

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3721438号
(P3721438)

(45) 発行日 平成17年11月30日(2005.11.30)

(24) 登録日 平成17年9月22日(2005.9.22)

(51) Int. Cl.⁷

F I

A 6 1 K 7/48
A 6 1 K 7/00
A 6 1 K 7/075
A 6 1 K 7/50

A 6 1 K 7/48
A 6 1 K 7/00
A 6 1 K 7/075
A 6 1 K 7/50

N

請求項の数 14 (全 21 頁)

(21) 出願番号 特願平8-501729
(86) (22) 出願日 平成7年6月12日(1995.6.12)
(65) 公表番号 特表平10-501260
(43) 公表日 平成10年2月3日(1998.2.3)
(86) 国際出願番号 PCT/FR1995/000768
(87) 国際公開番号 W01995/034282
(87) 国際公開日 平成7年12月21日(1995.12.21)
審査請求日 平成14年6月11日(2002.6.11)
(31) 優先権主張番号 94/07287
(32) 優先日 平成6年6月13日(1994.6.13)
(33) 優先権主張国 フランス (FR)

(73) 特許権者
ソフォー ル エス アー
フランス国 リール マルメゾン 925
00 アヴニュー ナポレオン ボナパ
ルト 177
(74) 代理人
弁理士 岸本 瑛之助
(74) 代理人
弁理士 岸本 守一
(74) 代理人
弁理士 渡辺 彰
(74) 代理人
弁理士 日比 紀彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ソホロリピドの使用並びに美容用および皮膚学用組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

酸形態、塩形態および粗形態の少なくとも一つのソホロリピドを含有する美容用および/または皮膚学用組成物であって、抗ラジカル剤および/または抗エラストーゼ剤として使用されることを特徴とする組成物。

【請求項2】

油中水エマルジョン、水中油エマルジョンまたは水中油マイクロエマルジョン形態であることを特徴とする、請求項1による組成物。

【請求項3】

連続油性相のエマルジョン(油中水エマルジョン)の形態であり、該エマルジョン中において、親油性相がオリーブ油、食用アーモンド油、クルミ油および水素添加ココナツ油からなる群から選択される植物性油であることを特徴とする、請求項2による組成物。

【請求項4】

単独乳化剤としてソホロリピドを有することを特徴とする、請求項2または3による組成物。

【請求項5】

ソホロリピドとジオチルスルホ琥珀酸ナトリウム、ノニルフェノールエトキシル、モノラウリン酸ソルピタンエトキシルまたはセチルトリメチルアンモニウムとを含有することを特徴とする、請求項2または3による組成物。

【請求項6】

10

ソホロリピドが油性相、水溶液、アルコール溶液、オレオアルコール溶液またはヒドロアルコール溶液中に溶解されることを特徴とする、請求項 1 による組成物。

【請求項 7】

ソホロリピドがプロトン酸形態、少なくとも一部が金属塩形態である酸形態、粗形態（すなわち酸形態および/または少なくとも一部がラクトンと混合された、一価または二価の金属塩形態の酸形態）であることを特徴とする、請求項 1～6 のいずれか 1 項による組成物。

【請求項 8】

ソホロリピド（乾燥物質）の重量濃度が、組成物全体の 0.01～30%であることを特徴とする、請求項 1～7 のいずれか 1 項による組成物。

10

【請求項 9】

ソホロリピド（乾燥物質）に対する重量割合で、0.01～20%を有しかつ炭素原子数 10～34 を有する少なくとも 1 つの飽和または不飽和脂肪酸をさらに含有することを特徴とする、請求項 1～8 のいずれか 1 項による組成物。

【請求項 10】

香料性化粧水、シャンプー、シャワー用ジェル、液体石鹸、乳液、クリーム、ポマードまたは固体脂肪混合物を含有することを特徴とする、請求項 1～9 のいずれか 1 項による美容用組成物。

【請求項 11】

肌投与形態であることを特徴とする、請求項 1～9 のいずれか 1 項による皮膚学用組成物

20

【請求項 12】

UV A による遊離基の生成を抑制する、請求項 1 による組成物。

【請求項 13】

UV A 損傷に対する保護を必要とする肌投与される、遊離基の生成を抑制することができるソホロリピドを含み、該ソホロリピドが酸形態、その金属塩形態または粗形態である、抗ラジカル剤として使用されることを特徴とする組成物。

【請求項 14】

UV A 損傷に対する保護を必要とする肌投与される、遊離基の生成を抑制することができるソホロリピドを含み、該ソホロリピドが酸形態、その金属塩形態または粗形態である、抗エラスターゼ剤として使用されることを特徴とする組成物。

30

【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明は、ソホロリピドの新規使用に関する。

本発明は、美容用または皮膚学用組成物にも関する。

より詳細には、本発明は、抗ラジカル特性および抗エラスターゼ特性を有するような組成物に関する。

これらの特性は、特に肌および髪の手入れ用の組成物において有効である。

発明の背景

ソホロリピドはグリコリピドである。該ソホロリピドは、カンジダ(Candida)またはトルロプシス(Torulopsis)型、例えばトルロプシスマグノリア(Torulopsis magnoliae)、カンジダボンピコラ(Candida bombicola)、カンジダアピコラ(Candida apicola)またはカンジダボゴリエンシス(Candida bogoriensis)のような酵母菌の醗酵によって製造される。

40

細胞外ソホロリピドを構成する糖質は、ソホロース(2-O-D-グルコピラノシル(glucopyranosyl)-D-グルコピラノーズ(glucopyranose))である。この果糖は、6 および 6 の位置でアセチル化され、または 1 の位置でヒドロキシ脂肪酸に結合される。

ソホロリピドは、鎖の長さ、不飽和基の数および位置、並びにヒドロキシル化の位置によって異なる複数のヒドロキシ脂肪酸から構成される。このソホロリピドの脂質の引き寄せ力は、醗酵（多少なりとも飽和または不飽和脂質に富む植物油）において用いられる二次

