し、一晚培養した。

20

## 【0157】

培養終了後、培地を除去し、0.25% FBS 含有ダルベッコ MEM 培地に溶解した被験試料（試料 1，試料濃度は下記表 8 を参照）を各ウェルに 150  $\mu\text{L}$  添加し、2 日間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加の 0.25% FBS 含有ダルベッコ MEM 培地を用いて同様に培養した。培養終了後、上清を回収し、培養上清に遊離したエラスチン量を ELISA 法により測定した。測定結果から、下記式によりエラスチン産生促進率（%）を算出した。

30

## 【0158】

$$\text{エラスチン産生促進率 (\%)} = A / B \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A：被験試料添加時のエラスチン量

B：試料無添加時のエラスチン量

結果を表 8 に示す。

## 【0159】

【表 8】

濃度 ( $\mu\text{M}$ )	エラスチン産生促進率 (%)
62.5	117.4

40

## 【0160】

表 8 に示すように、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）は優れたエラスチン産生促進作用を示した。

## 【0161】

〔試験例 9〕MMP-1 活性阻害作用試験

ジヒドロフェルラ酸（試料 1）について、以下のようにして MMP-1 活性阻害作用を

50

試験した。

【0162】

蓋付試験管にて、20 mmol / L の塩化カルシウムを含有する 0.1 mol / L Tris - HCl 緩衝液 (pH 7.1) に溶解した被験試料 (試料 1, 試料濃度は下記表 9 を参照) 50 μL、MMP - 1 溶液 (Sigma社製, COLLAGENASE Type IV from Clostridium histolyticum) 50 μL、および Pz ペプチド溶液 (BACHEM Feinchemikalien AG社製, Pz-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg-OH) 400 μL を混合し、37 °C にて 30 分反応させた後、25 mmol / L のクエン酸溶液 1 mL を加え反応を停止した。

【0163】

その後、酢酸エチル 5 mL を加え、激しく振とうした。これを遠心 (1600 × g, 10 分) し、酢酸エチル層の波長 320 nm における吸光度を測定した。また、同様にして空試験を行い補正した。得られた結果から、下記式により MMP - 1 活性阻害率 (%) を算出した。

【0164】

$$\text{MMP - 1 活性阻害率 (\%)} = \{ 1 - (C - D) / (A - B) \} \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A : 試料無添加・酵素添加での波長 320 nm における吸光度

B : 試料無添加・酵素無添加での波長 320 nm における吸光度

C : 試料添加・酵素添加での波長 320 nm における吸光度

D : 試料添加・酵素無添加での波長 320 nm における吸光度

結果を表 9 に示す。

【0165】

【表 9】

濃度 (μM)	MMP-1 活性阻害率 (%)
250	7.0
1000	12.9

【0166】

表 9 に示すように、ジヒドロフェルラ酸 (試料 1) は、優れた MMP - 1 活性阻害作用を有していると認められた。

【0167】

〔試験例 10〕皮膚線維芽細胞増殖促進作用試験

ジヒドロフェルラ酸 (試料 1) について、以下のようにして皮膚線維芽細胞増殖促進作用を試験した。

【0168】

正常ヒト皮膚線維芽細胞 (NB1RGB) を、10% FBS 含有 - MEM 培地を用いて培養した後、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を  $7.0 \times 10^4$  cells / mL の細胞密度になるように 5% FBS 含有 - MEM 培地で希釈した後、96 ウェルプレートに 1 ウェルあたり 100 μL ずつ播種し、一晚培養した。培養終了後、培地を除去し、5% FBS 含有 - MEM 培地に溶解した被験試料 (試料 1, 試料濃度は下記表 10 を参照) を各ウェルに 100 μL ずつ添加し、3 日間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加の 5% FBS 含有 - MEM 培地を用いて同様に培養した。

【0169】

線維芽細胞増殖促進作用は、MTT アッセイ法を用いて測定した。すなわち、3 日間培養後、培地を除去し、終濃度 5 mg / mL で PBS (-) 緩衝液に溶解した MTT を各ウェルに 100 μL ずつ添加した。2 時間培養した後に、細胞内に生成したブルーホルマザ

