



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I667041 B

(45)公告日：中華民國 108 (2019) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：104115882

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 05 月 19 日

(51)Int. Cl. : A61K8/49 (2006.01)

A61K8/60 (2006.01)

A61Q19/00 (2006.01)

(30)優先權：2014/05/19 日本

2014-103299

(71)申請人：日商三得利控股股份有限公司(日本) SUNTORY HOLDINGS LIMITED (JP)
日本(72)發明人：福井祐子 FUKUI, YUKO (JP)；吉本祐子 YOSHIMOTO, YUKO (JP)；松岡龍雄
MATSUOKA, TATSUO (JP)；北川小百合 KITAGAWA, SAYURI (JP)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

JP 4877695B2

US 20120011771A1

審查人員：傅玉妃

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：2 共 68 頁

(54)名稱

玫瑰色素化合物之新穎用途

(57)摘要

本發明之課題係提供一種將藉由薔薇科之植物萃取所得之色素化合物作為有效成分之玻璃醛酸酶(Hyaluronidase)抑制劑、膠原蛋白酶(Collagenase)抑制劑、彈性蛋白酶(Elastase)抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、及膠原(Collagen)合成促進劑、以及包含該色素化合物之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品(quasi drug)。本發明係提供一種含有將玫瑰花青苷(Rosacyanin)類化合物或玫瑰飛燕草素苷(Rosadelphine)類化合物作為有效成分之玻璃醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、及膠原合成促進劑、皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品(quasi drug)。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

玫瑰色素化合物之新穎用途

【技術領域】

[0001] 本發明係關於含有藉由將具有編碼薔薇科植物，尤其是藍色系或淡紫色之玫瑰、或類黃酮 3',5'-羥化酶基因之基因的薔薇科植物所得之多酚化合物作為有效成分之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、膠原合成促進劑、皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品(quasi drug)。本發明係關於含有尤其是將玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物作為有效成分之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、膠原合成促進劑、皮膚外用劑、皮膚化妝料及準藥品(quasi drug)。

【先前技術】

[0002] 由於年齡增加或壓力等之影響，而使皮膚之新陳代謝或皮脂腺機能衰退時，皮膚變成易受到刺激的狀態。此結果，例如由於乾燥而呈現易癢的症狀。又，由於紫外線的影響導致皮膚之原纖維成分萎縮時，亦呈現會起皺紋等之症狀。

[0003] 作為皮膚之皺紋形成或皮膚之彈力性降低等

之老化原因，認為係膠原、彈力蛋白等之真皮基質之原纖維減少、改質或退縮等之各種原因。

[0004] 皮膚之真皮·表皮，係於表皮細胞、原纖維芽細胞及此等之細胞之外，藉由包含支持皮膚構造之彈力蛋白、膠原等之細胞外基質之皮膚組織所構成。年輕皮膚中，藉由此等之皮膚組織之相互作用保持恆常性，確保水分保持、柔軟性、彈力性等，肌膚外表上亦維持在張力或光澤且新鮮的狀態。然而，由於紫外線、空氣之顯著乾燥、過度之皮膚洗淨、壓力等之外在因子或年齡增加的影響，導致細胞外基質主要構成成分之彈力蛋白引起分解·變質，又膠原減少產生量，同時引起由於交聯導致的彈性降低。其結果，使皮膚降低保濕機能或彈力性，角質從開始異常剝離，肌膚失去張力或光澤，變成如呈現粗糙、皺紋、暗沉等之症狀。

[0005] 薔薇科植物種類非常多，其中已被分類為薔薇科玫瑰屬作為花卉被利用之玫瑰，其品種數可說有3000種，其中多數為交配等所作出之園藝品種。此經交配之園藝品種，作為大致分類可分類成古典玫瑰與現代玫瑰的2種(專利文獻1)。

[0006] 詳細研究玫瑰之色素。例如作為花青素(Anthocyanin)系色素，已知有矢車菊素(Cyanidin)3,5-雙葡萄糖苷(Diglucoside)、天竺葵苷素(Pelargonidin)3,5-雙葡萄糖苷、矢車菊素 3-葡萄糖苷、天竺葵苷素 3-葡萄糖苷、甲基花青素(Peonidin)3,5-雙葡萄糖苷、甲基花青素 3-

葡萄糖苷。又，亦已知有多數呈現黃色之類胡蘿蔔素化合物。此等之色素同時累積於花瓣而呈現紅色～黃色。

[0007] 淡紫色玫瑰品種「紫夫人(Madame Violet)」中，已知有包含藍色素化合物之玫瑰花青苷類(化合物 I～III)(專利文獻 2)。進而，玫瑰品種「喝采(Applause)(註冊商標)」(或「三得利藍玫瑰喝采(Applause)(商標)」)中，已知有包含玫瑰飛燕草素苷類(化合物 IV～VI)(專利文獻 3)。該化合物之構造、或色調及各種頻譜數據雖已清楚，但對於生理活性或機能性尚不明瞭。

[0008] 作為薔薇科植物之成分的作用，報告有抗過敏作用、美白作用(黑色素產生抑制作用、酪胺酸酶(Tyrosinase)活性抑制作用)、保濕作用、抗氧化作用等。專利文獻(專利文獻 4)中，作為黏多醣片段化抑制劑，記載有玫瑰及金櫻子等之萃取物為有效。專利文獻(專利文獻 5)中，作為敏感肌膚用之化妝料，記載有薔薇科之香精為有效。專利文獻(專利文獻 6)中，作為美白用皮膚外用劑，記載有重瓣洋薔薇(*Rosa Centifolia*)之萃取物為有效。關注在源自於如此之薔薇科植物成分的效果，重瓣洋薔薇(*Rosa Centifolia*)、短刺野薔薇(*Rosa Damascena*)、法國薔薇(*Rosa Gallica*)等之被稱為古典玫瑰(別號西洋玫瑰)之玫瑰的萃取物或花瓣已被利用於化妝料等之皮膚外溶劑或浴用劑、飲食品之香料等。惟，已被用於此等花卉以外之用途之品種的玫瑰，皆未包含前述之玫瑰花青苷類或玫瑰飛燕草素苷類。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

[0009]

[專利文獻 1]日本特開 2011-236147

[專利文獻 2]日本特開 2002-201372

[專利文獻 3]WO 2010/110382 A1

[專利文獻 4]日本專利第 3532244 號公報

[專利文獻 5]日本專利第 3487739 號公報

[專利文獻 6]日本專利第 4233734 號公報

【發明內容】

[發明欲解決之課題]

[0010] 本發明係提供將藉由薔薇科之植物所萃取而得之單寧等之多酚化合物作為有效成分之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、及膠原合成促進劑、以及包含該色素化合物之皮膚外用劑、皮膚化妝料及準藥品作為目的。

[用以解決課題之手段]

[0011] 本發明者們，為了解決上述課題經努力研究的結果，發現從淡紫色玫瑰花瓣所發現之色素即玫瑰花青苷類、或具有類黃酮 3',5'-羥化酶基因(3',5'-羥化酶)之玫瑰中所合成之色素即玫瑰飛燕草素苷類，顯示強烈玻糖醛酸酶抑制活性、膠原蛋白酶抑制活性、彈性蛋白酶抑制活

性、MMP-1 產生抑制活性、及膠原合成促進活性。進而，發現包含玫瑰花青苷類或玫瑰飛燕草素苷類之薔薇科植物的萃取物，與未包含玫瑰花青苷類或玫瑰飛燕草素苷類之以往薔薇科植物的萃取物相比較，顯示強烈玻璃醛酸酶抑制活性、膠原蛋白酶抑制活性、及彈性蛋白酶抑制活性，而完成本發明。

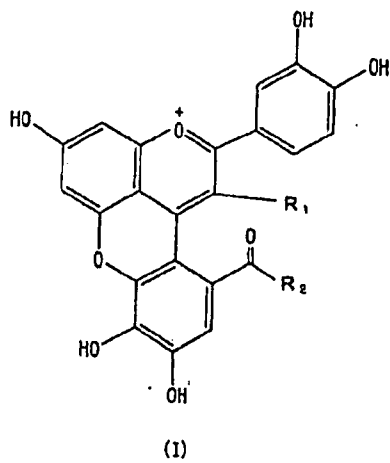
[0012] 亦即，本發明係關於以下者。

[1] 一種玻璃醛酸酶抑制劑，其係含有選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物作為有效成分：

群組有藉由下述一般式(I)表示之玫瑰花青苷類化合物及藉由下述一般式(II)表示之玫瑰飛燕草素苷類化合物，

[0013]

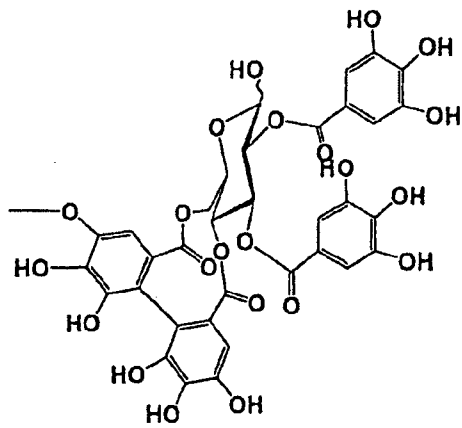
【化1】



[0014] [式中， R_1 及 R_2 會一起形成 -O-；或者 R_1 為下述之基(a)：

[0015]

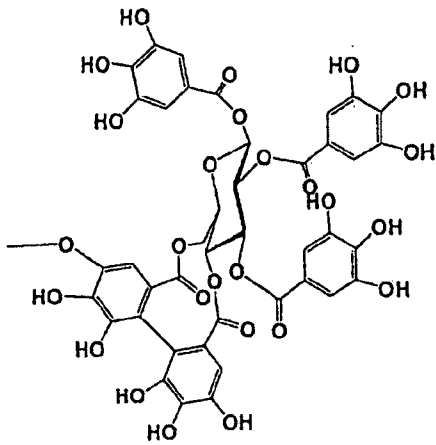
【化2】



[0016] {惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}；
或為下述之基(b)：

[0017]

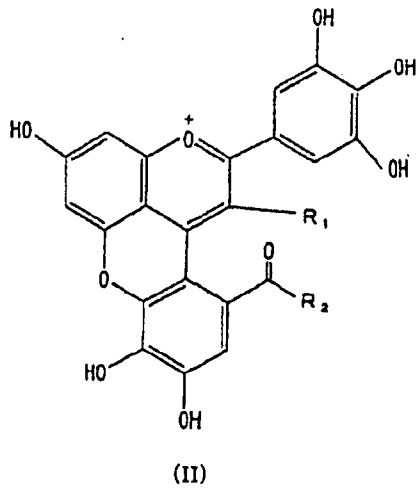
【化3】



[0018] ，而且
 R_2 為 $-OH$ }

[0019]

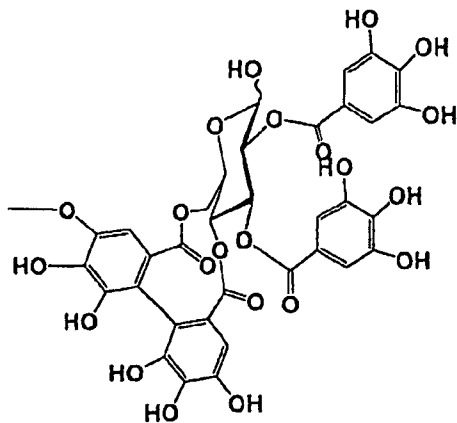
【化4】



[0020] {式中，R₁為下述之基(a)：

[0021]

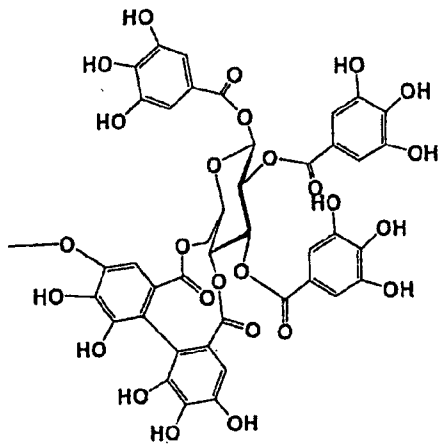
【化5】



[0022] {惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}，且 R₂ 為 -OH、或 R₁ 與 R₂ 會一起形成 -O-、或 R₁ 為下述之基(b)：

[0023]

【化6】



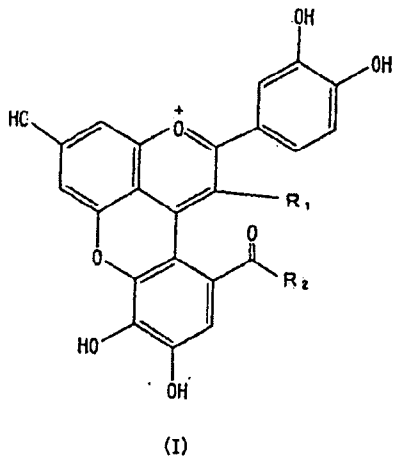
[0024] ，且 R_2 為 $-OH$ }。

[2] 一種膠原蛋白酶抑制劑，其係含有選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物作為有效成分：

