

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成 24 年 1 月 5 日 (2012.1.5)

【公開番号】特開 2010-138154 (P2010-138154A)

【公開日】平成 22 年 6 月 24 日 (2010.6.24)

【年通号数】公開・登録公報 2010-025

【出願番号】特願 2008-318857 (P2008-318857)

【国際特許分類】

A 6 1 K 8/97 (2006.01)

A 6 1 K 8/63 (2006.01)

A 6 1 Q 19/08 (2006.01)

A 6 1 Q 19/02 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 8/97

A 6 1 K 8/63

A 6 1 Q 19/08

A 6 1 Q 19/02

【手続補正書】

【提出日】平成 23 年 11 月 15 日 (2011.11.15)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 1】

1) トリテルペン酸乃至はその誘導体と、2) 次に示す特性を有する Y A C 化合物及び / 又はその塩とを含有することを特徴とする、皮膚外用剤。

< Y A C 化合物の特性 >

(1) max を 4 0 5 ~ 4 1 5 n m と、6 6 0 ~ 6 7 0 n m とに有する。

(2) 図 1 に示す ^1H - N M R スペクトルを有する。

(3) 図 2 に示す ^{13}C - N M R スペクトルを有する。

(4) 以下の条件での H P L C 分析において、15 分前後にシングルピークを示す。

移動相：90% アセトニトリル

カラム：O D S 4 . 6 × 2 5 0 m m

流速：1 m l / m i n .

温度：40

検知：紫外部 2 1 0 n m

(5) 化学組成式は $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{O}_9$ であり、質量分析スペクトルは 5 9 3 (M + H)

【手続補正 2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】請求項 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【請求項 5】

前記キク科ヨモギ乃至はキク科カワラヨモギの地上部の抽出物における、Y A C 化合物の含有量は、 1.0×10^{-6} 質量 % ~ 1.0×10^{-2} 質量 % であることを特徴とする、請求項 4 に記載の皮膚外用剤。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0003

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0003】

一方、皮膚老化現象においては、アドバンスド・グリケーション・エンドプロダクト（以下、AGEsと略することもある）が重要な役割を担っており、これを分解する成分としてはオリーブの葉の抽出物、ヨモギの葉の抽出物などが存することが知られている（例えば、特許文献7、特許文献8、特許文献9を参照）。本発明者らは、これらの内、ヨモギの抽出物中のAGEs分解作用の有効成分を精製し、以下の化学特性を有するYAC化合物を見出している。このような性状値を有する化合物は文献上は知られていない。

< YAC化合物の特性 >

(1) maxを405～415nmと、660～670nmとに有する。

(2) 図1に示す ^1H -NMRスペクトルを有する。

(3) 図2に示す ^{13}C -NMRスペクトルを有する。

(4) 以下の条件でのHPLC分析において、15分前後にシングルピークを示す。

移動相：90%アセトニトリル

カラム：ODS4.6×250mm

流速：1ml/min.

温度：40

検知：紫外部210nm

(5) 化学組成式は $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{O}_9$ であり、質量分析スペクトルは593(M+H)

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0007】

このような状況に鑑みて、本発明者らはくすみ改善効果を有する化粧料を求めて、鋭意研究努力を重ねた結果、1)トリテルペン酸乃至はその誘導体と、2)次に示す特性を有するYAC化合物及び/又はその塩とを含有する化粧料がそのような特性を有していることを見出し、発明を完成させるに至った。

< YAC化合物の特性 >

(1) maxを405～415nmと、660～670nmとに有する。

(2) 図1に示す ^1H -NMRスペクトルを有する。

(3) 図2に示す ^{13}C -NMRスペクトルを有する。

(4) 以下の条件でのHPLC分析において、15分前後にシングルピークを示す。

移動相：90%アセトニトリル

カラム：ODS4.6×250mm

流速：1ml/min.

温度：40

検知：紫外部210nm

(5) 化学組成式は $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{O}_9$ であり、質量分析スペクトルは593(M+H)

即ち、本発明は、以下に示すとおりである。

< 1 > 1)トリテルペン酸乃至はその誘導体と、2)次に示す特性を有するYAC化合物及び/又はその塩とを含有することを特徴とする、皮膚外用剤。

< YAC化合物の特性 >

(1) maxを405～415nmと、660～670nmとに有する。

(2) 図1に示す ^1H -NMRスペクトルを有する。

(3) 図2に示す ^{13}C -NMRスペクトルを有する。

(4) 以下の条件でのHPLC分析において、15分前後にシングルピークを示す。

移動相：90%アセトニトリル

カラム：ODS4.6×250mm

流速：1ml/min.