50

炭素源の脂質組成物に依存する。

上記のグリコリピドは、ソホロリピドの複数の種類の混合物の形態で合成される。該ソホロリピドは、飽和または不飽和の程度、ラクトン化の複数の型の存在または不存在、およびアセチル化の程度によって異なる。

ソホロリピドの種類は、下記の通りである。

1. ソホロースの6 および6 の位置でのアセチル化または非アセチル化ラクトン：
1, 4 - ソホロリピド - 6 - 6 - ラクトン - ジアセテート (表記: S 1 - 4 L 6 a 6 a)

1, 4 - ソホロリピド - 6 - ラクトン - モノアセテート (表記: S 1 - 4 L 6 a)

1, 4 - ソホロリピド - ラクトン (表記: S 1 - 4 L)

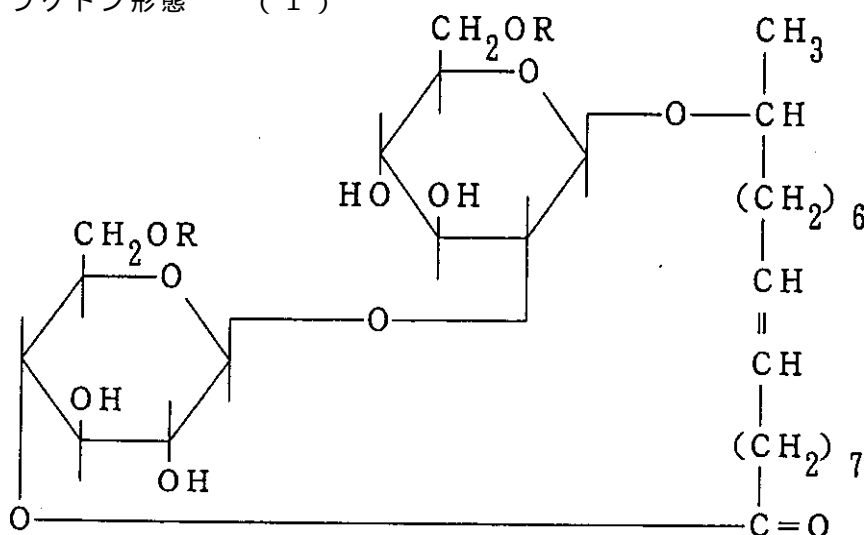
2. ソホロースの6 の位置でのアセチル化または非アセチル化酸：

6 - ソホロリピド酸 - モノアセテート (表記: S 1 - A 6 a)

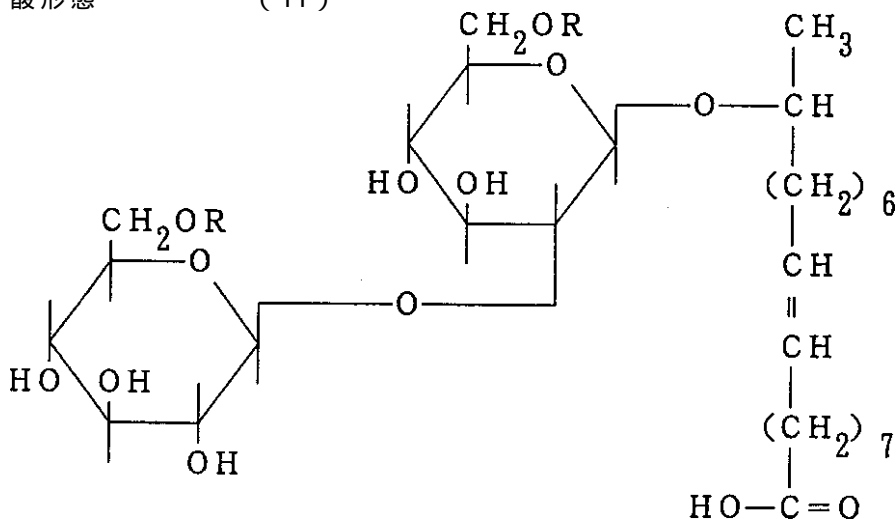
ソホロリピド酸 (表記: S 1 - A)

ソホロリピドのラクトンおよび酸形態の代表的な2つの化学式は、下記に示される。

ラクトン形態 (I)



酸形態 (II)



上記式中、RはHまたは -COCH₃を表わす。

これらの化学式は、最も多量に構成するヒドロキシ脂肪酸および酸 - 17 - オクタデセニルヒドロキシ (17 - オレインヒドロキシ) の場合を示す。

気相クロマトグラフィーで測定された各種ヒドロキシ酸の構成が、ソホロリピドの様々な種類並びにこれらの種類の分類に寄与することは、下記の通りである。

10

20

30

40

50

すなわち、ソホロリピドを構成するヒドロキシ脂肪酸は、次の通りである。

タイプ	ヒドロキシ脂肪酸	%
C16:0	15-OH ヘキサデカン酸	1.5
C16:0	16-OH ヘキサデカン酸	2.0
C18:0	17-OH オクタデカン酸	3.5
C18:1	17-OH オクタデセン酸	60.0
C18:1	18-OH オクタデカジエン酸	12.0
C18:2	17-OH オクタデカジエン酸	7.0
C18:2	18-OH オクタデカジエン酸	14.0

生合成によるグリコリピドの主な製造方法は、トリグリセリドまたは炭水化物を原料として行なわれる。

微生物によるグリコリピドの製造は、窒素および塩の追加供給を必要としない。すなわち、該製造は、細胞が十分な炭素および酸素源を見出す限り行なわれる。

グリコリピドの生合成は、親油性部分（脂肪酸）および親水性（ソホロース）部分の合成を必要とする。

グリコリピドの生合成は、下記の要素因によって特徴付けられる。

脂質部分の合成は、基質として使用される疎水性炭素源（油）に依存する。

糖質部分の合成も使用される炭素源に依存するが、新たに合成される。

トルロブシス属、例えばトルロブシスマグノリアの酵母菌、カンジダ属、例えばカンジダアピコラの酵母菌は、それらが例えば葡萄糖10%、酵母菌からの抽出物1.25%および尿素0.2%の存在下で培養される場合には、ソホロリピドを分泌する。

