

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6741014号

(P6741014)

(45) 発行日 令和2年8月19日 (2020.8.19)

(24) 登録日 令和2年7月29日 (2020.7.29)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 8/44 (2006.01) A 6 1 K 8/44
A 6 1 Q 19/00 (2006.01) A 6 1 Q 19/00

請求項の数 10 (全 13 頁)

(21) 出願番号	特願2017-546555 (P2017-546555)	(73) 特許権者	000000066
(86) (22) 出願日	平成28年10月18日 (2016.10.18)		味の素株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2016/080880		東京都中央区京橋 1 丁目 1 5 番 1 号
(87) 国際公開番号	W02017/069128	(74) 代理人	110002147
(87) 国際公開日	平成29年4月27日 (2017.4.27)		特許業務法人酒井国際特許事務所
審査請求日	平成31年1月21日 (2019.1.21)	(72) 発明者	服部 岳
(31) 優先権主張番号	特願2015-205605 (P2015-205605)		東京都中央区京橋二丁目 1 7 番 1 1 号 三
(32) 優先日	平成27年10月19日 (2015.10.19)		栄ビル別館 味の素ヘルシーサプライ株式
(33) 優先権主張国・地域又は機関	日本国 (JP)		会社内
		(72) 発明者	石井 博治
			神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の
			素株式会社内
		(72) 発明者	本河 史恵
			神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の
			素株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 保湿剤及びこれを含む化粧料

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

炭素原子数が 2 ～ 1 8 のアシル基を有するアシル中性アミノ酸及びその塩からなる群より選ばれる 1 又は 2 以上を有効成分として含有する保湿剤であって、アシル中性アミノ酸がアシルロイシン、アシルイソロイシン、アシルバリン、アシルグリシン、及びアシルアラニンからなる群より選ばれる 1 又は 2 以上である保湿剤。

【請求項 2】

炭素原子数が 2 ～ 1 8 のアシル基を有するアシル中性アミノ酸及びその塩からなる群より選ばれる 1 又は 2 以上を含有する保湿剤であって、アシル中性アミノ酸がアシルロイシン、アシルイソロイシン、及びアシルバリンからなる群より選ばれる 1 又は 2 以上である保湿剤。

【請求項 3】

アシル基の炭素原子数は、2 ～ 1 2 である、請求項 1 又は 2 に記載の保湿剤。

【請求項 4】

アシル基の炭素原子数は、2 ～ 1 0 である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の保湿剤。

【請求項 5】

炭素原子数が 2 ～ 1 0 のアシル基を有するアシル中性アミノ酸及びその塩からなる群より選ばれる 1 又は 2 以上を有効成分として含有する保湿剤。

【請求項 6】

10

20

アシル基の炭素原子数は、8である、請求項1～5のいずれか1項に記載の保湿剤。

【請求項7】

フィラグリン、インボルクリン、トランスグルタミナーゼ1、ケラチン10、及びロリクリンからなる群より選ばれる1又は2以上の保湿関連タンパク質の産生を促進する、請求項1～6のいずれか1項に記載の保湿剤。

【請求項8】

炎症性サイトカインの増殖を抑制する、請求項1～7のいずれか1項に記載の保湿剤。

【請求項9】

請求項1～8のいずれか1項に記載の保湿剤を含有する化粧品。

【請求項10】

請求項1～8のいずれか1項に記載の保湿剤を含有する皮膚外用剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、保湿剤及びこれを含む化粧品に関する。

【背景技術】

【0002】

皮膚組織の顆粒層内に貯蔵されているプロフィラグリンは、角化の際に脱リン酸化を経てフィラグリンに分解される。フィラグリンは、顆粒層から角層に移動して、ケラチン繊維と結合及び凝集し、ケラチンパターンを形成する。フィラグリンは、ウロカニン酸等の低分子に分解され、保水、紫外線吸収に関与する天然保湿因子として作用する。

【0003】

周辺帯は、皮膚組織の角層の一部であり、角質細胞の細胞膜を裏打ちするきわめて強靱で巨大な不溶性構造物である。周辺帯の主な構造要素は、インボルクリン、ロリクリン等のタンパク質であり、これらがトランスグルタミナーゼ（TG）1等の酵素により架橋されている。インボルクリンは有棘細胞で、ロリクリンは顆粒細胞で、それぞれ産生される。周辺帯は、ケラチン10等のケラチンとフィラグリンとが凝集した構造体を包含している。

【0004】

フィラグリン、インボルクリン、トランスグルタミナーゼ1、ケラチン10、及びロリクリンの発現は、グリシルプロリン等特定のペプチド（特許文献1）、ヒハツ抽出物（特許文献2）により促進されることが報告されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】国際公開第2014／175001号

【特許文献2】特開2012－232920号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかし、グリシルプロリン等特定のペプチド及びヒハツ抽出物のいずれも、フィラグリン等保湿関連タンパク質の発現促進作用は弱く、保湿剤の有効成分として利用するには不十分であった。