温度：40

検知：紫外部210nm

(5) 化学組成式は $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{O}_9$ であり、質量分析スペクトルは593(M+H)

<2>前記トリテルペン酸は、ウルソール酸、オレアノール酸、アジ酸及びベツリン酸から選択されるものであることを特徴とする、<1>に記載の皮膚外用剤。

<3>前記トリテルペン酸の誘導体は、トリテルペン酸の脂肪族又は芳香族のエステル、トリテルペン酸のリン酸エステル及びそれらの塩から選択されるものであることを特徴とする、<1>又は<2>に記載の皮膚外用剤。

<4>前記YAC化合物を、キク科ヨモギ乃至はキク科カワラヨモギの地上部の抽出物として含有することを特徴とする、<1>~<3>何れかに記載の皮膚外用剤。

<5>前記キク科ヨモギ乃至はキク科カワラヨモギの地上部の抽出物における、YAC化合物の含有量は、 10^{-6} 質量%~ 10^{-2} 質量%であることを特徴とする、<4>に記載の皮膚外用剤。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

(2) 本発明の化粧料の必須成分であるYAC化合物

本発明の化粧料の必須成分であるYAC化合物は次に示す性状を有することを特徴とする。

(性状)

(1) maxを405~415nmと、660~670nmとに有する。

(2) 図1に示す ^1H -NMRスペクトルを有する。

(3) 図2に示す ^{13}C -NMRスペクトルを有する。

(4) 以下の条件でのHPLC分析において、15分前後にシングルピークを示す。

(5) 化学組成式は $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{O}_9$ であり、質量分析スペクトルは593(M+H)

本発明の化粧料の必須成分であるYAC化合物の紫外・可視吸収スペクトルは図4に示す。この図より、405~415nmと、660~670nmとにmaxが存する特徴が明確に判別できる。本発明の化粧料の必須成分であるYAC化合物を特定する場合、かかる紫外・可視部吸収特性は非常に有利である。即ち、多波長の検出器を備えたHPLCを用いて、210nmの吸収で分析し、ピークについて405~415nmと、660~670nmとの吸収を確認し、同様に強い吸収が認められた場合には、本願発明のYAC化合物である蓋然性が非常に高い。この意味で有力な確認手段となる。本願発明のYAC化合物は、極性溶媒抽出物の非極性部分に存在する。この為、溶媒で抽出し、抽出溶媒を減圧濃縮などで除去した後に酢酸エチルと水で分液し、酢酸エチル相を採取することにより、濃縮することが出来る。このものをシリカゲルカラムクロマトグラフィーなどを用いて、クロロホルム/メタノール混液系で分画精製することにより単離することが出来る。単離したかどうかについては、以下の条件のHPLC分析でシングルピーク(リテンションタイム15分前後)であるか否かを判別することにより特定することが出来る。図3に分析例を示す。この場合のリテンションタイムは14.7分である。

(HPLC条件)

移動相：90%アセトニトリル

カラム：ODS4.6×250mm

流速：1 ml / min .

温度：40

検知：紫外部 210 nm

(5) 化学組成式は $C_{34}H_{40}O_9$ であり、質量分析スペクトルは 593 (M + H)