研究によって、ソホロリピドの生産率は、培養質中に長鎖を有するエステル化脂肪酸あるいはn-アルカンあるいはトリグリセリドを添加することによって増加することが証明された。

本発明の特徴は、特に植物油からなる基質を原料として、カンジダボンピコラまたはカンジダアピコラの株を培養することによる酸形態のアセチル化ソホロリピドの製造方法である。

界面活性剤は、洗剤中で身体の手入れおよび菌の手入れ用に使用されており、これは、美容分野と共に薬用分野においてもものである。拡大する需要を鑑みれば、現実の環境保護への考慮が、これらの物質の生物的特性および毒性の研究へと導くに至ったものである。

従って、合成（つまり生物的でない）界面活性剤は、生物性膜の浸透性を変化させた。カチオン性およびアニオン性界面活性剤は、細胞内の分子の放出に影響を及ぼすか、あるいはその呼吸を阻害する。合成界面活性剤は、その濃度によりさらに毒性作用を有する。

発明の開示

本発明は、美容用または薬用組成物中における非毒性の生物性界面活性剤を提案するものである。

ソホロリピドは、フランス特許出願No.92/16033およびNo.93/14999並びにヨーロッパ特許出願No.EP499434に記載されているように、特に汚染防止法において、微生物によって分解される工業用洗剤として使用されてきた。

ウェラ(Wella)によるヨーロッパ特許出願No.EP-A-209783には、ソホロリピドのラクトン形態、並びにふけ防止剤および静菌剤としての使用が記載されている。

特願昭55-4344(花王)には、美容術に使用されるヒドロキシアシルエーテルグリコリピドのエステルが記載されている。

これらの特許出願には、抗ラジカル、抗エラスターゼおよび/または抗炎症特性を有する組成物については、何らの記載および示唆もない。

10

20

30

40

50

さらに、特に肌の水和の目的のためにかつ肌に脂質の恩恵を与えるために、グリコリピド、例えばグリコシルセラミドまたはジガラクトジグリセリドをベースとする美容用および薬用組成物が提案されていた。

本発明によって、ソホロリピドは、有利な物理化学特性、特に美容術または一般には局所用途に使用できるソホロリピドをベースとする非常に種々な配合の調製を可能にする複合乳化特性を有するグリコリピドであることが見出された。

他方では、これらのソホロリピドが肌に対して脂質のあらゆる恩恵をもたらすのみならず、該ソホロリピドは、特に髪または肌の保護および手入れについて、美容的、衛生学的または薬学・皮膚学的用途の組成物においてまさしく探求されていた特性である抗ラジカルおよび抗エラスターゼ特性を与えることが見出された。

10

従って、本発明は、酸形態、塩形態および粗形態の少なくとも一つのソホロリピドを含有する美容用および/または皮膚学用組成物であって、抗ラジカル剤および/または抗エラスターゼ剤として使用されることを特徴とする組成物を対象とする。

本発明は、まず複合乳化特性を有し、かつ抗ラジカル、抗エラスターゼおよび/または抗炎症特性を有する生物性界面活性剤であるグリコリピドを提案する。

本発明では、ソホロリピドの特殊な乳化特性によって、連続水性相のエマルジョン（水中油エマルジョン）または連続油性相のエマルジョン（油中水エマルジョン）の形態で、美容用組成物を調製することが可能になる。また該組成物は、肌または髪に合成界面活性剤または合成乳化剤の使用に頼ることなく脂質を与えることができる。これらの組成物は、特に医薬の有効成分の媒体として役立つ。

20

本発明では、さらにソホロリピドによって安定した連続油性相のエマルジョンを得ることが可能になる。醗酵によるソホロリピドの製造に使用される基質が植物油であり、また親油性相がオリーブ油、食用アーモンド油、クルミ油または水素添加ココナツ油あるいはその他の植物油を含むときには、該連続油性相の親油性相は、完全に植物源である。実際、中毒問題を避けるためには、動物よりもむしろ植物源の生成物の使用が特に求められることは周知である。

要するに、ソホロリピドが酸形態、あるいは一価の金属塩、例えばナトリウム塩またはカリウム塩あるいは前記酸の二価の金属塩形態で使用される場合には、ソホロリピドはアニオン性界面活性剤を構成し、該アニオン性界面活性剤は、特に約 8 ~ 12 の高い HLB 値の水性エマルジョンを得ることが可能であり、さらに高澄清度（約 13 ~ 15 の HLB）を有する安定した水性マイクロエマルジョンを得ることが可能であり、pH に応じて変化する HLB 値を示すものである。このことは、いくつかの美容用および衛生学用組成物の調製に関して求められていた特性である。

30

特に、水性マイクロエマルジョン（水中の油のマイクロエマルジョン）は、ヒドロアルコール性溶液を用いないで、すなわちアルコールを用いないで、香料性乳液または化粧水を得るのに有利である。

本発明の有利な実施態様では、組成物は、単独乳化剤としてソホロリピドを含む。しかしながら、従来の界面活性剤、例えばジオチルスルホ琥珀酸ナトリウム（DOS）、ノニルフェノールエトキシル、モノラウリン酸ソルビタンエトキシル（トウィーン(Tween) 20）またはセチルトリメチルアンモニウム、並びに水と炭化水素の間の界面張力を低下させるソホロリピドの混合物によって、相乗作用が得られるものである。