【0007】

本発明は、上記問題点に鑑みてなされたもので、保湿関連タンパク質の産生を十分に促進し、十分な保湿効果を発揮することができる保湿剤及びこれを含む化粧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】

【0008】

本発明者らは上記目的を達成すべく鋭意検討を重ねた。その結果、炭素原子数が2～1

10

20

30

40

50

8のアシルアミノ酸及びその塩は、フィラグリン、インボルクリン、トランスグルタミナーゼ1、ケラチン10、及びロリクリン等の保湿関連タンパク質の産生を促進することができ、しかもグリシルプロリンのように保湿作用を妨げる炎症性サイトカインの産生を抑制することができることを見出し、斯かる知見に基づき本発明に到達した。

【0009】

すなわち、本発明は、以下のとおりである。

〔1〕炭素原子数が2～18のアシル基を有するアシル中性アミノ酸及びその塩からなる群より選ばれる1又は2以上を含有する保湿剤。

〔2〕アシル中性アミノ酸は、アシルロイシン、アシルイソロイシン、アシルバリン、アシルグリシン及びアシルアラニンからなる群より選ばれる1又は2以上である、〔1〕記載の保湿剤。

〔3〕アシル基の炭素原子数は、2～12である、〔1〕または〔2〕記載の保湿剤。

〔4〕アシル基の炭素原子数は、2～10である、〔1〕～〔3〕のいずれか1項記載の保湿剤。

〔5〕アシル基の炭素原子数は、8である、〔1〕～〔4〕のいずれか1項記載の保湿剤。

〔6〕アシル中性アミノ酸は、アシルバリン、アシルグリシン、及びアシルアラニンからなる群より選ばれる1又は2以上である、〔1〕～〔5〕のいずれか1項記載の保湿剤。

〔7〕フィラグリン、インボルクリン、トランスグルタミナーゼ1、ケラチン10、及びロリクリンからなる群より選ばれる1又は2以上の保湿関連タンパク質の産生を促進する、〔1〕～〔6〕のいずれか1項記載の保湿剤。

〔8〕炎症性サイトカインの増殖を抑制する、〔1〕～〔7〕のいずれか1項記載の保湿剤。

〔9〕〔1〕～〔8〕のいずれか1項記載の保湿剤を含有する化粧品。

〔10〕〔1〕～〔8〕のいずれか1項記載の保湿剤を含有する皮膚外用剤。

【発明の効果】

【0010】

本発明の保湿剤は、十分な保湿効果を発揮することができる。本発明の保湿剤は、保湿関連タンパク質の産生を促進することができる。そのため、本発明の保湿剤は化粧品として有用である。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】図1は、オクタノイルバリン（実施例1：C8Val）、オクタノイルアラニン（実施例2：C8Ala）、グリシルプロリン（比較例1：Gly-Pro）及びバリン（比較例2：Val）の各保湿関連タンパク質遺伝子の増幅量（コントロールの増幅量に対する相対値）を示す図である。

【図2】図2は、オクタノイルロイシン（実施例3：C8Leu）、オクタノイルイソロイシン（実施例4：C8Ile）、オクタノイルグリシン（実施例5：C8Gly）、グリシルプロリン（比較例1：Gly-Pro）及びバリン（比較例2：Val）の各保湿関連タンパク質遺伝子の増幅量（コントロールの増幅量に対する相対値）を示す図である。

【図3】図3は、ブタノイルバリン（実施例6：C4Val）、ヘキサノイルバリン（実施例7：C6Val）、オクタノイルバリン（実施例8：C8Val）、デカノイルバリン（実施例9：C10Val）、ドデカノイルバリン（実施例10：C12Val）及びアセチルバリン（実施例11：C2Val）の各保湿関連タンパク質遺伝子の増幅量（コントロールの増幅量に対する相対値）を示す図である。

【図4】図4は、ラウロイルバリン（実施例14：C12Val）、デカノイルバリン（実施例15：C10Val）、オクタノイルバリン（実施例16：C8Val）、ヘキサノイルバリン（実施例17：C6Val）、ブタノイルバリン（実施例18：C4Val）、及びアセチルバリン（実施例19：C2Val）のフィラグリン遺伝子の増幅量（コ

10

20

30

40

50

ントロールの増幅量に対する相対値)を示す図である。

【図5】図5は、ラウロイルアラニン(実施例20:C12Ala)、デカノイルアラニン(実施例21:C10Ala)、オクタノイルアラニン(実施例22:C8Ala)、ヘキサノイルアラニン(実施例23:C6Ala)、ブタノイルアラニン(実施例24:C4Ala)のフィラグリン遺伝子の増幅量(コントロールの増幅量に対する相対値)を示す図である。

【図6】図6は、ラウロイルバリリン(実施例25:C12Val)、デカノイルバリリン(実施例26:C10Val)、オクタノイルバリリン(実施例27:C8Val)、ヘキサノイルバリリン(実施例28:C6Val)、ブタノイルバリリン(実施例29:C4Val)、及びアセチルバリリン(実施例30:C2Val)の細胞生存率(コントロールの吸光度に対する百分率)を示す図である。

