

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-190310

(P2017-190310A)

(43) 公開日 平成29年10月19日(2017.10.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 8/97 (2017.01)	A 6 1 K 8/97	4 B 0 1 8
A 6 1 K 36/74 (2006.01)	A 6 1 K 36/74	4 C 0 8 3
A 6 1 K 36/539 (2006.01)	A 6 1 K 36/539	4 C 0 8 8
A 6 1 K 36/185 (2006.01)	A 6 1 K 36/185	
A 6 1 K 36/899 (2006.01)	A 6 1 K 36/899	

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-81582 (P2016-81582)
 (22) 出願日 平成28年4月14日 (2016.4.14)

(71) 出願人 504401994
 株式会社セブテム総研
 大阪府大阪市北区堂島二丁目4番27号
 (74) 代理人 100106817
 弁理士 鷹野 みふね
 (72) 発明者 石神 政道
 神奈川県川崎市高津区坂戸3-2-1 株
 式会社セブテム総研開発研究所内
 (72) 発明者 森 亮太
 神奈川県川崎市高津区坂戸3-2-1 株
 式会社セブテム総研開発研究所内
 Fターム(参考) 4B018 LB08 LB10 MD48 ME03 ME14
 MF01
 4C083 AA111 CC02 EE12

最終頁に続く

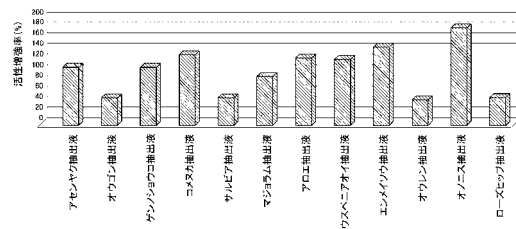
(54) 【発明の名称】 OPH活性増強剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】皮膚角層中に存在する酸化蛋白分解酵素(OPH)活性成分を精製すると共に、様々な植物エキスについてOPH様活性増強成分を探索し、化粧品等へ好適に応用し得る新たなOPH活性増強剤の提供。

【解決手段】アセンヤク、オウゴン、ゲンノシヨウコ、コメヌカ、サルビア、マジョラム、アロエ、ウスベニアオイ、エンメイソウ、オウレン、オノニス、ローズヒップ、サンシン、及びヒハツから選択される少なくとも一種の植物からOPH活性増強成分を抽出し、該植物抽出物をOPH活性増強剤として配合した化粧品。

【選択図】図2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アセナク、オウゴン、ゲンノショウコ、コメヌカ、サルビア、マジョラム、アロエ、ウスベニアオイ、エンメイソウ、オウレン、オノニス、ローズヒップ、サンシン、及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種の植物抽出物を含む、O P H 活性増強剤。

【請求項 2】

前記植物抽出物が、オノニス、エンメイソウ、コメヌカ、サンシン及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種である、請求項 1 記載の O P H 活性増強剤。

【請求項 3】

前記植物抽出物が、エンメイソウ、コメヌカ、及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種である、請求項 1 記載の O P H 活性増強剤。 10

【請求項 4】

請求項 1 記載の O P H 活性増強剤を 1 種以上含む化粧品。

【請求項 5】

請求項 1 記載の O P H 活性増強剤を 1 種以上含む皮膚外用剤。

【請求項 6】

請求項 1 記載の O P H 活性増強剤を 1 種以上含む飲食品。

【請求項 7】

請求項 1 記載の O P H 活性増強剤を 1 種以上含む食品添加物。

【請求項 8】

請求項 1 記載の O P H 活性増強剤を 1 種以上含む医薬品。 20

【請求項 9】

請求項 1 記載の O P H 活性増強剤を 1 種以上含む医薬部外品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、酸化蛋白質を分解する生体内酵素である酸化蛋白質分解酵素 (oxidized protein hydrolase : O P H) の作用を活性化させる O P H 活性増強剤、及び当該 O P H 活性増強剤を含有する化粧品等に関する。 30

【背景技術】

【0002】

生体内での蛋白質糖化反応が皮膚老化、認知症、癌、高血圧、動脈硬化症などの加齢による機能低下や疾病に関与していることが明らかになっている。例えば、糖化反応により蛋白質は褐変するが、これにより肌などにくすみが生じることになる。このような加齢により生じる疾病や機能低下をもたらす要因となる糖化反応を阻害するための研究が種々行われている (特許文献 1)。

【0003】

また、加齢による疾病や機能低下をもたらす他の要因として、蛋白質の酸化反応も注目されている。生体内における蛋白質の酸化反応がもたらす細胞や組織への影響としては、例えば、組織コラーゲンなどの加齢変化、アルツハイマー病、白内障、皮膚老化などさまざまな疾患や機能低下が挙げられる。 40