40

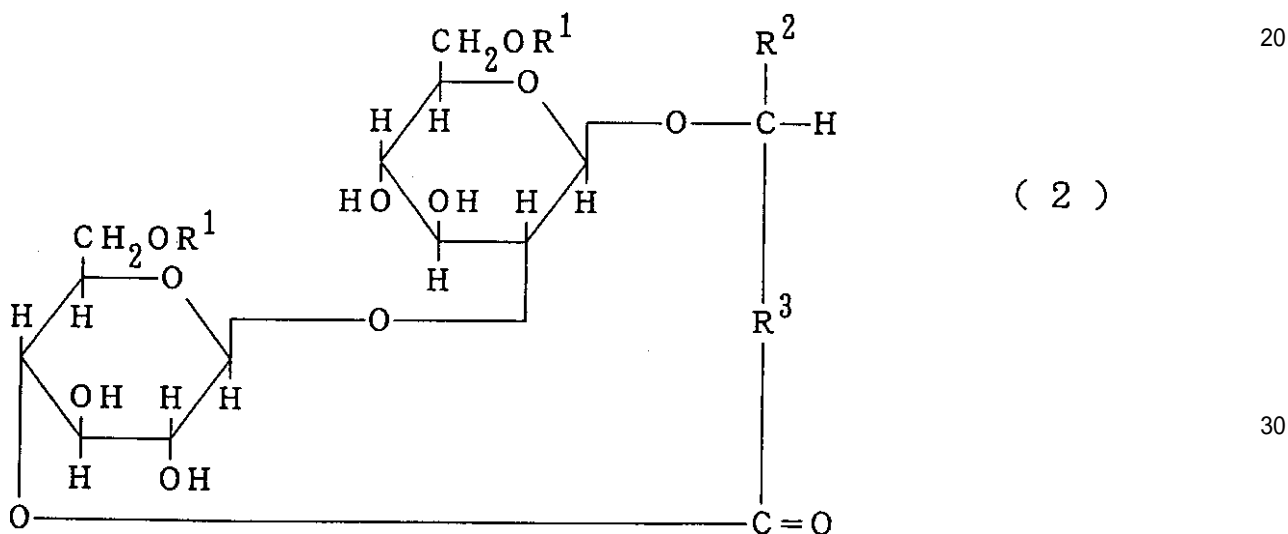
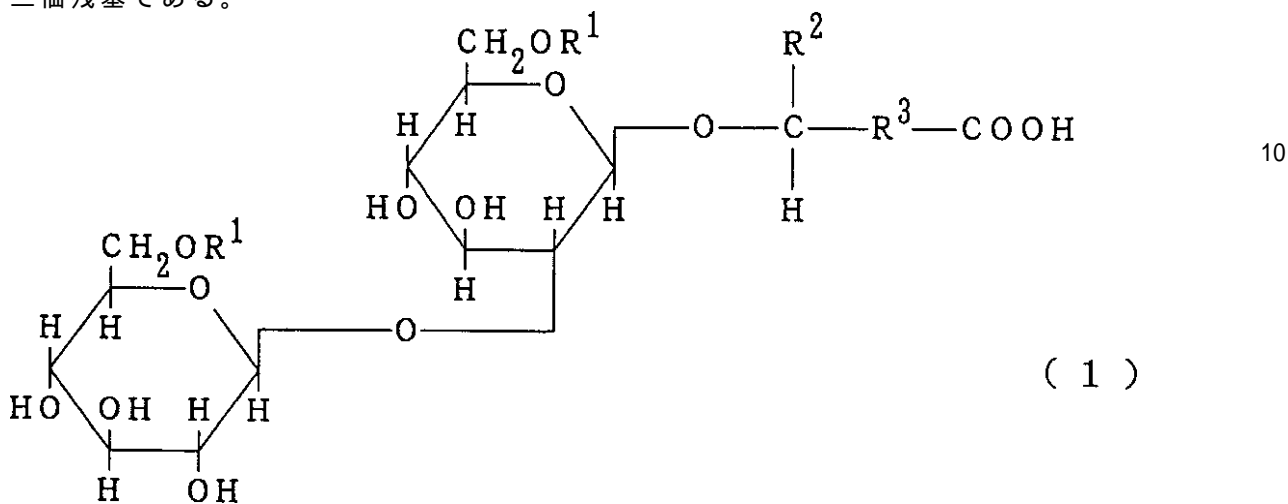
いずれにせよ、本発明の組成物中では、ソホロリピドは、酸形態および/または塩形態のソホロリピドのみを得るために好ましくは精製される。該形態は、ラクトン形態よりも安定しており、かつより可溶性である。安定性は、嗅覚レベルでは重要である。酸形態および/または塩形態は、水溶液中で可溶性であるのに、ラクトン形態は、特に水溶液中でほとんど溶解しない。

好ましくは、本発明で使用されるソホロリピドは、カンジダボゴリエンスまたはカンジダボンピコラの醗酵によって得られる。

特に、下記に示される式（1）（酸形態）および式（2）（ラクトン形態）に一致するソホロリピドが挙げられる。

50

なお、これらの式中、 R^1 は水素またはアセチル基であり、 R^2 が炭素原子数7～16を有する飽和炭化水素残基である場合には、 R^2 は水素または炭素原子数1～9を有するアルキル基であり、あるいは R^3 が炭素原子数13～17を有する不飽和炭化水素残基である場合には、 R^2 は水素またはメチル基であり、特に、 $-R^2CH-R^3-$ は、前述された飽和または1つまたは2つの二重結合を有する不飽和 C_{16} または C_{18} の脂肪酸ヒドロキシの二価残基である。



本発明の組成物は、組成物全体に対してソホロリピド（乾燥物質として）の0.01～30重量%、好ましくは0.05～5重量%を含んでいる。

本発明の組成物は、 $C_{10} \sim C_{34}$ 、好ましくは $C_{14} \sim C_{22}$ の飽和または不飽和脂肪酸、例えばオレイン酸、リノール酸、リノレン酸、パルミチン酸およびパルミトール酸をソホロリピド（乾燥物質として）に対して0.01～20重量%、好ましくは1.0～10重量%含んでいてもよく、ほとんどの場合、考えられる用途に応じて、後に添加されてよい。