10

【発明を実施するための形態】

【0012】

本発明の保湿剤は、炭素原子数が2~18のアシル基を有するアシル中性アミノ酸及びその塩からなる群より選ばれる1又は2以上を含有する。

【0013】

アシル中性アミノ酸とは、アシル基で置換されている中性アミノ酸を意味する。アシル基(アルカノイル基)は、式: $-C(=O)-R$ で表される基(式中、Rはアルキル基)であり、直鎖状又は分岐状のいずれであってもよい。上記式中のRは、1又は2以上の二重結合を含んでいてもよい。

20

【0014】

アシル基の炭素原子数の下限は、2以上であり、好ましくは3以上である。これにより、皮膚への安全性を保つことができる。アシル基の炭素原子数の上限は、18以下であり、好ましくは12以下、より好ましくは11以下である。従って、炭素原子数は、2~18であり、2~12であることが好ましく、3~11又は2~10であることがより好ましく、8であることがさらに好ましい。

【0015】

アシル基は、例えば、アセチル基、ブタノイル基、ペンタノイル基、ヘキサノイル基、ヘプタノイル基、オクタノイル基、ノナノイル基、デカノイル基、ドデカノイル基、テトラデカノイル基、ペンタデカノイル基、9-ヘキサデセノイル基、ヘキサデカノイル基、オクタデカノイル基、cis-9-オクタデセノイル基、11-オクタデセノイル基、cis, cis-9, 12-オクタデセノイル基、9, 12, 15-オクタデカントリエノオクタデカジエノイル基、6, 9, 12-オクタデカトリエノイル基、9, 11, 13-オクタデカトリエノイル基等が挙げられる。これらのうち、アセチル基、ブタノイル基、ペンタノイル基、ヘキサノイル基、ヘプタノイル基、オクタノイル基、ノナノイル基、デカノイル基、ドデカノイル基、テトラデカノイル基等の炭素原子数2~12のアシル基が好ましく、ペンタノイル基、ヘキサノイル基、ヘプタノイル基、オクタノイル基、ノナノイル基、デカノイル基等の炭素原子数3~11のアシル基またはアセチル基、ブタノイル基、ペンタノイル基、ヘキサノイル基、ヘプタノイル基、オクタノイル基、ノナノイル基、デカノイル基等の炭素原子数2~10のアシル基がより好ましく、オクタノイル基等の炭素原子数8のアシル基がさらに好ましい。

30

40

【0016】

アシル中性アミノ酸が有するアシル基の数は、1つでもよいし2つ以上の組み合わせでもよいが、1つであることが好ましい。

【0017】

中性アミノ酸としては例えば、グリシン、アラニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、プロリン、セリン、スレオニン、システイン、メチオニン、アスパラギン、グルタミン、ロイシン、イソロイシン、バリン等が挙げられ、ロイシン、イソロイシン、バリン、グリシン、アラニンが好ましい。中性アミノ酸の立体構造は特に限定されず、L体、D体、DL体のいずれでもよい。

50

【0018】

アシル中性アミノ酸の塩は、上述したアシル中性アミノ酸の塩であればよい。塩は薬学上許容される塩であればよく、例えば、カリウム塩、ナトリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、バリウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩、トリシクロヘキシルアンモニウム塩等のアンモニウム塩；モノエタノールアミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、モノイソプロパノールアミン塩、ジイソプロパノールアミン塩、トリエタノールアミン等のアルカノールアミン塩等を挙げることができる。

【0019】

アシル中性アミノ酸及びその塩の製法は特に限定されないが、製法としては例えば、化学合成法、発酵法、遺伝子組換え法等が挙げられる。

10

【0020】

アシル中性アミノ酸及びその塩は、フィラグリン、インボルクリン、トランスグルタミナーゼ1、ケラチン10、及びロリクリンからなる群より選ばれる1又は2以上の保湿関連タンパク質の産生促進作用を有し、この作用により皮膚の保湿を改善又は維持することができる。よって、アシル中性アミノ酸及びその塩は、保湿関連タンパク質産生促進剤の有効成分としても利用できる。

【0021】

本発明の保湿剤は、炭素原子数が2～18のアシル基を有するアシル中性アミノ酸、及びそれらの塩から選ばれる1種類を含有していればよく、2種類以上を含有していてもよい。本発明の保湿剤は、必要に応じて炭素原子数が2～18のアシル基を有する中性アシルアミノ酸及びそのエステル以外の保湿成分及び／又は保湿成分産生促進剤を含有していてもよい。

