



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201225989 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：100139351

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 10 月 28 日

(51)Int. Cl. : *A61K8/97 (2006.01)*

A61P17/16 (2006.01)

A61Q7/00 (2006.01)

(30)優先權：2010/10/29 日本

JP2010-244480

(71)申請人：丸善製藥股份有限公司 (日本) MARUZEN PHARMACEUTICALS CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：野嶋潤 NOJIMA, JUN (JP)；屋敷圭子 YASHIKI, KEIKO (JP)；大戶信明 OHTO,
NOBUAKI (JP)；周艷陽 ZHOU, YANYANG (JP)；木曾昭典 KISO, AKINORI
(JP)；桑原浩誠 KUWAHARA, HIROSHIGE (JP)；高柿了士 TAKAGAKI, RYOJI
(JP)

(74)代理人：賴安國；李政憲；王立成

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：0 共 41 頁

(54)名稱

不含有糖之鳳梨萃取物、及其製造方法、以及其用途

SUGAR-FREE PINEAPPLE EXTRACT, METHOD FOR PRODUCING THE EXTRACT, AND
APPLICATION OF THE EXTRACT

(57)摘要

本發明係一種藉由溶劑萃取鳳梨之可食部而獲得之不含有葡萄糖及果糖的不含有糖之鳳梨萃取物。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201225989 A1

(43)公開日：中華民國 101 (2012) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：100139351

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 10 月 28 日

(51)Int. Cl. : *A61K8/97 (2006.01)*

A61P17/16 (2006.01)

A61Q7/00 (2006.01)

(30)優先權：2010/10/29 日本

JP2010-244480

(71)申請人：丸善製藥股份有限公司 (日本) MARUZEN PHARMACEUTICALS CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：野嶋潤 NOJIMA, JUN (JP)；屋敷圭子 YASHIKI, KEIKO (JP)；大戶信明 OHTO,
NOBUAKI (JP)；周艷陽 ZHOU, YANYANG (JP)；木曾昭典 KISO, AKINORI
(JP)；桑原浩誠 KUWAHARA, HIROSHIGE (JP)；高柿了士 TAKAGAKI, RYOJI
(JP)

(74)代理人：賴安國；李政憲；王立成

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：0 共 41 頁

(54)名稱

不含有糖之鳳梨萃取物、及其製造方法、以及其用途

SUGAR-FREE PINEAPPLE EXTRACT, METHOD FOR PRODUCING THE EXTRACT, AND
APPLICATION OF THE EXTRACT

(57)摘要

本發明係一種藉由溶劑萃取鳳梨之可食部而獲得之不含有葡萄糖及果糖的不含有糖之鳳梨萃取物。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於不含有糖之鳳梨 (pineapple) 萃取物、及其製造方法、以及層黏連蛋白-5 (laminin-5) 產生促進劑、表皮透明質酸 (hyaluronic acid) 產生促進劑、透明質酸酶 (hyaluronidase) 活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 (transglutaminase-1) 產生促進劑、黑色素 (melanin) 產生抑制劑、毛乳頭細胞增殖促進劑、飲食品、皮膚外用劑、及毛髮生長劑。

【先前技術】

皮膚係由表皮、基底膜、及真皮所構成。真皮係由纖維芽細胞、由該細胞分泌的膠原纖維 (collagen)、彈性蛋白 (elastin)(彈性纖維)、透明質酸等之細胞外基質所構成。基底膜係存於表皮及真皮之交界部，不僅維繫表皮及真皮，而且於皮膚機能之維持上負有重要任務 (參照非專利文獻 1)。於年輕的皮膚，藉由保持此等皮膚組織之相互作用的恒定性，而確保水分保持力、柔軟性、彈力性等，外觀上亦為緊緻及潤澤而維持著嬌嫩的狀態。

然而，受到紫外線、顯著的空氣乾燥、過度之皮膚洗淨、壓力、抽煙等的外在因子的影響，隨著老化的進行時，為細胞外基質之主要構成成分的膠原纖維之分解或變質會發生、纖維芽細胞之增殖變的緩慢、或基底膜之主要構成成分的層黏連蛋白-5 產生分解或變質而基底膜構造被破壞

(參照非專利文獻 2)。又，會引起為天然保濕因子的透明質酸之產生量的降低。此結果會成為呈現如皮膚之保濕機能或彈性降低、發角質之異常剝離、皺紋、黯淡、質感消失、彈力性降低等之老化症狀。

因此，一般認為經由促進層黏連蛋白-5 之產生及透明質酸之產生，可防止甚至改善皮膚之老化。因此，正冀望自安全性高的天然物獲得具有層黏連蛋白-5 產生促進作用及透明質酸產生促進作用的物質。

迄今，就具有層黏連蛋白-5 產生促進作用者而言，例如，已報告葛根 (*Puerariae radix*) 萃取物、甘草 (*licorice*) 萃取物或其類黃酮 (*flavonoid*) 餾份、檜扇 (*Iris domestica*) 萃取物、黑板樹 (*Alstonia scholaris*) 萃取物、心葉青牛膽 (*Tinospora cordifolia*) 萃取物、葫蘆巴 (*fenugreek*) 萃取物、乳清萃取物 (以上，參照專利文獻 1)、紅芒柄花 (*Ononis spinosa*) 萃取物、黃苜蓿 (*Medicago falcata*) 萃取物、豆芽萃取物、紅豆 (*Vigna angularis*) 萃取物 (以上，參照專利文獻 2)、大豆萃取物 (參照專利文獻 3) 等。又，正嘗試自天然物萃取具有透明質酸產生促進作用的物質 (參照非專利文獻 3)。

另一方面，炎性反應 (*inflammatory*) 疾病，例如，接觸性皮膚炎 (出疹)、乾癬、尋常性天疱瘡 (*pemphigus vulgaris*)、其他伴隨粗糙皮膚的各種皮膚疾病等的原因及發病機制為各式各樣。就此原因而言，已知係來自透明質酸酶活性。

於活體組織保持親和性的透明質酸鹽係於含水系中經由紫外線、酵素等而被分解，伴隨分子量的降低亦減少保水效果。又，透明質酸係存在於細胞間組織，亦與血管透過性有關。再者，一般認為透明質酸酶於肥大細胞（mast cells）中經由活性化，與自肥大細胞之脫顆粒有關。因此，藉由抑制透明質酸之水解酵素的透明質酸酶活性，祈求透明質酸之安定化，防止自肥大細胞之組織胺等化學媒介物的釋放，可期待保濕之強化及抗炎症。

作為具有如此透明質酸酶活性抑制作用的草本藥（herbal medicine）而言，已報告例如，金錦香屬（*Osbeckia*）植物之萃取物（參照專利文獻 4）、藤茶萃取物（參照專利文獻 5）、迷迭香萃取物、百里香（*thyme*）萃取物及山薄荷屬（*Melissa*）萃取物（參照專利文獻 6）等。