群組有藉由下述一般式(I)表示之玫瑰花青苷類化合物及藉由下述一般式(II)表示之玫瑰飛燕草素苷類化合物，

[0025]

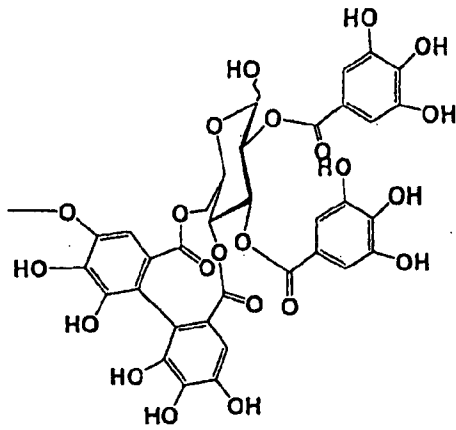
【化7】



[0026] [式中， R_1 及 R_2 會一起形成 $-O-$ ；或者 R_1 為下述之基(a)：

[0027]

【化8】

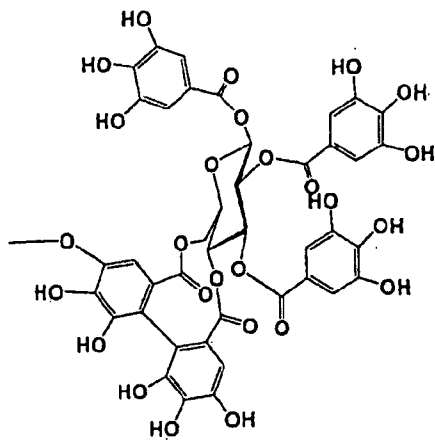


[0028] {惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}；

或為下述之基(b)：

[0029]

【化9】

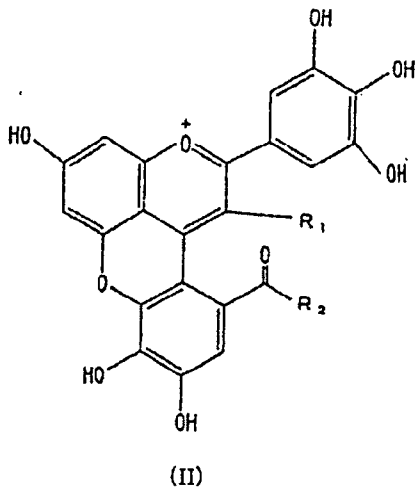


[0030] ，而且

R_2 為 $-OH$]

[0031]

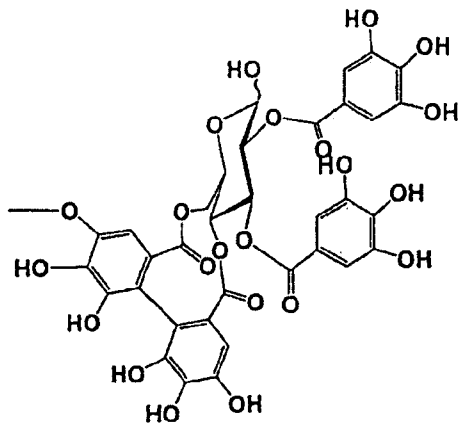
【化10】



[0032] {式中，R₁ 為下述之基(a)：

[0033]

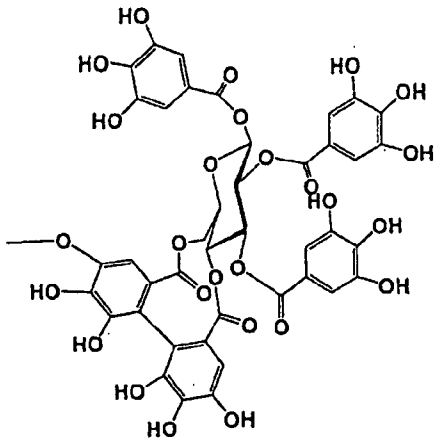
【化11】



[0034] {惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}，且 R₂ 為 -OH、或 R₁ 與 R₂ 會一起形成 -O-、或 R₁ 為下述之基(b)：

[0035]

【化1 2】



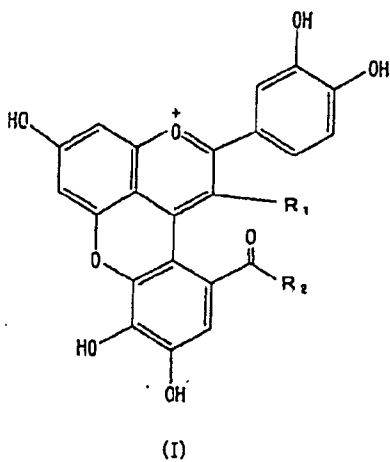
[0036] ，且 R_2 為 $-OH$ }。

[3] 一種彈性蛋白酶抑制劑，其係含有選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物作為有效成分：

群組有藉由下述一般式(I)表示之表玫瑰花青苷類化合物及藉由下述一般式(II)表示之玫瑰飛燕草素苷類化合物，

[0037]

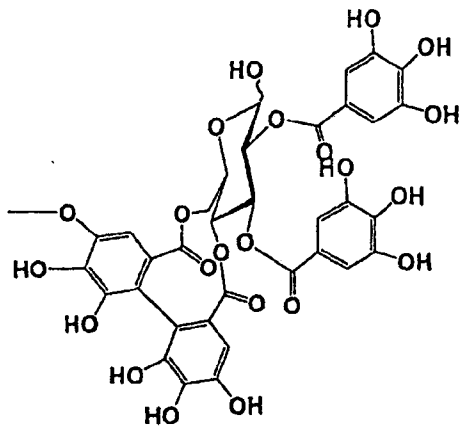
【化1 3】



[0038] [式中， R_1 及 R_2 會一起形成 $-O-$ ；或者 R_1 為下述之基(a)：

[0039]

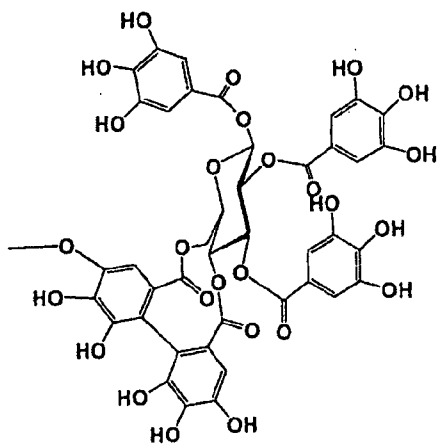
【化14】



[0040] { 惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線) 表示 α 體與 β 體的互變異構性 } ; 或為下述之基(b) :

[0041]

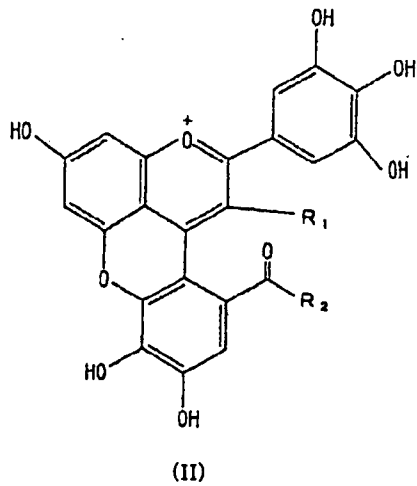
【化15】



[0042] ， 而且 R_2 為 -OH]

[0043]

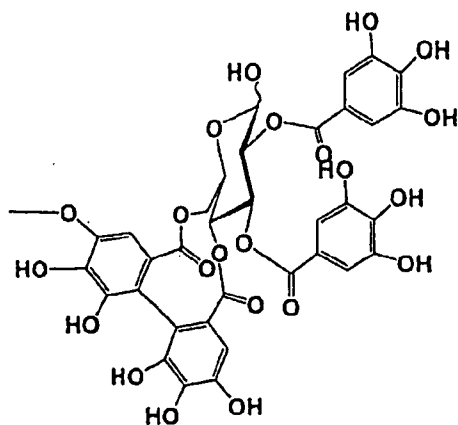
【化16】



[0044] {式中，R₁為下述之基(a)：

[0045]

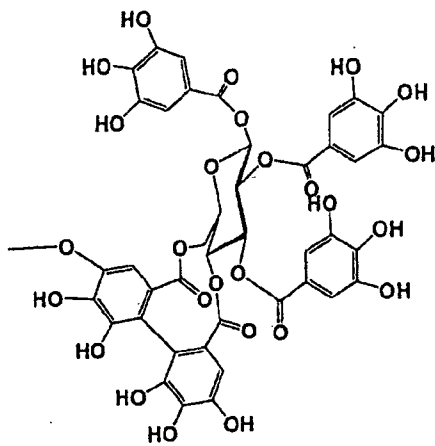
【化17】



[0046] {惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}，且 R₂ 為 -OH、或 R₁ 與 R₂ 會一起形成 -O-、或 R₁ 為下述之基(b)：

[0047]

【化18】



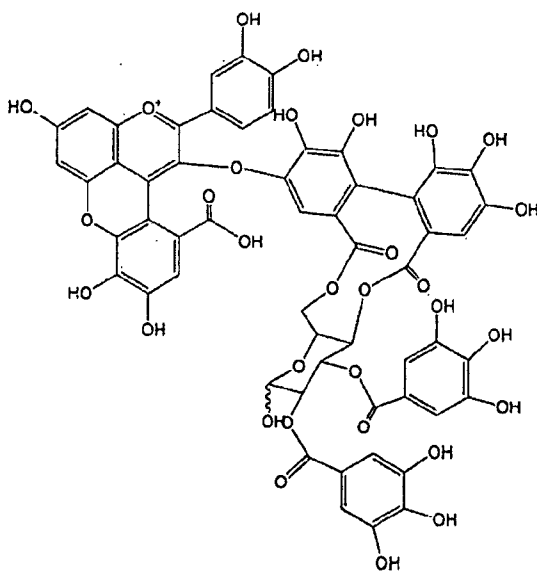
[0048] ，且 R_2 為 $-OH$ }。

[4] 如 [1] ~ [3] 中任一項之玻璃醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑，其中，前述玫瑰花青苷類化合物係選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物：

群組有下述式表示之玫瑰花青苷 A1、

[0049]

【化19】



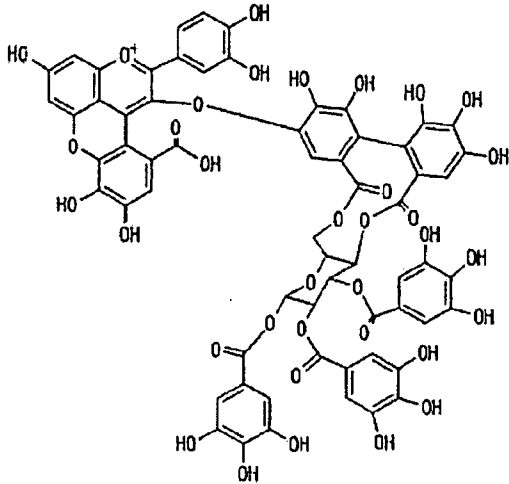
[0050] {惟，式中，葡萄糖 1 位之羟基的配位(波線)

表示 α 體與 β 體的互變異構性}；

下述式表示之玫瑰花青苷 A2、

[0051]

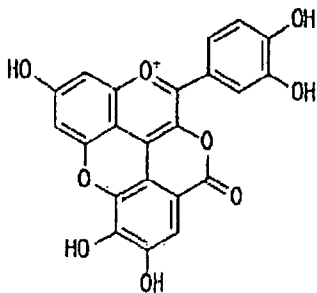
【化20】



[0052] 及下述式表示之玫瑰花青苷 B、

[0053]

【化21】



[0054] [5] 如 [1] ~ [4] 中任一項之玻璃醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑，其係包含含前述玫瑰花青苷類化合物之薔薇科植物的萃取物。

[6] 如 [5] 之玻璃醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑，其中，包含前述玫瑰花青苷類化合