20

【0022】

本発明の保湿剤は、細胞毒性を有しないアシル中性アミノ酸またはその塩を含有することが好ましく、細胞毒性を有するアシル中性アミノ酸およびその塩を実質的に含有しないことがより好ましい。細胞毒性を有しないとは、ヒト表皮角化細胞に10～500 μ Mサンプルを添加した際の（たとえば実施例25～30の条件で測定した吸光度から算出された）細胞生存率が例えば75%以上、90%以上、又は95%以上、好ましくは99%以上であることを意味する。例えば、アシル基の炭素原子数が12のアシル中性アミノ酸（中性アミノ酸の例：バリン）およびその塩は、細胞毒性を有する場合がある。保湿剤が細胞毒性を有するアシル中性アミノ酸およびその塩（例えば、アシル基の炭素原子数が12のアシル中性アミノ酸およびその塩）を実質的に含有しないとは、保湿剤における細胞毒性を有するアシル中性アミノ酸およびその塩の含有量が、アシル中性アミノ酸およびその塩の合計含量の通常は30重量%以下、好ましくは10重量%以下、より好ましくは1重量%以下、さらに好ましくは0.5重量%以下であることを意味する。

30

【0023】

本発明の保湿剤は、化粧品または皮膚外用剤に含有させることができる。本発明の化粧品および皮膚外用剤における保湿剤の含有量は、化粧品および皮膚外用剤の種類に応じて適宜調整することができ、特に限定されない。アシル中性アミノ酸及びその塩の合計量で換算した場合の好適な含有量は、化粧品または皮膚外用剤を100重量%とした際に通常0.001重量%以上であることが好ましく、0.05重量%以上であることがより好ましい。また上限は通常は30重量%以下であることが好ましく、25重量%以下であることがより好ましく、5重量%以下であることがさらに好ましい。

40

【0024】

本発明の化粧料の使用形態は特に限定されないが、通常は、皮膚、爪、粘膜、毛髪に適用され、好ましくは皮膚に使用される。そのため、本発明の化粧料の剤形としては例えば、水溶液、乳化物、粉末分散体、及びエマルジョン（水中油型、油中水型等）等が挙げられ、具体的には例えば、液剤、油剤、ローション、ゲル、ゾル、乳液、懸濁液、クリーム、軟膏、貼付剤、スティック等が挙げられる。またいわゆる化粧料として、例えば、ロー

50

ション、美容液等の化粧水；エモリエント乳液、ミルキーローション、ナリシング乳液、クレンジング乳液等の乳液；エモリエントクリーム、マッサージクリーム、クレンジングクリーム、メイクアップクリーム等のクリーム；スプレー；パック、ファンデーション、口紅、リップスティック、アイシャドウ、チーク、おしろい、カラーパウダー、マニキュア等のメイクアップ用化粧料；ヘアトニック、シャンプー、リンス、ヘアローション等のヘアケア用化粧品；洗顔料、メイク落とし、ボディシャンプー、石鹸等の皮膚洗浄用化粧料等が挙げられる。

【0025】

本発明の皮膚外用剤は、医薬または医薬部外品として使用することができる。本発明の皮膚外用剤の剤形としては例えば、液体、ローション剤、軟膏剤、クリーム剤、プラスタ

10

【0026】

本発明の化粧料および皮膚外用剤は、1又は2以上の基材を含んでいてもよい。基材は、通常の外用剤に用いられる基材であればよく、例えば、油性基剤、水溶性基剤、界面活性剤等が挙げられる。油性基剤としては例えば、綿実油、胡麻油、オリーブ油、カカオ脂などの植物油脂；カルバナワックス、ミツロウ等のロウ；ワセリン、流動パラフィン、固形パラフィン、スクワラン、オレフィンオリゴマー、プラスチックベースなどの高級炭化水素；ステアリン酸、パルミチン酸などの脂肪酸及びそれらのエステル；セタノール等の高級アルコール類；メチルポリシロキサン、メチルフェニルポリシロキサン、シリコンフルイド、シリコーンゴム、シリコーン油などのシリコーン、白灯油等のベースワックス、天然高分子等が挙げられる。水溶性基剤としては例えば、ポリビニルアルコール、カルボキシビニルポリマー、セルロース誘導体（メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カチオン化セルロース等）、エステル（イソプロピルミリスレート、イソプロピルパルミテート、ステアリルステアレート、ミリスチン酸オクチルドデシル、オレイン酸オクチルドデシル、2-エチルヘキサン酸トリグリセリド等）、ポリオール（エチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール共重合体、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、グリセリン等）、アルコール（エタノール等）などが挙げられる。

20

【0027】

本発明の化粧料および皮膚外用剤は、必要に応じて、通常使用される添加成分を含んでいてもよい。添加成分としては例えば、乳化剤、界面活性剤、粘度調整剤、安定化剤、pH調整剤、保存剤、吸収促進剤、パール化剤、抗炎症剤、紫外線吸収剤、紫外線散乱剤、他の機能性成分（生理活性成分）、香料、色素等が挙げられる。

30

【0028】

乳化剤としては例えば、グリセリルモノステアレート、ソルビタンモノパルミテート、ポリオキシエチレンセチルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、ジグリセリンモノステアリン酸エステル等が挙げられる。

