

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成25年3月14日(2013.3.14)

【公開番号】特開2011-195493(P2011-195493A)

【公開日】平成23年10月6日(2011.10.6)

【年通号数】公開・登録公報2011-040

【出願番号】特願2010-63455(P2010-63455)

【国際特許分類】

A 6 1 K 8/97 (2006.01)

A 6 1 Q 19/00 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 8/97

A 6 1 Q 19/00

【手続補正書】

【提出日】平成25年1月29日(2013.1.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

トクサ科トクサ属に属する植物より得られる抽出物よりなる、ヒアルロン酸産生促進因子。

【請求項2】

前記トクサ科トクサ属に属する植物が、トクサ科トクサ属スギナであることを特徴とする、請求項1に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

【請求項3】

前記ヒアルロン酸産生促進作用が、表皮又は表皮を介する真皮におけるヒアルロン酸産生促進作用であることを特徴とする、請求項1又は2に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

【請求項4】

前記ヒアルロン酸産生促進作用が、総ヒアルロン酸産生量及び/又はヒアルロン酸合成酵素(HAS)の遺伝子発現量の変化による特徴とする、請求項1~3の何れか一項に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

【請求項5】

前記ヒアルロン酸産生促進因子により産生されるヒアルロン酸が、高分子ヒアルロン酸であることを特徴とする、請求項1~4の何れか一項に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

【請求項6】

前記ヒアルロン酸合成酵素の遺伝子発現量の変化が、ヒアルロン酸合成酵素2(HAS2)mRNAの発現量の変化であることを特徴とする、請求項4又は5に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

【請求項7】

請求項1~6に記載のヒアルロン酸産生促進因子を含有することを特徴とする、皮膚外用剤。

【請求項8】

請求項1~6に記載のヒアルロン酸産生促進因子を、皮膚外用剤全量に対し0.000

0 0 1 質量%～20質量%含有することを特徴とする、請求項7に記載の皮膚外用剤。

【請求項9】

油中水乳化剤形に好ましい成分を含有し、油中水乳化剤形であることを特徴とする、請求項7又は8に記載の皮膚外用剤。

【請求項10】

老化防止又は改善用、又は、シワ予防又は改善用であることを特徴とする、請求項7～9の何れか一項に記載の皮膚外用剤。

【請求項11】

化粧料（但し、医薬部外品を含む）であることを特徴とする、請求項7～10の何れか一項に記載の皮膚外用剤。

【請求項12】

更に、老化防止成分乃至は改善成分を含んでも良い形態において、老化防止又は改善作用、シワ形成の予防又は改善作用に優れる成分を含有することを特徴とする、請求項7～11の何れか一項に記載の皮膚外用剤。

【請求項13】

老化防止又は改善用、シワ改善用の化粧料（但し、医薬部外品を含む）の製造方法であって、トクサ科トクサ属に属する植物より得られる抽出物の表皮又は表皮を介する真皮における高分子ヒアルロン酸産生促進作用を計測し、これらの度合いの大小を指標として、それらの作用が大きいものを選択し化粧料に配合することを特徴とする、化粧料の製造方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0003

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0003】

ヒアルロン酸は、皮膚（表皮及び真皮）、軟骨、関節液などに存在する高分子多糖類であり、全体の約50%が皮膚に存在する。ヒアルロン酸は、優れた保水力を有し、皮膚組織等においては、細胞外空間の構造維持、細胞への栄養供給物の拡散と老廃物の排出、さらには、細胞表面レセプターと相互作用し細胞分化などのシグナル伝達物質として働くことが知られている。また、ヒアルロン酸は、皮膚の弾力性又は粘弾性、保水性に深く関係し、加齢と共に減少することが知られている。ヒアルロン酸の減少は、水分が足りない乾燥肌となる原因とされ、皮膚のハリが衰え、シワやたるみなどの皮膚老化現象が起こり易い肌に繋がる。このため、皮膚内における合成及び分解により制御されるヒアルロン酸量を適切に維持することにより、うるおいやハリのある肌を保つために、外部よりヒアルロン酸を補給する方法（例えば、非特許文献1を参照）、更には、ヒアルロン酸産生促進（例えば、特許文献1を参照）又は分解抑制等の様々な方法により生体内のヒアルロン酸産生量を増加させる試みがなされているが、十分な効果が得られるには至っていない。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