ンを2 - プロパノール100 μLで抽出した。抽出後、波長570 nmにおける吸光度を測定した。同時に濁度として波長650 nmにおける吸光度を測定し、両者の差をもってブルーホルマザン生成量とした。得られた結果から、下記の式により線維芽細胞増殖促進率(%)を算出した。

【0170】

$$\text{線維芽細胞増殖促進率}(\%) = S t / C t \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

S t : 被験試料添加でのブルーホルマザン生成量

C t : 試料無添加でのブルーホルマザン生成量

結果を表10に示す。

10

【0171】

【表10】

濃度 (μM)	線維芽細胞増殖促進率 (%)
62.5	106.7
250	106.2

20

【0172】

表10に示すように、ジヒドロフェルラ酸(試料1)は、優れた線維芽細胞増殖促進作用を有することが確認された。

【0173】

〔試験例11〕アクアポリン3(AQP3)mRNA発現促進作用試験

ジヒドロフェルラ酸(試料1)について、以下のようにしてAQP3mRNA発現促進作用を試験した。

【0174】

ヒト正常新生児表皮角化細胞(NHEK)を、80 cm<sup>2</sup> フラスコにてヒト正常表皮角化細胞用培地(KGM)を用い、37・5%CO<sub>2</sub> - 95%airの条件下にて前培養し、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を20×10<sup>4</sup> cells/mLの細胞密度になるようにKGM培地で希釈した後、35mmシャーレ(FALCON社製)に2mLずつ播種し(40×10<sup>4</sup> cells/シャーレ)、37・5%CO<sub>2</sub> - 95%airの条件下で24時間培養した。

30

【0175】

培養後に培地を除去し、KGM培地に溶解した被験試料(試料1, 試料濃度は下記表11を参照)のKGM培地を各シャーレに2mLずつ添加し、37・5%CO<sub>2</sub> - 95%airの条件下にて24時間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加のKGM培地を用いて同様に培養した。培養後、培地を除去し、ISOGEN(ニッポンジーン社製, Cat. No. 311-02501)にて総RNAを抽出し、それぞれのRNA量を分光光度計にて測定し、200 ng/μLになるように総RNAを調製した。

40

【0176】

この総RNAを鋳型とし、AQP3および内部標準であるGAPDHについて、mRNAの発現量を測定した。検出はリアルタイムPCR装置Smart Cycler(Cepheid社製)を用いて、TaKaRa SYBR Prime Script RT-PCR kit(Perfect Real Time)(タカラバイオ社製, code No. RR063A)によるリアルタイム2Step RT-PCR反応により行った。AQP3mRNAの発現量は、「被験試料添加」および「試料無添加」にてそれぞれ培養した細胞から調製した総RNA標品を基にして、GAPDHの値で補正値を求めた。得られた値から、下記式によりAQP3mRNA発現促進率(%)を算出した。

【0177】

50

$$AQP3 mRNA 発現促進率 (\%) = A / B \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A : 被験試料添加時の補正值

B : 試料無添加時の補正值

結果を表 1 1 に示す。

【 0 1 7 8 】

【表 1 1】

濃度 ( $\mu$ M)	AQP3 mRNA発現促進率 (%)
25	118.1

10

【 0 1 7 9 】

表 1 1 に示すように、ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) は、優れた A Q P 3 m R N A 発現促進作用を有することが確認された。

【 0 1 8 0 】

〔 試験例 1 2 〕 A G E s 形成抑制作用試験

ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) について、以下のようにして最終糖化生成物 ( A G E s ) の形成抑制作用を試験した。

20

【 0 1 8 1 】

96 ウェルの I 型コラーゲンコートプレート ( 旭硝子社製 ) に、P B S ( - ) 緩衝液にて調製した 0 . 2 M D ( - ) - リボースおよび被験試料 ( 試料 1 , 試料濃度は表 1 4 を参照 ) の混合液を 100  $\mu$  L に添加した後、37 で 2 週間静置し、A G E s を形成させた。なお、陰性対照として P B S ( - ) 緩衝液のみ、および陽性対照として P B S ( - ) 緩衝液にて調製した 0 . 2 M D ( - ) - リボース溶液を、それぞれ同様に静置した。2 週間後、抗 A G E s 抗体 ( トランスジェニック社製 ) を用いた E L I S A 法により A G E s 量を測定し、A G E s 形成抑制作用を評価した。得られた結果から、下記式により A G E s 形成抑制率 ( % ) を算出した。