【0029】

界面活性剤としては例えば、ポリオキシエチレンソルビタンオレイン酸エステル、高級脂肪酸石けん、アルキル硫酸エステル塩、ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩、アルキルエーテルリン酸エステル塩、N-アシルアミノ酸塩、アシルN-メチルタウリン塩等のアニオン界面活性剤；塩化アルキルトリメチルアンモニウム、塩化ジアルキルジメチルアンモニウムなどのカチオン界面活性剤；アルキルジメチルアミノ酢酸ベタイン、アルキルアミドジメチルアミノ酢酸ベタイン、2-アルキル-N-カルボキシー-N-ヒドロキシイミダゾリニウムベタインなどの両性界面活性剤；ポリオキシエチレン型、多価アルコールエステル型、エチレンオキシド・プロピレンオキシドブロック共重合体などの非イオン界面活性剤等が挙げられる。

40

【0030】

粘度調整剤としては例えば、ポリアクリル酸、キサンタンガム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシビニルポリマー、ポリオキシエチレングリコールジステア

50

リン酸エステル、エタノール等が挙げられる。安定化剤としては例えば、アスコルビン酸、ピロ亜硫酸ナトリウム、EDTA等が挙げられる。pH調製剤としては例えば、リン酸塩緩衝剤、水酸化ナトリウム等が挙げられる。保存剤としては例えば、パラオキシ安息香酸エチル、安息香酸ナトリウム、サリチル酸、ソルビン酸、パラベン（メチルパラベン、プロピルパラベン等）、亜硫酸水素ナトリウム等が挙げられる。

【0031】

本発明の保湿剤、化粧品または皮膚外用剤は、保湿作用を通じて、加齢、乾燥、皮膚疾患（アトピー性皮膚炎等）等の原因による肌荒れの予防、抑制、治療に優れた効果を発揮することができ、また抗しわ、抗しみ、抗そばかす効果も発揮することができる。

【実施例】

10

【0032】

以下、実施例により本発明を詳細に説明するが、本実施例により本発明が限定されるものではない。

【0033】

実施例1～5及び比較例1～2〔オクタノイル中性アミノ酸による保湿関連タンパク質等の遺伝子の増幅量の比較〕

ヒト正常表皮角化細胞NHEK（NB）（クラボウ社製）をHuMedia-KG2（クラボウ社製）で前培養し、 3.0×10^4 細胞/mLの濃度となるよう調整し、調整後の培養液2mL（すなわち、 6.0×10^4 細胞/well）を6wellプレートに添加して1日培養した。サンプル（オクタノイルバリン（実施例1：C8Val）、オクタノイルアラニン（実施例2：C8Ala）、オクタノイルロイシン（実施例3：C8Leu）、オクタノイルイソロイシン（実施例4：C8Ile）、オクタノイルグリシン（実施例5：C8Gly）、グリシルプロリン（比較例1：Gly-Pro）、及びバリン（比較例2：Val））を各図に示す濃度となるように添加し、48時間反応させた。反応後、細胞より全RNAを抽出し、逆転写を行い、リアルタイムPCRにて標的遺伝子（フィラグリン、インボルクリン、トランスグルタミナーゼ（TG）1、ケラチン10、及びロリクリン）の増幅量を測定し（ $n=2$ ）、コントロール（無添加）の増幅量と比較した。補正遺伝子としてGAPDHを用いた。計算は比較CT法を用い、プライマー及びプローブはTaqMan（登録商標）Gene Expressionを用い、蛍光色素はFAMを用いた。結果を図1～2に示す。

20

30

【0034】

図1～2から明らかなとおり、実施例1～5の各標的遺伝子の増幅量は、比較例1及び2と比べて高かった。これらの結果は、アシル中性アミノ酸が保湿関連タンパク質の産生を促進し、化粧品とした際に保湿効果を発揮し得ることを示している。

【0035】

実施例6～11〔アシルバリンによる保湿関連タンパク質等の遺伝子の増幅量の比較〕

サンプルとして、ブタノイルバリン（実施例6：C4Val）、ヘキサノイルバリン（実施例7：C6Val）、オクタノイルバリン（実施例8：C8Val）、デカノイルバリン（実施例9：C10Val）、ドデカノイルバリン（実施例10：C12Val）及びアセチルバリン（実施例11：C2Val）を用いたこと、及び、標的遺伝子をフィラグリン、インボルクリン、及びトランスグルタミナーゼ（TG）1としたことのほかは、実施例1と同様に行った。結果を図3に示す。

40

【0036】

図3から明らかなとおり、実施例6～11のいずれにおいても、各標的遺伝子の増幅量がコントロールと比較して高かった。これらの結果は、炭素原子数2～12のアシル基を有するアシル中性アミノ酸又はその塩は、アシル基の種類に拘らず保湿関連タンパク質の産生を促進し、化粧品とした際に保湿効果を発揮し得ることから、化粧品の有効成分として有用であることを示している。

