(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2017-122131
(P2017-122131A)
(43)公開日　平成29年7月13日(2017.7.13)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 8/60	***(2006.01)***	A61K	8/60	4C083
A61Q 7/02	***(2006.01)***	A61Q	7/02	4C086
A61K 31/7076	***(2006.01)***	A61K	31/7076	
A61P 17/00	***(2006.01)***	A61P	17/00	

審査請求 有　請求項の数 2　ＯＬ　（全 9 頁）

(21)出願番号　特願2017-81137(P2017-81137)
(22)出願日　平成29年4月17日(2017.4.17)
(62)分割の表示　特願2012-205939(P2012-205939)の分割
原出願日　平成24年9月19日(2012.9.19)

(71)出願人　000000918
花王株式会社
東京都中央区日本橋茅場町１丁目１４番１０号
(74)代理人　110000084
特許業務法人アルガ特許事務所
(72)発明者　伊藤　紀子
栃木県芳賀郡市貝町赤羽２６０６　花王株式会社研究所内
(72)発明者　長澤　安曇
栃木県芳賀郡市貝町赤羽２６０６　花王株式会社研究所内
(72)発明者　小池　謙造
東京都墨田区文花２－１－３　花王株式会社研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抑毛剤

(57)【要約】
【課題】優れた抑毛作用を有し、且つ安全性の高い医薬品又は医薬部外品を提供する。
【解決手段】コルジセピンを有効成分として含有する抑毛剤。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
コルジセピンを有効成分として含有する抑毛剤。
【請求項２】
請求項１記載の抑毛剤を含有する外用剤。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、抑毛剤に関する。
【背景技術】
【０００２】
頭髪や体毛は、生物学的には頭部、胸部、手足等の重要な器官を防護するものである。近年、特に手足、腋、顔等における体毛は、美的外観上好ましくないとする傾向が高まっている。
【０００３】
体毛を除去する方法としては、シェーバー、脱毛器等を用いる機械的除去方法、脱毛剤や除毛剤を用いた化学的作用による除去方法が挙げられる。しかしながら、これらの体毛除去方法は、皮膚に対して物理的又は化学的刺激を伴う場合があり、また体毛の成長や発毛を抑制するものではなく抑毛作用という点では未だ不十分であり、一定期間経過後には再び体毛除去処理を行わなければならず、体毛除去処理の軽減化が望まれている。
【０００４】
一方、コルジセピンは、抗ガン、抗菌（整腸）、抗ウイルス、抗炎症等の薬理作用を有することが知られている（特許文献１～５、非特許文献１～３）。
しかしながら、コルジセピンと抑毛活性との関係については知られていなかった。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００５】
【特許文献１】特開２００３－１１６５２２号公報
【特許文献２】特開平０７－２２４０５３号公報
【特許文献３】特開２００９－３４０４５号公報
【特許文献４】特表２０１０－５０３７２９号公報
【特許文献５】特開２００９－８４２４８号公報
【非特許文献】
【０００６】
【非特許文献１】Cancer Res. 21, 216-220, 1961
【非特許文献２】International Immunopharmacology 10, 1580-1586,2010
【非特許文献３】European Journal of Pharmacology 597, 64-69, 2008
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００７】
本発明は、優れた抑毛作用を有し、且つ安全性の高い医薬品又は医薬部外品等を提供することに関する。
【課題を解決するための手段】
【０００８】
本発明者らは、上記事情に鑑みて鋭意研究を行った結果、コルジセピンに毛成長を抑制する作用があることを見出し、本発明を完成した。
すなわち、本発明は、コルジセピンを有効成分として含有する抑毛剤に係るものである。
【発明の効果】
【０００９】

本発明の抑毛剤は、優れた抑毛作用を有することから、抑毛効果を発揮し得る医薬品、医薬部外品及び化粧料、或いはこれらへ配合するための素材又は製剤として有用である。

【図面の簡単な説明】

【００１０】

【図１】ブタの毛包器官を培養して伸長量を測定した結果を示す図である。

【図２】培養日数によるブタの毛包器官の伸長を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【００１１】