又，表皮經由角化細胞之分裂及之後的分化，經常地產生新的角質細胞，而具有防止皮膚免於外界各種刺激的防禦機能。尤其，於角化細胞之分化過程，自有棘層至顆粒層，內皮蛋白（*involucrin*）等之蛋白質會表現，藉由酵素麩醯胺轉移酶-1 之作用而被交聯，形成包埋角化細胞的不溶性細胞膜樣構造體的角質化包膜（*cornified envelope*（CE）），而賦予角質細胞之細胞骨格及構造的安定性。

然而，因各式各樣的因素，表皮中的麩醯胺轉移酶-1 之產生量減少，角質化包膜（CE）形成會成為不完全的狀態，角化變的不能正常地進行。其結果，一般認為會變成

呈現如角質障壁機能降低及皮膚保濕機能降低、粗糙皮膚或乾燥肌膚等之皮膚症狀。

由於如此情形，一般認為藉由提高角化細胞之表皮中的麩醯胺轉移酶-1 之產生，促進角質化包膜之形成而將角化正常化，可抑制伴隨乾燥或紫外線等之外部刺激之皮膚障壁機能的降低，可預防及改善肌膚乾燥或粗糙皮膚等各式各樣的皮膚症狀。

於皮膚之黑色素亦有達成保護身體免於紫外線傷害的任務，但過度生成或不均一的蓄積則成為皮膚的黑化甚至斑點之原因。一般而言，係經由色素細胞中所生合成的酵素酪胺酸酶 (tyrosinase) 之作用，而由酪胺酸變成 dopa (二羥基苯丙胺酸)、由 dopa 變成多巴醌 (dopaquinone)，其次，經由 5,6-二羥基靛酚 (indophenol) 等之中間體而形成黑色素。因此，為了預防及改善皮膚之顏色變黑 (皮膚色素沈著症)，即為了美白而抑制黑色素之產生、或將已經產生的黑色素淡色漂白一般認為係有效的。由於如此之背景，抑制黑色素產生而導致美白效果的物質之開發變的如此盛行。

毛髮之成長係依由成長期、退行期、休止期而成的週期的毛髮週期 (hair cycle) 而重複進行成長及脫落。此毛髮週期中，由休止期到成長期之新毛包形成的階段，一般認為係成長毛髮中最重要者。而，負責此階段中的毛包上皮系細胞之增殖及分化上重要任務者，一般認為係毛乳頭細胞。毛乳頭細胞係位於毛根附近由外毛根鞘細胞及基質

細胞所構成的毛包上皮系細胞之內側中，位於包埋於基底膜的毛根之根幹部分的細胞，助長毛包上皮系細胞而促進其增殖等，於毛髮之分化上負責重要的任務（參照非專利文獻 4）。

另一方面，已有報告含有鳳梨果實榨汁液或鳳梨果實萃取物作為美白、美肌成分的皮膚外用劑（參照專利文獻 7）。

然而，於安全性及生產性優異之可日常攝取且為便宜，同時具有優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用、表皮透明質酸產生促進作用、透明質酸酶活性抑制作用、麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、黑色素產生抑制作用、及毛乳頭細胞增殖促進作用之至少任一者的天然系之各種製劑的需要者之祈盼極微強烈，又不能提供可充分滿足之物係為現狀。

[先前技術文獻]

專利文獻

PTL1 特開 2003-137767 號公報

PTL2 特開 2003-137768 號公報

PTL3 特開 2004-217618 號公報

PTL4 特開 2003-055242 號公報

PTL5 特開 2003-012532 號公報

PTL6 特開平 8-333267 號公報

PTL7 特開 2002-275081 號公報

非專利文獻

NPL1 Marinkovich MP et al., J. Cell. Biol. 1992 199 :
695-703

NPL2 Lavker et al., J. Invest. Dermatol. 1979 73 :
59-66

NPL3 「Fragrance Journal」 1992 年、No.11, p43

NPL4 「Trends Genet」, 1992 年, 第 8 卷, p.56-61

【發明內容】

發明摘要

技術問題

本發明係以解決向來之前述諸問題，達成以下目的為課題。即，本發明係以提供安全性及生產性優異的可日常攝取、且便宜，同時具有優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用、表皮透明質酸產生促進作用、透明質酸酶活性抑制作用、麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、黑色素產生抑制作用、及毛乳頭細胞增殖促進作用之至少任一者的不含有糖之鳳梨萃取物、及其製造方法為目的。

又，本發明係以提供具有優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用、安全性高的層黏連蛋白-5 產生促進劑為目的。又，本發明係以提供具有優異的表皮透明質酸產生促進作用、安全性高的表皮透明質酸產生促進劑為目的。又，本發明係以提供具有優異的透明質酸酶活性抑制作用、安全性高的透明質酸酶活性抑制劑為目的。又，本發明係以提供具有優異的麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、安全性高的麩醯

胺轉移酶-1 產生促進劑為目的。又，本發明係以提供具有優異的黑色素產生抑制作用、安全性高的黑色素產生抑制劑為目的。又，本發明係以提供具有優異的毛乳頭細胞增殖作用、安全性高的毛乳頭細胞增殖促進劑為目的。又，本發明係以提供一種特徵為含有前述不含有糖之鳳梨萃取物的飲食品、皮膚外用劑、及毛髮生長劑為目的。

解決問題之手段

為了解決前述課題，本發明者們專心檢討的結果，獲得如以下的見解。即，發現藉由溶劑萃取鳳梨之可食部而獲得的鳳梨萃取物具有優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用、表皮透明質酸產生促進作用、透明質酸酶活性抑制作用、麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、黑色素產生抑制作用、及毛乳頭細胞增殖促進作用，故前述鳳梨萃取物適合作為層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑、以及飲食品、皮膚外用劑、及毛髮生長劑之用途。

本發明係本發明者們基於前述見解，就作為用以解決前述課題的手段而言，有如以下各點。即，

<1> 一種不含有糖之鳳梨萃取物，其特徵為其係藉由溶劑萃取鳳梨之可食部而獲得，且不含有葡萄糖及果糖。

<2> 如前述<1>記載之不含有糖之鳳梨萃取物，其係藉由溶劑萃取鳳梨可食部之壓搾後的殘渣而獲得。

<3> 如前述<1>至<2>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物，其中溶劑為70體積%~100體積%之乙醇水溶液。

<4> 一種不含有糖之鳳梨萃取物之製造方法，其特徵為藉由溶劑萃取鳳梨可食部，除去葡萄糖及果糖。

<5> 如前述<4>記載之不含有糖之鳳梨萃取物之製造方法，其係藉由溶劑萃取鳳梨可食部之壓搾後的殘渣。

<6> 如前述<4>至<5>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物之製造方法，其中溶劑為70體積%~100體積%之乙醇水溶液。

<7> 一種層黏連蛋白-5產生促進劑，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

<8> 一種表皮透明質酸產生促進劑，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

<9> 一種透明質酸酶活性抑制劑，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

<10> 一種麩醯胺轉移酶-1產生促進劑，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

<11> 一種黑色素產生抑制劑，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

<12> 一種毛乳頭細胞增殖促進劑，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

<13> 一種飲食品，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

<14> 一種皮膚外用劑，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

<15> 一種毛髮生長劑，其特徵為含有如前述<1>至<3>中任一項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