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0012】

斯くして得られた YAC 化合物は、シリカゲルを担体とする薄層クロマトグラフィー（展開液、クロロホルム：メタノール＝95：5～8：2）においてシングルスポットを呈し、AGEs 分解活性を示す。AGEs 分解活性は、簡易的には - ジケトンの切断活性の強さを指標とし、定量化することが出来る。即ち、1 - フェニル - 1, 2 - プロパンジオンとともにインキュベートし、切断によって生じる安息香酸を吸光度で定量し、安息香酸の生成量が多いほど AGEs 分解能が高いと判別できる。これより *vivo* に近い評価としては、実際にグルコースと牛血清アルブミンとをインキュベートして作成した AGEs を分解せしめ、分解量を定量し、かかる分解量を指標に AGEs 分解能を定量する方法も存する。本発明の化粧料の必須成分である YAC 化合物はこの様な方法で AGEs 分解能を定量した場合、- ジケトンの分解において 40～60% 程度の分解率を呈し、牛アルブミン AGEs に対しては、 10^{-3} 質量% で 65～80% 程度の分解率を呈する。この性質を利用して本発明の化粧料の必須成分である YAC 化合物は AGEs 分解剤として化粧料等に配合し、光照射などで生じた AGEs を速やかに分解し、この蓄積を防ぐことが出来る。以下に、これらの評価方法の手順を示す。本発明の化粧料に於いては、かかる AGEs 分解作用がくすみ改善、特にメラニン産生抑制剤で改善しにくいくすみの改善に有用であると考えられる。本発明の化粧料に於いてはかかる AGEs 分解作用を明確に発現するドーズでの YAC 化合物の含有が好ましい。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

< 製造例 1 >

キク科ヨモギ属ヨモギの全草の乾燥物 100 g を、細切した後、500 ml のメタノールを加えて3時間、加熱還流し、冷却後濾過にて不溶物を取り除いた後、減圧濃縮し、ついで凍結乾燥し、抽出物1を得た。しかる後に、抽出物1に200 ml の水と200 ml の酢酸エチルを加え、液液抽出を行い、酢酸エチル相をとり、減圧濃縮し、分画1を得た。分画1を減圧濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて分画精製した。即ち、シリカゲルをクロロホルムで濡らし、カラムに充填し、クロロホルムに溶解させた分画1の濃縮物をチャージし、クロロホルム、1%メタノール含有クロロホルム、5%メタノール含有クロロホルム、10%メタノール含有クロロホルム次いで15%メタノール含有クロロホルムを50 ml 流し、流出分を減圧濃縮した。これらの分画を順に分画2、分画3、分画4、分画5、分画6とした。分画1～6について - ジケトンの切断活性を調べたところ、分画3が最も高く48%であった。分画3を更にクロロホルム・メタノール混液系を溶出溶媒とするシリカゲルカラムクロマトグラフィーで4回精製し（1回目 クロロホルム：メタノール＝100：0 1：1、2回目 クロロホルム：メタノール＝100：2 9：1、3回目 クロロホルム：メタノール＝100：5 8：2、4回目 クロロホルム：メタノール＝100：0 100：5）、シリカゲル薄層クロマトグラフィー（展開溶媒クロロホルム：メタノール＝95：5）で、50%硫酸水溶液焼付での呈色で

シングルスポットであるアモルファスの分画 7 を得た。このものの NMR を図 1、図 2 に示す。HPLC（条件は下記の通り）でのチャートを図 3 に示す。又、紫外吸収スペクトルは図 4 に示す。これらの結果より、構造そのものは不明であるものの、分画 7 は単一物質であることが推測される。

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0020

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0020】

< 分画 7 のグルコース - 牛血清アルブミン AGEs 分解能の測定 >

上述の手技で予めグルコースと牛血清アルブミンより生成させた AGEs に対する分画 7 の種々の濃度での AGEs 分解作用を測定した。結果をグラフとして図 5 に示す。これより、分画 7 の本発明の化合物が 10^{-5} 質量% 存在すれば、その AGEs 分解の有効性を発現することが判る。又、分画 7 の化合物をヨモギなどの植物の植物体の抽出物乃至はその精製物として含有させる場合、抽出物乃至はその精製物において、配合濃度において前記 AGEs の分解作用が存するか否かを確かめて、AGEs 分解作用が認められた場合には、その抽出物乃至はその精製物の化粧品への含有を可とする様な簡易的な鑑別を行って、化粧品への含有を決定することも出来る。

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0033

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0033】

【図 1】分画 7 の化合物の ^1H - NMR を示す図である。

【図 2】分画 7 の化合物の ^{13}C - NMR を示す図である。

【図 3】分画 7 の化合物の HPLC チャートを示す図である。

【図 4】分画 7 の化合物の紫外吸収スペクトルを示す図である。

【図 5】製造例 1 における分画 7 のグルコース - 牛血清アルブミン AGEs 分解能を示す図である。

【図 6】分画 7 の化合物の質量分析スペクトルを示す図である。