本明細書において、「非治療的」とは、医療行為、すなわち治療による人体への処理行為を含まない概念である。

【００１２】

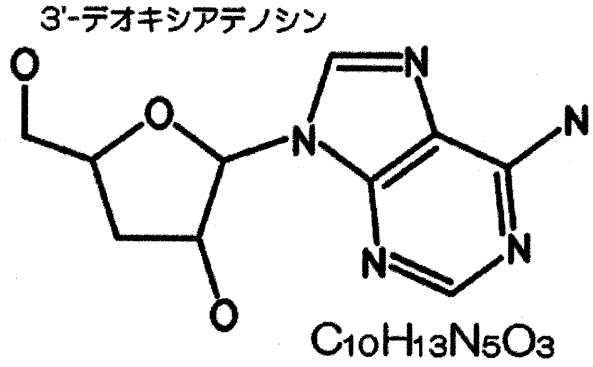
本明細書において、「抑毛」とは、毛成長抑制作用をいい、特に毛又は毛包の伸長を抑制する作用、あるいは毛径を減少させる作用をいう。

【００１３】

本発明の抑毛剤の有効成分としてのコルジセピンは、下記の化学式で示す３’－デオキシアデノシンである。

【００１４】

【化１】



【００１５】

コルジセピンは、例えば冬虫夏草属（Cordyceps)のCordyceps sinensis（冬虫夏草）、Cordyceps militaris（サナギタケ）、Cordyceps sobolifera（セミタケ）、Cordyceps japonensis（アリタケ）から、既知の方法により抽出、精製することにより得ることができる。コルジセピンを効率よく製造する方法として、特に限定するものではないが、例えば冬虫夏草属菌糸体に高エネルギーイオンビームを照射し、該照射処理をした菌糸体から親株と菌学的性質の異なる菌株を選抜して得られた冬虫夏草の突然変異株の培養方法を用いることができる（特開２００９－３４０４５号公報参照）。また、ろ過滅菌した培養液を用いて冬虫夏草を培養し、培養液中に高濃度でコルジセピンを産生させて、得られた培養液から培養上清を分離し、晶析により、高純度かつ高回収率でコルジセピンを分離精製して製造することができる（特願２０１１－２６２９９５号明細書参照）。

【００１６】

上記冬虫夏草は、野生株の冬虫夏草であっても、人工栽培されている冬虫夏草であってもコルジセピンを産生するものであれば、特に限定されない。好ましくは、産生したコルジセピンを菌体外に排出するものがよい。例えば、コルジセプス属のCordyceps militaris NBRC 9787、Cordyceps militaris NBRC 30377、Cordyceps militaris ATCC 26848、Cordyceps militaris ATCC 34164、Cordyceps militaris ATCC 34165等が適している。「親株と菌学的性質の異なる菌株」としては、８－アザアデニン、８－アザグアニン等のアデニン及び／又はグアニンのアナログ存在下で生存可能な菌株が、高いコルジセピン産生性を有する可能性があるため、好ましく選抜することができる。コルジセピン高産生株として、コルジセピン産生量が親株の１．３倍以上のものを用いることが好ましく、１．５倍以上のものを用いることがより好ましい。

【００１７】
後記実施例に示す通り本発明の抑毛剤の有効成分としてのコルジセピンは、ブタ毛包器官培養を用いた評価系において、抑毛に有効であると考えられる。
【００１８】
本発明に係る抑毛剤の毛成長抑制作用の評価方法としては、例えば、特開２００９－１３９３５３号公報に記載されるブタ毛包器官培養評価方法が挙げられる。
【００１９】
ブタ毛包器官培養評価方法による毛成長抑制作用の評価では、先ずブタの皮膚から採取した毛包を培養する。次いで、適当な長さまで伸びた毛を有する毛包を、抑毛剤の存在下で培養する。陰性対照の毛包（例えば抑毛剤非存在下で培養したもの）と比較して、抑毛剤存在下で培養した毛包において、有意な毛成長抑制（又は毛伸長抑制）が認められた場合には、抑毛剤は毛成長抑制作用について良好であると判断することができる。
【００２０】
従って、上記コルジセピンは、抑毛のために、それを必要とする対象に有効量で使用することができる。当該使用は、ヒト若しくは非ヒト動物、又はそれらに由来する検体における使用であり得、また治療的使用であっても非治療的使用であってもよい。
【００２１】
すなわち、上記コルジセピンは、抑毛剤として使用することができ、更に抑毛剤を製造するために使用することができる。このとき、当該抑毛剤には、上記コルジセピンを単独で、又はこれ以外に、必要に応じて適宜選択した担体等の、配合すべき後述の対象物において許容されるものを使用してもよい。なお、当該製剤は配合すべき対象物に応じて常法により製造することができる。
【００２２】
当該抑毛剤は、それ自体、抑毛の効果を発揮する、ヒト若しくは動物用の医薬品、医薬部外品又は化粧料であってもよく、又は当該医薬品、医薬部外品又は化粧料等に配合して使用される素材又は製剤であってもよい。
【００２３】
ここで、上記医薬品（医薬部外品も含む）の剤型は、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、静脈内注射剤、筋肉注射剤、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、点眼剤、点鼻剤、貼布剤、バップ剤、軟膏、ローション、クリーム等のいずれかでもよい。投与形態も、経口投与、非経口投与（外用、注射）のいずれであってもよい。
【００２４】
このような種々の剤型の医薬製剤を調製するには、当該コルジセピンを単独で含有していてもよく、又は薬学的に許容される成分と組み合わせて含有していてもよい。斯かる成分としては、例えば、賦形剤、結合剤、増量剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、分散剤、緩衝剤、保存剤、嬌味剤、色素、香料、被膜剤、担体、希釈剤、浸透圧調整剤、ｐＨ調整剤、乳化剤、乳化安定剤、防腐剤、安定剤、酸化防止剤、着色剤、紫外線吸収剤、保湿剤、増粘剤、活性増強剤、抗炎症剤、殺菌剤、矯味剤、矯臭剤等を適宜組み合わせて用いることができる。
【００２５】
これらの投与形態のうち、好ましい形態は非経口投与であり、その目的や適用対象又は部位によって、経皮投与、局所皮内投与、全身投与等から選択することができる。好ましい投与量及び摂取量は、対象の種、体重、性別、年齢、状態又はその他の要因に従って変動し得る。投与の用量、経路、間隔、及び摂取の量や間隔は、当業者によって適宜決定され得る。
【００２６】
上記製剤中の上記コルジセピンの含有量は、抑毛作用を十分に発揮し得る量であれば特に限定されるものではないが、脱毛効果、経済性等の観点から、一般的に固形分換算で好ましくは０．０００００１質量％以上、より好ましくは０．０００１質量％以上である。そして、好ましくは１０質量％以下、より好ましくは１質量％以下である。また、好ましく