【 0 1 8 2 】

$$A G E s \text{ 形成抑制率 } (\%) = \{ ( B - C ) / ( B - A ) \} \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A : 陰性対照での波長 405 nm における吸光度

B : 陽性対照での波長 405 nm における吸光度

C : 被験試料添加での波長 405 nm における吸光度

結果を表 1 2 に示す。

【 0 1 8 3 】

【表 1 2】

濃度 ( $\mu$ M)	AGEs形成抑制率 (%)
2000	12.3

40

【 0 1 8 4 】

表 1 2 に示すように、ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) は優れた A G E s 形成抑制作用を示した。

【 0 1 8 5 】

〔 試験例 1 3 〕 テストステロン 5 - レダクターゼ阻害作用試験

ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) について、以下のようにしてテストステロン 5 - レダ

50

クターゼ阻害作用を試験した。

【0186】

蓋付V底試験管にて、プロピレングリコールで調製した4.2 mg/mLテストステロン(和光純薬工業社製)溶液20 µLと、1 mg/mL NADPHを含有する5 mmol/L Tris-HCl (pH 7.13)緩衝液825 µLとを混合した。

【0187】

さらに、50%エタノールにて調製した被験試料(試料1, 試料濃度は下記表12を参照)溶液80 µLと、S-9(ラット肝臓ホモジネート, オリエンタル酵母工業社製)75 µLとを加えて混合し、37℃にて30分間インキュベートした。その後、塩化メチレン1 mLを加えて反応を停止させた。これを遠心分離し(1600 × g, 10分間)、塩化メチレン層を分取して、分取した塩化メチレン層について、下記の条件にてガスクロマトグラフィー分析に供し、3β-アンドロスタンジオール、5α-ジヒドロテストステロン(5α-DHT)およびテストステロンの濃度を定量した。なお、コントロールとして、被験試料溶液の代わりに試料溶媒を同量(80 µL)用いて同様に処理し、ガスクロマトグラフィー分析に供した。

10

【0188】

<ガスクロマトグラフィー条件>

使用装置: Shimadzu GC-2010(島津製作所社製)

カラム: DB-1701(内径: 0.53 mm, 長さ: 30 m, 膜厚: 1.0 µm, J&W Scientific社製)

20

カラム温度: 240

注入口温度: 300

検出器: FID

試料注入量: 1 µL

スプリット比: 1:2

キャリアガス: 窒素ガス

キャリアガス流速: 3 mL/min

【0189】

3β-アンドロスタンジオール、5α-DHTおよびテストステロンの濃度の定量は、下記の方法により行った。

30

3β-アンドロスタンジオール、5α-DHTおよびテストステロンの標準品を塩化メチレンに溶解し、当該溶液をガスクロマトグラフィー分析に供し、これらの化合物の濃度(µg/mL)およびピーク面積から、ピーク面積と化合物の濃度との対応関係を予め求めておいた。そして、テストステロンとS-9との反応後の3β-アンドロスタンジオール、5α-DHTおよびテストステロンのそれぞれのピーク面積あたりの濃度を、予め求めておいた対応関係を利用して、下記式(1)に基づいて求めた。

【0190】

$$A = B \times C / D \cdots (1)$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A: 3β-アンドロスタンジオール、5α-DHTまたはテストステロンの濃度

40

B: 3β-アンドロスタンジオール、5α-DHTまたはテストステロンのピーク

面積

C: 標準品の濃度

D: 標準品のピーク面積

【0191】

式(1)に基づいて算出された化合物濃度を用いて、下記式(2)に基づき、変換率(テストステロン5α-レダクターゼによりテストステロンが還元されて生成した3β-アンドロスタンジオールおよび5α-DHTの濃度と、テストステロンの初期濃度との濃度比)を算出した。

【0192】

50

変換率 = (E + F) / (E + F + G) . . . ( 2 )

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

E : 3 - アンドロスタンジオールの濃度 ( μ g / m L )

F : 5 - D H T の濃度 ( μ g / m L )

G : テストステロンの濃度 ( μ g / m L )