【0004】

生体内において蛋白質の酸化反応により生成される酸化蛋白質は、酸化蛋白質分解酵素 (oxidized protein hydrolase : 以下、O P H と記す) という生体内酵素により分解除去される。O P H は生体組織中に広く分布し、酸化蛋白質を優先的に分解するセリンプロテアーゼの一種であり、蛋白質の N 末端アシル化アミノ酸を遊離する酵素であるアシルアミノ酸遊離酵素 (Acylamino-acid-releasing enzyme : A A R E) として知られている。

【0005】

OPHは加齢とともにその活性が低下してしまう。従って、その活性低下により上記のような皮膚老化や疾病などをもたらすことになる。そこで、疾患や老化を予防するためにOPHの活性を促進させる作用物質についての研究がなされている（特許文献2）。

【0006】

また、蛋白質の糖化反応と酸化反応のいずれをも抑制しあるいはいずれの反応生成物をも分解し得る作用物質についての研究も進められており、酸化蛋白質を分解する酵素であるOPHの、蛋白質の糖化反応による最終生成物であるAGESに対する分解作用の存在を示すとともに、その分解作用を活性化するOPHのAGES分解活性増強剤がいくつか提案されている（特許文献3）。

【0007】

このように、生体中の酸化蛋白分解酵素（OPH）は、生体の糖化ストレス亢進により生成・蓄積し老化や疾患の進展に影響を及ぼす糖化蛋白質や糖化最終生成物（AGES）に対する分解作用を有し、糖尿病や老化進展の抑制に働く可能性が示唆されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】特許第4195840号公報

【特許文献2】国際公開番号WO2011/004733

【特許文献3】特開2014-118406号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明者らは上述した技術的背景のもと、皮膚角層中にOPH様活性が存在していることを見だし、角層中OPH様活性成分を精製すると共に、様々な植物エキスについてOPH様活性増強成分を探索し、化粧品等への応用を検討した。本発明は、化粧品等へ好適に応用し得る新たなOPH活性増強剤を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者らは、化粧品に好適に使用可能な特定の植物抽出物（植物エキス）に、OPH活性を高める作用があること、特にヒト皮膚角層中のOPH様活性を高めることを見だし、本発明に到達した。

【0011】

すなわち、本発明は、以下に示すOPH活性増強剤に関する。

1) アセンヤク、オウゴン、ゲンノショウコ、コメヌカ、サルビア、マジョラム、アロエ、ウスベニアオイ、エンメイソウ、オウレン、オノニス、ローズヒップ、サンシン、及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種の植物抽出物を含む、OPH活性増強剤。

【0012】

2) 前記植物抽出物が、オノニス、エンメイソウ、コメヌカ、サンシン及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種である、1)記載のOPH活性増強剤。

3) 前記植物抽出物が、エンメイソウ、コメヌカ、及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種である、1)記載のOPH活性増強剤。

【0013】

4) 1)記載のOPH活性増強剤を1種以上含む化粧品。

5) 1)記載のOPH活性増強剤を1種以上含む皮膚外用剤。

【0014】

6) 1)記載のOPH活性増強剤を1種以上含む飲食品。

7) 1)記載のOPH活性増強剤を1種以上含む食品添加物。

8) 1)記載のOPH活性増強剤を1種以上含む医薬品。

9) 1)記載のOPH活性増強剤を1種以上含む医薬部外品。

10

20

30

40

50

【発明の効果】

【0015】

本発明のOPH活性増強剤は、疾患や老化を予防しうるOPH、特にヒト皮膚角層中のOPH様活性成分を増強しうるものである。よって、本発明のOPH活性増強剤を化粧品や皮膚外用剤に配合することにより、皮膚角層中のOPH様活性を増強し、皮膚老化進展を抑制することができる。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】各部位のヒト皮膚角層抽出液のOPH酵素比活性を表すグラフである。

【図2】各植物エキスのOPH活性増強作用2次スクリーニングの結果を示すグラフである。

10

【図3】植物エキス濃度とOPH活性率との関係を示すグラフである。

【図4】エンメイソウ抽出液濃度とヒOPH活性増強率との関係を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本発明のOPH活性増強剤は、アセンヤク、オウゴン、ゲンノショウコ、コメヌカ、サルビア、マジョラム、アロエ、ウスベニアオイ、エンメイソウ、オウレン、オノニス、ローズヒップ、サンシン、及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種の植物抽出物（植物エキス）を含む。

【0018】

20

(1) 植物抽出物

以下に、本発明で用いられる植物を説明する。

「アセンヤク」は*Uncaria gambir* Roxburgh (Rubiaceae; アカネ科) の葉及び若枝から得た乾燥水製エキスである。

「オウゴン」は、コガネバナ*Scutellaria baicalensis* Georgi (Labiatae; シソ科) の周皮を除いた根を乾燥したものである。

「ゲンノショウコ」はゲンノショウコ*Geranium thunbergii* Siebold et Zuccarini (Geraniaceae; フウロソウ科) の地上部である。