は０．００００１～１０質量％、より好ましくは０．０００１～１質量％である。
【００２７】
上記医薬品等の投与量又は摂取量は、対象者の状態、体重、性別、年齢又はその他の要因に従って変動し得るが、非経口投与の場合成人１人当たり、上記コルジセピンは固形分換算で、１日あたり好ましくは０．０１ｍｇ／ｋｇ以上、特に好ましくは０．１ｍｇ／ｋｇ以上である。そして好ましくは１００ｍｇ／ｋｇ以下、特に好ましくは１０ｍｇ／ｋｇ以下である。また好ましくは０．０１～１００ｍｇ／ｋｇ、特に好ましくは０．１～１０ｍｇ／ｋｇである。
【００２８】
上記化粧料（医薬部外品も含む）は、皮膚外用剤、洗浄剤、入浴剤、又はメイクアップ化粧料等とすることができ、使用方法に応じて、美容液、化粧水、マッサージ剤、ローション、乳液、ゲル、クリーム、軟膏剤、パウダー、スプレー、スティック、懸濁液、フォーム、ジェル、パック、シート、パッチ、ケーキ、シート状製品等の種々の剤型で提供することができる。このような種々の剤型の化粧料は、上記コルジセピンを単独で含有していてもよく、又は化粧料として許容される成分と組み合わせて含有していてもよい。皮膚化粧料に配合され得る、油性成分、保湿剤、粉体、色素、乳化剤、可溶化剤、洗浄剤、紫外線吸収剤、増粘剤、薬剤（例えば、抗炎症剤、殺菌剤、酸化防止剤、ビタミン類、脂肪代謝促進作用又は脱共役蛋白質発現促進作用が知られている薬物或いは天然物）、香料、樹脂、防菌防黴剤、植物抽出物、アルコール類、キレート類、無機酸、有機酸、ビタミン類、水溶性高分子、界面活性剤等を適宜組み合わせることにより調製することができる。
【００２９】
当該化粧料の全量中の、上記コルジセピンの含有量は固形分換算で、通常好ましくは０．０００１質量％以上、より好ましくは０．００１質量％以上、更に好ましくは０．０１質量％以上である。そして好ましくは２０質量％以下、より好ましくは１０質量％以下、更に好ましくは５質量％以下である。また好ましくは０．０００１～２０質量％、より好ましくは０．００１～１０質量％、更に好ましくは０．０１～５質量％である。
【００３０】
上述した実施形態に関し、本発明においては以下の態様が開示される。
＜１＞コルジセピンを有効成分として含有する抑毛剤。
＜２＞抑毛剤を製造するための、コルジセピンの使用。
＜３＞抑毛剤に使用するための、コルジセピン。
＜４＞コルジセピンを、ヒト若しくは動物に投与又は摂取する抑毛方法。
【実施例】
【００３１】
製造例：冬虫夏草変異体の液体表面培養によるコルジセピンの調製
Cordyceps militaris NBRC 9787の突然変異体Ｇ８１－３（産総研特許生物寄託センター　受託番号：ＦＥＲＭ　Ｐ－２１３１５）をポテトデキストロース寒天プレート上にて、２５℃、１３日間前培養し、種菌とした。表１に示す組成の本培養培地１００ｍＬを、メンブランフィルター（「Ａ０２０Ａ０４７Ａ」、ＡＤＶＡＮＴＥＣ社製、孔径０．２μｍ）を用いてろ過滅菌した後、静置培養用の容器（容量５００ｍＬ）に入れ、次に、前培養により３．５～４．５ｃｍに成長した種菌の菌蓋を滅菌済み円筒形カッター（１ｃｍ）でくり抜き、本培養培地に浮かべ、静置培養を行った。
【００３２】