【 0 1 9 3 】

式 ( 2 ) に基づいて算出された変換率を用いて、下記式 ( 3 ) に基づき、テストステロン5 - レダクターゼ阻害率 ( % ) を算出した。

テストステロン5 - レダクターゼ阻害率 ( % ) = ( 1 - H / I ) × 1 0 0 . . . ( 3 )

10

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

H : 被検試料添加での変換率

I : 試料無添加での変換率

結果を表 1 3 に示す。

【 0 1 9 4 】

【表 1 3】

濃度 (μM)	テストステロン5α - レダクターゼ阻害率 (%)
2000	66.7
10000	100

20

【 0 1 9 5 】

表 1 3 に示すように、ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) は、優れたテストステロン5 - レダクターゼ阻害作用を有することが確認された。

【 0 1 9 6 】

〔 試験例 1 4 〕 毛乳頭細胞増殖促進作用試験

30

ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) について、以下のようにして毛乳頭細胞増殖促進作用を試験した。

【 0 1 9 7 】

正常ヒト頭髪毛乳頭細胞 ( H F D P C , 男性頭頂部由来 ) を、 1 % F C S および増殖添加剤を含有する毛乳頭細胞増殖培地 ( P C G M , 東洋紡績社製 ) を用いて培養した後、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を、 1 0 % F B S 含有 D M E M 培地を用いて 1 . 0 × 1 0 4 c e l l s / m L の細胞密度になるように希釈した後、コラーゲンコートした 9 6 ウェルプレートに 1 ウェルあたり 2 0 0 μ L ずつ播種し、 3 日間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加の無血清 D M E M 培地を用いて同様に培養した。

【 0 1 9 8 】

40

その後、培地を除去し、無血清 D M E M 培地に溶解した被験試料 ( 試料 1 , 試料濃度は表 1 6 を参照 ) 2 0 0 μ L を各ウェルに添加し、さらに 4 日間培養した。培養終了後、 M T T アッセイにより毛乳頭細胞増殖促進作用を測定した。すなわち、培地を除去し、無血清 D M E M 培地で調製した 0 . 4 m g / m L M T T 2 0 0 μ L を添加し、さらに 2 時間培養した後、細胞内に生成したブルーホルマザンを 2 - プロパノール 1 0 0 μ L で抽出した。この抽出液について、ブルーホルマザンの吸収極大点がある 5 7 0 n m の吸光度を測定した。同時に濁度として波長 6 5 0 n m における吸光度を測定し、両者の差をもってブルーホルマザン生成量とした。測定結果から、下記式に基づいて、毛乳頭細胞増殖促進率 ( % ) を算出した。

【 0 1 9 9 】

50

毛乳頭細胞増殖促進率(%) =  $A / B \times 100$   
 式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A : 被験試料添加でのブルーホルマザン生成量

B : 試料無添加でのブルーホルマザン生成量

結果を表14に示す。

【0200】

【表14】

濃度 ( $\mu\text{M}$ )	毛乳頭細胞増殖促進率 (%)
6.25	114.6
25	116.3
100	117.0

10

【0201】

表14に示すように、ジヒドロフェルラ酸(試料1)は、優れた毛乳頭細胞増殖促進作用を有していると認められた。

20

【0202】

〔試験例15〕B16メラノーマ細胞に対するメラニン産生抑制作用試験

ジヒドロフェルラ酸(試料1)について、以下のようにしてB16メラノーマ細胞に対するメラニン産生抑制作用を試験した。

【0203】

B16メラノーマ細胞を、10% FBS含有ダルベッコMEM培地を用いて培養した後、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を $24.0 \times 10^4$  cells/mLの細胞密度になるように10% FBSおよび1 mmol/Lテオフィリン含有ダルベッコMEM培地で希釈した後、48ウェルプレートに1ウェルあたり300  $\mu\text{L}$ ずつ播種し、6時間培養した。

30

【0204】

培養終了後、10% FBSおよび1 mmol/Lテオフィリン含有ダルベッコMEM培地に溶解した被験試料(試料1, 試料濃度は下記表13を参照)を各ウェルに300  $\mu\text{L}$ 添加し、4日間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加の10% FBSおよび1 mmol/Lテオフィリン含有ダルベッコMEM培地を用いて同様に培養した。培養終了後、培地を除去し、2 mol/LのNaOH溶液200  $\mu\text{L}$ を添加して超音波破碎機により細胞を破壊し、波長475 nmにおける吸光度を測定した。測定した吸光度の値から、合成メラニン(SIGMA社製)を用いて作成した検量線をもとにメラニン量を算出した。