【0037】

実施例12～13及び比較例3～4

50

秤量瓶に各化合物を約1 g精秤し、65%RHに設定された恒温恒湿器（ナガノ科学機械製作所：LH-30-10）に入れ、7日後の重量増加率〔A〕を測定した。続いて、35%RHに設定された恒温恒湿器に同じサンプルを入れ、7日後の重量増加率〔B〕を測定した。〔A〕に対する〔B〕の割合が大きいほど、低い湿度になったときにも水分を保持できると考えられるため、この値が高い方がより高い保湿力を有する化合物であると考えられる。検討結果を表1に示す。

【0038】

【表1】

表1：吸保湿性試験結果

	化合物	65%RH 7日後 重量増加率(%) 〔A〕	35%RH 7日後 重量増加率(%) 〔B〕	〔B〕/〔A〕×100(%)
実施例12	N-オクタノイル-L- バリンナトリウム塩	25.4	8.4	33.2
実施例13	N-オクタノイル-L- アラニンナトリウム塩	29.6	10.6	35.9
比較例3	グリセリン	48.1	13.2	27.4
比較例4	ソルビトール	4.2	0.5	12.0

【0039】

表1から明らかとなおり、一般的に高い保湿力を有する化粧品原料とされている比較例3のグリセリン、比較例4のソルビトールと比較して、実施例12のN-オクタノイル-L-バリンナトリウム塩及び実施例13のN-オクタノイル-L-アラニンナトリウム塩は、高い保湿力を示した。これらの結果は、炭素原子数2～18のアシル基を有するアシル中性アミノ酸又はその塩は、中性アミノ酸の種類に拘らず保湿関連タンパク質の産生を促進すると推測され、保湿効果を発揮し得ることから、化粧料の有効成分として有用であることを示している。

【0040】

実施例14～24〔アシルバリン又はアシルアラニンによるフィラグリン遺伝子増幅量の比較〕

ヒト正常表皮角化細胞NHEK(NB)（クラボウ社製）をHuMedia-KG2（クラボウ社製）で前培養し、 1.5×10^4 細胞/mLの濃度となるよう調整し、調整後の培養液2 mL（すなわち、 3.0×10^4 細胞/well）を6wellプレートに添加して1日培養した。サンプル（ラウロイルバリン（実施例14：C12Val）、デカノイルバリン（実施例15：C10Val）、オクタノイルバリン（実施例16：C8Val）、ヘキサノイルバリン（実施例17：C6Val）、ブタノイルバリン（実施例18：C4Val）、アセチルバリン（実施例19：C2Val）、ラウロイルアラニン（実施例20：C12Ala）、デカノイルアラニン（実施例21：C10Ala）、オクタノイルアラニン（実施例22：C8Ala）、ヘキサノイルアラニン（実施例23：C6Ala）、ブタノイルアラニン（実施例24：C4Ala））を各図に示す濃度となるように添加し、24時間反応させた。反応後、細胞より全RNAを抽出し、逆転写を行い、リアルタイムPCRにて標的遺伝子（フィラグリン）の増幅量を測定し（n=2）、コントロール（無添加）の増幅量を100%とし、この値と比較した。補正遺伝子としてGAPDHを用いた。計算は比較CT法を用い、プライマー及びプローブはTaqMan（登録商標）Gene Expressionを用い、蛍光色素はFAMを用いた。

【0041】

増幅量に応じて、以下の評価を行った。結果を表2～3及び図4～5に示す。

- A 200%以上
 B 100%以上 200%未満
 C 50%以上 100%未満
 D 50%未満

【0042】

【表2】

表2：アシルバリンによるフィラグリン遺伝子発現試験

	実施例14	実施例15	実施例16	実施例17	実施例18	実施例19
	C12Val (10 μ M)	C10Val (10 μ M)	C8Val (500 μ M)	C6Val (500 μ M)	C4Val (500 μ M)	C2Val (500 μ M)
増幅量 (%)	200	171	302	112	126	141
評価	A	B	A	B	B	B

10

【0043】

【表3】

表3：アシルアラニンによるフィラグリン遺伝子発現試験

	実施例20	実施例21	実施例22	実施例23	実施例24
	C12Ala (10 μ M)	C10Ala (10 μ M)	C8Ala (500 μ M)	C6Ala (500 μ M)	C4Ala (500 μ M)
増幅量 (%)	128	117	256	125	162
評価	B	B	A	B	B

20

【0044】

実施例25～30〔アシルバリンの細胞毒性の比較〕

ヒト正常表皮角化細胞NHEK (NB) (クラボウ社製)をHuMedia-KG2 (クラボウ社製)で前培養し、 1.5×10^4 細胞/mLの濃度となるよう調整し、調整後の培養液2mL (すなわち、 3.0×10^4 細胞/well)を6wellプレートに添加して1日培養した。サンプル(ラウロイルバリン(実施例25：C12Val)、デカノイルバリン(実施例26：C10Val)、オクタノイルバリン(実施例27：C8Val)、ヘキサノイルバリン(実施例28：C6Val)、ブタノイルバリン(実施例29：C4Val)、アセチルバリン(実施例30：C2Val))を各図に示す濃度となるように添加し、24時間反応させた。その後、培地を捨ててNeutral Red溶液2mL/wellに置換し、さらに2時間培養した。Neutral Red溶液はNeutral Red (クラボウ社)をHuMedia-KG2培地/生理食塩水(2:1)混合溶液で1/100に希釈したものを使用した。Neutral Red溶液で染色した細胞は、PBS(－)で一回洗浄した後、1%CaCl₂/1%ホルマリン溶液1.5mL/wellで1分固定し、1%酢酸/50%エタノール溶液1.5mL/wellを添加して室温で20分抽出を行い、プレートリーダーで吸光度540/630nmを測定した。