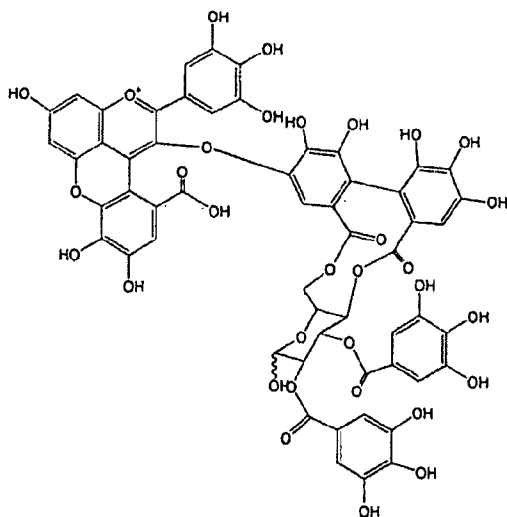
物之薔薇科的植物係選自由紫夫人(Madame Violet)、紫雨(Purple Rain)、薰衣草(Lavande)、曼哈頓藍(Manhattan Blue)、Chantilly Lace、藍月(Blue Moon)、暮色(Twilight)、戴高樂(Charles de Gaulle)、Violet Dolly、藍絲帶(Blue Ribbon)、青空(Aozora)、X 女士(Lady X)、藍寶石(Blue Bajou)、及純銀(Sterling silver)所構成之群組中之一種以上之薔薇科的植物。

[7] 如[1]~[6]中任一項之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑，其中，前述玫瑰飛燕草素苷類化合物係選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物：

群組有下述式表示之玫瑰飛燕草素苷 A1、

[0055]

【化22】

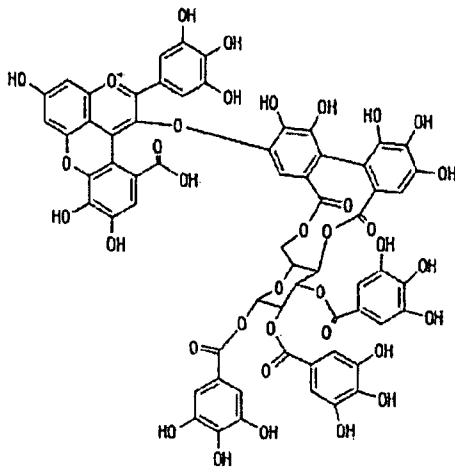


[0056] {惟，式中，葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}；

下述式表示之玫瑰飛燕草素苷 A2、

[0057]

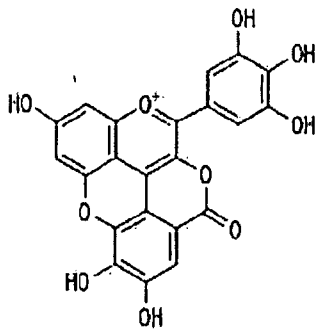
【化23】



[0058] 及下述式表示之玫瑰飛燕草素苷 B、

[0059]

【化24】



[0060] [8] 如 [1] ~ [7] 中任一項之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑，其係包含含前述玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物。

[9] 如 [8] 之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑，其中，包含前述玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科的植物為具有類黃酮 3', 5'-水酸化酶基因之薔薇科植物。

[10] 如[9]之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑，其中，包含前述玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科的植物為喝采(Applause)(註冊商標)。

[11] 如[9]之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑，其中，包含前述玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科的植物為三得利藍玫瑰喝采(Applause)(商標)。

[12] 一種皮膚外用劑，其係包含[1]~[11]中任一項之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑。

[13] 一種皮膚化妝料，其係包含[1]~[11]中任一項之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑。

[14] 一種準藥品，其係包含[1]~[11]中任一項之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑。

[15] 一種皮膚外用劑，其係包含將選自由以如[1]~[4]及[7]中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或以[5]、[6]及[8]~[11]中任一項定義之萃取物作為有效成分。

[16] 一種皮膚化妝料，其係包含將選自由以如[1]~[4]及[7]中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕

草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或以[5]、[6]及[8]~[11]中任一項定義之萃取物作為有效成分。

[17]一種準藥品，其係包含將選自由以如[1]~[4]及[7]中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或以[5]、[6]及[8]~[11]中任一項定義之萃取物作為有效成分。

[18] 一種 MMP-1 產生抑制劑，其係包含將選自由以如[1]~[4]及[7]中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或以[5]、[6]及[8]~[11]中任一項定義之萃取物作為有效成分。

[19]一種膠原合成促進劑，其係包含將選自由以如[1]~[4]及[7]中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或以[5]、[6]及[8]~[11]中任一項定義之萃取物作為有效成分。

[發明的效果]

[0061] 本發明係提供一種存在於淡紫色或藍色系之薔薇科植物的色素化合物玫瑰花青苷類(化合物 I~III)、及存在於具有類黃酮 3',5'-羥化酶基因(3',5'-羥化酶)之薔薇科植物的色素化合物玫瑰飛燕草素苷類(化合物 IV~VI)

的新穎用途。從上述之薔薇科植物所得之萃取物、該萃取物之含色素之餾分物、以及經純化之玫瑰花青苷類(化合物 I~III)及玫瑰飛燕草素苷類(化合物 IV~VI)，令人驚訝的是與以往已知之薔薇科植物的萃取物、及萃取物所包含之單寧類相比較，顯示約 4 倍之玻糖醛酸酶抑制活性、每一多酚量約 2 倍之膠原蛋白酶抑制活性，彈性蛋白酶抑制活性中，玫瑰花青苷 A1 與玫瑰飛燕草素苷 A1 雖顯示強烈活性，但鐵馬寧 1(TG1)幾乎未顯示活性。亦即，本發明係提供具有優異活性之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、及彈性蛋白酶抑制劑。又，該萃取物、餾分物、玫瑰花青苷類化合物、及玫瑰飛燕草素苷類化合物亦發揮優異之 MMP-1 產生抑制效果及膠原合成促進效果(尤其是 I 型膠原合成的促進)，亦可提供一種 MMP-1 產生抑制劑及膠原合成促進劑。

[0062] 本發明又提供一種包含上述色素化合物之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品。本發明之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品係藉由包含上述色素化合物作為有效成分，由於對皮膚組織之水分保持、以及柔軟性及彈力性的維持改善有貢獻，為了皮膚之乾燥、皺紋、及鬆弛的防止及改善來使用上有效。可配合化妝料等之原料的量由於穩定性雖並未限制，但用於本發明之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品之色素化合物係以可配合皮膚外用劑、皮膚化妝料、或準藥品的用量，而得到高有效性。

[0063] 藉由目前為止的研究，對於玫瑰花青苷類、

及玫瑰飛燕草素苷類的構造式雖已明朗，但對於將此等色素之玫瑰植物以外作為對象之生理性機能完全未知悉。由本發明，藉由新發現此等之色素化合物群的機能性，為了皮膚之乾燥、皺紋、及鬆弛的防止及改善來使用，能夠有助於改善人們的生活質量(QOL)。

【圖式簡單說明】

[0064]

[圖 1]圖 1 表示在玫瑰飛燕草素苷 A1 之純化，PolymerC18 管柱之純化物的分析結果(A560nm)。

[圖 2] 圖 2 表示 I 型膠原合成量。

【實施方式】

[0065] 本發明係關於含有將玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物作為有效成分之玻璃醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、膠原合成促進劑、皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品。

(玫瑰花青苷類化合物)

玫瑰花青苷類化合物若為具有上述構造之化合物，雖然皆可使用，但尤其是可適合使用選自由玫瑰花青苷 A1、玫瑰花青苷 A2、及玫瑰花青苷 B 所構成之群組中之 1 種以上的化合物。

[0066] 玫瑰花青苷類化合物係呈現藍色系或淡紫色色調之薔薇科植物，例如從紫夫人(Madame Violet)、紫雨(Purple Rain)、薰衣草(Lavande)、曼哈頓藍(Manhattan Blue)、Chantilly Lace、藍月(Blue Moon)、暮色(Twilight)、戴高樂(Charles de Gaulle)、Violet Dolly、藍絲帶(Blue Ribbon)、青空(Aozora)、X 女士(Lady X)、藍寶石(Blue Bajou)、及純銀(Sterling silver)等品種的玫瑰，例如可藉由日本特開 2002-201372 所揭示的方法萃取。

(玫瑰飛燕草素苷類化合物)

玫瑰飛燕草素苷類化合物若為具有上述構造之化合物，雖然皆可使用，但特別是適合可使用選自由玫瑰飛燕草素苷 A1、玫瑰飛燕草素苷 A2、及玫瑰飛燕草素苷 B 所構成之群組中之 1 種以上的化合物。

[0067] 玫瑰飛燕草素苷類化合物係不存在於野生種的玫瑰，而是將類黃酮 3',5'-羥化酶基因以基因重組等之手法導入之玫瑰、或將基因重組玫瑰作為親本所得之具有類黃酮 3',5'-羥化酶基因之玫瑰中，合成藍色素之飛燕草素(Delphinidin)，並結合沒食子酸酯或鐵馬寧類於此飛燕草素所生成之化合物。

[0068] 玫瑰飛燕草素苷類化合物係從類黃酮 3',5'-羥化酶基因以基因重組等之手法導入之玫瑰、或將基因重組玫瑰作為親本所得之具有類黃酮 3',5'-羥化酶基因之玫瑰，可藉由例如 WO2010/110382 所揭示之方法萃取。

(包含玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物)

本發明作為一態樣，係關於包含含玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、膠原合成促進劑、皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品。此等可包含玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物與該萃取物。玫瑰花青苷類化合物較佳為選自由玫瑰花青苷 A1、玫瑰花青苷 A2、及玫瑰花青苷 B 所構成之群組中之一種以上的化合物。又，玫瑰飛燕草素苷類化合物為選自由玫瑰飛燕草素苷 A1、玫瑰飛燕草素苷 A2、及玫瑰飛燕草素苷 B 所構成之群組中之一種以上的化合物。較佳之態樣中，該萃取物全部包含玫瑰飛燕草素苷 A1、玫瑰飛燕草素苷 A2、及玫瑰飛燕草素苷 B。

[0069] 包含本發明所使用之玫瑰花青苷類化合物之薔薇科植物的萃取物，為呈現藍色系或淡紫色色調之薔薇科植物，例如從紫夫人 (Madame Violet)、紫雨 (Purple Rain)、薰衣草 (Lavande)、曼哈頓藍 (Manhattan Blue)、Chantilly Lace、藍月 (Blue Moon)、暮色 (Twilight)、戴高樂 (Charles de Gaulle)、Violet Dolly、藍絲帶 (Blue Ribbon)、青空 (Aozora)、X 女士 (Lady X)、藍寶石 (Blue Bajou)、及純銀 (Sterling silver) 等品種之薔薇科植物，對

本發明領域具有通常知識者可用習知之方法得到。

[0070] 又，包含本發明所使用之玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物，將類黃酮 3',5'-羥化酶基因以基因重組等之手法導入之玫瑰、或將基因重組玫瑰作為親本所得之具有類黃酮 3',5'-羥化酶基因之玫瑰、例如從喝采 (Applause)(註冊商標)等品種之薔薇科植物，對本發明領域具有通常知識者可用習知之方法得到。尚，「喝采 (Applause)(註冊商標)」係指與「三得利藍玫瑰喝采 (Applause)(商標)」相同品種，此可由三得利花卉股份有限公司(日本國、東京都)取得。

[0071] 包含玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物，具體而言，雖可用實施例所示之方法得到，但例如亦可用以下之方法得到。

[0072] 為了得到本發明所使用之萃取物，雖然較佳為使用上述之玫瑰的花瓣部分，但花瓣以外包含花萼或花粉亦無所謂。可將上述玫瑰之花部分的萃取物用在本發明。可將直接從莖切取狀態的花或花瓣直接用在萃取，亦可使用經凍結之狀態的花或花瓣，可使用經乾燥之狀態的花或花瓣。為了提高萃取效率，適當粉碎花或花瓣，較佳為用在萃取物製造。萃取物的製造方法並未特別限定，可列舉將上述之玫瑰的花或花瓣浸漬於萃取溶劑中之方法、使萃取溶劑加熱迴流於花或花瓣之方法等。

[0073] 將上述之花或花瓣浸漬於萃取溶劑中製造萃取物時，萃取溶劑的使用量並未特別限定，例如相對於花

或花瓣之濕重量，可使用 1~30 倍重量的萃取溶劑。浸漬時間並未特別限定，例如可定為 0.25~72 小時。浸漬溫度並未特別限定，例如可定為 1~100°C。作為萃取溶劑，較佳為水、低級醇、低級醇水溶液。作為低級醇，可使用碳數為 1~5 之一元醇、二元醇、三元醇等，具體而言，可使用甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、戊醇、丁二酸、丙二醇、1,3-丁二醇、1,3-丙二醇、戊二醇等習知之低級醇類。低級醇的濃度並未限定，相對於水溶液全量可使用包含 5~90 重量%之低級醇者。作為特佳之萃取溶劑，可列舉相對於全量含有 5~90 重量%之有機溶劑之乙醇水溶液、或乙腈水溶液或 1,3-丁二醇水溶液。又，為了防止色素化合物的分解，較佳為以酸性條件萃取。酸性條件並未特別限定，例如為 pH 值 1~6，作為酸，較佳為使用化妝料製造所認可之準藥品原料規格所記載之檸檬酸、鹽酸、磷酸、檸檬酸、乳酸、酒石酸、抗壞血酸、食品添加物之乙酸、硫酸等。