「コメヌカ」*Oryza sativa* Linne (Gramineae) は、イネ科植物のコメを精白した際に出る果皮、種皮、胚芽などの部分である。

30

「サルビア」*Salvia officinalis* Linne (Labiatae) は、シソ科の植物である。

「マジョラム」*Origanum majorana* Linne (Labiatae) は、シソ科の植物である。

「アロエ」*Aloe arborescens* Millerは、ユリ科の植物である。

「ウスベニアオイ」*Malva sylvestris* Linne (Malvaceae) は、アオイ科の植物である。

「エンメイソウ」*Isodon japonicus* Hara (Labiatae) は、シソ科の植物である。

「オウレン」*Coptis japonica* Makino (Ranunculaceae) は、キンボウゲ科の植物である。

「オノニス」*Ononis spinosa* (Leguminosae) は、マメ科の植物である。

「ローズヒップ」*Rosa canina* Linne (Rosaceae) は、バラ科の植物である。

「サンシン」*Gardenia jasminoides* Ellis (Rubiaceae) は、アカネ科属の植物である。

40

「ヒハツ」*Piper longum* Linneは、コショウ科コショウ属の植物である。

【0019】

上記植物のうち、好ましくはオノニス、エンメイソウ、コメヌカ、サンシン及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種であり、更に好ましくはエンメイソウ、コメヌカ、及びヒハツからなる群から選択される少なくとも一種であり、特に好ましくはエンメイソウである。

【0020】

本発明に用いられる植物抽出物は、上述した植物のどの部位から抽出したものであってもよく、例えば、全草、花、種子、果実、枝、茎、樹皮、根などから抽出したものであってよい。具体的には、エンメイソウについては地上部から、オノニスについては根から、

50

コメヌカについては種皮から、サンシンについては果実から、ヒハツについては果実から、それぞれ抽出することが望ましい。また、抽出物の性状も特に限定されるものではなく、液体や固体などいずれでもよい。

【0021】

植物抽出物の作製方法すなわち植物からエキスを抽出する方法は特に制限されず、公知の方法を用いることができる。例えば、水、エタノールなどのアルコール類、エーテル類等、あるいはこれらの混合液など公知の抽出用溶媒を用いて抽出することができる。より好ましくは、水、エタノール、水とエタノールの混液を用いて抽出する方法が挙げられる。

【0022】

(2) 化粧品又は皮膚外用剤

本発明の、上述した植物から得られる抽出物の少なくとも1種（あるいは一種又は二種以上の組み合わせ）からなるOPH活性増強剤は、これを含む化粧品や皮膚外用剤などとして応用することができる。

【0023】

化粧品に配合する場合、上記OPH活性増強剤の配合割合は剤形、用途、使用態様などに応じて適宜選択することができるが、好ましくは化粧品全量に対し0.001~10.0重量%、より好ましくは0.01~5.0重量%、特に好ましくは0.1~1.0重量%程度である。

【0024】

化粧品の剤形は任意であり、本発明の効果を損なわない範囲でどのような剤形であっても構わない。例えばローション類、乳液類、クリーム類、軟膏類、パック類、パウダー類、エアゾール類等の剤形とすることができる。これらのうちで好ましい剤形は乳液・クリーム類である。

【0025】

また、化粧品の用途も任意であり、本発明の効果を損なわない範囲でどのような用途であっても構わない。例えば化粧水、乳液、クリーム、サンスクリーン等のスキンケア用化粧品、化粧下地、コンシーラー、ファンデーション、プレストパウダーなどのメーキャップ用化粧品などが挙げられる。特に顔ほほ部へ適用するものが好ましい。

【0026】

本発明の化粧品には、本発明の効果を損なわない範囲で必要に応じて種々の任意成分を適宜配合することができる。そのような任意成分としては、例えば溶剤、着色剤、防腐剤、界面活性剤、香料、顔料、清涼化剤、紫外線吸収剤、増粘剤等が挙げられる。

【0027】

そのような任意成分としては、例えば、マカデミアナッツ油、アボガド油、トウモロコシ油、オリーブ油、なたね油、ゴマ油、ヒマシ油、サフラワー油、綿実油、ホホバ油、ヤシ油、パーム油、液状ラノリン、硬化ヤシ油、硬化油、モクロウ、硬化ヒマシ油、ミツロウ、キャンデリラロウ、カルナウバロウ、イボタロウ、ラノリン、還元ラノリン、硬質ラノリン、ホホバロウ、鉱物油（ミネラルオイル）等のオイル、ワックス類、流動パラフィン、スクワラン、プリスタン、オゾケライト、パラフィン、セレシン、ワセリン、マイクロクリスタリンワックス等の炭化水素類；