特別な実施態様では、本発明の美容用組成物は、下記のようなものである。

特に、水性エマルジョンまたは水性マイクロエマルジョン形態での、オレオアルコールローションのような乳液。

例えば、特にヒドロアルコールローションまたは安定した水性マイクロエマルジョン形態での、香料性ローションまたは化粧水のようなローション。

水性マイクロエマルジョン形態の、シャンプー、シャワー用ジェルおよび液体石鹸。

特に水/油または油/水エマルジョン形態の化粧落とし用ジェル（クレンジング・ジェル）および水分を補給するクリーム（モイスチュア・クリーム）。

口紅のスティックまたはポマードのような固形タイプの脂肪混合物。

本発明の組成物の特性は、特に髪と肌の手入れおよび衛生に役立つ。

本発明の美容用組成物は、ソホロリピドにより抗ラジカルおよび抗エラスターゼ特性に有

10

20

30

40

50

用である。また該組成物は、皮膚学上の有用性として、抗ラジカル、抗エラスターゼおよび/または抗炎症特性を示す。

薬学・皮膚学用組成物においては、局所投与が可能な組成物のあらゆる配合方法、特にボマード、クリーム、乳液、化粧水、ジェルおよび液体石鹸が挙げられる。

本発明の他の利点および特徴は、下記の実施例に照らして明らかになる。

なお、表10および表11は、本発明による組成物の種々の可能な配合方法を示す。

[実施例1]

本実施例では、カンジダボンピコラの株中での合成条件を例証的に記載した。

ソホロリピド製造の最適条件は、下記の通りである。

当初、グルコース10%、乾燥とうもろこしの浸出液0.5%および硫酸アンモニウム0.4%を含む培養質を用いた。培養質のpHは、当初6.0であった。温度を22~30に固定した。

アルカン、炭素含有長鎖を有するアルコール、脂肪酸またはそのエチルエステルもしくはメチルエステルのような二次炭素源を連続的に添加した。

醗酵終了時、グルコース/二次炭素源の消費量比は、一般には約2:1であった。

カンジダボンピコラCBS6009と共に、フランス特許FR2,692,593に記載されているように、ナタネのメチル(またはエチル)エステルの連続供給およびグルコースの毎日の添加によって、ソホロリピド300g/lが製造できた。

粗形態および酸形態のソホロリピドの特徴を、下記に列挙した。

1. 粗形態のソホロリピド

外観：粘性液体

香り：ほとんど痕跡なし

乾燥物質：≤60%±0.5%

色：琥珀色

遊離脂肪酸：≤4% (オレイン酸2.6%)

遊離糖：≤1%

無機質：≤2%

保存料：フェノキシエタノール、ナトリウム含有パラヒドロキシベンゾエートメチル (POBM・Na)

pH：7±0.5

20℃での密度：1.097

40℃での密度：1.085

動粘度：20℃で562.61 mm²/秒

：40℃で160.49 mm²/秒

粗形態のソホロリピドを構成するヒドロキシ脂肪酸の配分は、次の表1の通りであった。

表 1

脂肪酸	%
15-OH C16:0	1.7
16-OH C16:0	1.2
17-OH C18:2	6.7
17-OH C18:1	63.4
17-OH C18:0	3.2
17-OH C18:2	13.5
18-OH C18:1	10.3

10

2. 酸形態のソホロリピド

酸形態のソホロリピドを、粗形態のソホロリピドのアルカリ加水分解後に得た。かつその特徴を下記に列挙した。

20

外観：ほとんど粘性がない液体

香り：軽くアセチレン臭

水分含有量： $\geq 60\% \pm 5\%$

遊離脂肪酸： $\leq 5\%$ （オレイン酸2.4%）

ヒドロキシ遊離脂肪酸： $\leq 0.5\%$

遊離糖： $\leq 1\%$

無機塩： $\leq 2\%$

30

保存料：フェノキシエタノール、ナトリウム含有パラヒドロキシベンゾエートメチル

pH： 6 ± 0.5

20℃での密度：1.092

40℃での密度：1.082

動粘度：20℃で $96 \text{ mm}^2 / \text{秒}$

40

：40℃で $42 \text{ mm}^2 / \text{秒}$

酸形態のソホロリピドのヒドロキシ脂肪酸の配分は次の表2の通りであった。

表 2

ヒドロキシ酸	相対量(%)
15-OH C16:0	0.5
16-OH C16:0	1.0
17-OH C18:0	4.0
17-OH C18:1	64.0
18-OH C18:1	10.0
17-OH C18:2	7.0
18-OH C18:2	13.5

10

[実施例 2]

1. 眼球の耐薬力

(乾燥物質として) 6%の粗形態ソホロリピドおよび(乾燥物質として) 4%の酸形態ソホロリピドの生成物を、公式方法より確立された実施要項(プロトコル)に基づいて、3匹の兔の眼球内に0.1mlの割合で一回だけで注入した。

20

実施要項は、1992年7月9日付け「アレーテ」(Arrete)(1992年7月10日付フランス共和国オフィシャル・ジャーナル)によって定義されたものである。

測定された結果により、ソホロリピドの粗形態および酸形態の各々に対して、注入後1時間経過における最大刺激指数15.0および7.3を得ることができた。

これらの試験の結果によって、粗形態ソホロリピドおよび酸形態ソホロリピドが、わずかに刺激性であることを結論づけることが可能になった。

2. 皮膚の耐薬力

蒸留水中に希釈された、(乾燥物質として) 6%の粗形態ソホロリピドおよび(乾燥物質として) 4%の酸形態ソホロリピドを、公式方法より確立された実施要項(プロトコル)に基づいて、3匹の兔の健康肌区域および乱刺された肌区域に0.5mlの分量で用いた。

30

実施要項は、1982年2月1日付け「アレーテ」(1982年2月21日付フランス共和国オフィシャル・ジャーナル)によって定義されたものである。

測定された結果により、粗形態および酸形態のソホロリピド各々に対して、指数0.3および0.1を得ることができた。

これらの試験の結果によって、粗形態ソホロリピドおよび酸形態ソホロリピド物質が、皮膚に対し刺激性でないことを結論づけることが可能になった。

3. 経口による無害性

本実施要項(プロトコル)に従って行なう研究の対象は、ソホロリピドの最大服用量を経口でのみ投与した後の毒性を評価することであった。

粗形態ソホロリピドおよび酸形態ソホロリピドを構成する物質を、5ml/kgの服用量で雄と雌のラットの2組に投与した。

40

この研究で使用する方法論は、1984年4月25日の裁量基準(指導基準)O.C.D.E.84/449 L251中に記載された実施要項(プロトコル)に由来した。

別々にテストされた各物質について、動物の2組における死亡率はゼロであった。

これらの条件下で、粗形態ソホロリピドおよび酸形態ソホロリピドの物質は、5ml/重量kgを越えるもしくは同等の経口投与による無害性を有した。

4. マグヌソン(Magnusson)およびクリグマン(Kligman)による敏感能力の測定

本実施要項(プロトコル)に従って行なう研究の対象は、白皮症のモルモットにおける粗形態ソホロリピドおよび酸形態ソホロリピドの敏感潜在能力を評価することであった。研究用物質を用いて繰返す一連の接触(誘発段階)後二週間、知覚過敏状態を誘発する観点