[0074] 藉由使萃取溶劑加熱迴流於上述玫瑰之花或花瓣之方法製造萃取物時，可使用與上述相同之萃取溶劑。

[0075] 萃取後，藉由過濾或離心分離等之任意手段，分離花或花瓣的殘渣與萃取物。

[0076] 所得之萃取物作為直接、或者適當去除萃取溶劑之濃縮物，進而作為稀釋此等之稀釋物，可使用在本發明之用途。由於去除所得之萃取物的酸，使 pH 值恢復

中性，使其吸附於如 Diaion(商標)HP-20(三菱化學股份有限公司)或 Diaion(商標)HP2MG(三菱化學股份有限公司)之吸附樹脂，由水洗淨沖洗酸，期望能回收於溶劑所必要之餾分。又，依常定方法將所得之萃取物純化之粗純化物或純化物，亦作為包含玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物，亦可用在本發明之用途。本發明之萃取物、其濃縮物、稀釋物，可以液體狀之形態使用，可將藉由經噴霧乾燥、凍結乾燥、真空乾燥等之方法乾燥者直接、或者以經粉末化、顆粒化之形態使用。

[0077] 萃取物中包含玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物，可用實施例所示之方法確認。

(玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、及膠原合成促進劑)

本發明之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、或膠原合成促進劑係包含玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物。又，本發明之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、或膠原合成促進劑，可為包含選自由玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物者。進而，可將包含玫瑰花青苷類化合物之薔薇科植物的萃取物、包含玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃

取物、或此等之組合，直接作為本發明之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、及膠原合成促進劑使用。

[0078] 本發明之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、或膠原合成促進劑，在不損及包含玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物、以及玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物之效果的範圍，可為進一步包含藥理學上可容許之載體或添加物經製劑化者。作為載體之例，可列舉水、生理食鹽水、乙醇、丙二醇、甘油、1,3 丁二醇等。作為添加物之例，可列舉葡萄糖、蔗糖、乳糖、糊精、環糊精等。又，製劑化中亦可適當配合一般所使用之賦形劑、乳化劑、張力劑(等滲化劑)、緩衝劑、溶解輔助劑、防腐劑、穩定化劑、抗氧化劑等。

[0079] 經製劑化之本發明之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、或膠原合成促進劑可成為液體狀、糊狀、凝膠狀、粉末狀、顆粒狀等之任意劑形。

[0080] 本發明之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、或膠原合成促進劑的有效成分即玫瑰飛燕草素苷類化合物、玫瑰花青苷類化合物、包含玫瑰花青苷類化合物之薔薇科植物的萃取物、及包含玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物

的萃取物的含量，可考慮效果面任意決定。

(皮膚外用劑、皮膚化妝料、準藥品)

本發明之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品藉由包含玫瑰花青苷類化合物或玫瑰飛燕草素苷類化合物，可有效果地防止或改善皮膚之乾燥、皺紋及鬆弛。本發明之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品可為包含選自由玫瑰花青苷類化合物、玫瑰飛燕草素苷類化合物、以及玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物的組合所構成之群組中之一種以上的化合物者。進而，本發明之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品可為包含含玫瑰花青苷類化合物之薔薇科植物的萃取物、包含玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物、或此等之組合者。

[0081] 本發明之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品中，進一步用在通常皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品之成分，例如可適當配合水性溶劑、醇、油脂類、蠟類等之載體、或賦形劑、乳化劑、張力劑(等滲化劑)、緩衝劑、稀釋劑、溶解輔助劑、防腐劑、穩定化劑、抗氧化劑等之添加劑。

[0082] 本發明之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品之劑型，例如可成為粉末狀、液狀、乳液狀、糊狀、乳霜狀、凝膠狀、慕絲狀、軟膏狀、片狀等任意之劑型。

[0083] 作為本發明之皮膚外用劑，例如雖可列舉粉末、洗液、乳液劑、乳霜劑、膠劑、軟膏、包劑、固形肥

皂、液狀肥皂、洗髮精、潤絲、入浴劑等之形態者，但並未被限制於此等。

[0084] 作為本發明之皮膚化妝料，例如雖可列舉洗液、化妝水、美容液、乳液、美容油、美容乳霜、美容膠、包劑、粉末粉底液、粉底液、乳霜粉底液、條狀粉底液、BB 乳霜、美容肥皂、沐浴液、洗顏料、清洗洗液、清洗乳液、清洗乳霜、清洗油、洗髮精、潤絲、治療 (Treatment)、生髮劑、育毛劑、入浴劑、止汗劑等之形態者，但並未被限制於此等。

[0085] 所謂準藥品，係指認定有特定之效能、效果之製品，對於人體之作用緩和之製品。作為本發明之準藥品，雖可列舉藥用化妝料、藥用肥皂、藥用洗髮精、藥用潤絲、藥用入浴劑、藥用嬰兒粉末、藥用嬰兒洗液、藥用育毛劑等之形態者，但並未被限定於此等。

[0086] 本發明之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品，由於包含將具有玻糖醛酸酶抑制效果、膠原蛋白酶抑制效果、彈性蛋白酶抑制效果、MMP-1 產生抑制效果、及膠原合成促進效果之玫瑰花青苷類化合物、玫瑰飛燕草素苷類化合物、或此等之組合作為有效成分，具有賦予滋潤皮膚，有效果地防止或改善皮膚之乾燥、皺紋及鬆弛、皮膚粗糙、裂紋、皮膚皸裂的機能。據此，本發明之皮膚化妝料防止或改善乾燥肌膚、敏感肌膚、油性肌膚等之皮膚類型，可期待防止或改善因為皺紋、鬆弛、法令紋等之年齡增加所導致之肌膚老化的效果。

[0087] 本發明之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、膠原合成促進劑、皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品之有效成分即玫瑰飛燕草素苷類化合物、玫瑰花青苷類化合物、包含玫瑰花青苷類化合物之薔薇科植物的萃取物、及包含玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物的含量，可考慮效果面任意決定。例如於玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、膠原合成促進劑、皮膚外用劑、或皮膚化妝料中，選自由玫瑰飛燕草素苷類化合物、玫瑰花青苷類化合物、包含玫瑰花青苷類化合物之薔薇科植物的萃取物、及包含玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科植物的萃取物所構成之群組中之一種以上的成分，較佳為包含合計 0.000001~99.9 重量%，更佳為包含 0.00005~50 重量%，再更佳為包含 0.00001~10 重量%。

雖將本發明由以下之實施例進一步詳細說明，但並非藉由此限定本發明之範圍者。本發明領域具有通常知識者可將本發明進行各種變更、修飾來使用，此等亦包含在本發明之範圍。

[實施例 1]

[0088]

(玫瑰花青苷類之單離)

依日本特開 2002-201372 之方法，從玫瑰品種「紫夫

人(Madame Violet)」之花瓣得到以下：玫瑰花青苷 A1、玫瑰花青苷 A2、及玫瑰花青苷 B 之玫瑰花青苷類。

[實施例 2]

[0089]

(來自包含玫瑰飛燕草素苷類之薔薇科植物的花瓣之萃取物的製造)

將於 -80°C 冷凍之玫瑰品種「喝采(Applause)」的花瓣 110g，於塑膠袋中使用木槌直接粉碎凍結狀態。加入 70% 乙醇 1.5 L，使用超音波洗淨機，於 20 分鐘音波下萃取。萃取處理後，使用 12.5cm 之布氏漏斗，使用 No.2 濾紙 (Toyo Roshi Kaisha, Ltd) 進行抽吸過濾，將濾液以旋轉蒸發儀減壓濃縮至約 1/5 之體積，餾除乙醇後，再凍結乾燥。而得到乾燥重量 8.33g(來自生花瓣的收率：7.57%)的粉末。

[實施例 3]

[0090]

(包含玫瑰飛燕草素苷類之餾分物及玫瑰飛燕草素苷類化合物的純化)

<材料與方法>

將玫瑰品種「喝采(Applause)」的花瓣 1100g 使用自動破碎乳化均質機(Excel Auto homogenizer)於液體氮中進行凍結粉碎，以成為包含 0.5%TFA 之 50%乙腈的方式，

加入混合 5.5L 之乙腈、4.4L 之 MilliQ 水、55ml 之 TFA 之溶液(包含花瓣之水分為 11L)浸漬一晚。將以預塗 Hyflo Super- Cel(矽藻土)50g 之 18cm ϕ 布氏漏斗進行抽吸過濾($\times 3$ 次)之濾液，以旋轉蒸發儀進行連續濃縮，濃縮至約 1/2 以下之體積。

[0091] 將此濃縮液負載於以水平衡化之吸附樹脂 HP-20(三菱化學股份有限公司)2.2L。2.2L 之水洗後，放置一晚，進而 4.4L 之水洗(合計 3CV)後，以包含 6.6L 之 0.1%TFA 之 20%乙腈溶出，每 500ml 分成 13 餾分。1~4Fra 由於不是溶出物，與水洗液一起廢棄。5~13Fra 進行減壓濃縮，再凍結乾燥。進而，管柱所殘留藍色色素類係以包含 6.6L 之 0.1%TFA 之 60%乙腈溶出，區分成 9Fra，進行減壓濃縮、凍結乾燥。合併 7~9Fra。60%-4 餾分前後溶出包含藍色色素(玫瑰飛燕草素苷 A1)之餾分。

[0092] 將 60%-4 餾分及 60%-5 餾分以以下之分取 HPLC 純化。以管柱為 Develosil-ODS-HG(野村化學公司製 5cm ϕ x 50cm)、移動相使用 A : 0.5%TFA/水、0.5%TFA/B : 50%乙腈，流速 : 30ml/min，如以下進行梯度溶出。B30%(保持 30min)、B30 \rightarrow B100%之線性梯度(50min)，保持 20 分鐘 B100%。檢出於 A260nm 進行。收集包含於 67-82min 所溶出之藍色色素之餾分並進行凍結乾燥。層析針對 60%-4Fra.進行 6 次，針對 60%-5 Fra.重複進行 2 次。

[0093] 將凍結乾燥品分為五次裝載於以 50%乙腈平

衡化之 SephadexLH-20 管柱(Pharmacia、200mL)。以 50% 乙腈進行溶出，在目視收集包含藍色色素之餾分，再進行凍結乾燥。

[0094] 將所得之凍結乾燥品以下述之 HPLC 進行再度分取。

[0095] 以管柱為 YMC pack PolymerC18(YMC 股份有限公司、2cm ϕ x 30cm)、移動相為 A：0.5%TFA/水、B：0.5%TFA/乙腈、流速：6ml/min，進行以下之梯度溶出。B32.5%(30min 保持)、B32.5→B45%之線性梯度(50min)，保持 30 分鐘 B45%，檢出係以 PDA 檢出器收集 250-650nm 之數據，由 A260nm 及 A560nm 之色譜收集峰值。收集於 80-94min 所溶出之藍色色素(玫瑰飛燕草素苷 A1)再進行凍結乾燥。層析合計重複 5 次。

[0096] 成分的分析係以下述之 HPLC-TOF-MS 進行。

<HPLC 分析條件>

管柱：SHODEX ODP-40-2D(2 mm ϕ 150 mm x.昭和電工股份有限公司)

移動相：A：1% HCOOH/ H₂O、B：0.1% HCOOH/CH₃CN

溶出條件：B conc. 10%→60%(15min)，B conc. 60%iso (5min)→10% (1min)，B conc. 10%(15min)

管柱溫度：40℃

流速：0.2 ml/min

檢出波長：PDA(250-600 nm)，A270 nm & A560 nm

注入量：3 μ l

<MS 條件>

MS 係以 Q-TOF Premier(Micromass 公司製)於離子源使用附 Z 噴霧離子源之 ESI，以 Positive、V mode 測定。進行藉由鎖定噴霧之質量修正，基準中使用白胺酸腦啡肽 (m/z 556.2771[M+H]⁺)。

TOF-detector 電壓：2000 V，Capillary：2.7KV，Cone：50V，Source Temp：150 $^{\circ}$ C、Desolvation Temp：250 $^{\circ}$ C

作為理論值，分別是玫瑰飛燕草素苷 A1 給予 m/z 1221.1268[M]⁺，玫瑰飛燕草素苷 B 給予 m/z 435.0352[M]⁺，玫瑰飛燕草素苷 A2 給予 m/z 1373.1378[M]⁺之分子離子，個別的分式為 $C_{56}H_{37}O_{32}$ 、 $C_{22}H_{11}O_{10}$ 、 $C_{63}H_{41}O_{36}$ 。將此分子離子之質量色譜為基礎確認玫瑰飛燕草素苷類的同時並純化。