【表１】

成　　分	含有量(g/L)
グルコース	表2に示す量
酵母エキス	表2に示す量
クエン酸三ナトリウム二水和物	0.28
硝酸アンモニウム	0.2
リン酸二水素カリウム	0.5
硫酸マグネシウム七水和物	0.02
塩化カルシウム二水和物	0.01
クエン酸	4.6×10^{-3}
硫酸亜鉛七水和物	5.0×10^{-4}
硫酸アンモニウム鉄(Ⅱ)六水和物	1.0×10^{-4}
硫酸銅五水和物	2.5×10^{-5}
硫酸マンガン四～五水和物	5.0×10^{-5}
ホウ酸	5.0×10^{-5}
モリブデン酸ナトリウム二水和物	5.0×10^{-5}

【００３３】

培養液を経時的にサンプリングし、孔径０．４５μｍのメンブランフィルター（「Ａ０４５Ａ０４７Ａ」、ＡＤＶＡＮＴＥＣ社製）でろ過し、ろ液のコルジセピン濃度をＨＰＬＣにより測定した。コルジセピン濃度が最大値に達したことを確認した後、本培養を終了し、培地より菌体を遠心分離（１５０００×ｇ、２０分間）により除去した後、培地をＡＤＶＡＮＴＥＣ　Ｎｏ．５Ａろ紙でろ過し培養上清を分離回収した。

【００３４】

ここでＨＰＬＣの測定条件は以下の通りである。

カラム：東ソー製ＴＳＫ－ＧＥＬ　ＯＤＳ－８０Ｔｓ（４．６ｍｍ　ＩＤ×２５．０ｃｍ）

移動相：メタノール：０．１容量％リン酸＝２：９８（容量比）

カラム温度：４０℃

流速：１．０ｍＬ／ｍｉｎ

注入量：２０μＬ

ピーク検出：ＵＶ検出器（２６０ｎｍ）

【００３５】

上記製造例において、最大コルジセピン産生量（ｇ／Ｌ－培地）と、最大産生量に到達するまでの培養期間を、表２に示す。

【００３６】

【表２】

滅菌法	グルコース濃度(g/L)	酵母エキス濃度(g/L)	最大コルジセピン濃度(g/L)	培養期間(日)
ろ過	86.2	93.8	10.53	29

【００３７】

精製例：ｐＨ変化による晶析を利用したコルジセピンの精製

上記製造例により得られた培養上清を凍結乾燥し、得られた乾燥品８．６８ｇ（コルジセピン含有量１．９１ｇ）に５Ｎ塩酸水溶液を少しずつ添加し、温度を２５℃に保ちながら６９ｇ／Ｌのコルジセピン溶液を調製した。この溶液のｐＨは２．７であった。この溶液を９１００×ｇで２０分間遠心分離し、若干含まれている不溶成分を取り除いた。得られた上清の温度を２５℃に保ちながら、５Ｎ水酸化ナトリウム水溶液を加えてｐＨを５．

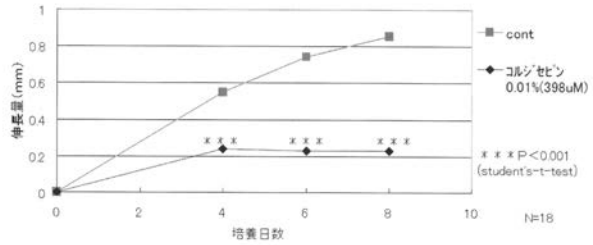
３に調整したところ、多量の沈殿が生成した。この沈殿をＡＤＶＡＮＴＥＣ　Ｎｏ．５Ａろ紙を用いて回収し、氷冷水を用いて洗浄した後、凍結乾燥し、１．３６ｇの精製品を得た。最終的なコルジセピンの純度と回収率を、表３に示す。ｐＨ変化による晶析により、純度９９％以上のコルジセピンを７０質量％以上の高い収率で回収できることが確認した。