50

から、モルモットを同物質を伴う適用に付した。

無刺激性最大濃度で使用される物質を伴って実施された適用に次いで行なわれた観察によって、粗形態ソホロリピドおよび酸形態ソホロリピドを分類 1 に位置づけることが可能になった。

これらの条件下で、粗形態ソホロリピドおよび酸形態ソホロリピド物質は、白皮症のモルモットに対して、強くはない非常に弱い敏感性能を示した。

5. 静菌性調整および保存の研究

ソホロリピド 1 g を滅菌水 10 ml 中に希釈した。この際、該溶液 1 ml をサボロード (Sabouraud) (SAB) グロースに植菌した。

植菌したものを、37 で 120 時間、炉に付した。得られたコロニーを、UFC (コロニーを形成する単位) で列挙して、1 g/物質 ml に置き換えた。

物質の静菌性保存研究を 12 時間行なった。得られた結果は、次の表 3 の通りであり、静菌性規格に合致した。

表 3

貯蔵条件	保存剤*	SABにおける列挙(UFC/ml)		
		時間 0	時間 0 + 6 週間	時間 0 + 12 週間
4 °C	—	0	3×10^2	4×10^2
20 °C	—	0	10	90
4 °C	+	0	0	0
20 °C	+	0	0	0

* フェノキシエタノール 0.5%

+ POBM・Na 0.5%

[実施例 3] 抗エラスターゼ特性

人体の白血球のエラスターゼ (ELH) は、それが炎症病理学、例えば気腫、リウマチ様多発性関節炎および歯周組織疾患に働きかけているので、多数の研究の対象になった。この酵素には、連結組織の多数の高分子、すなわち繊維性弾性、コラーゲンのいくつかのタイプ、構造プロテオグリカンおよび構造グリコプロテインを破損させる能力があった。従って、炎症現象の場合には、該高分子全体の破損を妨げるために、白血球の抗エラスターゼ物質を使用することが必須のように思われた。

人体の白血球のエラスターゼ (ELH) の抑制テスト

水溶液でのソホロリピドの抗エラスターゼ特性を、タンポン TRIS HCL 中において、ELH および合成物質として N - メトキシスクシニル - アラニン - アラニン - プロリン - バリン - P - ニトロアニリドを用いて研究した。

P - ニトロアニリン (着色された生成物質) の放出を研究するために、動力学的検査を 410 nm で分光測光によって実施した。結果を次の表 4 に示した。

表 4 粗形態ソホロリピドによる人体の白血球のエラスターゼの抑制率

ソホロリピド量 (乾燥物質) mg/ml	試料に対する 抑制率 (%)
0.15	75
0.12	70
0.06	56
0.03	38
0.023	20
0	0

[実施例 4]

抗エラスターゼ特性

(人体の真皮の切口における)

粗形態ソホロリピドの抗エラスターゼ作用を人間の真皮の切口においてテストした。

エラスチン基質は、人体の肌の真皮の切口に存在する細胞である。エラスターゼによってエラスチンが分解される(組織化学によって証明される)。酵素の抑制は、この分解の減少によって現われる。

対象分子である塩化水銀は、量に依存する方法でエラスターゼの作用を抑制する。この結果は予期されていたもので、この結果によりテストを有効と認めることが可能になった。

人体の真皮の切口における、粗形態ソホロリピドの抗エラスターゼ作用の評価を表 5 に示した。

表 5

化合物	濃度 % (p / v)	エラスチン 繊維の破損
タンボン試料	0	無
エラスターゼ試料	0	全体
粗形態ソホロリピド	0.5	一部
	5	無
HgCl ₂	0.125	無

上記表から明らかなように、濃度 5 % (重量 p / 容量 v) で、粗形態ソホロリピドはエラスチン繊維の破損を完全に抑制した。

[実施例 5] 抗エラスターゼ作用 (半固体媒質でのテスト)

原理: ゲロース中に含まれるエラスチンのエラスターゼによる破損の抑制。

酸形態ソホロリピドの抗エラスターゼ作用を半定量技法によって評価した。テスト用または比較分子用の化合物と組合わされるか、または組合わされない酵素溶液を、基質であるエラスチンを含むゲロース内に掘られた凹状構造部に注入した。

酵素はゲロース中に分散して、エラスチンを分解させた。

この現象は、測定されていた帯域である分解帯域内のゲロースの濃度が薄くなることによって現われる。

すい臓のエラスターゼによるエラスチンの分解についての酸形態のソホロリピドの効果を表6に示した。

表 6

酸形態ソホロリピド (%) (p / v)	酵素のみの試料 (c m ²) に対する分解の百分率	
	培養時間 6 時間	培養時間 2 1 時間
	0	1 0 0 %
0 . 4	7 4 %	6 7 %
2	6 3 %	5 3 %

10

つぎに、比較対照としてテストされた比較抑制剤は、10 mMの塩化水銀であった。この分子の存在下では、下記表7に示すように、酵素抑制は完全であった。

20

表 7

比較抑制剤の濃度 (H g / C l ₂)	分解帯域の直径 (c m)	
	培養時間 6 時間	培養時間 2 1 時間
	1 0 m M	0

上記表7を検討すると、単一テスト用物質(酸形態ソホロリピド0%)の存在下では、ゲロースの様子は変わらなかった。

30

これに対し、酸形態ソホロリピドの存在下、分解面積は、試料に対して濃度0.4%および濃度2%については減少した。6時間の培養後、これらの面積は、濃度0.4%および濃度2%については、各々、0.28 cm²および0.24 cm²であった。該面積は、酸形態ソホロリピド物質のない試料に対しては0.38 cm²であった。21時間の培養後、これらの面積は、濃度0.4%および濃度2%については、各々、0.64 cm²および0.5 cm²であった。該面積は、酸形態ソホロリピド物質のない酵素試料に対しては0.95 cm²であった。