トクサ科トクサ属スギナより得られる植物抽出物には、真皮におけるヒアルロン酸産生促進作用（例えば、特許文献1を参照）が存することが報告されている。しかしながら、トクサ科トクサ属スギナより得られる植物抽出物に、表皮細胞におけるヒアルロン酸産生量を増加させる作用が存すること、特に、高分子ヒアルロン酸合成に関するHAS2遺伝子発現を活性化することにより高分子ヒアルロン酸産生量を増加させる作用が存することは知られていなかった。加えて、当該植物抽出物に、間接的な作用により、言い換えれば

、表皮細胞への作用により真皮中のヒアルロン酸産生量を増加させること、特に、表皮細胞への作用により真皮細胞におけるHAS 2 遺伝子発現を促進し高分子ヒアルロン酸産生量を増加させることは全く知られていなかった。このため、表皮細胞におけるHAS 2 遺伝子発現を促進させヒアルロン酸産生量を増加させる成分、表皮細胞を介した真皮細胞のHAS 2 遺伝子発現を促進させることにより真皮におけるヒアルロン酸産生を促進することが出来る成分は、新たな作用機序を有するヒアルロン酸産生を促進する因子、取り分け、高分子ヒアルロン酸産生を促進する因子として、抗老化防止又は改善剤、又は、シワ予防又は改善剤として期待することが出来る。尚、本願においては、ヒアルロン酸なる言葉は、ヒアルロン酸及び／又はその塩を示す語であり、塩も包含することを特記する。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

この様な状況に鑑みて、本発明者等は、老化防止又は改善用、シワ改善用に好適な、皮膚外用剤を求め鋭意努力を重ねた結果、従来の真皮におけるヒアルロン酸産生促進剤とは異なる表皮又は表皮を介し真皮におけるヒアルロン酸産生促進作用を有するヒアルロン酸産生促進因子を見出し、本発明を完成させるに至った。本発明は、以下に示す通りである。

<1> トクサ科トクサ属に属する植物より得られる抽出物よりなる、ヒアルロン酸産生促進因子。

<2> 前記トクサ科トクサ属に属する植物が、トクサ科トクサ属スギナであることを特徴とする、<1>に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

<3> 前記ヒアルロン酸産生促進作用が、表皮又は表皮を介する真皮におけるヒアルロン酸産生促進作用であることを特徴とする、<1>又は<2>に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

<4> 前記ヒアルロン酸産生促進作用が、総ヒアルロン酸産生量及び／又はヒアルロン酸合成酵素(HAS)の遺伝子発現量の変化によることを特徴とする、<1>～<3>の何れか一項に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

<5> 前記ヒアルロン酸産生促進因子により産生されるヒアルロン酸が、高分子ヒアルロン酸であることを特徴とする、<1>～<4>の何れか一項に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

<6> 前記ヒアルロン酸合成酵素の遺伝子発現量の変化が、ヒアルロン酸合成酵素2(HAS2)mRNAの発現量の変化であることを特徴とする、<4>又は<5>に記載のヒアルロン酸産生促進因子。

<7> <1>～<6>に記載のヒアルロン酸産生促進因子を含有することを特徴とする、皮膚外用剤。

<8> <1>～<6>に記載のヒアルロン酸産生促進因子を、皮膚外用剤全量に対し0.00001質量%～20質量%含有することを特徴とする、<7>に記載の皮膚外用剤。