30

40

【0045】

細胞生存率に応じて、以下の評価を行った。結果を表4及び図6に示す。

- A 99%以上
 B 75%以上 99%未満
 C 50%以上 75%未満
 D 50%未満

【0046】

【表 4】

表 4 : 細胞毒性試験

	実施例25	実施例26	実施例27	実施例28	実施例29	実施例30
	C12Val (500 μM)	C10Val (500 μM)	C8Val (500 μM)	C6Val (500 μM)	C4Val (500 μM)	C2Val (500 μM)
細胞生存率 (%)	3	75	100	99	102	105
評価	D	B	A	A	A	A

【0047】

10

実施例14～24の評価は、各アシル中性アミノ酸がフィラグリン遺伝子を増幅することができることを示している。また、実施例25～30の評価は、実施例26～30の各アシル中性アミノ酸の細胞毒性が低いのに対し、実施例25のアシル中性アミノ酸の細胞毒性が高いことを示している。以上のフィラグリン遺伝子増幅量および細胞毒性の評価をまとめると、アシル基の炭素原子数が2～12であるアシル中性アミノ酸が好ましく、アシル基の炭素原子数が2～10であるアシル中性アミノ酸がより好ましく、アシル基の炭素原子数が8であるアシル中性アミノ酸がさらに好ましいことが明らかである。

【0048】

処方例1 スキンクリーム

表5に示す組成のうちA、B、Cを調製・混合して、スキンクリームを調製した。

20

【0049】

【表 5】

表 5

	(wt%)
A	流動パラフィン 8.0
	イソプロピルパルミテート 2.0
	ステアリルアルコール 2.0
	セチルアルコール 0.5
	グリセリルモノステアレート 0.5
	POE (20) セチルエーテル 1.0
	パラオキシ安息香酸プロピル 0.1
B	「プロデュウ」400 4.4
	カルボキシビニルポリマー (0.5%) 20.0
	オクタノイルバリン 1.0
	精製水 残余
	パラオキシ安息香酸メチル 0.1
C	水酸化ナトリウム (1%) 4.0
	100.0

30

【0050】

処方例2 乳液

表6に示す組成のうちA、B、C、D、Eを調製・混合して、乳液を調製した。

40

【表 6】

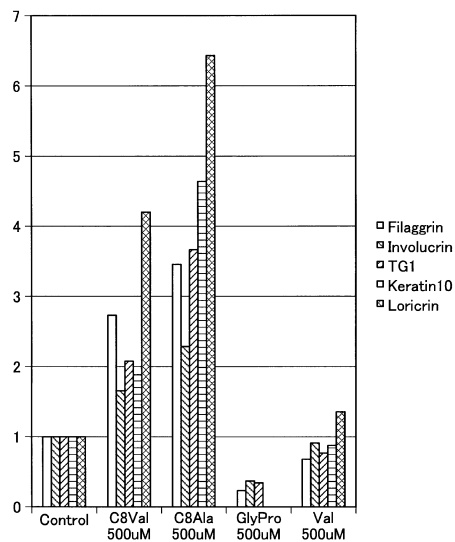
表 6

		(wt%)
A	PEG-10水添ヒマシ油	0.25
	PEG-20水添ヒマシ油	2.25
	「エルデュウ」PS-203	1.00
	ミネラルオイル	9.00
	グリセリン	10.00
B	(アクリレーツ/アクリル酸アルキル (C10-30)) クロスポリマー*4	0.50
	水	49.50
C	ヒドロキシエチルセルロース	0.07
	水	6.93
D	L-アルギニン	0.40
	オクタノイルアラニン	1.0
	水	3.60
E	AJIDEW NL-50	1.00
	「プロデュウ」400	1.00
	BG	12.00
	水	残余
	防腐剤	適量
		100.0