結論として、この研究においては、濃度0.4%での酸形態ソホロリピドは、わずかにエラスチンの作用を抑制した。該作用は、濃度2%の該物質によってより大きく抑制された。従って、この物質は、これらの濃度での抗エラスターゼ作用を主張することができた。

40

[実施例6] 抗ラジカル作用(RPE方法)

粗形態および酸形態ソホロリピドの抗ラジカル効果を、病理学において特に重要である酵素に由来する遊離基である水酸(ヒドロキシル)基に対して評価した。

電子常磁性共鳴(RPE)の分光法による技術を用いた。

この方法においては、特に遊離基における分子の不对電子のスピンの特徴付けた。遊離基の陰性分子は、信号を減少させた。

RPE測定を、ブルッカー(Bruker)分光計ECS106を用いて室温で測定した。

水酸基(OH[•])を、水溶液状態の過酸化水素の光分解(UVB)によって生成した。

マンニトールを比較分子(陽性試料)として用いた。

10 mMでのマンニトールの存在下、RPE信号は大きく減少した：捕獲効果は98%に

50

高騰した。

乾燥物質の濃度 (p/v) 0.0092%、および濃度 0.028% の粗形態ソホロリピドは、各々、71% および 97% の捕獲効果を示した。濃度 2.5% の粗形態ソホロリピドは、RPE 信号を消滅させた。

また濃度 0.0092% からの酸形態ソホロリピドは 98% の捕獲効果を示した。

水酸基に対応する RPE 信号の強度に関するソホロリピドおよびマンニトールの作用効果を、表 8 に示した。

表 8

化合物	濃度 (%)	抗ラジカル 防御率 (%)
試料	—	0
粗形態ソホロリピド	2.5	100
	0.083	100
	0.028	97
	0.0092	71
酸形態ソホロリピド	2.5	100
	0.083	100
	0.028	98
	0.0092	98
マンニトール	0.182	98

濃度を乾燥物質 / 容量の重量百分率で示した。

酸素、超酸素アニオン (O_2^-)、水酸基 (OH^\cdot)、過酸化水素 (H_2O_2) および酸素単体 ($1O_2$) の反応代謝産物は、生体についての毒性反応に原因があった。

生体自体による、あるいは外部からの有害作用による生成物は、糖、プロテイン、脂質および核酸を破損した。

酸形態および粗形態ソホロリピドは、量に依存する方法で水酸基の RPE 信号を減少させた。この効果は、マンニトールに比較して強力であった (OH^\cdot 捕獲能力について公知の比較分子)。

結論として、粗形態および酸形態ソホロリピドは、水酸基に対して有利な抗ラジカル効果を示した。これらの効果は、一般には、美容用活性化剤を含む配合について用いられる低濃度で現われる。

[実施例 7] 抗ラジカル効果 (人体の線維芽細胞に関する)

UVA によって生じた遊離基に対する粗形態ソホロリピドの保護効果を線維芽細胞の培養に基づいて証明した。

テストを、細胞に対して毒性でないソホロリピドの濃度で実施した。

比較分子である、濃度 200 $\mu g/ml$ のビタミン E - 酢酸塩は、UVA の不存在下では細胞に対して毒性ではなく、かつ UVA の存在下では 31% の保護効果を有した。

濃度 0.125 $\mu g/ml$ 、濃度 0.25 $\mu g/ml$ および濃度 0.5 $\mu g/ml$ の粗形態ソホロリピドは、細胞の生存率 18%、14% および 15% の減少を引き起こし、かつ各々、保護効果 47%、7% および 18% を有した。

抗ラジカル剤の不存在下、UVA での照射後の細胞の生存率は 21% であった。

表9に、UVAによって生じた遊離基に対する粗形態ソホロリピドの抗ラジカル効果の評価を示した。

表9

保護 効果	UVA 照射試料	ビタミンE -酢酸塩 200 μ g/ml	粗形態ソホロリピド	
			0.125 μ g/ml	0.5 μ g/ml
	0%	31%	47%	18%

10

上記表9から、粗形態ソホロリピドが、UVAによって生じた遊離基に対して細胞を効果的に著しく保護することが明らかになった。

[実施例8] ソホロリピドをベースとする美容的使用

1. 配合例

表10および表11では、可能な配合の種々のタイプのソホロリピドをベースとする美容的使用を取り上げた。

含有量は組成物の全量に対する重量%で示した。

表10
ソホロリピドを用いる美容的使用

		ソホロリピドの形態	pH条件	ソホロリピドの量	水	油	
エマルジョン	水中油	クリーム	酸形態 粗形態 一価のアルカリ塩	4~6	0.5~10%	30~90%	10~70%
		乳液	酸形態 粗形態 一価のアルカリ塩	4~6	0.5~10%	30~90%	10~70%
	油中水	クリーム	二価の塩	-	0.5~10%	30~70%	30~70%
			二価の塩	-	0.5~10%	0%	90~99.5%
脂肪混合物		シヤブー用 ジェル	酸形態 粗形態 一価のアルカリ塩	6~9	0.5~30%	70~95%	0~5%
水性ミクロエマルジョン		香料性化粧水	酸形態 粗形態 一価のアルカリ塩	6~9	0.5~30%	70~95%	0~5%
		シヤブー	酸形態 粗形態 一価のアルカリ塩	6~9	0.5~30%	70~95%	0~5%
		液体石鹸	酸形態 粗形態 一価のアルカリ塩	6~9	0.5~30%	70~95%	0~5%