<9> 油中水乳化剤形に好ましい成分を含有し、油中水乳化剤形であることを特徴とする、<7>又は<8>に記載の皮膚外用剤。

<10> 老化防止又は改善用、又は、シワ予防又は改善用であることを特徴とする、<7>～<9>の何れか一項に記載の皮膚外用剤。

<11> 化粧料(但し、医薬部外品を含む)であることを特徴とする、<7>～<10>の何れか一項に記載の皮膚外用剤。

<12> 更に、老化防止成分乃至は改善成分を含んでも良い形態において、老化防止又は改善作用、シワ形成の予防又は改善作用に優れる成分を含有することを特徴とする、<7>～<11>の何れか一項に記載の皮膚外用剤。

<13> 老化防止又は改善用、シワ改善用の化粧料(但し、医薬部外品を含む)の製造方法であって、トクサ科トクサ属に属する植物より得られる抽出物の表皮又は表皮を介する真皮における高分子ヒアルロン酸産生促進作用を計測し、これらの度合いの大小を指標として、それらの作用が大きいものを選択し化粧料に配合することを特徴とする、化粧料の製造方法。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

【図1】本発明のトクサ科トクサ属スギナより得られる植物抽出物の表皮細胞におけるヒアルロン酸産生促進作用を示す図である。

【図2】本発明のトクサ科トクサ属スギナより得られる植物抽出物の表皮細胞を介する真皮細胞におけるヒアルロン酸産生促進作用を示す図である。

【図3】本発明のトクサ科トクサ属スギナより得られる植物抽出物の表皮細胞におけるヒアルロン酸合成酵素2(HAS2)mRNA発現促進作用を示す図である。

【図4】本発明のトクサ科トクサ属スギナより得られる植物抽出物の表皮細胞を介する真皮細胞におけるヒアルロン酸合成酵素2(HAS2)mRNA発現促進作用を示す図である。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0013】

本発明のヒアルロン酸産生促進因子のヒアルロン酸産生促進作用を評価する方法としては、細胞中のヒアルロン酸、取り分け、表皮細胞又は真皮細胞における総ヒアルロン酸量を評価出来る方法であれば、特段の限定なく適応することが出来る。一般的に、生体中の微量成分の測定には、抗原抗体反応の特性を利用し、更に、放射性同位元素、結合タンパク質、或いは、酵素反応を用いた生化学的な測定方法が知られており、本発明の表皮又は真皮中におけるヒアルロン酸量の測定に付いてもこの様な生物化学的な測定方法を利用することが出来る。また、細胞中における生物化学的測定法以外のヒアルロン酸測定方法としては、高速液体クロマトグラフィーによる測定(HPLC法)、カルバゾール硫酸法等が存在するが、感度、測定の簡便性等より生物化学的な測定方法が好ましい。本発明の表皮又は真皮中のヒアルロン酸を測定する生物化学的な測定方法としては、例えば、特開2004-208693号公報に記載されている様に、低分子量化させたヒアルロン酸ナトリウムにヘモシアニン、ホスファチジルエタノールアミン又はホスファチジルセリンを導入して形成される共有結合体を動物に免疫して得られるモノクローナル抗体を用い、競合測定方法及びサンドイッチ測定法等により標識化合物を定量するヒアルロン酸量の定量方法を好適に例示することが出来る。標識化合物としては、蛍光物質、化学発光化合物等が存し、蛍光物質の場合には、適当な波長の励起光の照射により生じる蛍光量を光電子倍増管により定量することが出来るし、化学発光物質の場合には、例えば、アクリジニウムエステルのアルカリ溶液を加えることにより生じる発光量を光電子倍増管により定量することが出来る。また、標識化合物が酵素の場合には、適当な基質を反応させることにより酵素活性を吸光度(吸光度測定法)、蛍光量(蛍光量測定法)又は発光量(化学発光測定法)により測定出来る。これ以外のヒアルロン酸産生量の測定方法としては、例えば、WO2005114186号公報に記載されている様に、ヒアルロン酸バインディングプロテイン(HABP)に対するモノクローナルを予めラテックス粒子等に感作させ、そこにヒアルロン酸とHABPとの複合体を反応させ、該反応により生じた凝集物による光学的変化を測定(逆受身凝集反応法、免疫比ろう法、免疫比濁法等)し、該測定値よりヒアルロン酸量を算出する