<結果>

(1)HP-20 管柱之餾分物

HP-20 管柱之餾分物如表 1，集中進行凍結乾燥。

[0097] [表 1]

表 1：HP-20 餾分的 60% 乙腈溶出物之收量

	濃縮前 (ml)	重量 (g)
濃縮液過濾殘留物		3.94
60%MeCN-1,2	900 500	1.95
60%MeCN-3	100	0.64
60%MeCN-4	300	11.39
60%MeCN-5	1,000	4.86
60%MeCN-6	1,000	0.11
60%MeCN-7,8,9	1000 1000 500	0.05

[0098] 60% 乙腈溶出物係將水解性單寧、藍色色素類 (飛燕草素與單寧的結合物) 作為主成分，60%-3~5Fra 含有玫瑰飛燕草素苷 A1 及 A2。

[0099]

(2) 藉由 5cm 之 ODS-HPLC 的餾分結果

分成 5 次進行分取 HPLC，收集包含玫瑰飛燕草素苷 A1 之餾分與前後之色素餾分進行凍結乾燥。負載 11.27 g，而得到 2.49g 之色素餾分 (收率：22.1%)。包含玫瑰飛燕草素苷 A1 之餾分的收率為 5.6%。

(3) LH-20 管柱餾分結果

藉由 LH-20 之餾分，由目視區分分餾物。樣品係以 ODS-HG 管柱餾分物於上述 (2) 所得之凍結乾燥粉末分成 5 次負載。又即使先以 50% 乙腈後以 80% 丙酮溶出，由於有成為永久吸附之紫色成分，故由管柱取出樹脂以 1N-HCl (0.2ml)/EtOH(30ml) 溶出色素，再回收。此色素係玫瑰飛燕草素苷 B 為主成分。

[0100] 進行 5 次層析，而得到包含純度 20-70% 之玫瑰飛燕草素苷 A1 之餾分。

(4)藉由 2cm 之 PolymerC18 管柱的餾分結果

將以 PolymerC18 管柱純化後之玫瑰飛燕草素苷 A1 的色譜(A560nm)示於圖 1。

(5)LC-MS 分析結果

玫瑰飛燕草素苷類係分析時於 LC-TOF-MS 以玫瑰飛燕草素苷 A1、 m/z 1221.14 之質量色譜確認，同時進行餾分。

純化的結果，純度超過 90%之玫瑰飛燕草素苷 A1 得到 3.9mg。

[實施例 4]

[0101]

(玻糖醛酸酶抑制試驗)

<材料與方法>

於實施例 2 製造之萃取物(以後記載為「藍色玫瑰花瓣萃取物」)、藍色玫瑰花瓣萃取物之 HP-20 管柱餾分物(60%乙腈餾分)、及玫瑰飛燕草素苷 A1 之玻糖醛酸酶抑制試驗改變前田有美惠等、食品衛生學雜誌 31(3)，233-237 (1990)的方法，在以下的方法實施。玻尿酸係藉由玻糖醛酸酶分解成 N-乙醯己醯胺(Acetylhexosamine)。藉由將還原末端之 N-乙醯葡萄糖胺(Acetyl glucosamine)藉由 p-二甲胺基苯甲醛(和光純藥工業股份有限公司製，以下簡稱

為 p-DAB)標識之發色以吸光度定量，來測定玻糖醛酸酶抑制活性。

[0102] 於溶解 10%DMSO 之試料溶液 40 μ L，混合 20 μ L 溶解 0.1M 乙酸緩衝溶液(pH 值 4.0)之 1000 U/mL 玻糖醛酸酶(Sigma 公司製)，於 37 $^{\circ}$ C 預備加溫 20 分鐘。添加 40 μ L 溶解於同一緩衝溶液之 0.5 mg/mL Compound 48/80(Sigma 公司製)，於 37 $^{\circ}$ C 靜置 20 分鐘使玻糖醛酸酶活性化。以此溶液最終濃度成為 0.4 mg/mL 的方式添加 0.8mg/mL 玻尿酸鉀溶液 100 μ L，於 37 $^{\circ}$ C 使其反應 40 分鐘後，添加 40 μ L 0.4N 氫氧化鈉溶液，進行冰冷而使反應停止。將以 6N NaOH 調整 pH 值至 9.1 之 0.8M 硼酸溶液加入 40 μ L 反應液，於 100 $^{\circ}$ C 煮沸 3 分鐘。於冰中冷卻至室溫，於此添加 1.2 mL 經遮光之 10 mg/mL p-二甲胺基苯甲醛(p-DAB)溶液，於 37 $^{\circ}$ C 使其反應 20 分鐘後，測定 585nm 之吸光度(A_{585})。試料之玻糖醛酸酶抑制活性由以下之式所求得之抑制率表示。

$$[0103] \text{ 抑制率 } (\%) = \{1 - (a - b) / (c - d)\} \times 100$$

a：添加酶之試料溶液的 A_{585}

b：未添加酶之試料溶液的 A_{585}

c：添加酶之對照溶液的 A_{585}

d：未添加酶之對照溶液的 A_{585}

又，陽性對照中，取代試料溶液添加 40 μ L 800 μ g/ml (莫耳濃度 1.56 mM)之色甘酸鈉(Sodium cromoglycate) (Sigma 公司製以下簡稱為 DSCG)，使用試驗濃度 160

μg/ml 之 DSCG。

<結果>

(1)60%乙腈餾分之玻糖醛酸酶抑制試驗

對於將藍色玫瑰花瓣萃取物進行 HP-20 管柱餾分所得之 60%乙腈餾分，測定試驗濃度在 10、20 μg/ml 之玻糖醛酸酶抑制率(%)時，變成如表 2 所示。3-5 Fra.包含藍色玫瑰特有之色素成分玫瑰飛燕草素苷 A1，當中，4Fra.與 5Fra 的含有率多數已由 TOF-MS 分析確認。

[0104] 3-6 Fra.在藍色玫瑰花瓣萃取物之 2 分之 1 的試驗濃度，顯示較藍色玫瑰花瓣萃取物更強之玻糖醛酸酶抑制活性，玫瑰飛燕草素苷 A1 之含有率最高之 4 Fra.顯示最強活性。由此結果，披露 3-5 Fra.包含活性成分、玫瑰飛燕草素苷 A1 顯示藍色玫瑰花瓣萃取物中之玻糖醛酸酶抑制活性之活性成分的可能性。

[0105] [表 2]

表 2：60%乙腈餾分之玻糖酸酶抑制率(%)

樣品名	抑制率(%)		
	10 μg/ml	20 μg/ml	40 μg/ml
藍色玫瑰花瓣萃取物	—	—	30.8
60%乙腈-1, 2 Fra.	5.5	18.6	—
60%乙腈-3 Fra.	16.7	36.7	—
60%乙腈-4 Fra.	12.5	41.4	—
60%乙腈-5 Fra.	12.7	36.0	—
60%乙腈-6 Fra.	9.9	34.7	—
60%乙腈-7, 8, 9 Fra.	5.5	19.8	—

*160 μg/ml DSCG 之抑制率： 33.3%

[0106]

(3)玫瑰飛燕草素苷 A1 及相關化合物之玻糖醛酸酶抑制試驗

對於由藍色玫瑰花瓣萃取物純化之藍色色素成分玫瑰飛燕草素苷 A1，測定試驗濃度在 20、40、80 $\mu\text{g/ml}$ 之玻糖醛酸酶抑制率(%)時，變成如表 3 所示。非常清楚玫瑰飛燕草素苷 A1 為藍色玫瑰花瓣萃取物中之活性成分。因為顯示濃度依存性強之活性，亦確認玫瑰飛燕草素苷 A1 之用量反應性。

[0107] 又，同時測定玫瑰飛燕草素苷 A1 構造的構成成分即鐵馬寧(Tellimagrandin)1、宿主菌株之藍色色素成分即玫瑰花青苷 A1 之活性，進行活性強度的比較。玫瑰花青苷 A1 顯示與玫瑰飛燕草素苷 A1 同等之活性。喝采(Applause)中亦已包含，薔薇科植物中亦存在之水解性單寧、鐵馬寧 1 顯示較玫瑰飛燕草素苷 A1 更低之活性。

[0108] 市售之玫瑰花瓣萃取材料之一，係東洋發酵公司製之 ROSE CRYSTA-70(商標)。此材料包含水解性單寧之 1 種即沒食子單寧(Eugenin)，為規格總酚量 70%之材料。由於藍色玫瑰花瓣萃取物較 ROSE CRYSTA-70(商標)顯示更強之玻糖醛酸酶抑制活性(表 4)，包含玫瑰飛燕草素苷 A1 之藍色色素群，得到支持亦較水解性單寧類活性更強的數據。

[0109] 瞭解到各化合物之玻糖醛酸酶抑制活性強度係依玫瑰花青苷 A1、玫瑰飛燕草素苷 A1>藍色玫瑰花瓣

萃取物>鐵馬寧 1 的順序。又，非常清楚玫瑰飛燕草素苷 A1 與鐵馬寧 1 比較，具有更強之活性，認為具有勝過以往所使用之玫瑰萃取材料之保濕作用效果。

[0110] [表 3]

表 3：玫瑰飛燕草素苷A1及相關化合物之玻糖酸酶抑制(%)

樣品名	抑制率(%)			IC50 (μ g/ml)	力價 (1/IC50)
	20 μ g/ml	40 μ g/ml	80 μ g/ml		
藍色玫瑰花瓣萃取物	14.7	29.9	63.2	64.1	15.6
玫瑰飛燕草素苷 A1	24.4	48.2	95.3	41.5	24.1
玫瑰花青苷 A1	24.7	49.1	93.2	40.8	24.5
鐵馬寧 1	—	—	64.8	196.5	5.1

*160 μ g/ml DSCG 之抑制率： 22.3%

[0111] [表 4]

表 4：藍色玫瑰花瓣萃取物與ROSE CRYSTA 70(商標)之玻糖醛酸酶抑制率(%)

樣品名	抑制率 (%)	總酚量 (%) **
	30 μ g/ml	
藍色玫瑰花瓣萃取物	71.0	43.6
ROSE CRYSTA 70 (商標)	41.0	74.1

*160 μ g/ml DSCG 之抑制率： 33.7%

** 總酚量係由Folin-Ciocalteu 比色法以沒食子酸換算算出

[0112] 如以上，非常清楚藍色玫瑰花瓣萃取物，其中包含藍色色素玫瑰飛燕草素苷類之餾分、玫瑰飛燕草素苷 A1、及非重組體之藍色色素玫瑰花青苷 A1 具有強烈玻糖醛酸酶抑制活性。

[實施例 5]

[0113]

(膠原蛋白酶抑制試驗)

<材料與方法>

藍色玫瑰花瓣萃取物、藍色玫瑰花瓣萃取物之管柱處理物(60%乙腈餾分)、玫瑰飛燕草素苷 A1、玫瑰花青苷 A1 及鐵馬寧 1 之膠原蛋白酶抑制試驗，改變文獻(Wunsch 等、Hoppe Seylers Z Physiol Chem., 333, 149-51(1963))的方法，在以下的方法實施。

[0114] 酶溶液以成為 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (55.1 unit/mL)濃度的方式，將膠原蛋白酶 TypeIV(Sigma 公司製)10 mg 溶解於蒸餾水 1 mL，使用時稀釋成 50 倍來使用。基質溶液中，以 PZ-肽(4-phenylazo-benzyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg-OH)(Pz-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg-OH、Sigma 公司製)的濃度成為 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的方式，溶解於含有 20 nmol/L 氯化鈣之參鹽酸緩衝溶液(pH 值 7.1)來使用。溶解於 10% DMSO 之試料溶液 20 μL ，混合酶溶液 20 μL 及基質溶液 160 μL ，於 37°C 使其反應 30 分鐘。其次加入 25 mM 檸檬酸溶液 400 μL 使其反應停止，將反應液中之 Pz-Pro-Leu 以乙酸乙酯 2 mL 萃取。將所得之乙酸乙酯層在波長 320 nm 之吸光度對照乙酸乙酯來測定。又，各試料之抑制活性係以以下之式所求得之抑制率算出。

[0115] 膠原蛋白酶抑制率(%) = $\{1 - (a - b) / (c - d)\} \times 100$

a : 試料添加時 反應 30 分鐘後之吸光度

b : 試料添加時 反應 0 分鐘後之吸光度

c : 試料無添加 反應 30 分鐘後之吸光度

d: 試料無添加 反應 0 分鐘後之吸光度

上述式中，完全抑制膠原蛋白酶的活性時，膠原蛋白酶抑制率(%)成為 100%。顯示高「抑制率(%)」之化合物，可說作為抑制劑之活性較高。

[0116] 膠原蛋白酶抑制試驗中，陽性對照中取代試料溶液，添加 20 μL 之 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (莫耳濃度 0.176 mM)之 Isoamylphosphonyl-Glycyl-L-Prolyl-L-Alanine, dipotassium salt; $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{K}_2\text{N}_3\text{O}_6\text{P}$ (Elastin Products Company, Inc.製、以下簡稱為 IP304)(反應時之濃度為 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$)使用。