【0205】

また、細胞生存率を測定するために、上記と同様にして培養した後、培地を除去し400  $\mu\text{L}$ のPBS緩衝液で洗浄して、終濃度0.05 mg/mLで10% FBS含有ダルベッコMEMに溶解したニュートラルレッドを各ウェルに200  $\mu\text{L}$ 添加し、2.5時間培養した。培養後、ニュートラルレッド溶液を除去し、エタノール・酢酸溶液(エタノール:酢酸:水 = 50:1:49)を各ウェルに200  $\mu\text{L}$ 添加し、色素を抽出した。抽出後、波長540 nmにおける吸光度を測定した。得られた結果から、下記式により細胞生存率により補正したメラニン産生抑制率(%)を算出した。

40

【0206】

メラニン産生抑制率(%) =  $\{ 1 - (B / D) / (A / C) \} \times 100$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A : 試料無添加におけるメラニン量

50

- B : 被験試料添加におけるメラニン量
- C : 試料無添加における 540 nm の吸光度
- D : 被験試料添加における 540 nm の吸光度

結果を表 15 に示す。

【 0 2 0 7 】

【表 15】

濃度 ( $\mu\text{M}$ )	メラニン産生抑制率 (%)
62.5	24.2
250	20.8

10

【 0 2 0 8 】

表 15 に示すように、ジヒドロフェルラ酸 ( 試料 1 ) は、優れたメラニン産生抑制作用を有していると認められた。

【 0 2 0 9 】

〔 試験例 16 〕 ヒアルロニダーゼ活性阻害作用試験

0.1 mol / L 酢酸緩衝液 ( pH 3.5 ) に溶解した被験試料 ( 試料 1 , 試料濃度は下記表 14 を参照 ) 0.2 mL に、ヒアルロニダーゼ溶液 ( Type IV-S ( from bovine testes ) , 400 NF units/mL , SIGMA 社製 ) 0.1 mL を加え、37 で 20 分間静置した。さらに、活性化剤として 2.5 mmol / L 塩化カルシウム 0.2 mL を加え、37 で 20 分間静置した。これに 0.8 mg / mL ヒアルロン酸ナトリウム溶液 ( from rooster comb ) 0.5 mL を加え、37 で 40 分間反応した。その後、0.4 mol / L 水酸化ナトリウム 0.2 mL を加えて反応を止め冷却した後、各反応溶液にホウ酸溶液 0.2 mL を加え、3 分間煮沸した。氷冷後、p - D A B A 試薬 6 mL を加え、37 で 20 分間反応した。その後、波長 585 nm における吸光度を測定した。

20

【 0 2 1 0 】

また、ブランクとして、酵素溶液を添加しない場合についても同様の操作および吸光度の測定を行った。さらに、コントロールとして、試料溶液を添加せずに蒸留水を添加した場合についても同様の測定を行った。得られた結果から、下記式によりヒアルロニダーゼ活性阻害率 ( % ) を算出した。

30

ヒアルロニダーゼ活性阻害率 ( % ) = { 1 - ( S t - S b ) / ( C t - C b ) } × 100  
 式中の各項はそれぞれ以下を表す。

- S t : 被験試料溶液の波長 585 nm における吸光度
- S b : 被験試料溶液ブランクの波長 585 nm における吸光度
- C t : コントロール溶液の波長 585 nm における吸光度
- C b : コントロール溶液ブランクの波長 585 nm における吸光度

結果を表 16 に示す。

40

【 0 2 1 1 】

【表 16】

濃度 ( $\mu\text{M}$ )	ヒアルロニダーゼ活性阻害率 (%)
250	1.7
1000	16.8

50

## 【0212】

表16に示すように、ジヒドロフェルラ酸(試料1)は、優れたヒアルロニダーゼ活性阻害作用を有することが確認された。

## 【0213】

〔試験例17〕ヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用試験

ジヒドロフェルラ酸(試料1)について、以下のようにしてヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用を試験した。