測定方法が好適に例示出来る。勿論、標識化抗体を用いて、該標識を指標に検知することも出来る。該標識としては、ペルオキシダーゼ、蛍光標識、放射性同位元素等による標識などが好適に例示出来る。HABPとしては、プロテオグリカン、リンクプロテイン、ヒアルロン酸及びCD44(細胞膜貫通型蛋白)等の様にヒアルロン酸と結合する性質を有する蛋白質であれば、特に限定されない。また、抗HABP抗体としては、モノクローナル抗体であってもポリクローナル抗体の何れでもよいが、單一エピトープのアフィニティー精製をしたポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体が好ましく、効率よくヒアルロン酸と結合出来るモノクローナル抗体が特に好ましい。中でも、ペプシン、パパイン等の酵素を用い、適宜消化し、Fab、Fab'、(Fab')²等として用いることが好ましい。この様なヒアルロン酸産生量を測定する方法を利用した市販のヒアルロン酸測定キットとしては、例えば、ヒアルロン酸測定キット(Hyaluronan Assay Kit、生化学バイオビジネス社製)、ヒアルロン酸(HA)ELISAキット(コスモ・バイオ株式会社製)、ヒアルロン酸キット(エルピアエースHA(商標登録)、富士レビオ株式会社製)等が好適に例示出来、適宜、購入しヒアルロン酸量の測定に使用することが出来る。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0017】

前記の抽出溶媒としては、極性溶媒が好ましく、水、エタノール、イソプロピルアルコール、ブタノール等のアルコール類、1,3-ブタンジオール、ポリプロピレングリコール等の多価アルコール類、アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン等のエーテル類から選択される1種乃至は2種以上が好適に例示出来る。前記抽出溶媒の内、より好ましいものとしては、エタノール等のアルコール類又は含水アルコール類、1,3-ブタンジオール等の多価アルコール類又は含水多価アルコール類が好適に例示出来る。また、前記含水アルコール類又は多価アルコール類の含水率は、好ましくは、含水率が50%以上、さらに好ましくは、含水率が70%以上であることが好ましい。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

本発明における皮膚外用剤の作製にあたっては、前記の必須成分であるヒアルロン酸産生促進剤以外に、通常の化粧品、医薬部外品、医薬品等の製剤化において使用される任意成分を含有することが出来る。また、本発明の皮膚外用剤は、比類無き使用感の良さを有しているため、使用感が重要な化粧料に特に好適である。化粧料としては、油中水乳化剤形に応用できるものであれば、特段の限定はなく、例えば、エッセンス、乳液、クリーム等の基礎化粧料、アンダーメーカップ、ファンデーション、チークカラー、マスカラ、アイライナーなどのメーキアップ化粧料、ヘアクリームなどの毛髪化粧料などが好適に例示できる。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0024】

前記有機変性粘土鉱物に於いて、有機変性とは、粘土鉱物の一部に有機化合物の一部を

共有結合乃至はイオン結合を介して強固乃至は緩やかな結合を生ぜしめ、有機化合物の性質の一部乃至は全部を粘土鉱物に付与させることを意味し、この様な変性としては4級アミノ基と粘土鉱物のアニオン部分を結合させる方法、カルボキシル基と粘土鉱物のカチオン部分を結合させる方法等が例示でき、4級アミノ基と粘土鉱物のアニオン部分を結合させる方法が特に好ましく例示できる。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0032