【0028】

イソオクタン酸セチル、ミリスチン酸イソプロピル、イソステアリン酸ヘキシルデシル、アジピン酸ジイソプロピル、セバチン酸ジ-2-エチルヘキシル、乳酸セチル、リンゴ酸ジイソステアリル、ジ-2-エチルヘキサン酸エチレングリコール、ジカプリン酸ネオペンチルグリコール、ジ-2-ヘプチルウンデカン酸グリセリン、トリ-2-エチルヘキサン酸グリセリン、トリ-2-エチルヘキサン酸トリメチロールプロパン、トリイソステアリン酸トリメチロールプロパン、テトラ-2-エチルヘキサン酸ペンタンエリトリット、水添ココグリセリル、ステアリン酸ポリグリセリル、パラオキシ安息香酸メチル（メチルパラベン）等のエステル類；

10

20

30

40

50

【 0 0 2 9 】

ジメチルポリシロキサン、メチルフェニルポリシロキサン、ジフェニルポリシロキサン等の鎖状ポリシロキサン、オクタメチルシクロテトラシロキサン、デカメチルシクロペンタシロキサン、ドデカメチルシクロヘキサシロキサン等の環状ポリシロキサン、アミノ変性ポリシロキサン、ポリエーテル変性ポリシロキサン、アルキル変性ポリシロキサン、フッ素変性ポリシロキサン等の変性ポリシロキサン等のシリコン油等の油剤類；

【 0 0 3 0 】

脂肪酸セッケン（ラウリン酸ナトリウム、パルミチン酸ナトリウム等）、ラウリル硫酸カリウム、アルキル硫酸トリエタノールアミンエーテル等のアニオン界面活性剤類、塩化ステアリルトリメチルアンモニウム、塩化ベンザルコニウム、ラウリルアミノオキサイド等のカチオン界面活性剤類、イミダゾリン系両性界面活性剤（2 - ココイル - 2 - イミダゾリニウムヒドロキサイド - 1 - カルボキシエチロキシ2ナトリウム塩等）、ベタイン系界面活性剤（アルキルベタイン、アミドベタイン、スルホベタイン等）、アシルメチルタウリン等の両性界面活性剤類、ソルビタン脂肪酸エステル類（ソルビタンモノステアレート、セスキオレイン酸ソルビタン等）、グリセリン脂肪酸類（モノステアリン酸グリセリン等）、プロピレングリコール脂肪酸エステル類（モノステアリン酸プロピレングリコール等）、硬化ヒマシ油誘導体、グリセリンアルキルエーテル、ショ糖脂肪酸エステル、アルキルグルコシド等の非イオン界面活性剤類等の界面活性剤類；

10

【 0 0 3 1 】

ポリエチレングリコール、1, 3 - ブチレングリコール、グリセリン等の多価アルコール類；

20

ステアリン酸等の高級脂肪酸類；

ピロリドンカルボン酸ナトリウム、乳酸、乳酸ナトリウム等の保湿成分類；

【 0 0 3 2 】

グアガム、クインシード、カラギーナン、ガラクトマンナン、アラビアガム、ペクチン、マンナン、デンプン、カードラン、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、メチルヒドロキシプロピルセルロース、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、グリコーゲン、ヘパラン硫酸、ヒアルロン酸ナトリウム、トラガントガム、ケラタン硫酸、コンドロイチン、ムコイチン硫酸、ヒドロキシエチルグアガム、カルボキシメチルグアガム、デキストラン、ケラト硫酸、ローカストビーンガム、サクシノグルカン、カロニン酸、キチン、キトサン、カルボキシメチルキチン、寒天、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー（カルボマー）、ポリアクリル酸ナトリウム等のポリアクリル酸及び/又はその塩、ポリエチレングリコール、ベントナイト、微粒子セルロースゲル等の増粘剤；

30

【 0 0 3 3 】

表面を処理されていても良い、マイカ、タルク、カオリン、合成雲母、炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム、無水ケイ酸（シリカ）、酸化アルミニウム、硫酸バリウム等の粉体類；表面を処理されていても良いベンガラ、黄酸化鉄、黒酸化鉄、酸化コバルト、群青、紺青、酸化亜鉛の無機顔料類；表面を処理されていても良い、雲母チタン、魚鱗箔、オキシ塩化ビスマス等のパール剤類；レーキ化されていても良い赤色202号、赤色228号、赤色226号、黄色4号、青色404号、黄色5号、赤色505号、赤色230号、赤色223号、橙色201号、赤色213号、黄色204号、黄色203号、青色1号、緑色201号、紫色201号、赤色204号等の有機色素類；ポリエチレン末、ポリメタクリル酸メチル、ナイロン粉末、オルガノポリシロキサンエラストマー等の有機粉体類；

40

【 0 0 3 4 】

パラアミノ安息香酸系紫外線吸収剤、アントラニル酸系紫外線吸収剤、サリチル酸系紫外線吸収剤、桂皮酸系紫外線吸収剤、ベンゾフェノン系紫外線吸収剤、糖系紫外線吸収剤、2 - (2' - ヒドロキシ - 5' - t - オクチルフェニル)ベンゾトリアゾール、4 - メトキシ - 4' - t - ブチルジベンゾイルメタン等の紫外線吸収剤類；

【 0 0 3 5 】

50

エタノール、イソプロパノール等の低級アルコール類；
 ビタミンA又はその誘導体、ビタミンB6塩酸塩、ビタミンB6トリバルミテート、
 ビタミンB6ジオクタノエート、ビタミンB2又はその誘導体、ビタミンB12、ビタミン
 B15又はその誘導体等のビタミンB類、 α -トコフェロール、 β -トコフェロール、
 γ -トコフェロール、ビタミンEアセテート等のビタミンE類、ビタミンD類、ビタミンH
 、パントテン酸、パンテチン、ピロロキノリンキノン等のビタミン類；などが好ましく例
 示できる。

【0036】

また、清涼剤としてメントール、クーリングエージェントなどを使用することもできる
 。

10

また、美白剤として、L-アスコルビン酸、L-アスコルビン酸ナトリウム、アスコル
 ビン酸リン酸エステルナトリウム、アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム、アスコ
 ルビン酸硫酸エステルナトリウム、アスコルビン酸グリセリル（ポリグリセリル）エーテ
 ル類、アスコルビン酸グリセリル（ポリグリセリル）エステル類、アスコルビン酸グルコ
 シド（グリコシド）類、アスコルビン酸アルキルエステル類、アスコルビン酸アルキルエ
 ーテル類等のビタミンC類およびその誘導体、コウジ酸、アルブチン、イオウ等を用いる
 ことができる。

【0037】

皮膚外用剤に配合する場合、上記OPH活性増強剤の配合割合は剤形、用途、使用態様
 などに応じて適宜選択することができるが、好ましくは皮膚外用剤全量に対し0.001
 ~10.0重量%、より好ましくは0.01~5.0重量%、特に好ましくは0.1~1
 .0重量%程度である。

20

【0038】

皮膚外用剤としては、例えば軟膏剤、液剤、貼付剤、噴霧剤、リニメント剤等が挙げら
 れ、経皮投与により有効成分を体内に吸収させることができる。

【0039】

軟膏剤の場合は、上記OPH活性増強剤以外の任意成分として一般的な軟膏剤に用いら
 れるものを必要に応じて適宜配合することができるが、例えば基材として脂肪、脂肪油、
 ラノリン、ワセリン、ろう、樹脂、グリコール類、高級アルコール、グリセリン、乳化剤
 、懸濁化剤等を配合することができる。

30

【0040】

液剤の場合は、上記OPH活性増強剤以外の任意成分として、一般的な液剤に用いられ
 るものを必要に応じて適宜配合することができるが、例えば保存剤（パラオキシ安息香酸
 メチル、パラオキシ安息香酸プロピル）、糖類、甘味剤、エタノール、脂肪油、石けん、
 グリセリン、乳化剤、懸濁化剤等を配合することができる。

【0041】

貼付剤の場合は、上記OPH活性増強剤以外の任意成分として、一般的な貼付剤に用い
 られるものを必要に応じて適宜配合することができるが、例えばカオリン、精油成分、メ
 ントール、ハッカ油、ユーカリ油、グリセリン、プロピレングリコール、懸濁化剤、乳化
 剤、水等を配合することができる。

40

【0042】

(3) 飲食品又は食品添加物

本発明のOPH活性増強剤はまた、これらを一種以上含有する飲食品や食品添加物など
 として応用することができる。飲食品の具体例としては、ハーブ茶、清涼飲料水等が挙げ
 られる。食品添加物の具体例としては、パン、菓子類等が挙げられる。

【0043】

飲食品や食品添加物に配合する場合、上記OPH活性増強剤の配合割合は用途や使用態
 様などに応じて適宜選択することができるが、好ましくはそれら全量に対し0.001~
 10.0重量%、より好ましくは0.01~5.0重量%、特に好ましくは0.1~1.
 0重量%程度である。

50

【0044】

(4) 医薬品又は医薬部外品

本発明のOPH活性増強剤はまた、これらを一種以上含有する医薬品や医薬部外品などとして応用することができる。医薬品の具体例としては、抗糖尿病薬等が挙げられる。医薬部外品の具体例としては、美白化粧品等が挙げられる。

【0045】

医薬品や医薬部外品に配合する場合、上記OPH活性増強剤の配合割合は用途や使用態様などに応じて適宜選択することができるが、好ましくはそれら全量に対し0.001~10.0重量%、より好ましくは0.01~5.0重量%、特に好ましくは0.1~1.0重量%程度である。

10

【実施例】

【0046】

以下に本発明を実施例により説明するが、本発明はこれらの実施例により何らの制限を受けるものではない。

<実施例1>

(1) 皮膚角質層中のOPH活性成分の抽出

以下に、皮膚角層中にOPH様活性が存在していることを確認し、皮膚角層中のOPH様活性成分を精製する方法を示す。

【0047】

一人の被験者(男性;40代)の上腕内側部、下腕外側部及び顔ホホ部の各部位の皮膚表面に、透明粘着テープ(ニチバンセロテープ(CT-24):24mm×80mm)を貼付したのち、テープストリッピング法に基づいて剥離し角層を採取した。これを同一部位において3回繰り返し、2回目(2層目)及び3回目(3層目)を使用した。なお、被験者には事前に試験内容を十分に説明し、本人の自由意思による同意を得た。

20

【0048】

角層を採取したセロテープを、ハサミを用いて裁断し、角層抽出バッファー2mLを加えて超音波処理(40KHz;20秒×4回)し、ヒト皮膚角層抽出液を得た。ここで、用いた超音波装置はアズワン社製、製品名;US CREANERである。また、使用した角層抽出バッファーは、トリスバッファー(0.2M Tris-HCl Buffer;pH7.4;containing 0.14M-NaCl, 0.1%-TritonX100)(和光純薬工業株式会社製)である。

30

【0049】

(2) OPH酵素比活性の測定

上で得られたヒト皮膚角層抽出液について、酸化蛋白分解酵素(OPH)活性を、以下の方法で測定した。

【0050】

96穴マイクロプレート(透明)に、前記ヒト皮膚角層抽出液;180μLを、次いで50mM-AAPA(acetyl-L-alanine p-nitroaniline)50%-EtOH溶液;20μLを注入し、37℃で60分間インキュベートし、粗酵素・基質混合液を得た。インキュベート前後において、当該粗酵素・基質混合液についてAbs.405nmにおける吸光度を測定した。

40

【0051】

OPH酵素であるAcylamino-acid-releasing enzyme(AARE;タカラバイオ社製)を用いた検量線により、酵素活性を算出した。一方でDC protein assay(lowry法)にて蛋白量を測定し、OPH様比活性(μUnit/μg)を算出した。

【0052】

結果を図1に示す。図1は、各部位のヒト皮膚角層抽出液のOPH酵素比活性を表すグラフである。この結果によれば、ヒト皮膚角層中のOPH様活性成分は特に顔部に多く含まれることがわかる。

【0053】

<実施例2;各種植物抽出物によるOPH活性増強作用1次スクリーニング>

50

各種植物抽出物（以下、「植物エキス」という）について、OPH活性増強作用に関する1次スクリーニングを、以下の方法で行った。

【0054】

96穴マイクロプレート（黒色）に、トリスバッファー（0.2M Tris-HCl Buffer；pH 7.4）150～240 μ Lを、次いで各種植物エキス（強熱乾固物量として1mg/mL）の70% - EtOH溶液；10 μ Lを、次いでAARE（0.5U/mL）；10 μ Lを、次いでAGE-HSA；80 μ Lを注入し、37 $^{\circ}$ Cで18時間インキュベートし、酵素・基質混合液を得た。

【0055】

ここで、上記AGE-HSA（ヒト血清アルブミン最終糖化生成物）は、40mg/mL濃度に調整したヒト血清アルブミン水溶液20mLに、2mol/L濃度のグルコース10mL、0.1M - リン酸バッファー（pH 7.4）50mL、水20mLを加えて60 $^{\circ}$ Cで40時間インキュベートして得たものである。

10

【0056】

上記インキュベート後に得られた酵素・基質混合液について、蛍光強度（Ex；370nm、Em；430nm）を、蛍光強度測定装置（TECAN社製、製品名；infinite F200PRO）にて測定した。植物エキス無添加時の蛍光強度減少量を基準（0%）としたときの、植物エキス添加時の減少量増加率をOPH活性化率として示した。結果を表1〈各種植物エキスのOPH活性増強作用1次スクリーニング結果〉に示す。

【0057】

20

【表 1】

原料名	OPH活性化率(%)	原料名	OPH活性化率(%)	原料名	OPH活性化率(%)
アカボク抽出液	0.6	ゲンノショウコ抽出液	55.4	ニンドク抽出液	37.2
アシタバ抽出液	17.0	ゴボウ抽出液	42.9	ハス根芽抽出液	34.1
アセキヤ抽出液	67.1	コマクサ抽出液	55.4	バセリ抽出液	11.8
甘草葉抽出液	26.5	サクロ抽出液	28.6	ハマリス抽出液	28.4
アマチャ抽出液	11.3	サバソウ抽出液	-4.1	ハマソウ抽出液	6.5
アルミア抽出液	21.1	サルビア抽出液	61.2	ヒハツ抽出液	46.7
アルニ分抽出液	6.6	サンザシ抽出液	36.7	ヒマラヤンラズベリー抽出液	16.1
アロエ抽出液	132.9	サンショウ抽出液	-4.6	ビワ抽出液	7.0
イチヨウ葉抽出液	17.8	サンショウ抽出液	23.4	フキタンポポ抽出液	49.2
イチラクサ抽出液	35.5	シイタケ抽出液	-2.2	ブクリヨウ抽出液	3.4
インゲンゴロウ抽出液	21.1	シイタケ抽出液	20.3	ブツヤーズ・ブルーム抽出液	-5.6
ウイキョウ抽出液	-12.0	シシ抽出液	33.1	ヘチマ抽出液	8.0
ウーロン茶抽出液	23.8	シオナキ抽出液	6.0	ベニバナ抽出液	8.6
ウコン抽出液	5.6	シヤウヤク抽出液	0.9	ペパーミント抽出液	7.7
ウスベニアオイ抽出液	54.3	シユウヤク抽出液	17.4	ボダイジュ抽出液	13.8
ウスベニアオイ抽出液B	6.7	シユウヤク抽出液	26.0	ボクセンビ抽出液	12.8
エイジツ抽出液	15.9	シヨウブ抽出液	-3.4	ホウブ抽出液	41.9
エンバイン抽出液	51.2	シラカバ抽出液	-0.1	マシヨラム抽出液	64.5
オウゴン抽出液	60.1	眞珠たん白抽出液	5.5	マタタビ抽出液	14.2
オウバク抽出液	15.3	スターフルーツ葉抽出液	7.8	マルチス抽出液	6.3
オウレン抽出液	57.1	スターフルーツ葉抽出液	-1.4	マロニエ抽出液	3.8
オトギリソウ抽出液	18.6	セイヨウキズナ抽出液	3.7	メリッコ抽出液	11.0
オノニス抽出液	53.2	セイヨウキズナ抽出液	-1.5	モミジ抽出液	10.3
オリゴ糖抽出液	14.0	センキュウ抽出液	3.0	モモ抽出液	-0.1
オレンジ果汁	8.3	センブリ抽出液	8.3	ヤグルマソウ抽出液	1.1
カイロク抽出液	16.2	ソウハク七抽出液	0.6	ユークリ抽出液	10.6
カイロク抽出液	7.1	タイノク抽出液	-0.2	ユキシタ抽出液	21.7
カミツレ抽出液	15.5	タチジロソウ抽出液	9.3	ユズ抽出液	15.0
キイチゴ抽出液	19.2	チヨウジ抽出液	-7.3	ユウジ抽出液	0.3
キイチゴ抽出液	24.3	チンピ抽出液	13.6	ヨウイニン抽出液	-1.1
キューカンバー抽出液	-5.5	月経葉抽出液	-2.3	ライム果汁	4.8
キョウニン抽出液	3.5	甜葉抽出液	52.7	ラベンダー抽出液	6.4
キンギョ抽出液	-9.2	トウモロコシ抽出液	0.3	緑茶抽出液	12.8
キンギョ抽出液	19.2	トウモロコシ抽出液	42.6	リンゴ抽出液	3.0
クジン抽出液	-15.7	トウモロコシ抽出液	0.5	レイシ抽出液	-3.2
クスノハガシ抽出液	46.0	トクナシ抽出液	8.9	レモン抽出液	0.2
クマザサ抽出液	-4.1	トルネード抽出液	6.5	ローズヒップ抽出液	60.9
グレープフルーツ抽出液	43.4	トルネード抽出液	6.9	ローゼルリー抽出液	1.5
ケイトウ抽出液	18.9	ニワトク抽出液	13.2	ウダ葉抽出液	26.3
ゲンチアナ抽出液	22.3	ニンジン抽出液	-0.4	ワイルドタイム抽出液	8.0

10

20

30

40

【0058】

<実施例3；OPH活性化増強作用2次スクリーニング>

植物エキスとしてアセキヤク、オウゴン、ゲンノショウコ、コマヌカ、サルビア、マジヨラム、アロエ、ウスベニアオイ、エンメイソウ、オウレン、オノニス、及びローズヒップを選択した。

【0059】

上記で選択した各植物エキス、AGE-HSA、及びトリスバッファーを混合した後、最後にAAREを添加して37で1時間インキュベートした以外は、実施例2と同様の

50

方法で酵素・基質混合液を得た。

【0060】

AARE添加直後、および37 で1時間インキュベートした後の蛍光強度を測定し、植物エキス無添加時のOPH活性を100%とした時の活性増強率を算出した。結果を図2に示す。図2は、各植物エキスのOPH活性増強作用2次スクリーニングの結果を示すグラフである。

【0061】

<実施例4>

植物エキスとしてアセンヤク、コメヌカ、エンメイソウ、ヒハツを選択した。

実施例2において、上記で選択した各植物エキス、AGE-HSA、及びトリスバッファを、混合した後、最後にAAREを添加して37 で1時間インキュベートした以外は、実施例2と同様の方法で糖化生成物混合物を得た。各植物エキスの濃度(mg/mL)を変化させた糖化生成物混合物を同様に調製し、OPH活性率を測定した。なお、OPH活性率とは、植物エキス無添加時の蛍光強度減少量を100%としたときの、植物エキス添加時の減少量増加率を表したものである。

10

【0062】

得られた結果を図3に示す。図3は植物エキス濃度とOPH活性率との関係を示すグラフである。これによれば、エンメイソウ、ヒハツ、コメヌカに濃度依存性が確認された。

【0063】

<実施例5>

植物エキスとしてエンメイソウを選択し、25μg/mL、50μg/mL、及び125μg/mL(各々強熱乾固物量として)の3種の濃度の抽出液を用意した。実施例3において、植物エキスとして当該3種の濃度のエンメイソウ抽出液を用いた以外は同様にを行い、OPH活性増強率を求めた。結果を図4に示す。図4はエンメイソウ抽出液濃度とOPH活性増強率との関係を示すグラフである。それによれば、少なくともエンメイソウ抽出液は、皮膚角層中から抽出したOPH活性を増強する作用を有することが確認された。

20

【産業上の利用可能性】

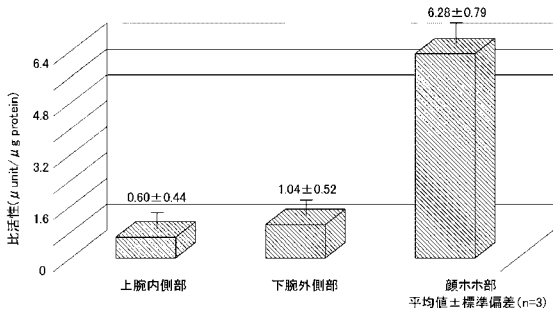
【0064】

ヒト皮膚角層中において確認されたOPH様活性成分は、OPHであるAAREと活性画分が一致したことから、ヒト皮膚角層中にOPHが存在していると考えられる。また、化粧品に好適に使用可能な特定の植物抽出物(植物エキス)にOPH活性を高める作用のあるものが確認され、特にヒト皮膚角層中のOPH活性を高めることが分かった。

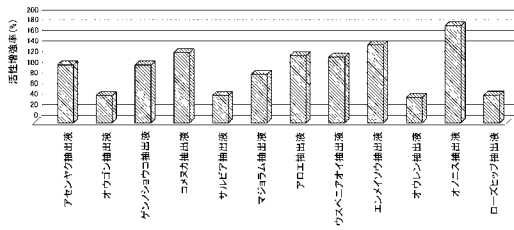
30

よって、本発明の特定の植物抽出物(植物エキス)を含むOPH活性増強剤を化粧品や皮膚外用剤に配合することにより、化粧品や皮膚外用剤による皮膚OPH活性増強をはかり、皮膚老化進展を抑制することが可能となる。

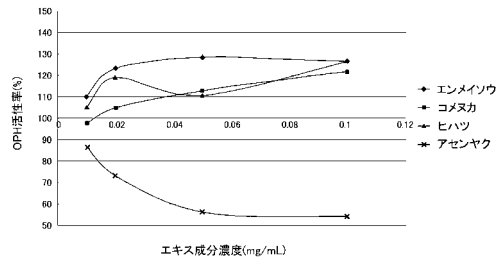
【 図 1 】



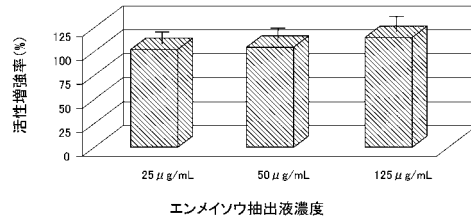
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



 フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	36/537	(2006.01)	A 6 1 K	36/537	
A 6 1 K	36/53	(2006.01)	A 6 1 K	36/53	
A 6 1 K	36/896	(2006.01)	A 6 1 K	36/896	
A 6 1 K	36/718	(2006.01)	A 6 1 K	36/718	
A 6 1 K	36/48	(2006.01)	A 6 1 K	36/48	
A 6 1 K	36/73	(2006.01)	A 6 1 K	36/73	
A 6 1 K	36/67	(2006.01)	A 6 1 K	36/67	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 Q	19/00	(2006.01)	A 6 1 Q	19/00	
A 2 3 L	33/105	(2016.01)	A 2 3 L	33/105	

Fターム(参考) 4C088 AB13 AB14 AB32 AB36 AB38 AB51 AB55 AB59 AB74 AB86
 MA52 MA63 NA14 ZA89 ZC41