## 【0214】

ラット好塩基球白血球細胞(RBL-2H3)を、15%FBS含有S-MEM培地を用いて培養した後、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を $4.0 \times 10^5$  cells/mLの細胞密度になるように15%FBS含有S-MEM培地で希釈し、終濃度 $0.5 \mu\text{L}/\text{mL}$ となるようにDNP-specific IgEを添加した後、96ウェルプレートに1ウェルあたり $100 \mu\text{L}$ ずつ播種し、一晚培養した。

## 【0215】

培養後、培地を除去し、シラガニアン緩衝液 $100 \mu\text{L}$ にて洗浄を2回行った。次に、同緩衝液に溶解した被験試料(試料1, 試料濃度は下記表15を参照) $10 \mu\text{L}$ および同緩衝液 $30 \mu\text{L}$ を各ウェルに添加し、 $37^\circ\text{C}$ にて10分間静置した。なお、コントロールとして、試料無添加のシラガニアン緩衝液 $40 \mu\text{L}$ を用いて同様の操作を行った。続いて、 $100 \text{ng}/\text{mL}$  DNP-BSA溶液 $10 \mu\text{L}$ を加え、 $37^\circ\text{C}$ にて15分間静置し、ヘキソサミニダーゼを遊離させた。

## 【0216】

その後、96ウェルプレートを氷上に静置することにより遊離を停止した。各ウェルの細胞上清 $10 \mu\text{L}$ を新たな96ウェルプレートに採取し、各ウェルに $1 \text{mmol}/\text{L}$  p-NAG(p-ニトロフェニル-N-アセチル-D-グルコサミニド)溶液 $10 \mu\text{L}$ を添加し、 $37^\circ\text{C}$ で1時間反応させた。

## 【0217】

反応終了後、各ウェルに $0.1 \text{mol}/\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$   $250 \mu\text{L}$ を加え、波長 $415 \text{nm}$ および $650 \text{nm}$ における吸光度を測定し、 $415 \text{nm}$ における吸光度から $650 \text{nm}$ における吸光度を減じた値を補正值とした。また、ブランクとして、細胞上清 $10 \mu\text{L}$ と、 $0.1 \text{mol}/\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$   $250 \mu\text{L}$ との混合液の波長 $415 \text{nm}$ および $650 \text{nm}$ における吸光度を測定し、補正值を算出した。得られた測定結果から、下記式によりヘキソサミニダーゼ遊離抑制率(%)を算出した。

## 【0218】

$$\text{ヘキソサミニダーゼ遊離抑制率}(\%) = \{1 - (B - C) / A\} \times 100$$

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A: 試料無添加での補正值

B: 被験試料添加での補正值

C: 被験試料添加・p-NAG無添加での補正值

結果を表17に示す。

## 【0219】

## 【表17】

濃度 ( $\mu\text{M}$ )	ヘキソサミニダーゼ 遊離抑制率 (%)
250	6.6
500	17.2

10

20

30

40

50

## 【 0 2 2 0 】

表 1 7 に示すように、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）は、優れたヘキソサミニダーゼ遊離抑制作用を有することが確認された。

## 【 0 2 2 1 】

〔試験例 1 8〕マウスマクロファージにおける COX - 2 活性阻害作用試験（PGE<sub>2</sub> 産生抑制作用試験）

マウスマクロファージ細胞（RAW 2 6 4 . 7）を、1 0 % F B S 含有ダルベッコ MEM 培地を用いて培養した後、セルスクレーパーにより細胞を回収した。回収した細胞を  $2 . 0 \times 1 0 ^ 5 \text{ cells / mL}$  の濃度になるように 1 0 % F B S 含有ダルベッコ MEM 培地で希釈した後、9 6 ウェルプレートに 1 ウェル当たり 1 0 0  $\mu$  L ずつ播種し、1 8 時間培養した。