【００３８】
【表３】

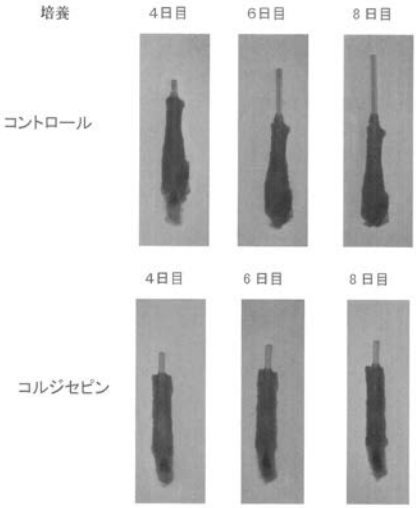
仕込み濃度(g/L)	仕込み量(g)	回収量(g)	収率(%)	純度(%)
69.0	1.91	1.36	71	99.1

【００３９】
毛包の単離
豚皮は、日本で食肉用ブタとして飼育されている白色毛を有する雑種のブタから得られた皮膚を用い、適当な大きさに切り分け、余分な脂肪を切り取り、無菌下で、ヒビテン液（５％ヒビテン液（住友製薬）を水で５～２０倍に希釈）に５分～１０分浸し、消毒を行い、次に、Ｄ－ＰＢＳで数回洗浄を行った。
【００４０】
次に、処理した豚皮より実体顕微鏡下においてピンセットとメス（ＦＥＡＴＨＥＲ　Ｎｏ１０）を用い、毛包を単離し培地中に集めた。培地は、ＲＰＭＩ１６４０培地（Ｇｉｂｃｏ　ｃａｔ．Ｎｏ．１１８３５－０３０）、Ｗｉｌｌａｍ’ｓ　Ｅ培地（Ｇｉｂｃｏ　ｃａｔ．Ｎｏ．１２５５１－０３２）及びＤＭＥＭ／ＨａｍＦ１２（１：１）培地（Ｇｉｂｃｏ　ｃａｔ．Ｎｏ．１１０３９－０２１）を用いた。
【００４１】
毛成長調節剤の評価
上記方法でブタの臀部の毛包を得た。培地は、Ｗｉｌｌｉａｍ‘ｓ　Ｍｅｄｉｕｍ　Ｅ培地（ＳＩＧＭＡ）を使用した。この培地には、添加剤としてＬ－グルタミン（ＧＩＢＣＯ　２５０３）２ｍＭと抗生物質（ＧＩＢＫＯ　１５２４０）１（Ｖ／Ｖ）％、ハイドロコルチゾン（ＳＩＧＭＡ）１０μｇ／ｍＬ、インスリン（ＳＩＧＭＡ）０，０１μｇ／ｍＬを使用した。
【００４２】
上記培地に、上記方法で得たコルジセピンを、培地中の最終濃度が０．０１（Ｗ／Ｖ）％（３９８μＭ）になるように調製した。なおコントロールとして、５０（Ｖ／Ｖ）％エタノール溶液を用いた。
３７℃、５％ＣＯ２インキュベーター中で８日間培養を行った。１日、又は２日置きに培地の交換を行い、培養８日後の毛の伸長量を測定しコントロールと比較した。
毛包の成長量の評価は、１日、又は２日置きに培地の交換を行い、培養６日後の毛の伸長量をコントロールと比較した。
【００４３】
毛の伸長量の測定は、培養を開始した日を０日目とし、０、４、８日目に実態顕微鏡画像をＣＣＤカメラ（pixera model.No.PVC 100C）で撮影し、その画像から毛球部基底部から毛幹先端までの長さ変化を測定することによって行った。その結果を図１、２に示す。
【００４４】
図１、２より、コルジセピンは高い抑毛効果が認められた。

【図１】


伸長量(mm)
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
2
4
6
8
10
培養日数
cont
コルジセピン
0.01%(398uM)
＊＊＊P<0.001
(student's-t-test)
N=18

【図２】


培養
4日目
6日目
8日目
コントロール
4日目
6日目
8日目
コルジセピン

フロントページの続き

(72)発明者　櫻井　明彦
福井県福井市文京３丁目９番１号　国立大学法人福井大学内

Ｆターム(参考) 4C083 AD391 AD392 CC31 EE21
4C086 AA02 EA18 MA01 MA04 NA14 ZA92