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0032】

本発明の皮膚外用剤は、油中水乳化剤形の形態を取るため、油中水乳化剤形の使用感、仕上がり感の欠点を補うために、シリコーン、特に好ましくは、シクロメチコン及び/又は粘度1mPa·s以下のジメチコンを含有することが好ましく、該シリコーンの含有量としては、化粧料全量に対しては、10~50質量%含有することが好ましく、より好ましくは、20~40質量%であり、シクロメチコン及び粘度1mPa·s以下のジメチコンの含有量の和が油相全量に対して、50質量%以上、より好ましくは55質量%以上であることが好ましい。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0035

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0035】

上記以外にも、本発明の皮膚外用剤に於いては、本発明の効果を損ねない限度に於いて、通常使用される任意成分を含有することもできる。この様な任意成分としては、例えば、マカデミアナッツ油、アボカド油、トウモロコシ油、オリーブ油、ナタネ油、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；オレイン酸、イソステアリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、ベヘン酸、ウンデシレン酸等の高級脂肪酸類；セチルアルコール、ステアリルアルコール、イソステアリルアルコール、ベヘニルアルコール、オクチルドデカノール、ミリスチルアルコール、セトステアリルアルコール等の高級アルコール等；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、ジカブ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等の合成エステル油類等の油剤類；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、ラウリルアミン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、POEソルビタン脂肪酸エステル類（POEソルビタンモノオレエート、モノステアリン酸ポリオキエチレンソルビタン等）、POEソルビット脂肪酸エステル類（POE-ソルビットモノラウレート等）、POEグリセリン脂肪酸エステル類（POE-グリセリンモノイソステアレート等）、POE脂肪酸エステル類（ポリエチレングリコールモノオレート、POEジステアレート等）、POEアルキルエーテル類（POE2-オクチルドデシルエーテル等）、POEアルキルフェニルエーテル類（POEノニルフェニルエーテル等）、ブルロニック型類、POE・POPアルキルエーテル類（POE・POP2-デシルテトラデシルエーテル等）、テトロニック類、POEヒマシ油・硬化ヒマシ油誘導体（POEヒマシ油、POE硬化ヒマシ油等）、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；ポリエチレングリコール、グリセリン、エリスリトール、ソルビトール、キシリトール、マルチトール、プロピレングリコール、2,4-ヘキサンジオール等の多価アルコール類；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；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、酸化チタン、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；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)ベンゾトリニアゾール、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；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トリパルミテート、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；-トコフェロール、-トコフェロール、-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等；フェノキシエタノール等の抗菌剤などが好ましく例示できる。特に、本発明の皮膚外用剤は、抗シワ等の老化防止の目的で好適に使用されることから、シワ形成阻外、抗老化作用に優れる成分を含有することが好ましい。この様な成分としては、例えば、アスコルビン酸、アスコルビン酸誘導体乃至はその塩、アルキルレゾルシノール類、トコフェロール類、SOD等の活性酸素除去作用を有する成分、フィトステロール類、グリチルレチン酸、ウルソール酸、ベツリシン酸等のテルペン酸乃至はその誘導体、ベンゾフェノン類、アミノアルキルベンゾイックアシッドのエステル、桂皮酸エステル類等の紫外線吸収剤などが好適に例示出来る。これらの含有量は、皮膚外用剤に対し、それぞれ0.01質量%~5質量%が好適に例示出来る。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0049

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0049】

表1に記載の化粧料1の処方成分中、「ベントン38V」を「シリコーンKF6017」に置換した比較例2、「1,2-ペンタンジオール」を「ポリエチレングリコール400」に置換した比較例3を作製し、実施例7に記載の方法に従い、シワ改善テストを実施

したところ、比較例2は、シワ改善度 5.8 ± 3.5 、比較例3は、シワ改善度 4.9 ± 3.1 を示し、何れも化粧料においてもシワ改善度がほとんど認められなかった。