10

## 【 0 2 2 2 】

培養終了後、既に存在する COX - 1 および少量発現している COX - 2 をアセチル化し失活させるため、培地を 5 0 0  $\mu$  m o l / L アスピリン含有培地に交換し 4 時間培養した。その後、細胞を P B S ( - ) 緩衝液で 3 回洗浄し、終濃度 0 . 5 % D M S O を含む 1 0 % F B S 含有ダルベッコ MEM 培地で溶解した被験試料（試料 1，試料濃度は下記表 1 6 を参照）を各ウェルに 1 0 0  $\mu$  L 添加した後、終濃度 1  $\mu$  g / m L で 1 0 % F B S 含有ダルベッコ MEM に溶解したリポポリサッカライド（L P S，E.coli 0 1 1 1 ; B 4，DIFCO 社製）を 1 0 0  $\mu$  L 添加し、1 6 時間培養した。なお、コントロールとして、試料無添加の終濃度 0 . 5 % D M S O を含む 1 0 % F B S 含有ダルベッコ MEM 培地を用いて同様に培養した。培養終了後、各ウェルの培養上清中のプロスタグランジン E<sub>2</sub> 量を、PGE<sub>2</sub> EIA Kit（Cayman Chemical 社製）を用いて定量した。得られた結果から、下記式により COX - 2 活性阻害率（%，PGE<sub>2</sub> 産生抑制率）を算出した。

20

## 【 0 2 2 3 】

マクロファージ COX - 2 活性阻害率（%） = { 1 - ( A - C ) / ( B - C ) }  $\times$  1 0 0

式中の各項はそれぞれ以下を表す。

A：被験試料添加・L P S 刺激時のプロスタグランジン E<sub>2</sub> 量

B：試料無添加・L P S 刺激時のプロスタグランジン E<sub>2</sub> 量

C：試料無添加・L P S 無刺激時のプロスタグランジン E<sub>2</sub> 量

30

結果を表 1 8 に示す。

## 【 0 2 2 4 】

## 【表 1 8】

濃度 ( $\mu$ M)	マクロファージ COX - 2 活性阻害率 (%)
31. 25	127. 4
125	95. 2
500	108. 3

40

## 【 0 2 2 5 】

表 1 8 に示すように、ジヒドロフェルラ酸（試料 1）は、マクロファージにおいて優れた COX - 2 活性阻害作用を有することが確認された。

## 【 0 2 2 6 】

## 〔配合例 1〕

下記組成の乳液を常法により製造した。

50

ジヒドロフェルラ酸	0.01 g	
ホホバオイル	4.00 g	
1,3-ブチレングリコール	3.00 g	
アルブチン	3.00 g	
ポリオキシエチレンセチルエーテル(20E.O.)	2.50 g	
オリーブオイル	2.00 g	
スクワラン	2.00 g	
セタノール	2.00 g	
モノステアリン酸グリセリル	2.00 g	
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20E.O.)	2.00 g	10
パラオキシ安息香酸メチル	0.15 g	
グリチルリチン酸ステアリル	0.10 g	
黄杞エキス	0.10 g	
グリチルリチン酸ジカリウム	0.10 g	
イチョウ葉エキス	0.10 g	
コンキオリン	0.10 g	
オウバクエキス	0.10 g	
カミツレエキス	0.10 g	
香料	0.05 g	
精製水	残部(全量を100gとする)	20

## 【0227】

## 〔配合例2〕

下記組成のクリームを常法により製造した。

ジヒドロフェルラ酸	0.05 g	
クジンエキス	0.1 g	
オウゴンエキス	0.1 g	
流動パラフィン	5.0 g	
サラシミツロウ	4.0 g	
スクワラン	10.0 g	
セタノール	3.0 g	30
ラノリン	2.0 g	
ステアリン酸	1.0 g	
オレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20E.O.)	1.5 g	
モノステアリン酸グリセリル	3.0 g	
油溶性甘草エキス	0.1 g	
1,3-ブチレングリコール	6.0 g	
パラオキシ安息香酸メチル	1.5 g	
香料	0.1 g	
精製水	残部(全量を100gとする)	40

## 【0228】

## 〔配合例3〕

下記組成の美容液を常法により製造した。

ジヒドロフェルラ酸	0.01 g	
カミツレエキス	0.1 g	
ニンジンエキス	0.1 g	
キサントガム	0.3 g	
ヒドロキシエチルセルロース	0.1 g	
カルボキシビニルポリマー	0.1 g	
1,3-ブチレングリコール	4.0 g	
グリチルリチン酸ジカリウム	0.1 g	50