<結果>

(1)60%乙腈餾分之膠原蛋白酶抑制試驗

對於將藍色玫瑰花瓣萃取物進行 HP-20 管柱餾分所得之 60%乙腈餾分，測定試驗濃度在 40、80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之膠原蛋白酶抑制率(%)時，如表 5 所示。3-5 Fra.包含具有類黃酮 3',5'-羥化酶基因之玫瑰特有色素成分玫瑰飛燕草素苷 A1，其中，4 Fra.與 5Fra 的含有率多係藉由 TOF-MS 分析確認。

[0117] 3-5 Fra.在藍色玫瑰花瓣萃取物之 2 分之 1 的試驗濃度，又，1、2、6 Fra.在與藍色玫瑰花瓣萃取物相同之試驗濃度，顯示較藍色玫瑰花瓣萃取物更強之膠原蛋白酶抑制活性。由此結果，披露 3-5 Fra.包含活性成分、玫瑰飛燕草素苷 A1 顯示藍色玫瑰花瓣萃取物中之膠原蛋白酶抑制活性之活性成分。又，非常明顯不限於包含玫瑰

飛燕草素苷 A1 之 3-5 fra.，由於 60%乙腈餾分全部之 Fra. 具有比較高之活性，藍色色素化合物群全般具有活性。

[0118] [表 5]

表 5：60%乙腈餾分之膠原蛋白酶抑制率(%)

樣品名	抑制率(%)	
	40 μ g/mL	80 μ g/mL
藍色玫瑰花瓣萃取物	—	44.7
60%乙腈-1,2 Fra.	42.7	60.3
60%乙腈-3 Fra.	50.3	60.6
60%乙腈-4 Fra.	48.7	59.2
60%乙腈-5 Fra.	49.4	62.1
60%乙腈-6 Fra.	40.5	52.0
60%乙腈-7,8,9 Fra.	38.8	41.8

*80 μ g/mL IP304 之抑制率：84.1%

[0119]

(2)玫瑰飛燕草素苷 A1 及其相關體之膠原蛋白酶抑制試驗

對於由藍色玫瑰花瓣萃取物純化之藍色色素成分、玫瑰飛燕草素苷 A1，測定在試驗濃度 40 μ g/ml 之膠原蛋白酶抑制率(%)時，如表 6 所示。非常明顯玫瑰飛燕草素苷 A1 為藍色玫瑰花瓣萃取物中之活性成分。

[0120] 又，同時測定玫瑰飛燕草素苷 A1 之構造的構成成分即鐵馬寧 1、宿主菌株之藍色色素成分即玫瑰花青苷 A1 的活性，進行活性強度之比較。

[0121] 對於各化合物在 40 μ g/mL 之膠原蛋白酶抑制活性，玫瑰花青苷 A1、鐵馬寧 1、玫瑰飛燕草素苷 A1 皆為高於藍色玫瑰花瓣萃取物之活性。

[0122] [表 6]

表 6：玫瑰飛燕草素苷A1及相關化合物之膠原蛋白酶抑制率(%)

樣品名	抑制率 (%) *
藍色玫瑰花瓣萃取物	23.0
玫瑰飛燕草素苷 A1	42.3
玫瑰花青苷 A1	52.0
鐵馬寧 1	42.7

* 各樣品之試驗濃度：40 $\mu\text{g/ml}$

* 40 $\mu\text{g/ml}$ IP304 之抑制率：69.7%

[實施例 6]

[0123]

(彈性蛋白酶抑制試驗)

<材料與方法>

藍色玫瑰花瓣萃取物、藍色玫瑰花瓣萃取物之管柱處理物(60%乙腈餾分)、玫瑰飛燕草素苷 A1、玫瑰花青苷 A1 及鐵馬寧 1 之彈性蛋白酶抑制試驗，在以下之方法實施。

酶溶液以成為 0.05 unit/mL 濃度的方式，將彈性蛋白酶(Sigma 公司製)0.1 ml 使用 pH 值 8.0 之 0.2 M 參緩衝溶液(以下記載為參緩衝溶液)，使用時稀釋成 100 倍使用。基質溶液係以 N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p- nitroanilide (Sigma 公司製)的濃度成為 4mM 的方式，溶解於參緩衝溶液來使用。添加溶解於 10%DMSO 之各試料溶液 50 μL 、及酶溶液 50 μL 於 96 孔板，以板振動篩混合，於 25°C 預備加溫 10 分鐘。其次加入基質溶液 100 μL 以板振動篩混合，於 25°C 使其反應 30 分鐘後迅速將 p-nitroaniline 之遊

離以波長 405 nm 之吸光度(以下為 A₄₀₅)測定。空白之 A₄₀₅ 係取代基質溶液添加參緩衝溶液來測定，對照溶液之 A₄₀₅ 係取代試料溶液添加 10%DMSO 來測定。又，各試料之抑制活性係以以下之式所求得之抑制率算出。

$$\text{彈性蛋白酶抑制率(\%)} = [(f-e) - \{(b-a) - (d-c)\}] / (f-e) \times 100$$

a：試料溶液之基質反應用之 A₄₀₅(0min)

b：試料溶液之基質反應用之 A₄₀₅(30min)

c：試料溶液空白之 A₄₀₅(0min)

d：試料溶液空白之 A₄₀₅(30min)

e：對照溶液之 A₄₀₅(0min)

f：對照溶液之 A₄₀₅(30min)

上述式中，完全抑制膠原蛋白酶的活性時，彈性蛋白酶抑制率(%)成為 100%。顯示高「抑制率(%)」之化合物，可說作為抑制劑之活性較高。

[0124] 彈性蛋白酶抑制試驗中，陽性對照取代試料溶液，添加 50 μL 之 320 μg/mL(莫耳濃度 1.84 mM)之 Phenylmethanesulfonyl fluoride；C₇H₇FO₂S(Sigma 公司製，以下簡稱為 PMSF)(反應時之濃度為 80 μg/mL)來使用。

<結果>

(1) 60%乙腈餾分之彈性蛋白酶抑制試驗

對於將藍色玫瑰花瓣萃取物進行 HP-20 管柱餾分所得之 60%乙腈餾分，測定試驗濃度在 40、80、160 μg/ml 之

彈性蛋白酶抑制率(%)時，如表 7 所示。3-5 Fra.包含藍色玫瑰特有之色素成分玫瑰飛燕草素苷 A1，其中，4 Fra.與 5Fra 的含有率多係藉由 TOF-MS 分析確認。

60%乙腈餾分 4-9Fra.顯示較 HP-20 管柱餾分前之藍色玫瑰花瓣萃取物更強之活性。非常明顯尤其是因為 60%乙腈餾分 6-9Fra.具有強烈活性，不僅玫瑰飛燕草素苷類而且藍色色素化合物群全般具有強烈活性。

[0125] [表 7]

表 7. 60%乙腈餾分之彈性蛋白酶抑制率(%)

樣品名	抑制率 (%)				
	40 $\mu\text{g/mL}$	80 $\mu\text{g/mL}$	160 $\mu\text{g/mL}$	320 $\mu\text{g/mL}$	640 $\mu\text{g/mL}$
藍色玫瑰花瓣萃取物	—	—	19.8	41.0	63.1
60%乙腈- 1, 2 Fra.	13.8	7.4	5.4	—	—
60%乙腈- 3 Fra.	17.6	18.3	10.8	—	—
60%乙腈- 4 Fra.	24.2	24.5	29.8	—	—
60%乙腈- 5 Fra.	12.9	18.8	22.9	—	—
60%乙腈- 6 Fra.	31.6	48.7	62.5	—	—
60%乙腈- 7, 8, 9 Fra.	17.5	30.2	52.4	—	—

*80 $\mu\text{g/mL}$ PMSF 之抑制率: 94.1%

[0126]

(2) 玫瑰飛燕草素苷 A1 之彈性蛋白酶抑制試驗

對於由藍色玫瑰花瓣萃取物純化之藍色色素成分玫瑰飛燕草素苷 A1，測定在試驗濃度 40、80、160 $\mu\text{g/ml}$ 之彈性蛋白酶抑制率(%)時，如表 8 所示。由於玫瑰飛燕草素

苷 A1 顯示為濃度依存性強之活性，亦確認玫瑰飛燕草素苷 A1 之用量反應性。

[0127] 又，同時測定玫瑰飛燕草素苷 A1 構造的構成成分即鐵馬寧(Tellimagrandin) 1、宿主菌株之藍色色素成分即玫瑰花青苷 A1 之活性，進行活性強度的比較。玫瑰花青苷 A1 顯示與玫瑰飛燕草素苷 A1 同等以上之活性。認為薔薇科植物所包含之水解性單寧之 1 種即鐵馬寧 1，相對於顯示弱的活性，由於玫瑰飛燕草素苷 A1 及玫瑰花青苷 A1 顯示強的活性，藉由包含藍色色素化合物群，源自藍色系之玫瑰花瓣萃取物較市售之玫瑰萃取物，具有更強之活性。

[0128] [表 8]

表 8. 玫瑰飛燕草素苷A1及相關化合物之彈性蛋白酶抑制率(%)

樣品名	抑制率(%)				
	40 $\mu\text{g/mL}$	80 $\mu\text{g/mL}$	160 $\mu\text{g/mL}$	320 $\mu\text{g/mL}$	640 $\mu\text{g/mL}$
藍色玫瑰花瓣萃取物	—	—	12.4	21.1	58.0
玫瑰飛燕草素苷 A1	50.7	58.1	62.0	—	—
玫瑰花青苷 A1	31.8	40.4	49.4	—	—
鐵馬寧 1	5.9	4.6	6.5	—	—

*80 $\mu\text{g/ml}$ PMSF 之抑制率：79.5%

[實施例 7]

[0129]

(膠原合成促進試驗)

<材料與方法>

將正常人類原纖維芽細胞使用含有 0.5%仔牛血清之

Dulbecco 變法 MEM(0.5%FBS-DMEM)播種在 2.0×10^4 cell/well 之細胞密度之 96 穴板。播種 24 小時後，將 0.5 % FBS-DMEM 之無細胞障礙性之藍色玫瑰花瓣萃取物濃度作為最高濃度，稀釋此 FBS-DMEM，與含有藍色玫瑰花瓣萃取物之 0.5%FBS-DMEM 交換。尚使用 $25 \mu\text{M}$ 抗壞血酸磷酸鎂鹽 (VC-PMg) 作為陽性對照組。於含有藍色玫瑰花瓣萃取物之管柱處理物之培養基培養 24 小時後，回收培養上清供於 ELISA。細胞在 0.5% TritonX-100 溶液溶解後，在 BCA 法定量蛋白質量。

將培養基及檢量線用之 I 型膠原溶液放入高吸附型 ELISA 板，在 4°C 塗佈一晝夜後，使用 1% 牛血清白蛋白 (BSA) 溶液在 37°C 阻斷 1 小時。一次抗體反應係添加將 Anti-Human Collagen Type I antibody (Rabbit) 以 0.3% BSA 溶液稀釋者，在 37°C 使其反應 1.5 小時。二次抗體反應係添加將 HistofineMAX-PO(R) (Rabbit) 以磷酸緩衝溶液稀釋者，在 37°C 使其反應 1.5 小時。

其次，添加包含 0.3 mg/mL 之 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) 及 0.03% 之過氧化氫之磷酸-檸檬酸緩衝溶液 (0.1 M , pH 值 4.0)，使其反應 30 分鐘，在微板讀數器測定 405 nm 之吸光度。

培養基中之 I 型膠原量係從以相同 ELISA 板測定之檢量線算出。藉由以全細胞之蛋白質量去除培養基中之 I 型膠原量，算出每單位蛋白質量之 I 型膠原合成量。個別

的 I 型膠原合成量係使用 Student t 檢定進行顯著差檢定，並與對照組比較。

<結果>

將藍色玫瑰花瓣萃取物之 I 型膠原合成量示於圖 2。藉由試驗試料的添加，認定 I 型膠原合成量顯著增加。

[實施例 8]

[0130]

(MMP-1 產生抑制試驗)

MMP-1(基質金屬蛋白酶-1)(英：Matrix metalloproteinase、MMP)亦稱為間質膠原蛋白酶，係有關膠原分解之間蛋白酶(配座金屬離子於活性中心之蛋白分解酶)之一。藉由抑制 MMP-1 之產生，來抑制膠原的分解。