發明之優異效果

依據本發明之不含有糖之鳳梨萃取物、及其製造方法，可提供安全性及生產性優異之可日常攝取、且便宜的同時，提供具有優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用、表皮透明質酸產生促進作用、透明質酸酶活性抑制作用、麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、黑色素產生抑制作用、及毛乳頭細胞增殖促進作用之至少任一者之不含有糖之鳳梨萃取物、及其製造方法。

依據本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑，可提供解決向來之諸問題，且具有優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用、安全性高的層黏連蛋白-5 產生促進劑。

依據本發明之表皮透明質酸產生促進劑，可提供解決向來之諸問題，且具有優異的表皮透明質酸產生促進作用、安全性高的表皮透明質酸產生促進劑。

依據本發明之透明質酸酶活性抑制劑，可提供解決向

來之諸問題，且具有優異的透明質酸酶活性抑制作用、安全性高的透明質酸酶活性抑制劑。

依據本發明之麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑，可提供解決向來之諸問題，且具有優異的麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、安全性高的麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑。

依據本發明之黑色素產生抑制劑，可提供解決向來之諸問題，且具有優異的黑色素產生抑制作用、安全性高的黑色素產生抑制劑。

依據本發明之毛乳頭細胞增殖促進劑，可提供解決向來之諸問題，且具有優異的黑毛乳頭細胞增殖作用、安全性高的毛乳頭細胞增殖促進劑。

【實施方式】

具體例之說明

(鳳梨)

鳳梨 (Pinnacle) 係屬於鳳梨科鳳梨屬之多年生植物，學名為：Ananas comosus (L.) Merr. 或 Ananas sativus Schult，於中國亦稱為鳳梨。果實為大角形且多肉、黃色且成熟放出芳香味，可作為食用物來使用。鳳梨的產地主要為美國、菲律賓、馬來西亞、巴西、澳洲等，但於獲得用於本發明的萃取物上並未特別限定其種類或產地。

(不含有糖之鳳梨萃取物糖、及不含有鳳梨萃取物之製造方法)

本發明之不含有糖之鳳梨萃取物可藉由溶劑自作為萃

取原料之鳳梨之可食部萃取而獲得。該不含有糖之鳳梨萃取物以不含葡萄糖及果糖為必要。

本發明之不含有糖之鳳梨萃取物之製造方法係包含藉由溶劑萃取鳳梨可食部，而去除葡萄糖及果糖，更因應必要包含適宜選擇的其他步驟。

就前述不含有糖之鳳梨萃取物之萃取原料而言，只要為果肉、果芯部（芯）等之鳳梨可食部即可，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇，但鳳梨可食部壓搾後之殘渣，即，採取鳳梨果汁後殘留的纖維質（鳳梨肉質部（pulp））為特佳。

前述萃取原料係使用採取果汁後洗淨、乾燥、粉碎者為較佳。其中，乾燥可使用日光來進行，亦可使用通常使用的乾燥機來進行。

前述不含有糖之鳳梨萃取物可經由將前述鳳梨可食部投入前述溶劑中，於室溫至溶劑沸點以下的溫度，使用任意裝置來萃取而容易地獲得。

就前述溶劑而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇，例如，可舉例甲醇、乙醇、丙醇、異丙醇等之碳數1~5的低級脂肪族醇；丙酮、甲基乙基酮等之低級脂肪族酮；1,3-丁二醇、丙二醇、甘油等之碳數2~5的多價醇；己烷；低級脂肪族醇、低級脂肪族酮、多價醇等之親水性有機溶劑與水之混合溶劑等。此等中，以親水性有機溶劑與水之混合溶劑為較佳。就前述親水性有機溶劑而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇，但甲醇、乙醇、丙醇、

1,3-丁二醇、甘油、丙二醇等為較佳，乙醇為更佳。

於水與親水性有機溶劑之混合溶劑，使用低級醇作為前述親水性有機溶劑的情形，就前述低級脂肪族醇之於前述混合溶劑的含量而言，10 體積%~100 體積%為較佳，70 體積%~100 體積%為更佳，90 體積%為特佳。使用低級脂肪族酮作為前述親水性有機溶劑的情形，就前述低級脂肪族酮之於前述混合溶劑的含量而言，10 體積%~80 體積%為較佳。使用多價醇作為前述親水性有機溶劑的情形，就前述多價醇之於前述混合溶劑中的含量而言，10 體積%~90 體積%為較佳。

就前述不含有糖之鳳梨萃取物之萃取方法而言，只要使前述鳳梨可食部中所含的脂溶性成分於前述溶劑溶出為可能即可，並未特別限定，可依據常法進行。又，萃取處理之際，採用特殊的萃取方法並非必要，可於室溫至回流加熱下使用任意之裝置。

具體而言，就前述不含有糖之鳳梨萃取物之萃取方法而言，例如，可舉例於注滿乙醇水溶液等之前述溶劑的處理槽中，投入壓搾鳳梨可食部後之殘渣（鳳梨肉質部）等之前述萃取原料，因應必要一邊適當攪拌，一邊以回流萃取器於 80°C 加熱萃取 2 小時，加熱時過濾而將脂溶性成分溶出後，使用蒸發器（evaporator），減壓下濃縮，再進行相同的過濾處理，獲得的中間萃取物以水洗淨，經由去除葡萄糖及果糖等之糖質，而獲得作為目的物之不含有糖之鳳梨萃取物的方法。

此時，萃取條件因應前述萃取原料等可適當調整，但前述萃取溶劑量，相對於作為前述萃取原料之鳳梨可食部，以 5 倍量~20 倍量（質量比）為較佳，萃取時間係 1 小時~3 小時為較佳，萃取溫度係常溫~95°C 為較佳。

又，獲得的前述不含有糖之鳳梨萃取物，為了獲得前述不含有糖之鳳梨萃取物之稀釋物、濃縮物、乾燥物、粗純化物、純化物等，依據通常方法亦可施予稀釋、濃縮、乾燥、純化等之處理。

又，獲得的前述不含有糖之鳳梨萃取物，亦可直接使用作為層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、毛乳頭細胞增殖促進劑之任一者，於容易利用的點，以前述濃縮液、前述乾燥物為較佳。於獲得前述乾燥物時，為了改善吸濕性，亦可添加糊精（dextrin）、環糊精（cyclodextrin）等之載劑（carrier）。

<<不含有之成分>>

於本發明，「不含有糖」之「糖」係意指葡萄糖及果糖。又，「不含有」、「不含有糖」、「去除糖」係意指各糖之相對於前述不含有糖之鳳梨萃取物的含量為 0.5 質量%以下，但 0.2 質量%以下為較佳。

前述葡萄糖及果糖之含量，例如，可使用葡萄糖/果糖分析套組（F-套組（葡萄糖/果糖），J.K. International 股份有限公司製），依據套組所附的說明書來測量。又，就被驗試料而言，可使用將前述不含有糖之鳳梨萃取物溶解於 50