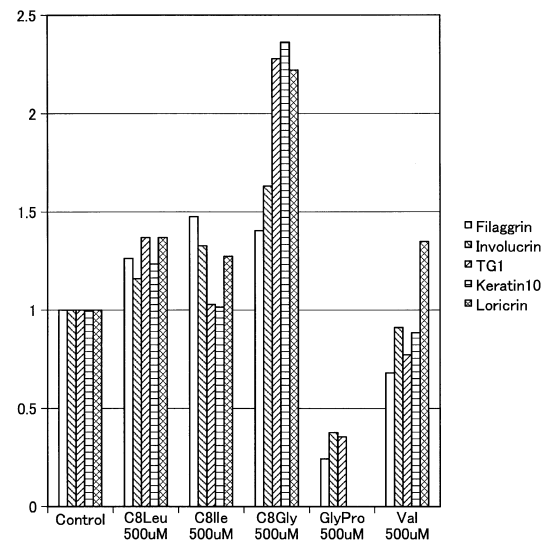
10

20

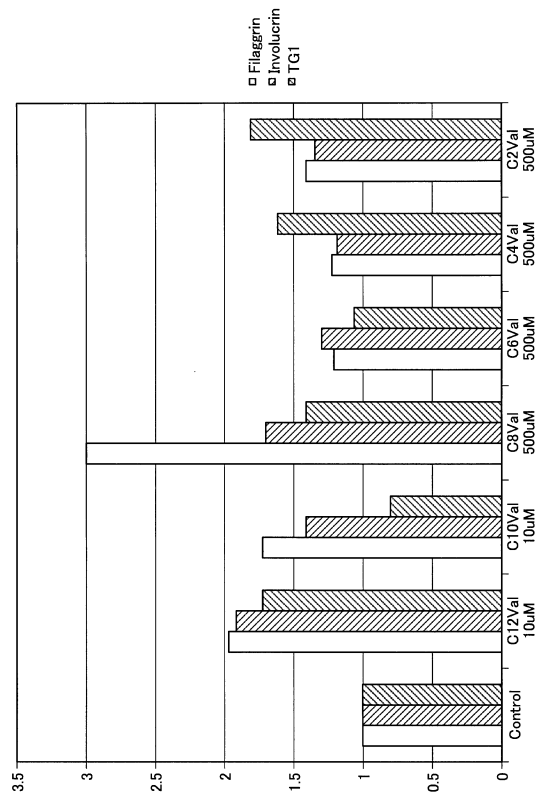
【図 1】



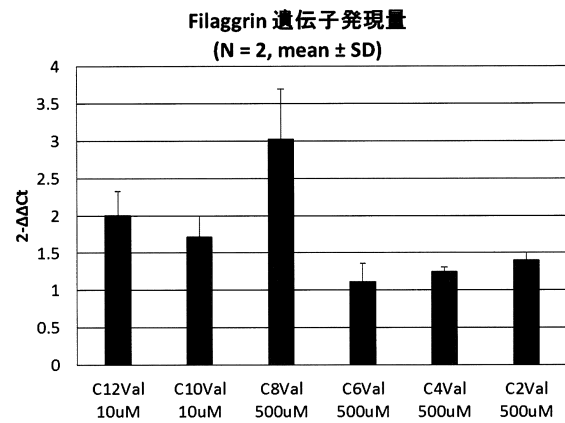
【図 2】



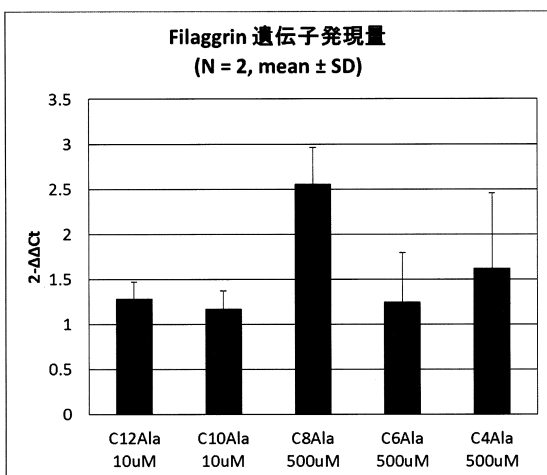
【図 3】



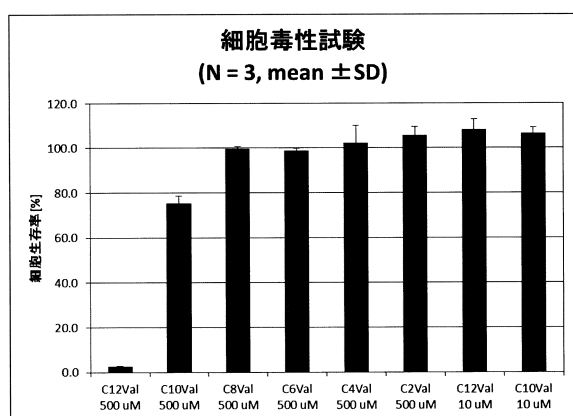
【図 4】



【図 5】



【図 6】



フロントページの続き

審査官 駒木 亮一

(56)参考文献 特開2008-001654 (JP, A)
特開平11-189788 (JP, A)
特表2015-515062 (JP, A)
特開2008-222577 (JP, A)
特開2012-180293 (JP, A)
国際公開第2004/098558 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 8/00-8/99
A61Q 1/00-90/00
A61K 9/00-9/72
A61K47/00-47/48
A61K31/33-33/44
A61P1/00-43/00
C11D1/00-19/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)