對於在 MMP-1 產生之抑制之藍色玫瑰花瓣萃取物的效果進行檢討。將源自新生兒正常人類皮膚原纖維芽細胞(NHDF-NB，由倉敷紡績股份有限公司購入)作為真皮原纖維芽細胞使用，進行將 MMP-1 之產生量作為指標之檢討。

播種真皮原纖維芽細胞於 24 孔板，在 37°C、二氧化碳濃度 5vol%中培養至合流為止。之後，將溶解於 DMSO 之藍色玫瑰花瓣萃取物以 0、5、10、20mg/mL 之濃度添加。以 DMSO 最終濃度成為 0.1%的方式添加。培養 24 小時後，將 IL-1 β 以最終濃度 100pg/mL 添加於培養基。僅

添加 DMSO 溶液之孔穴一部分作為未添加 IL-1 β 者，將此作為對照組。48 小時培養後，回收培養上清，定量培養基中所分泌之 proMMP-1，作為 MMP-1 之產生量。proMMP-1 之定量係使用定量 ELISA Kit(R&D Systems 公司製)，依所附之說明書進行。定量結果係以作為相對於對照組之 MMP-1 之產生量作為 100%之相對值(%)表示(表 9)。

[0131]

[表 9]

	藍色玫瑰花瓣萃取物 添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	IL-1 β 添加濃度 (pg/mL)	MMP-1 產生量 (相對值)
對照組	0	0	100 \pm 12.2
藍色玫瑰花瓣萃取物	0	100	403.2 \pm 5.8
	5	100	114.6 \pm 4.9
	10	100	110.1 \pm 5.5
	20	100	85.7 \pm 11.6

僅添加 IL-1 β 於真皮原纖維芽細胞時，MMP-1 之產生量約對照組的 4 倍。而且於藍色玫瑰花瓣萃取物處理細胞時，即使在任一種濃度，皆顯著抑制藉由 IL-1 β 之 MMP-1 的產生。

由此等之結果，藍色玫瑰花瓣萃取物顯示具有優異之 MMP-1 產生抑制效果。

[產業上之可利用性]

[0132] 本發明之玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑藉由包含將玫瑰花青苷類化合物

或玫瑰飛燕草素苷類化合物作為有效成分，由於顯示防止及改善乾燥、皺紋、及鬆弛的優異效果，故為了保濕用及抗老化用之皮膚外用劑、皮膚化妝料及準藥品之開發及製造係有用。

I667041

發明摘要

※申請案號：104115882

※申請日：104年05月19日

※IPC分類：
A61K 8/49 (2006.01)
A61K 8/60 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

玫瑰色素化合物之新穎用途

【中文】

本發明之課題係提供一種將藉由薔薇科之植物萃取所得之色素化合物作為有效成分之玻璃醛酸酶(Hyaluronidase)抑制劑、膠原蛋白酶(Collagenase)抑制劑、彈性蛋白酶(Elastase)抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、及膠原(Collagen)合成促進劑、以及包含該色素化合物之皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品(quasi drug)。本發明係提供一種含有將玫瑰花青苷(Rosacyanin)類化合物或玫瑰飛燕草素苷(Rosadelphine)類化合物作為有效成分之玻璃醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、彈性蛋白酶抑制劑、MMP-1 產生抑制劑、及膠原合成促進劑、皮膚外用劑、皮膚化妝料、及準藥品(quasi drug)。

【英文】

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

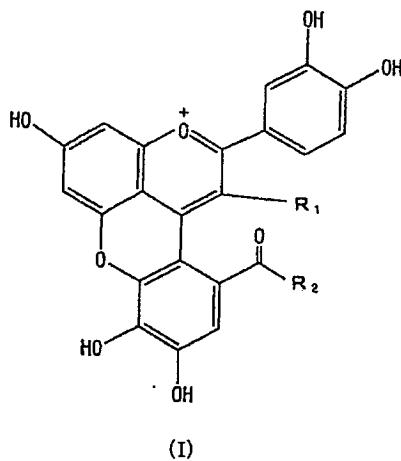
【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

申請專利範圍

1. 一種用以製造玻璃醛酸酶 (Hyaluronidase) 抑制劑之使用，其係選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物：

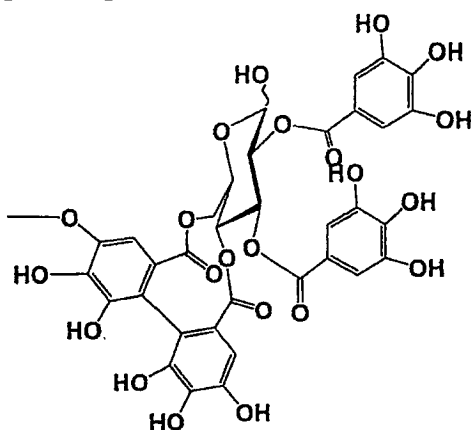
該群組有係由下述一般式 (I) 表示之玫瑰花青苷 (Rosacyanin) 類化合物及由下述一般式 (II) 表示之玫瑰飛燕草素苷 (Rosadelphine) 類化合物所成；

[化 1]



{ 式中， R_1 及 R_2 會一起形成 -O-；或者 R_1 為下述之基 (a)：

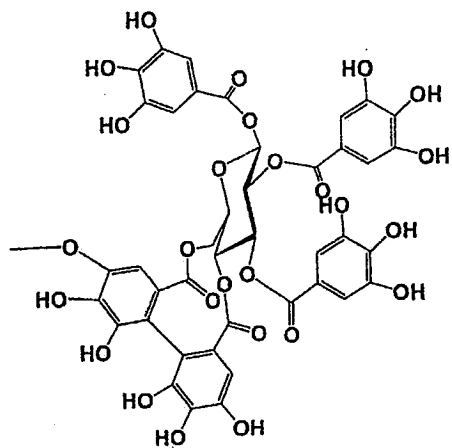
[化 2]



{ 惟，基 (a) 中葡萄糖 1 位之羥基的配位 (波線) 表示 α 體與 β 體的互變異構性 }；

或、下述之基 (b) :

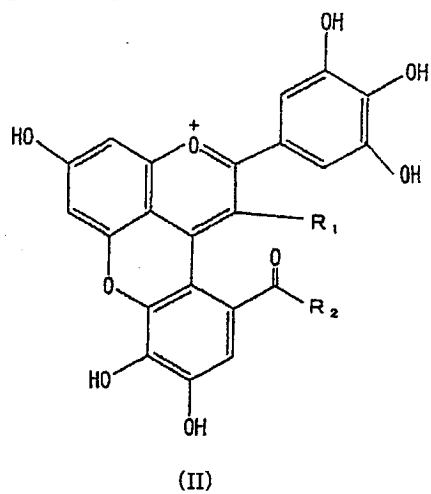
[化 3]



，而且

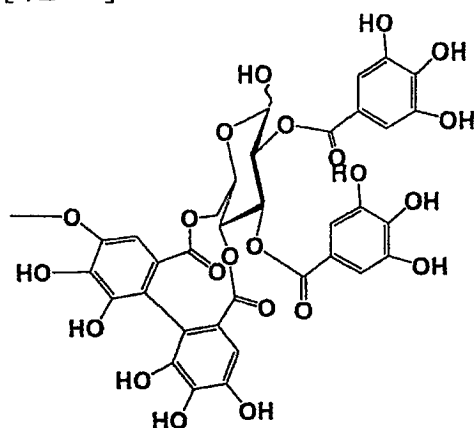
R_2 為 $-OH$] ，

[化 4]



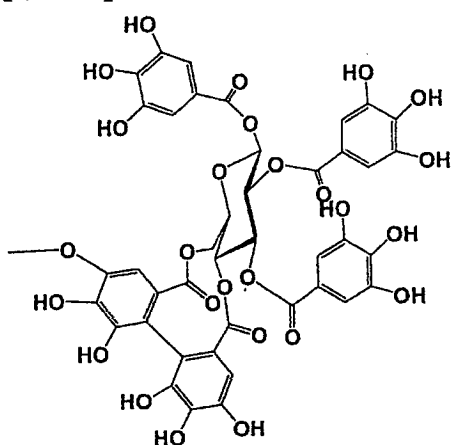
{式中， R_1 為下述之基 (a) :

[化 5]



{惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}，且 R_2 為 $-OH$ 、或 R_1 與 R_2 會一起形成 $-O-$ 、或 R_1 為下述之基(b)：

[化 6]

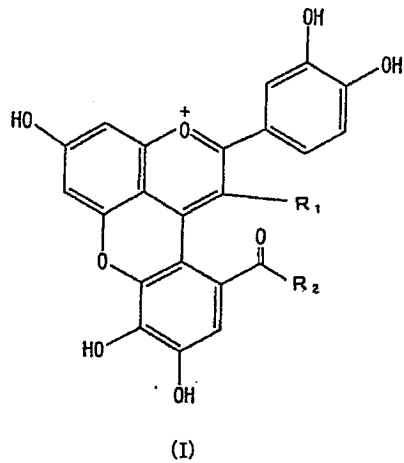


，且 R_2 為 $-OH$ }。

2. 一種用以製造膠原蛋白酶(Collagenase)抑制劑之使用，其係選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物：

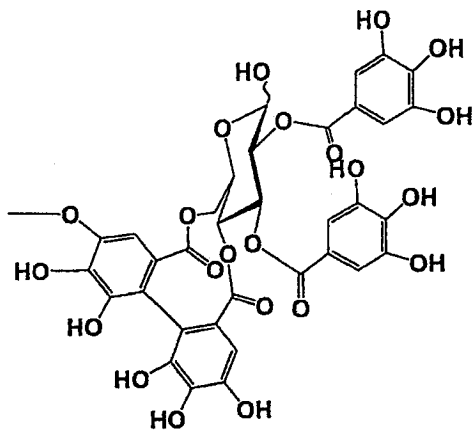
該群組係由下述一般式(I)表示之玫瑰花青苷類化合物及由下述一般式(II)表示之表示之玫瑰飛燕草素苷類化合物而成，

[化 7]



[式中，R₁ 及 R₂ 會一起形成 -O-；或者、R₁ 為下述之基 (a)：

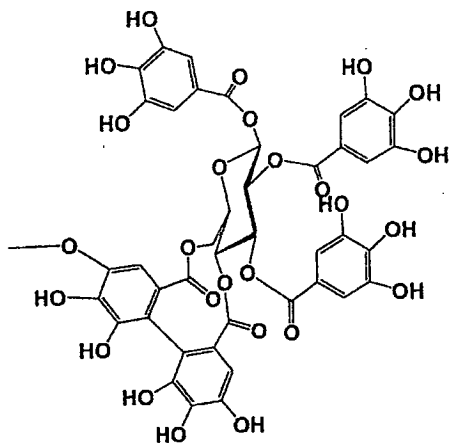
[化 8]



{ 惟，基 (a) 中葡萄糖 1 位之羥基的配位 (波線) 表示 α 體與 β 體的互變異構性 }；

或、下述之基 (b)：

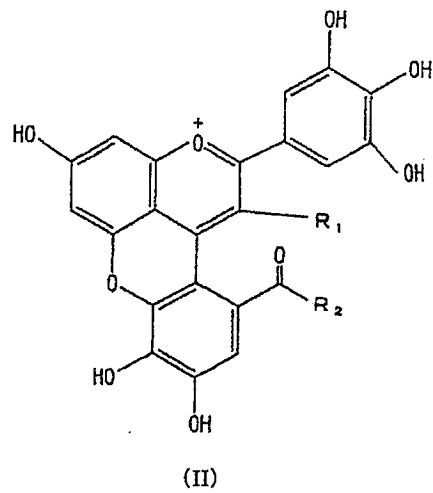
[化 9]



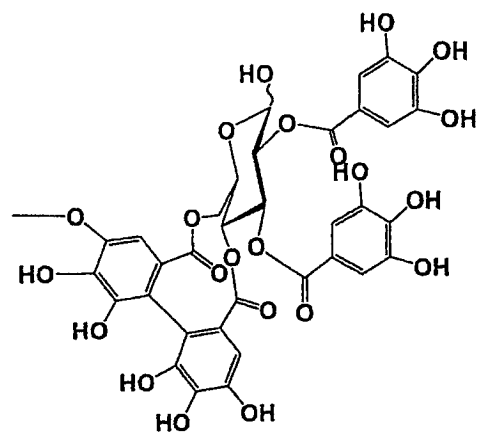
而且

 R_2 為 $-OH$] ,

[化 10]