體積%乙醇水溶液中成為樣品濃度為 5 體積%者。

(層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、毛乳頭細胞增殖促進劑)

本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑係含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成，更因應必要為含有其他成分而成。

本發明之表皮透明質酸產生促進劑係含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成，更因應必要為含有其他成分而成。

本發明之透明質酸酶活性抑制劑係含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成，更因應必要含有其他成分而成。

本發明之麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑係含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成，更因應必要含有其他成分而成。

本發明之黑色素產生抑制劑係含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成，更因應必要含有其他成分而成。

本發明之毛乳頭細胞增殖促進劑係含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成，更因應必要含有其他成分而成。

本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑係可僅含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成者，亦可含有其他成分。

就前述層黏連蛋白-5 產生促進劑中之前述不含有糖之鳳梨萃取物之含量而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇。

本發明之表皮透明質酸產生促進劑係可僅含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成，亦可含有其他成分。

就前述表皮透明質酸產生促進劑中之前述不含有糖之

鳳梨萃取物之含量而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇。

本發明之透明質酸酶活性抑制劑係可僅含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成，亦可含有其他成分。

就前述透明質酸酶活性抑制劑中之前述不含有糖之鳳梨萃取物之含量而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇。

本發明之麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑係可僅含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成者，亦可含有其他成分。

就前述麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑中之前述不含有糖之鳳梨萃取物之含量而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇。

本發明之黑色素產生抑制劑係可僅含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成者，亦可含有其他成分。

就前述黑色素產生抑制劑中之前述不含有糖之鳳梨萃取物之含量而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇。

本發明之毛乳頭細胞增殖促進劑係可僅含有前述不含有糖之鳳梨萃取物而成者，亦可含有其他成分。

就前述毛乳頭細胞增殖促進劑中之前述不含有糖之鳳梨萃取物之含量而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇。

< 其他成分 >

前述不含有糖之鳳梨萃取物係可使用糊精、環糊精等之藥學上可容許的載劑之外的其他任意輔助劑，依據通常

方法，製劑化成粉末狀、顆粒狀、錠劑狀、液狀等之任意劑型來提供，除了可摻合於其他組成物（例如，經口醫藥品等）來使用之外，可作為軟膏劑、外用液劑、貼附劑等來使用。此時，就輔助劑而言，例如，可使用賦形劑、結合劑、崩壞劑、潤滑劑、安定劑、矯味劑、矯臭劑等。

就前述賦形劑而言，例如，可舉例乳糖、白糖、氯化鈉、葡萄糖、澱粉、碳酸鈣、高嶺土、微結晶纖維素、矽酸等。又，就前述結合劑而言，例如，可舉例水、乙醇、丙醇、單糖漿、葡萄糖液、澱粉液、明膠液、羧基甲基纖維素、羥基丙基纖維素、羥基丙基澱粉、甲基纖維素、乙基纖維素、蟲膠（shellac）、磷酸鈣、聚乙烯吡咯啉酮（polyvinyl pyrrolidone）等。就前述崩壞劑而言，例如，可舉例乾燥澱粉、藻酸鈉、瓊脂末、碳酸氫鈉、碳酸鈣、月桂基硫酸鈉、硬脂酸單甘油酯、乳糖等。就前述潤滑劑而言，例如，可舉例純化滑石、硬脂酸鹽、硼砂、聚乙二醇等。就前述安定化劑而言，例如，可舉例焦亞硫酸鈉（sodium pyrosulfite）、EDTA、巯乙酸（thioglycolic acid）、硫乳酸等。就前述矯味劑及矯臭劑而言，例如，可舉例白糖、橙皮、檸檬酸、酒石酸等。

又，本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑，因應必要，可與具有層黏連蛋白-5 產生促進作用、表皮透明質酸產生促進作用、透明質酸酶活性抑制作用、麩

醯胺轉移酶-1 產生促進作用、黑色素產生抑制作用、及毛乳頭細胞增殖促進作用任一者之其他天然萃取物等一起摻合使用。

前述層黏連蛋白-5 產生促進劑藉由含有作為有效成分之前述不含有糖之鳳梨萃取物之作用，而發揮層黏連蛋白-5 產生促進作用。

前述表皮透明質酸產生促進劑藉由含有作為有效成分之前述不含有糖之鳳梨萃取物之作用，而發揮表皮透明質酸產生促進作用。

前述透明質酸酶活性抑制劑藉由含有作為有效成分之前述不含有糖之鳳梨萃取物之作用，而發揮透明質酸酶活性抑制作用。

前述麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑藉由含有作為有效成分之前述不含有糖之鳳梨萃取物之作用，而發揮麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用。

前述黑色素產生抑制劑藉由含有作為有效成分之前述不含有糖之鳳梨萃取物之作用，而發揮黑色素產生抑制作用。

前述毛乳頭細胞增殖促進劑藉由含有作為有效成分之前述不含有糖之鳳梨萃取物之作用，而發揮毛乳頭細胞增殖促進作用。

以本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑，經由優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用，例如，促進皮膚之基底膜形成，使預防及改善皺紋、彈力性的降低等皮膚老化症狀成為可

能。惟，本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑除了此等用途以外，可使用於具有發揮層黏連蛋白-5 產生促進作用的意義的全部用途。

以本發明之表皮透明質酸產生促進劑，經由優異的表皮透明質酸產生促進作用，例如，使保濕力、彈力性提升，使預防及改善粗糙皮膚、皺紋、彈力性的降低等皮膚老化症狀成為可能。惟，本發明之表皮透明質酸產生促進劑除了此等用途以外，可使用於具有發揮表皮透明質酸產生促進作用的意義的全部用途。

以本發明之透明質酸酶活性抑制劑，經由優異的透明質酸酶活性抑制作用，例如，使抑制透明質酸之分解、促進組織胺游離、圖謀保濕之強化、預防及改善炎症或過敏成為可能。惟，本發明之透明質酸酶活性抑制劑除了此等用途以外，可使用於具有發揮透明質酸酶活性抑制作用的意義的全部用途。

以本發明之麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑，經由優異的麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用，例如，使皮膚表皮之障壁機能提升、粗糙皮膚紋理的消失、預防及改善彈力性的降低等之老化症狀成為可能。惟，本發明之麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑除了此等用途以外，可使用於具有發揮麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用的意義的全部用途。

以本發明之黑色素產生抑制劑，經由優異的黑色素產生抑制作用，例如，保護皮膚免於紫外線傷害、預防及改善皮膚之黑化、斑點等之老化症狀成為可能。惟，本發明

之黑色素產生抑制劑除了此等用途以外，可使用於具有發揮黑色素產生抑制作用的意義的全部用途。

以本發明之毛乳頭細胞增殖促進劑，經由優異的毛乳頭細胞增殖促進作用，例如，促進毛包上皮系細胞之增殖及毛髮之分化、預防及改善細毛化成為可能。惟，本發明之毛乳頭細胞增殖促進劑除了此等用途以外，可使用於具有發揮毛乳頭細胞增殖促進作用的意義的全部用途。

本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑具有優異的作用，同時係由可食用的鳳梨所獲得的萃取物，安全性為優異，故適合摻合於飲食品、皮膚外用劑、及毛髮生長劑。

又，本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑因具有優異的作用，故可適當地利用作為層黏連蛋白-5、表皮透明質酸、透明質酸酶、麩醯胺轉移酶-1、及毛乳頭細胞之研究用的試藥；透明質酸酶、層黏連蛋白-5、表皮透明質酸、麩醯胺轉移酶-1、黑色素、及毛乳頭細胞有關的機能及疾病之研究用的試藥。

又，本發明之層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進

劑可適當地適用於人類，但只要能發揮各別作用效果，亦可使用於人類以外之動物。

(飲食品)

本發明之飲食品係含有本發明之不含有糖之鳳梨萃取物、以及層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑之至少任一者而成，更因應必要含有其他成分而成。

前述飲食品係可將前述不含有糖之鳳梨萃取物摻合於不妨礙其活性的任意飲食品，亦可為將前述不含有糖之鳳梨萃取物作為主成分的飲食品。又，前述飲食品可為前述不含有糖之鳳梨萃取物者。

前述飲食品對人類健康的危害的疑慮少，於通常之社會生活中，所謂經口或經消化道投與所攝取者，並未受限於行政區分上之食品、醫藥品、醫藥外用品等之區分，例如，意指包含經口攝取的一般食品、健康食品、保健機能食品、美容用食品、醫藥外用品、醫藥品等廣範圍者。

又，本發明之飲食品經由形態加工成飲料、硬膠囊、軟膠囊、顆粒等之形狀，而可簡便地飲食，有可能利用於廣範圍。

就前述飲食品而言，並未特別限制，可因應目的適當地選定，例如，清涼飲料、碳酸飲料、營養飲料、果實飲料、乳酸飲料等之飲料（包含此等飲料之濃縮液及調整用粉末）；冰淇淋、冰果汁粉（sherbet）、刨冰等之冷甜點；

蕎麥麵、烏龍麵、空心麵、餃子皮、燒賣的皮、中華麵、泡麵等之麵類；糖、糖果、口香糖、巧克力、錠果、日式點心、餅乾、果膠、果凍、乳霜、烤餅乾、麵包等之點心類；螃蟹、鮭魚、蛤、鮪魚、沙丁魚、蝦、飛魚、鯖魚、鯨魚、牡蠣、秋刀魚、烏賊、赤貝、扇貝、鮑魚、海膽、魚子醬、日本鮑等之水產物；魚板、火腿、香腸等之水產·畜產加工食品；加工乳、發酵乳等之乳製品；沙拉油、天婦羅油、人造奶油（margarine）、蛋黃醬（mayonnaise）、油酥（shortening）、發泡用生奶（whipping cream）、調味醬（dressing）等之油脂及油脂加工食品；調味汁、燒烤醬等之調味料；咖喱、燉物、親子丼、粥、什錦粥、中華丼、豬肉丼、天丼、鰻魚丼、牛肉燴飯、御田燒、麻婆豆腐、牛丼、肉醬、蛋花湯、蛋包飯、餃子、燒賣、漢堡、肉丸等之料理包（retort pouch）食品；沙拉、漬物等之副食（惣菜）；各種形態之健康·美容·營養補充食品；錠劑、顆粒劑、膠囊劑、飲料劑、含錠劑（troche）等之醫藥品、醫藥外用品等。又，前述飲食品並未限定於上述例示者。

就前述飲食品中的前述不含有糖之鳳梨萃取物、層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑之任一者的含量而言，係因應添加的飲食品而不同，無法一概而全地規定，但錠劑、膠囊劑等之情形，換算為前述不含有糖之鳳梨萃取物之量以 1 質量%~90 質量%為較佳，其他飲食品中，換

算中為前述不含有糖之鳳梨萃取物之量以 0.001 質量%~50 質量%為較佳。又，考慮添加對象飲食品的一般的攝取量，成人每一日之前述不含有糖之鳳梨萃取物之攝取量調製為約 1mg~1,000mg 左右者為較佳。

就前述其他成分而言，可舉例於製造前述飲食品時通常使用的輔助原料、添加物等。

就前述輔助原料及添加物而言，並未特別限制，可因應目的適宜選擇，例如，可舉例葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、山梨糖醇、蛇菊苷(stevioside)、甜茶苷(rubusoside)、玉米糖漿、乳糖、檸檬酸、酒石酸、蘋果酸、琥珀酸、乳酸、L-抗壞血酸、dl- α -生育酚、異抗壞血酸鈉(sodium erythorbate)、甘油、丙二醇、甘油脂肪酸酯、聚甘油脂肪酸酯、蔗糖脂肪酸酯、山梨糖醇酐脂肪酸酯(sorbitan fatty acid ester)、阿拉伯膠(Arabic gum)、角叉菜聚糖(carrageenan)、酪蛋白(casein)、明膠、果膠(pectin)、瓊脂、維生素B類、煙鹼酸醯胺、泛酸鈣、胺基酸類、鈣鹽類、色素、香料、保存劑等。

本發明之飲食品可日常性地經口攝取，藉由為有效成分的前述鳳梨萃取物之作用，可極為有效果地達成透明質酸酶活性抑制作用、層黏連蛋白-5 產生促進作用、表皮透明質酸產生促進作用、麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、及毛乳頭細胞增殖促進作用之至少任一者。

又，本發明之飲食品對於人類為適合使用者，但只要能產生各別作用效果，亦可適用於人類以外之動物。

(皮膚外用劑)

本發明之皮膚外用劑係含有本發明之不含有糖之鳳梨萃取物、以及層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑之任一者而成，更因應必要含有其他成分而成。

其中，前述皮膚外用劑係意指使用於皮膚的各種藥劑，就其區分而言並未特別限制，例如，包含廣範圍之皮膚化粧品、醫藥外用品、醫藥品等。

前述皮膚外用劑係於不妨礙其活性下，可將前述不含有糖之鳳梨萃取物摻合於任意之皮膚外用劑，亦可為將前述不含有糖之鳳梨萃取物作為主成分的皮膚外用劑。又，前述皮膚外用劑亦可為前述不含有糖之鳳梨萃取物。

就前述皮膚外用劑而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇，例如，可舉例軟膏、霜劑、乳液、美容液、洗液、面膜、粉底、唇膏、入浴劑、生髮劑 (hair tonic)、護髮液 (hair lotion)、肥皂、沐浴乳等。

就前述其他成分而言，並未特別限制，可因應目的而適宜選擇製造皮膚外用劑時通常使用的成分，例如，可舉例收斂劑、殺菌、抗菌劑、美白劑、紫外線吸收劑、保濕劑、細胞賦活劑、抗老化劑、消炎、抗過敏劑、抗氧化劑、活性氧去除劑、油脂類、蠟類、碳化氫類、脂肪酸類、醇類、酯類、界面活性劑、香料等。

就前述皮膚外用劑中之前述不含有糖之鳳梨萃取物、

層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑之任一者之含量而言，並未特別限制，可因應皮膚外用劑之種類等加以適當選擇，例如，換算為前述不含有糖之鳳梨萃取物之量，以 0.0001 質量%~10 質量%為較佳，0.001 質量%~5 質量%為更佳。

(毛髮生長劑)

本發明之毛髮生長劑係含有本發明之不含有糖之鳳梨萃取物、以及層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑之任一者而成，更因應必要含有其他成分而成。

前述毛髮生長劑係於不妨礙其活性下，可將前述不含有糖之鳳梨萃取物摻合於任意之毛髮生長劑，亦可為將前述不含有糖之鳳梨萃取物作為主成分的毛髮生長劑。又，前述毛髮生長劑亦可為前述不含有糖之鳳梨萃取物。

以本發明之毛髮生長劑，經由優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用、表皮透明質酸產生促進作用、透明質酸酶活性抑制作用、麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、黑色素產生抑制作用、及毛乳頭細胞增殖促進作用等，例如，促進乳頭細胞及毛包上皮系細胞之增殖、毛髮之分化等，可適當利用於用以預防及改善細毛化、脫毛等。

又，本說明書中的「毛髮生長劑」係意指具有使毛髮

發育、促進毛髮發育、保持毛髮之健康狀態、預防脫毛及使脫毛減少之任一種效果的藥劑，亦包含「養毛劑」。因此，本發明之毛髮生長劑亦可較佳作為養毛劑使用。

本發明之毛髮生長劑因具有優異的作用，同時適用於皮膚的情形之使用感及安全性優異，故摻合於頭髮用毛髮生長劑、頭髮化粧料等之皮膚外用劑為適合的。就前述皮膚外用劑之投與部位而言，例如，頭髮、頭髮之毛根、頭皮、頭皮之皮脂腺等之頭部為較佳。就前述皮膚外用劑之劑型而言，例如，可舉例軟膏、霜劑、洗液、凝膠、溶膠(sol)、噴霧劑、溶液等。就頭髮化粧料而言，例如，可舉例生髮劑(hair tonic)、保髮液(hair liquid)、洗髮精、髮油(hair oil)、潤絲精等。

就前述毛髮生長劑中的前述不含有糖之鳳梨萃取物、層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑之任一者的含量而言，並未特別限制，可因應毛髮生長劑之種類等加以適當選擇，但例如，換算前述不含有糖之鳳梨萃取物之量，以 0.0001 質量%~10 質量%為較佳，0.001 質量%~5 質量%為更佳。

實施例

以下，呈示製造例及試驗例以更具體地說明本發明，但本發明並未受限於此等。

(製造例 1：不含有糖之鳳梨萃取物之製造)

將 100g 鳳梨可食部之壓搾後殘渣（鳳梨肉質部）加入至 1,000ml 之 90 體積%的乙醇中，以回流萃取器於 80℃ 加熱萃取 2 小時，加熱時過濾。之後，使用蒸發器於減壓下濃縮，再進行相同之過濾處理。於獲得的殘渣，以 500ml 之水洗淨，獲得去除糖質的糊狀之不含糖之鳳梨萃取物 1.5g。萃取物之產率為 1.5（質量%）。

於獲得的不含糖之鳳梨萃取物進行如以下之成分分析。

將前述不含糖之鳳梨萃取物溶解於 50 體積%的乙醇成為樣品濃度 20 體積%者作為被驗試料使用，藉由葡萄糖/果糖分析套組（F-套組（葡萄糖/果糖），J.K. International 股份有限公司製）測量葡萄糖及果糖之含量。測量結果得知前述不含糖之鳳梨萃取物含有 0.03 質量%之葡萄糖、0.01 質量%之果糖。

將於上述之製造例 1 獲得的不含糖之鳳梨萃取物作為被驗試料使用，如以下之試驗例 1~6 所示，進行關於不含糖之鳳梨萃取物的美肌、美白及毛髮生長的評價。

又，作為對照鳳梨萃取物，使用將 100%鳳梨果汁（市售鳳梨搾汁物）200ml，使用蒸發器於減壓下濃縮，進行冷凍乾燥而獲得的 26.3g 之鳳梨搾汁冷凍乾燥物。於該鳳梨搾汁冷凍乾燥物 0.413g/L，與前述不含糖之鳳梨萃取物同樣地測量葡萄糖及果糖之含量的結果，得知該鳳梨搾汁冷凍乾燥物含有 29.1 質量%之葡萄糖、26.6 質量%之果糖。

（試驗例 1：層黏連蛋白-5 產生促進作用試驗）

< 試驗方法 >

將人類正常新生兒皮膚表皮角化細胞 (NHEK, 倉敷紡績股份有限公司製), 使用人類正常新生兒表皮角化細胞用培養基 (KGM, 倉敷紡績股份有限公司製) 來培養後, 經由胰蛋白酶 (trypsin) 處理將細胞回收。以無添加 BPE 之 KGM (KGM-BPE, 倉敷紡績股份有限公司製) 稀釋回收的細胞成為 1×10^5 個細胞/mL 之濃度後, 於 24 孔盤中每 1 孔各接種 $500 \mu\text{L}$, 培養 2 日。培養終了後, 取出培養基, 於各孔中添加 $500 \mu\text{L}$ 以 KGM-BPE 溶解的被驗試料, 培養 48 小時。培養終了後, 將上清液 $100 \mu\text{L}$ 移至 ELISA 平盤, 於 37°C 2 小時使吸附於平盤後, 去除溶液, 以含 0.05 體積% 之 Tween 20 的磷酸生理緩衝液 (0.05%PBS-T, pH7.4) 進行洗淨。

之後, 以含 1 體積%牛血清白蛋白的磷酸生理緩衝液 (pH7.4), 進行封阻 (blocking) 操作。去除溶液, 以 0.05%PBS-T 進行洗淨, 使與抗人層黏連蛋白-5 抗體 (小鼠 IgG, 日本ケミコン股份有限公司製) 反應。去除溶液, 以 0.05%PBS-T 進行洗淨, 進行呈色反應。由獲得的測量結果, 自下述式算出層黏連蛋白-5 產生促進率 (%)。

層黏連蛋白-5 產生促進作用之計算方法如下。結果示於表 1。

層黏連蛋白-5 產生促進率 (%) = $A/B \times 100$. . . 式(1)

[惟, 前述式 (1) 中, A、B 各別表示

A: 被驗試料添加時之波長 405nm 中的吸光度

B：無添加被驗試料時（對照組）之波長 405nm 中的吸光度]。

[表 1]

濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	層黏連蛋白-5 產生促進率(%)	
	不含有糖之鳳梨萃取物	鳳梨榨汁冷凍乾燥物
2.5	114.3 \pm 3.3**	91.3 \pm 5.8
10	121.3 \pm 3.0**	88.7 \pm 2.2
平均 \pm S.E., n=4, **:p<0.01		

由表 1 之結果，認為不含有糖之鳳梨萃取物有濃度依存的層黏連蛋白-5 產生促進作用。

（試驗例 2：表皮透明質酸產生促進作用試驗）

<試驗方法>

將人類正常新生兒皮膚表皮角化細胞（NHEK）使用人類正常新生兒表皮角化細胞用培養基（KGM）培養後，經由胰蛋白酶處理將細胞回收。回收的細胞以 KGM 稀釋為 1×10^5 個細胞/mL 之濃度後，於 96 孔盤中每 1 孔各接種 100 μL ，培養 24 小時。培養終了後，添加 100 μL 以 KGM 溶解的被驗試料於各孔中，培養 7 日。培養後，各孔之培養基中的透明質酸量使用透明質酸結合蛋白質（HABP，生化學 Biobusiness 股份有限公司製）的三明治法加以測量。

透明質酸產生促進作用之計算方法如下。結果示於表 2。

每 1 孔之透明質酸產生促進率 (%) = $A/B \times 100 \dots$
式 (2)

[惟，前述式(2)中，A、B表示

A：被驗試料添加時之透明質酸量

B：無添加被驗試料時之透明質酸量]。

[表 2]

濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	表皮透明質酸產生促進率(%)	
	不含有糖之鳳梨萃取物	鳳梨榨汁冷凍乾燥物
25	108.5 \pm 1.3**	78.8 \pm 4.4
100	149.7 \pm 2.1***	79.6 \pm 4.6
平均 \pm S.E., n=5, **:p<0.01, ***:p<0.001		

由表 2 之結果，認為不含有糖之鳳梨萃取物具有意義的表皮透明質酸產生促進作用。

(試驗例 3：透明質酸酶活性抑制作用試驗)

<試驗方法>

於 0.2mL 溶解被驗試料的 0.1mol/L 乙酸緩衝液 (pH3.5) 中添加 0.1mL 透明質酸酶溶液 (Type IV-S (來自牛睪丸)、400 NF 單位/mL; Sigma-Aldrich Japan 製)，於 37°C 反應 20 分鐘。再者，添加 0.2mL 作為活性化劑之 2.5mmol/L 氯化鈣，於 37°C 反應 20 分鐘。於其中添加 0.5mL 之 0.4mg/mL 透明質酸鈉溶液 (來自禽雞冠的透明質酸鈉，和光純藥工業股份有限公司製)，並於 37°C 反應 40 分鐘。之後，添加 0.4mol/L 氫氧化鈉 0.2mL，終止反應並冷卻後，於各反應溶液中添加硼酸溶液 0.2mL，煮沸 3 分鐘。冰冷後，添加 p-DABA 試藥 (p-二甲基胺基苯甲醛，和光純藥工業股份有限公司製) 6mL，於 37°C 反應 20 分鐘。之後，

測量波長 585nm 中的吸光度。以同樣方法進行空白試驗加以修正。

透明質酸酶活性抑制作用之計算方法如下。結果示於表 3。

$$\text{透明質酸酶活性抑制率 (\%)} = \{ 1 - (\text{St} - \text{Sb}) / (\text{Ct} - \text{Cb}) \} \times 100 \quad \cdot \cdot \cdot \text{式 (3)}$$

[惟，前述式 (3) 中，St、Sb、Ct 及 Cb 各別表示

St：被驗試料溶液之波長 585nm 中的吸光度

Sb：被驗試料溶液空白組之波長 585nm 中的吸光度

Ct：對照組溶液之波長 585nm 中的吸光度

Cb：對照組溶液空白組之波長 585nm 中的吸光度]。

[表 3]

濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	透明質酸酶活性抑制率(%)	
	不含有糖之鳳梨萃取物	鳳梨榨汁冷凍乾燥物
400	27.6	-22.6

由表 3 之結果認為不含有糖之鳳梨萃取物有透明質酸酶活性抑制作用。又，於鳳梨榨汁之乾燥物，相反地，認為有促進透明質酸酶活性的作用。

(試驗例 4：麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用試驗)

<試驗方法>

將人類正常新生兒皮膚表皮角化細胞 (NHEK) 使用人類正常新生兒表皮角化細胞用培養基 (KGM) 培養後，經由胰蛋白酶處理將細胞回收。回收的細胞以 KGM 稀釋為 1×10^5 個細胞/mL 之濃度後，於 96 孔盤中每 1 孔各接種

100 μ L，培養 2 日。培養終了後，添加 100 μ L 以 KGM 溶解的被驗試料於各孔中，培養 24 小時。培養後，除去培養基，使用單株抗人類麩醯胺轉移酶-1 抗體（Anti-Keratinocyte Transglutaminase，Biomedical Technologies. Inc 製），藉由 ELISA 法來測量細胞固定於平盤的細胞表面上所表現的麩醯胺轉移酶-1 之量。

麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用之計算方法如下。結果示於表 4。

$$\text{麩醯胺轉移酶-1 產生促進率 (\%)} = A/B \times 100 \dots \text{式 (4)}$$

[惟，前述式 (4) 中，A、B 各別表示

A：被驗試料添加時之波長 405nm 中的吸光度

B：無添加被驗試料時（對照組）之波長 405nm 中的吸光度]。

[表 4]

濃度 (μ g/mL)	麩醯胺轉移酶-1 產生促進率(%)	
	不含有糖之鳳梨萃取物	鳳梨榨汁冷凍乾燥物
50	122.2 \pm 2.8***	99.5 \pm 1.0
平均 \pm S.E., n=6, ***:p<0.001		

由表 4 之結果認為不含有糖之鳳梨萃取物具有意義的麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用。

（試驗例 5：黑色素產生抑制作用試驗）

<試驗方法>

將 B16 黑色素瘤細胞使用含有 10 體積%FBS（標準胎

牛血清 (STANDARD FETAL BOVINE SERUM), HyClone 製) 之 Dulbecco's MEM (Dulbecco's modified Eagle 培養基 (1), 日水製藥股份有限公司製) 培養後, 經由胰蛋白酶處理將細胞回收。回收的細胞以含有 10 體積%FBS 及 1mmol/L 茶鹼 (Theophylline, 和光純藥工業股份有限公司製) 的 Dulbecco's MEM 稀釋為 24.0×10^4 個細胞/mL 之濃度後, 於 48 孔盤中每 1 孔各接種 300 μ L, 培養 6 小時。培養終了後, 將 300 μ L 以含有 10 體積%FBS 及 1mmol/L 茶鹼的 Dulbecco's MEM 溶解的被驗試料添加於各孔, 培養 4 日。培養終了後, 自各孔除去培養基, 添加 2mol/L 之 NaOH 溶液 200 μ L, 經由超音波破碎器將細胞破壞, 測量於波長 475nm 中的吸光度, 作為黑色素產生量。

又, 為了測量細胞生存率, 同樣地於培養後, 以 400 μ L 之 PBS (-) 磷酸生理緩衝液洗淨, 於各孔中添加以終濃度 0.05mg/mL 溶解於含有 10 體積%FBS 的 Dulbecco's MEM 的 13.8mmol/L 中性紅 (neutral red) 200 μ L。培養 2.5 小時後, 捨去中性紅溶液, 於各孔中添加 200 μ L 之乙醇·乙酸溶液 (乙醇: 乙酸: 水 = 50: 1: 49), 萃取色素。萃取後, 測量於波長 540nm 中的吸光度。

作為空白試驗, 以同樣之方法試驗僅含有 10 體積%FBS 及 1mmol/L 茶鹼的 Dulbecco's MEM 培養的細胞。

黑色素產生抑制作用之計算方法如下。結果示於表 5。

黑色素產生抑制率 (%) =

$$\{1 - (B/D) / (A/C)\} \times 100 \quad \cdot \cdot \cdot \text{式 (5)}$$

[惟，前述式(5)中，A、B、C及D各別表示

A：未添加被驗試料的細胞於波長 475nm 中的吸光度

B：添加被驗試料的細胞於波長 475nm 中的吸光度

C：未添加被驗試料的細胞於波長 540nm 中的吸光度

D：添加被驗試料的細胞於波長 540nm 中的吸光度]。

[表 5]

濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	黑色素產生抑制率(%)	
	不含有糖之鳳梨萃取物	鳳梨榨汁冷凍乾燥物
12.5	14.2 \pm 1.4	6.5 \pm 0.5
25	13.8 \pm 1.3	8.8 \pm 4.6
50	20.4 \pm 1.6	11.6 \pm 1.8
100	23.0 \pm 1.6	15.4 \pm 2.8

由表 5 之結果，認為不含有糖之鳳梨萃取物較成為對照的鳳梨榨汁冷凍乾燥物有更強、且濃度依存的黑色素產生抑制作用。

(試驗例 6：毛乳頭細胞增殖促進作用試驗)

<試驗方法>

將正常人類頭髮毛乳頭細胞(東洋紡績股份有限公司製)使用毛乳頭細胞增殖培養基(東洋紡績股份有限公司製)培養後，經由胰蛋白酶處理將細胞回收。回收的細胞使用含有 10 體積%FBS 的 Dulbecco's MEM (Dulbecco's modified Eagle 培養基(1)，日水製藥股份有限公司製)稀釋為 1.0×10^4 個細胞/mL 之濃度後，於塗布膠原纖維的 96 孔平盤中每孔接種 200 μL ，並培養 3 日。培養後，移除培

養基，於各孔中添加溶解於無血清 DMEM (Dulbecco's modified Eagle 培養基 (1)，日水製藥股份有限公司製) 的被驗試料 200 μ L，再培養 4 日。毛乳頭細胞增殖作用係使用 MTT 分析來測量。培養終了後，移除培養基，於各孔中添加以終濃度 0.4mg/mL 之溶解於無血清之 DMEM 的溴化 3-(4,5-二甲基-噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑鎊 (MTT，同仁化學研究所股份有限公司製) 100 μ L。培養 2 小時後，以 2-丙醇 100 μ L 萃取於細胞內生成的藍色甲月替 (formazan)。萃取後，測量於波長 570nm 的吸光度 (OD570)。同時測量作為濁度之波長 650nm 中的吸光度 (OD650)，取兩者的差作為藍色甲月替生成量。

毛乳頭細胞增殖促進作用之計算方法如下。結果示於表 6。

$$\text{毛乳頭細胞增殖促進率 (\%)} = A/B \times 100 \dots \text{式 (6)}$$

[惟，前述式 (6) 中，A 及 B 分別表示

A：被驗試料添加時之 OD570-OD650

B：無添加被驗試料時之 OD570-OD650]

[表 6]

濃度 (μ g/mL)	毛乳頭細胞增殖促進率(%)	
	不含有糖之鳳梨萃取物	鳳梨榨汁冷凍乾燥物
25	114.3 \pm 1.1***	99.0 \pm 1.8
平均 \pm S.E., n=6, ***:p<0.001		

由表 6 之結果，確認僅不含有糖之鳳梨萃取物具有意義的毛乳頭細胞增殖促進作用。

產業可利用性

本發明之不含有糖之鳳梨萃取物、層黏連蛋白-5 產生促進劑、表皮透明質酸產生促進劑、透明質酸酶活性抑制劑、麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑、黑色素產生抑制劑、及毛乳頭細胞增殖促進劑因安全性及生產性優異且可日常攝取，且為便宜，同時具有優異的層黏連蛋白-5 產生促進作用、表皮透明質酸產生促進作用、透明質酸酶活性抑制作用、麩醯胺轉移酶-1 產生促進作用、黑色素產生抑制作用、及毛乳頭細胞增殖促進作用之至少任一種作用，故可摻合於美容用飲食品、摻合於皮膚外用劑、及摻合於毛髮生長劑、可適合利用作為研究用之試藥。

【圖式簡單說明】

無。

【主要元件符號說明】

無。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100139351

A61K 8/97 (2006.01)

※申請日：100.10.28

※IPC 分類：

A61P 17/16 (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

不含有糖之鳳梨萃取物、及其製造方法、以及其用途 /
SUGAR-FREE PINEAPPLE EXTRACT, METHOD FOR
PRODUCING THE EXTRACT, AND APPLICATION OF
THE EXTRACT

二、中文發明摘要：

本發明係一種藉由溶劑萃取鳳梨之可食部而獲得之
不含有葡萄糖及果糖的不含有糖之鳳梨萃取物。

三、英文發明摘要：

無。

七、申請專利範圍：

1. 一種不含有糖之鳳梨萃取物，其特徵為藉由溶劑萃取鳳梨之可食部而獲得，且不含有葡萄糖及果糖。
2. 如申請專利範圍第 1 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物，其係藉由溶劑萃取鳳梨可食部之壓搾後的殘渣而獲得。
3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物，其中溶劑為 70 體積%~100 體積%之乙醇水溶液。
4. 一種不含有糖之鳳梨萃取物之製造方法，其特徵為藉由溶劑萃取鳳梨可食部，除去葡萄糖及果糖。
5. 如申請專利範圍第 4 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物之製造方法，其係藉由溶劑萃取鳳梨可食部之壓搾後的殘渣。
6. 如申請專利範圍第 4 或 5 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物之製造方法，其中溶劑為 70 體積%~100 體積%之乙醇水溶液。
7. 一種層黏連蛋白-5 產生促進劑，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。
8. 一種表皮透明質酸產生促進劑，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。
9. 一種透明質酸酶活性抑制劑，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。
10. 一種麩醯胺轉移酶-1 產生促進劑，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。
11. 一種黑色素產生抑制劑，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含有糖之鳳梨萃取物。

12. 一種毛乳頭細胞增殖促進劑，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含糖之鳳梨萃取物。
13. 一種飲食品，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含糖之鳳梨萃取物。
14. 一種皮膚外用劑，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含糖之鳳梨萃取物。
15. 一種毛髮生長劑，其特徵為含有如申請專利範圍第 1 或 2 項記載之不含糖之鳳梨萃取物。

四、指定代表圖：

(一) 本案指定代表圖為：無。

(二) 本代表圖之元件符號簡單說明：

無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。