グリセリン	2.0 g	
水酸化カリウム	0.25 g	
香料	0.01 g	
防腐剤 (パラオキシ安息香酸メチル)	0.15 g	
エタノール	2.0 g	
精製水	残部 (全量を100 gとする)	

## 【0229】

## 〔配合例4〕

下記組成のヘアトニックを常法により製造した。

ジヒドロフェルラ酸	0.4 g	10
酢酸トコフェロール	適量	
セファラチン	0.002 g	
イソプロピルメチルフェノール	0.1 g	
ヒアルロン酸ナトリウム	0.15 g	
グリセリン	15.0 g	
エタノール	15.0 g	
香料	適量	
キレート剤 (エデト酸ナトリウム)	適量	
防腐剤 (ヒノキチオール)	適量	
可溶化剤 (ポリオキシエチレンセチルエーテル)	適量	20
精製水	残部 (全量を100 gとする)	

## 【0230】

## 〔配合例5〕

下記組成のシャンプーを常法により製造した。

ジヒドロフェルラ酸	0.5 g	
マジョラム抽出物	1.0 g	
ウメ果実部抽出物	0.2 g	
ヤシ油脂肪酸メチルタウリンナトリウム	10.0 g	
ヤシ油脂肪酸アミドプロピルベタイン	10.0 g	
ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸ナトリウム	20.0 g	30
ヤシ油脂肪酸ジエタノールアミド	4.0 g	
プロピレングリコール	2.0 g	
香料	適量	
精製水	残部 (全量を100 gとする)	

## 【0231】

## 〔配合例6〕

常法により、以下の組成を有する錠剤を製造した。

ジヒドロフェルラ酸	5.0 mg	
ドロマイト (カルシウム20%、マグネシウム10%含有)	83.4 mg	
カゼインホスホペプチド	16.7 mg	40
ビタミンC	33.4 mg	
マルチトール	136.8 mg	
コラーゲン	12.7 mg	
シヨ糖脂肪酸エステル	12.0 mg	

## 【0232】

## 〔配合例7〕

常法により、以下の組成を有する経口液状製剤を製造した。

< 1アンプル (1本100 mL) 中の組成 >

ジヒドロフェルラ酸	0.3 質量%	
ソルビット	12.0 質量%	50

安息香酸ナトリウム	0.1 質量%
香料	1.0 質量%
硫酸カルシウム	0.5 質量%
精製水	残部 ( 100 質量% )

【産業上の利用可能性】

【0233】

本発明の抗肥満剤、cAMPホスホジエステラーゼ活性阻害剤、DPPⅣ活性阻害剤、抗老化剤、育毛剤、抗男性ホルモン剤、美白剤、および抗炎症剤は、皮膚の老化症状の予防、治療または改善；創傷または熱傷の治療の促進；乾燥性皮膚疾患の予防、治療または改善；脱毛症、特に男性型脱毛症の脱毛症の予防、治療または改善；皮膚の黒化、シミ、ソバカス等の色素沈着の予防または改善；2型糖尿病、肥満、高血圧症、インスリン抵抗性等の予防、治療または改善；各種皮膚炎症性疾患の予防または改善；肥満の予防、治療または改善；などに大きく貢献できる。

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

A 6 1 P 43/00 (2006.01)  
A 6 1 Q 19/06 (2006.01)

## F I

A 6 1 P 3/06  
A 6 1 P 43/00 1 1 1  
A 6 1 Q 19/06

## (56)参考文献

和歌山県工業技術センター研究報告(平成21年度), 2010年, p.1  
Journal of Medicinal Food, 2010年, Vol.13, No.4, pp.808-814, Tab.2, FIG.1  
Biochemical Pharmacology, 2008年, Vol.75, pp.1218-1229, ABSTRACT, Fig.1, 6

## (58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0  
A 6 1 K 8 / 0 0 - 8 / 9 9  
A 6 1 P 3 / 0 6  
A 6 1 P 4 3 / 0 0  
A 6 1 Q 1 9 / 0 6  
A 2 3 L 3 3 / 1 0  
A 2 3 L 2 / 0 0  
A 2 3 L 2 / 5 2

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )  
C a p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )