

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4441083号  
(P4441083)

(45) 発行日 平成22年3月31日 (2010.3.31)

(24) 登録日 平成22年1月15日 (2010.1.15)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 8/49 (2006.01)

A 6 1 K 8/49

A 6 1 Q 17/00 (2006.01)

A 6 1 Q 17/00

A 6 1 K 31/36 (2006.01)

A 6 1 K 31/36

A 6 1 P 17/16 (2006.01)

A 6 1 P 17/16

C O 7 D 493/04 (2006.01)

C O 7 D 493/04 1 O 6 A

請求項の数 2 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2000-238336 (P2000-238336)

(22) 出願日 平成12年8月7日 (2000.8.7)

(65) 公開番号 特開2002-53421 (P2002-53421A)

(43) 公開日 平成14年2月19日 (2002.2.19)

審査請求日 平成17年7月8日 (2005.7.8)

(73) 特許権者 000113470

ポーラ化成工業株式会社

静岡県静岡市駿河区弥生町 6 番 4 8 号

(74) 代理人 100102842

弁理士 葛和 清司

(72) 発明者 金丸 晶子

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町 5 6 〇 番地

ポーラ化成工業株式会社 戸塚研究所内

(72) 発明者 多田 明弘

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町 5 6 〇 番地

ポーラ化成工業株式会社 戸塚研究所内

(72) 発明者 西川 和子

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町 5 6 〇 番地

ポーラ化成工業株式会社 戸塚研究所内

最終頁に続く

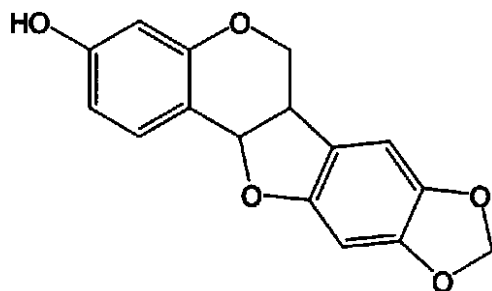
(54) 【発明の名称】 メラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤及びそれを含有する化粧料

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記化学式 (I I) に表されるマアキアイン (maackiain) 及び / 又はその塩からなる、メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤。

【化 1】



化学式 (I I)

【請求項 2】

デンドライトの伸長抑制が、マクロファージ由来のデンドライト伸長促進因子の抑制作用に起因することを特徴とする、請求項 1 に記載のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤。

【発明の詳細な説明】

## 【 0 0 0 1 】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤及びメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤により、メラノサイトとマクロファージの相互作用を抑制するのに好適な、メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤に関する。

## 【 0 0 0 2 】

## 【従来の技術】

メラノサイトは動物において、色素に係わる生命現象の主役となっていることは既に知られていることであるが、かかる色素であるメラニンがメラノサイトで産生され、どのような経緯で表皮細胞に移動していくかについては、未だ詳細には知られておらず、かかるメラニン顆粒の移動には、マクロファージが関与している場合が少なくないことのみが知られているにすぎない。かかるマクロファージの関与については、メラノサイトのデンドライトの伸長因子（DEF）を産生することにより為されていることが指摘されているが、このような伸長因子の働きを抑制する試みや、抑制することによりメラノサイトのデンドライトの伸長を抑制すること、該デンドライトの伸長抑制により、メラニン顆粒の移動を抑制し、皮膚が黒化するのを防ぐ試みは全く為されていない。更に、マメ科のSophora subrostrata(広豆根及び山豆根)の根茎から単離された化学式（II）に表される化合物であるマアキアイン（maackiain）及び／又はその塩にこの様なメラノサイトの伸長抑制作用が有ることも全く知られていない。

## 【 0 0 0 3 】

他方、メラノサイトによって産生されるメラニン顆粒の異常によって生じる色素異常の解決は、美しい白い肌を具現化するための人類永年の解決課題であり、この為、種々の努力が為され、多くの成果が得られてきており、そのメカニズムについても様々なものが得られているが、メラノサイトのデンドライトの伸長抑制に着目したものはなく、このようなメカニズムにより、光の関与する色素異常であって、炎症を伴う色素異常症の予防や改善などの対応に有用であることは全く知られていない。又、炎症を伴った色素異常やシミ・ソバカスなどの色素異常に対して、従来良く知られているアスコルビン酸などのメラニン生成阻害剤の効果が今ひとつであり、このような色素異常の予防或いは改善手段の開発が望まれていた。

## 【 0 0 0 4 】

更に、マメ科のSophora subrostrata(広豆根及び山豆根)の根茎のエッセンスは、抗炎症及び抗菌作用を有していることは既に知られていることであるが、そこから単離された化学式（II）に表される化合物であるマアキアイン（maackiain）及び／又はその塩にメラノサイトのデンドライト伸長を抑制する作用を有していることは全く知られておらず、従って、このものを含有する化粧品などの皮膚外用剤がメラノサイトのデンドライト伸長を抑制し、以て、色素異常、取り分け、光が関与し、炎症を伴って起こる色素異常の予防と改善に有用であることは全く知られていないことであった。

## 【 0 0 0 5 】

## 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、このような状況下為されたものであり、炎症を伴った色素異常やシミ・ソバカスなどの色素異常に対して有効な予防或いは改善手段を提供することを課題とする。

## 【 0 0 0 6 】

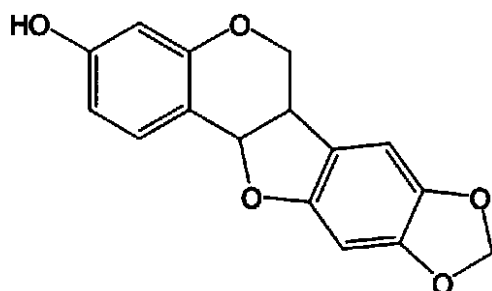
## 【課題の解決手段】

このような状況に鑑みて、本発明者らは、炎症を伴った色素異常やシミ・ソバカスなどの色素異常に対して有効な予防或いは改善手段を求めて、鋭意研究を重ねた結果、化学式（II）に表される化合物であるマアキアイン（maackiain）及び／又はその塩に優れたメラノサイトのデンドライトの伸長抑制作用を見出し、かかる作用を有する物質を皮膚外用剤に含有させることにより、炎症を伴った色素異常やシミ・ソバカスなどの色素異常の予防・改善に有用であることを見出し、発明を完成させるに至った。即ち、本発明は次に示す技術に関するものである。

【 0 0 0 7 】

( 1 ) 下記化学式 ( I I ) に表される化合物であるマアキアイン ( maackiain ) 及び / 又はその塩からなる、メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤。

【 化 2 】



10

化学式 ( I I )

【 0 0 0 8 】

( 2 ) デンドライトの伸長抑制が、マクロファージ由来のデンドライト伸長促進因子の抑制作用に起因することを特徴とする、( 1 ) に記載のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤。

以下、本発明について、実施の形態を中心に詳細に説明を加える。

【 0 0 0 9 】

20

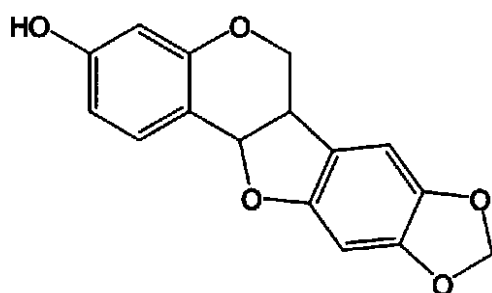
【 発明の実施の形態 】

( 1 ) 本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤

本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤は、下記化学式 ( I I ) に表されるマアキアイン ( maackiain ) 及びその塩からなる。前記、本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤であるマアキアイン ( maackiain ) は、マメ科の *Sophora subprostrata* ( 広豆根及び山豆根 ) の根茎から単離精製される。

【 0 0 1 0 】

【 化 3 】



30

化学式 ( I I )

【 0 0 1 1 】

この化合物を得る方法として、常法に従えば良く、第一ステップとして各種有機溶媒により該化合物含有成分を抽出して、液液抽出し、有機溶媒画分を減圧乾固し、有機溶媒を除去する。場合によっては凍結乾燥をし粗分画を得る。第二ステップとして、粗分画を少量の有機溶媒に溶解し、シリカゲルクロマトグラフィー、ODSクロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーにより、化学式 ( I I ) に示されるマアキアイン ( maackiain ) を精製し単離する手段を取る。かかる植物の植物体それ自身、植物体を乾燥或いは細切、粉碎など加工した加工物、植物体乃至はその加工物を溶媒で抽出した抽出物、抽出物の溶媒を除去した、溶媒除去物、抽出物乃至はその溶媒除去物を液液抽出後、カラムクロマトグラフィー、ODSカラムクロマトグラフィーで精製した精製分画物である化学式 ( I I ) に示されるマアキアイン ( maackiain ) を精製し単離することを意味する。粗分画を得るための溶媒としては、極性溶媒が特に好ましく例示できる。この様な極性溶媒として

40

50

は、例えば、水、エタノール、メタノール、1,3-ブタンジオール、プロピレングリコールなどのアルコール類、酢酸エチルや蟻酸メチルなどのエステル類、アセトンやメチルエチルケトンなどのケトン類、クロロホルムや塩化メチレン等のハロゲン化炭化水素類、アセトニトリル等のニトリル類、ジエチルエーテルやテトラヒドロフランなどのエーテル類から選ばれる1種乃至は2種以上が好ましく例示できる。これらの内、特に好ましいものは、酢酸エチルや蟻酸メチルなどのエステル類である。この様な抽出物を作成するには、植物体乃至はその加工物に1~10倍量の溶媒を加え、室温であれば数日、沸点付近の温度であれば数時間浸漬すればよい。しかる後に、不溶物を濾過などで除去し、必要に応じて減圧濃縮や凍結乾燥により溶媒除去することが出来る。マメ科の*Sophora subprostrata*(広豆根及び山豆根)の根茎の場合、根茎部分を酢酸エチルで抽出後、濾過し、減圧濃縮する、そして場合によって凍結乾燥し粗分画を得て、化学式(II)に示されるマアキアイン(*maackiain*)を精製し単離することができる。それは、根茎の部分にこの様な物質が多く含まれており、特に好ましいからである。又この様な化合物はアシルハライドと塩基を用いたアシル化反応、アルキルハライドとアルカリを用いたアルキル化反応、アシル化糖と酸化銀触媒を用いた配糖化反応を行うことにより各種誘導体へと導くことができる。かくして得られた、本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制剤である、マメ科の*Sophora subprostrata*(広豆根及び山豆根)の根茎から得られた化学式(II)に示されるマアキアイン(*maackiain*)及び/又はその塩は、メラノサイトがデンドライトを伸長するのを抑制する作用に優れ、以て、メラノサイトより皮膚組織へメラニン顆粒が移動するのを抑制し、この様なメラニン顆粒の移動をメカニズムとする、光照射時に生じる、炎症を伴った黒化やソバカスなどの色素異常を予防或いは改善する作用を有する。この様な作用は、マクロファージが放出するメラノサイトのデンドライトの伸長因子がメラノサイトに働きかけるのを阻害することを機序としていると考えられる。勿論、色素異常が、メラニン顆粒の産生にあたってこの様なルートをとることから、本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤は、光照射による炎症を伴った黒化やシミ・ソバカス以外の色素異常も抑制するが、この様な色素異常は他の手段でも予防や改善が可能であるため、本発明の効果の特徴は前記の光照射時に生じる、炎症を伴った黒化やシミ・ソバカスなどの色素異常を予防或いは改善する作用と言える。

#### 【0012】

(2) 本発明のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤

本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤は、マクロファージが放出するメラノサイトのデンドライトの伸長因子がメラノサイトに働きかけるのを阻害することを機序としているので、メラノサイトとマクロファージとが協調的に働く生命現象を抑制することが出来、この様なメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤を、皮膚外用剤に含有させることにより、メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象へ対応する事が出来る。即ち、本発明の皮膚外用剤は、メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用であって、本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤を含有することを特徴とする。ここで、本発明で言う皮膚外用剤とは、皮膚に外用で適用される組成物の総称であって、貼付剤を含む皮膚外用医薬や洗浄剤を含む化粧料が好ましく例示でき、これらの内では、化粧料であることが特に好ましい。これは、本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤の安全性が高く、作用が穏やかであるためである。メラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象としては、特に好ましくは前述の光照射による炎症を伴った黒化やシミ・ソバカスなどの色素異常がまず一番重要な課題として挙げられるが、その他炎症反応なども含まれる。本発明のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤に於ける、メラノサイトのデンドライト伸長抑制剤の好ましい含有量は、皮膚外用剤全量に対して、0.001重量%~10重量%であり、更に好ましくは0.01重量%~5重量%である。これは、少なすぎるとデンドライトの伸長抑制作用が発揮されない場合があり、多すぎても効果が頭打ちになり他の処方成分の自由度を損なうことがあるからである。

#### 【0013】

本発明のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤は、上記必須成分以外に、通常化粧品や皮膚外用医薬で使用する任意の成分を含有することが出来る。かかる任意成分としては、例えば、スクワラン、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、ホホバ油、カルナウバワックス、オレイン酸オクチルドデシル等のエステル類、オリーブ油、牛脂、椰子油等のトリグリセライド類、ステアリン酸、オレイン酸、リチノレイン酸等の脂肪酸、オレイルアルコール、ステアリルアルコール、オクチルドデカノール等の高級アルコール、スルホコハク酸エステルやポリオキシエチレンアルキル硫酸ナトリウム等のアニオン界面活性剤類、アルキルベタイン塩等の両性界面活性剤類、ジアルキルアンモニウム塩等のカチオン界面活性剤類、ソルビタン脂肪酸エステル、脂肪酸モノグリセライド、これらのポリオキシエチレン付加物、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル等の非イオン界面活性剤類、ポリエチレングリコール、グリセリン、1,3-ブタンジオール等の多価アルコール類、増粘・ゲル化剤、酸化防止剤、紫外線吸収剤、色剤、防腐剤、粉体等を含有することができる。本発明のメラノサイトとマクロファージが関与する皮膚現象対応用の皮膚外用剤は、抗炎症剤として知られるプレドニゾロン、ヒドロコルチゾン、インドメタシン、ジクロフェナクナトリウム等を配合させれば相乗効果により日光による炎症を伴う黒化症に有意義である。勿論、従来のメラニン産生抑制剤である、アスコルビン酸類やアルブチンなどのハイドロキノン類を含有することも相乗的な効果を発揮する場合があり、有利である。

【0014】

【実施例】

以下に実施例を挙げて更に詳細に本発明について説明を加えるが、本発明がこれら実施例にのみ、限定を受けないことは言うまでもない。

【0015】

<実施例1>

化学式(II)に示されるマアキアイン(maackiain)の抽出・精製法を示す。マメ科のSophora subprostrata(広豆根及び山豆根)の根茎500gに5Lの酢酸エチルを加え、攪拌しながら2時間、90℃で加熱し、室温まで冷却した後、濾過して不溶物を取り除き、減圧濃縮後、その後、凍結乾燥し、粗分画を得た。そして、凍結乾燥物を水・クロロフォルムで液々抽出し、クロロホルム層を濃縮乾固した。この濃縮乾固物を少量のクロロホルムに溶解し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで溶出溶媒をクロロホルム：メタノール=100：0～9：1の条件下で溶出させて、精製し、アセトンで再結晶し、マアキアイン(maackiain)を約500mgのを得た。

【0016】

<実施例2>

上記実施例1のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤であるマアキアイン(maackiain)を用いて、デンドライト伸長抑制作用を調べた。即ち、予め常法に従い、マウス腹腔より、マクロファージを回収し、10%FBS添加ME5培地で希釈し、 $2 \times 10^6$ セル/mlの濃度のマクロファージ液を調製しておいた。このものを135μlずつ35mmシャーレに分注し、これに0.05mW/cm<sup>2</sup>で20分間の紫外線照射を行った。このメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤であるマメ科のSophora subprostrata(広豆根及び山豆根)の根茎から得られたマアキアイン(maackiain)を乾燥重量%で0.005%となるようDM50に溶かして加え37℃で1晩培養した。又、他方マウスの尾を切り、尾の表皮を細かく刻みシャーレに入れ0.5%トリプシンにて4℃で一晩処理し、ピンセットを用いて、表皮と真皮に分離し、表皮のみを回収し、0.5%トリプシンにて37℃で20分間処理し、フィルター濾過でメラノサイトのみを濾液として集めた。このメラノサイトを含む濾液を、ME5培地に10%FBS、 $10^{-4}$ MのIBMX及び10ng/mlのTPAを加えた培地で、37℃、72時間培養した。これを同培地で懸濁させ、96穴ウェルに1000セル/ウェルずつ分注し、37℃で一晩培養した。メラノサイトの培地を捨て、PBSで3回洗浄した後、10%FBS加イーグルの最少培地35μlに置換した。これに前記検体を含むマクロファージの培養上清35μlずつ添加し、37℃で二晩

培養し、光学顕微鏡下写真撮影を行い、この写真よりデンドライトの長さを測定した。結果を表1に示す。これより、本発明のメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤であるマメ科の *Sophora subprostrata* (広豆根及び山豆根) の根茎から得られたマアキアイン (maackiain) によるデンドライト伸長の抑制作用に優れることが分かる。

(検体)

- 1) UV照射のマクロファージにマアキアイン (maackiain) を 0.05% 添加したもの
- 2) UV照射のマクロファージ (ポジティブコントロール)
- 3) UV非照射のマクロファージ (ネガティブコントロール)

【0017】

【表1】

10

検体	デンドライトの長さ (μM)
マアキアイン (maackiain) 0.005%	29.70
ポジティブコントロール・UV照射	61.40
ネガティブコントロール・UV非照射	19.25

【0018】

<実施例3>

以下に示す処方化粧水を作成した。即ち、処方成分を室温で攪拌可溶化して化粧水を得た。この化粧水について、シミ、そばかすに悩むパネラー1群3名を用いて、1ヶ月間、朝晩1日2回使用してもらいそのシミ、そばかすの予防及び改善効果を評価してもらった。評価基準は、評点2：著しい改善、評点1：明らかな改善、評点0.5：わずかな改善、評点0：改善なしの基準である。平均評点は1.25であった。本発明のメラノサイトのデンドライトの伸長抑制効果のあるマアキアイン (maackiain) を含有する化粧水は、シミ、ソバカスの改善に効果のあることが認められた。

20

マアキアイン (maackiain)	1	重量部
1,3ブタンジオール	5	重量部
グリセリン	3	重量部
クエン酸ナトリウム	0.1	重量部
メチルパラベン	0.2	重量部
エタノール	8	重量部
水	82.7	重量部

30

【0019】

<実施例4>

下記に示す処方に従って、皮膚外用医薬組成物を作成した。即ち、処方成分を攪拌分散して、皮膚外用剤を得た。このものは光による炎症を伴った、光による皮膚の黒化現象或いはシミ・ソバカスに対して著効を示した。

マアキアイン (maackiain)	0.5	重量部
プレドニゾロン	1	重量部
ワセリン	85	重量部

40

【0020】

<実施例5>

以下に示す処方に従ってクリームを作製した。即ち、イ、ロ、ハをそれぞれ80に加熱溶解して、イにロを徐々に加え、更にハを加え乳化した後、ホモミキサーにより乳化粒子を均一化し、冷却してクリームを得た。このクリームは、炎症を伴うシミ・ソバカス等に優れた効果があった。

【0021】

イ)

スクワラン	10	重量部
-------	----	-----

50

セタノール	3	重量部
ソルピタンセスキステアレート	2	重量部
ポリオキシエチレン(20)ベヘニルエーテル	2	重量部
ビタミンA酸	1	重量部
ロ)		
1,3-ブタンジオール	5	重量部
マアキアイン(maackiain)	1	重量部
カルボキシビニルポリマー	0.3	重量部
水	40	重量部
ハ)		
水	37.3	重量部
水酸化カリウム	0.2	重量部

【0022】

【発明の効果】

本発明によれば、炎症を伴った色素異常やシミ・ソバカスなどの色素異常に対して有効な予防或いは改善手段を提供することができる。

---

フロントページの続き

審査官 井上 明子

- (56)参考文献 特開平 0 4 - 3 4 6 9 1 2 ( J P , A )  
特開平 0 6 - 0 1 6 5 3 1 ( J P , A )  
特開平 0 6 - 3 2 1 7 6 2 ( J P , A )  
特開平 0 4 - 3 4 2 5 1 9 ( J P , A )  
Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1 9 6 3 年, Vol.11, p.167-177  
薬学雑誌, 1 9 7 0 年, V o l . 9 0 , N o . 4 , p . 4 5 9 - 4 6 2

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A61K 8/49  
A61K 31/36  
C07D 493/04  
CAplus(STN)  
REGISTRY(STN)