表11
ソホロリピドを用いる美容的使用

オシオアルコール溶液 (香料性化粧水または 香料性乳液)	ソホロリピドの形態	pH条件	ソホロリピドの量	水	アルコール	油
	酸形態 粗形態 一価のアルカリ塩	6~9	0.5~30%	10~60%	10~60%	0~10%
ヒドロアルコール香料	酸形態 粗形態 一価のアルカリ塩	6~9	0.5~30%	10~80%	10~80%	-

10

20

30

40

2. ソホロリピドのエマルジョン中への導入方法

酸形態または粗形態であるソホロリピドを同時に油性相および水性相中に導入した。該ソホロリピドを油性相中に導入することを望む場合には、水性相中での乳化直前に、該ソホロリピドを70 で油性相中に溶解させなければならなかった。ソホロリピドを、化粧水、シャンプーまたはジェル中に製造の終わりに冷間で導入した。ソホロリピドを、化粧水またはシャンプー中に製造の終わりに冷間で導入した。

3. 配合の調製剤

下記の配合においては、次の略語を用いた。

P O B M : パラヒドロキシベンゾエートメチル (保存料)

P C L : 純粋セリン

50

フェノニップ (phenonip) : フェノキシエタノール、メチルパラベン、エチルパラベン、
 プロピルパラベン、ブチルパラベン (保存料)

PPG : プロピレングリコール

オゾケライト : (石油の鉱蠟 : 粘稠剤)

CAO : ひまし油

3. 1 クレンジングジェル

A - ソホロリピド 3% (活性物質 0.9%)

B - ヒドロキシルプロピル・ガル (guar)

ヒドロキシルプロピル・ 0.3%

トリモニウムクロライド (trimonium chloride)

ヒドロキシエチルセルロース 1%

水 84.5%

C - メチルココイル・タウリン Na 塩 0.4%

水 10%

D - フェノニップ 0.5%

ノノキシノール (nonoxynol) - 10 0.2%

香料 0.10%

操作方法

C相を適度に加熱しながら混合する。

B相を水化させて、該B相に徐々にC相を添加する。

D相を調製し、該D相をB・C調製物に混合させて、最後にソホロリピドを添加する。均一なジェルを得るまで混合する。

10

20

30

3. 2 水中油エマルジョン型ソホロリピドを有する

モイスチュアクリーム

A - 粗形態／酸形態ソホロリピド	2%	(活性物質 0.6%)	
フェノニップ		0.5%	
香料		0.2%	
B - グリセロールステアレート		4%	10
PEG 150・ジステアレート		0.5%	
セテアリル (cetearyl) アルコール		2%	
ヒマワリの種油		2%	
セテアリル・オクタノエート		1%	
トリグリセライド		8%	
ジメチコン		0.5%	
C - 水		55.70%	20
D - グリセリン		3%	
カルボマー (carbomer) 840		0.3%	
トリエタノールアミン		0.3%	
水		20%	

操作方法

まず、D相を調製する。すなわち順に、グリセリン、カルボマーおよび水、次いでトリエタノールアミンを添加する。 30

B相およびC相を別々に加熱して(65)、攪拌下に、B相をC相中に徐々に添加する。

D相を添加して、次いで温度を30~35に低下させ、この際、ソホロリピド並びに保存料および香料を添加する。

3. 3 油中水エマルジョン型ソホロリピド (HLB 4~7) を有するモイスチュアクリーム

配合表 (植物油50%に対して計算されたもの)

ソホロリピドのカルシウム塩

酸形態ソホロリピド	10%	(乾燥物質4%)	
Ca(OH) ₂	10%		10
PPG** (安定剤)	10%		
トリグリセリド油	50%		
(ヒマワリ油、クルミ油、水添ココナツ油**の)			
パラヒドロキシベンゾエートメチル			
・硫酸マグネシウム	4%		
POBM (パラヒドロキシベンゾエート)	0.6%		20
フェノキシエタノール	0.6%		
カソン (kathon)	0.2%		
香料	0.2%		
水	14.4%		

操作方法

水を70 に加熱する。

ソホロリピドおよびCa(OH)₂、次いで硫酸塩を添加する。

油(**)を融合させ、次いで該油を水中で混ぜ合わせる。

さらに保存料POBMおよびフェノキシエタノールを40 で添加して、次いでカソン(kathon)および香料を添加する。

クルミ油およびココナツ油の20%、40%および50%でのテストを実施した。

30

3. 4 口紅タイプ脂肪の混合物 (HLB 4 ~ 5)

配合表

粗形態または酸形態ソホロリピドのCa塩	4.0%	
木いちご風味	0.4%	
ヒマシ油	39.2%	
イソプロピルメリステート	1.3%	
液体PCL	7.6%	10
白蜜蝋	3.4%	
カンデリラワックス (candelilla)	7.2%	
カルナウバワックス	2.3%	
オゾケライト	5.4%	
ビントム (bintome) CAO (ゲル化剤)	6.9%	
アメルレートW (amerlate)		20
(ラノリン誘導体)	7.6%	
セラフィ (ceraphyl)424 (脂肪エステル)	3%	
プロピルパラベン	0.10%	

この配合では、乳化剤特性が、低HLB範囲を有する二価のアルカリ性塩形態のソホロリピドの湿潤剤 (界面活性剤) 特性によって現われた。

フロントページの続き

- (72)発明者 イリヨン ジェラル
フランス国 エルプレー 95220 プラス デュ カサーン 10
- (72)発明者 マルシャル レミー
フランス国 シャトゥー 78400 リュ デ クロミエ 70
- (72)発明者 ストルツ コリンヌ
フランス国 ダマリ レリス 77190 リュ デュ キャピテン ルメール 56
- (72)発明者 ボルゼ フレデリック
フランス国 リイル マルメゾン 92500 リュ ジャン ルコズ 34

審査官 福井 美穂

- (56)参考文献 特開昭57-046909(JP,A)
特開昭55-004344(JP,A)
特開昭55-000303(JP,A)
特開昭54-109914(JP,A)
特開昭54-028895(JP,A)
欧州特許出願公開第00209783(EP,A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)
A61K 7/00 - 7/50