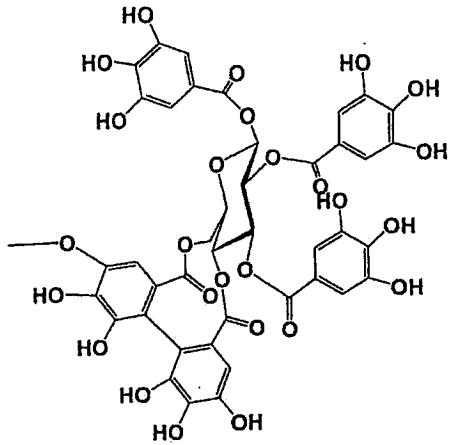
{式中， R_1 為下述之基 (a) :

[化 11]



{惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}，且 R_2 為 $-OH$ 、或 R_1 與 R_2 會一起形成 $-O-$ 、或 R_1 為下述之基(b)：

[化 12]

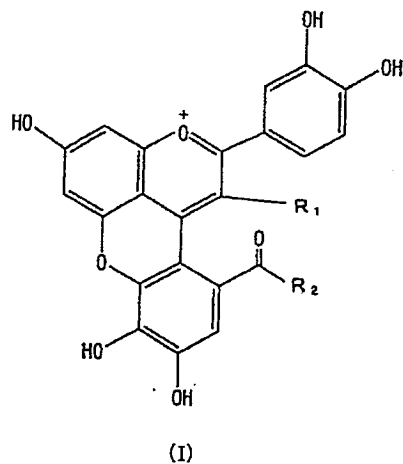


，且 R_2 為 $-OH$ }。

3. 一種用以製造彈性蛋白酶(collagenase)抑制劑之使用，其係選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物：

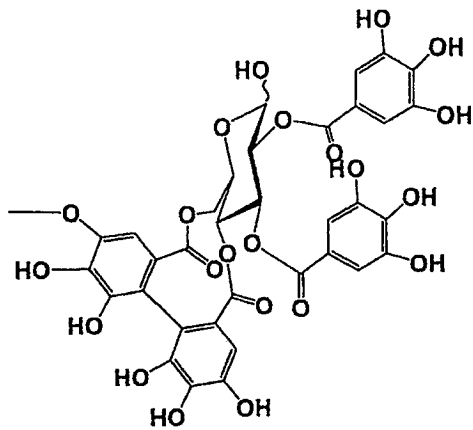
該群組係由下述一般式(I)表示之玫瑰花青苷類化合物及由下述一般式(II)表示之玫瑰飛燕草素苷類化合物而成，

[化 13]



[式中， R_1 及 R_2 會一起形成 -O-；或者、 R_1 為下述之基 (a)：

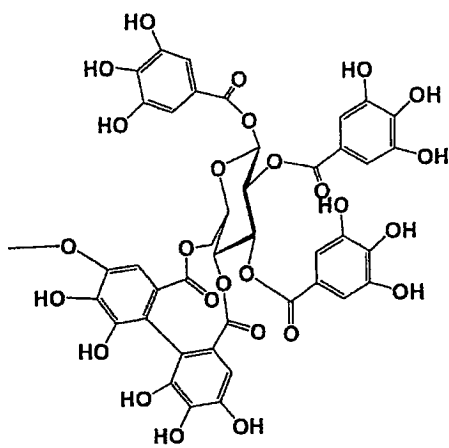
[化 14]



{ 惟，基 (a) 中葡萄糖 1 位之羥基的配位 (波線) 表示 α 體與 β 體的互變異構性 }；

或、下述之基 (b)：

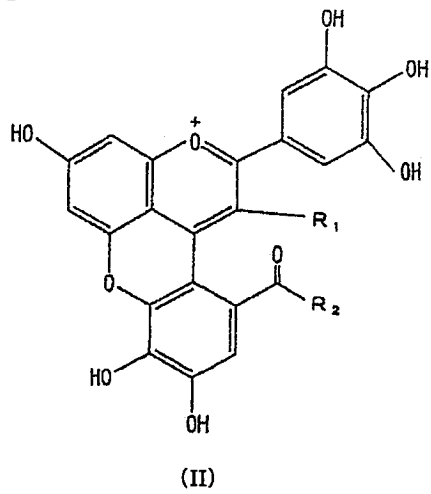
[化 15]



，而且

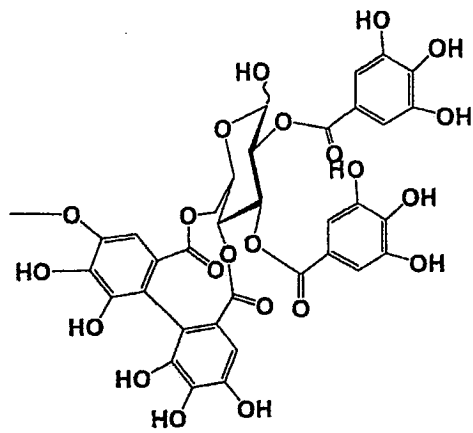
R_2 為 -OH]

[化 16]



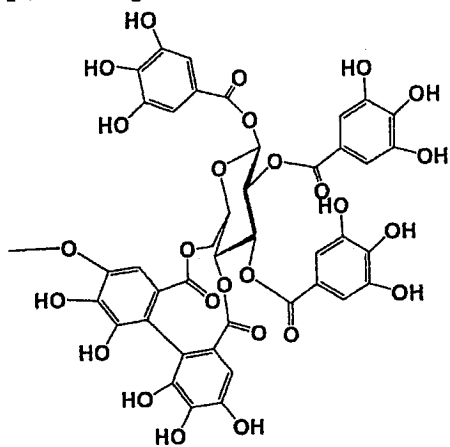
{式中，R₁ 為下述之基(a)：

[化 17]



{惟，基(a)中葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}，且 R₂ 為 -OH、或 R₁ 與 R₂ 會一起形成 -O-、或 R₁ 為下述之基(b)：

[化 18]

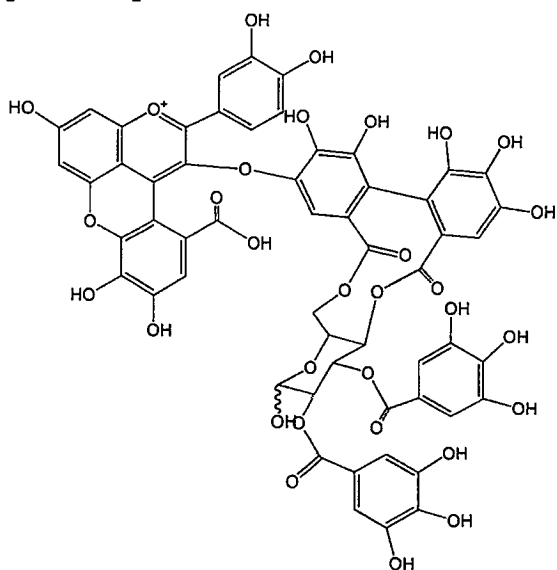


，且 R_2 為 $-OH$ }。

4. 如請求項 1~3 中任一項之使用，其中，前述玫瑰花青苷類化合物為選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物：

該群組係下述式表示之玫瑰花青苷 A1、

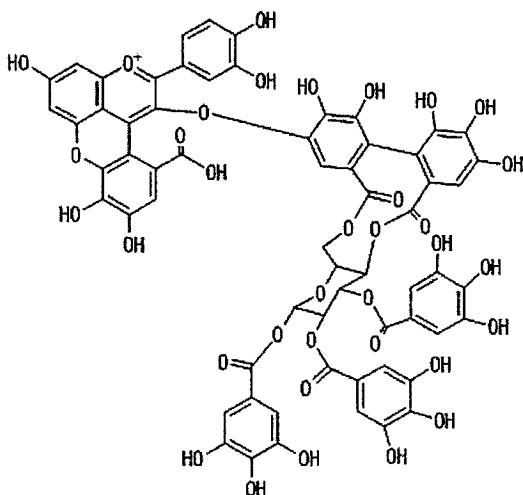
[化 19]



{惟，式中，葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}；

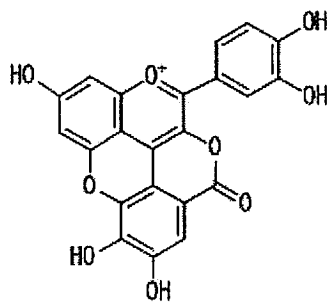
下述式表示之玫瑰花青苷 A2、

[化 20]



及下述式表示之玫瑰花青苷 B 而成，

[化 21]



5.如請求項 1~3 中任一項之使用，作為前述玫瑰花青苷類化合物，其係使用包含前述玫瑰花青苷類化合物之薔薇科之植物的萃取物。

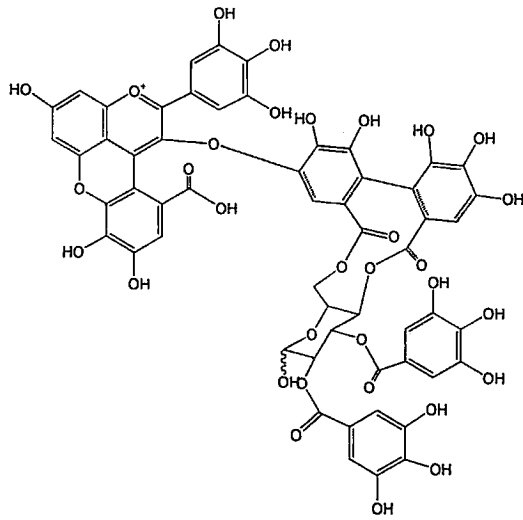
6.如請求項 5 之使用，其中包含

前述玫瑰花青苷類化合物之薔薇科的植物為選自由紫夫人 (Madame Violet)、紫雨 (Purple Rain)、薰衣草 (Lavande)、曼哈頓藍 (Manhattan Blue)、Chantilly Lace、藍月 (Blue Moon)、暮色 (Twilight)、戴高樂 (Charles de Gaulle)、Violet Dolly、藍絲帶 (Blue Ribbon)、青空 (Aozora)、X 女士 (Lady X)、藍寶石 (Blue Bajou)、及純銀 (Sterling silver) 所構成之群組中之一種以上之薔薇科的植物。

7.如請求項 1~3 中任一項之使用，其中，前述玫瑰飛燕草素苷類化合物為選自由以下所構成之群組中之一種以上的化合物：

該群組係下述式表示之玫瑰飛燕草素苷 A1、

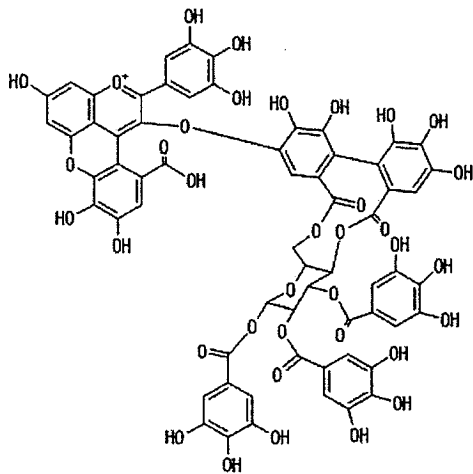
[化 22]



{惟，式中，葡萄糖 1 位之羥基的配位(波線)表示 α 體與 β 體的互變異構性}、

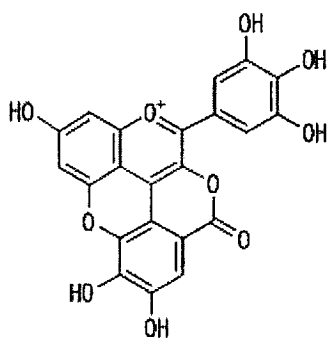
下述式表示之玫瑰飛燕草素苷 A2、

[化 23]



及下述式表示之玫瑰飛燕草素苷 B 而成，

[化 24]



8.如請求項 1~3 中任一項之使用，作為前述玫瑰飛燕草素苷類化合物，其係使用包含前述玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科之植物的萃取物。

9.如請求項 8 之使用，其中，包含前述玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科的植物為具有類黃酮 3',5'-羥化酶基因之薔薇科的植物。

10.如請求項 9 之使用，其中，包含前述玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科的植物為喝采(Applause)(註冊商標)。

11.如請求項 9 之使用，其中，包含前述玫瑰飛燕草素苷類化合物之薔薇科的植物為三得利藍玫瑰喝采(Applause)(商標)。

12.如請求項 1~3 中任一項之使用，其中，玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑為皮膚外用劑。

13.如請求項 1~3 中任一項之使用，其中，玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑為皮膚化妝料。

14.如請求項 1~3 中任一項之使用，其中，玻糖醛酸酶抑制劑、膠原蛋白酶抑制劑、或彈性蛋白酶抑制劑為準藥品(quasi drug)。

15.一種用以製造用以防止或改善皮膚之乾燥、皺紋及鬆弛的皮膚外用劑之使用，其係選自由如請求項 1~4 及 7 中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素

苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或如請求項 5、6 及 8~11 中任一項定義之萃取物。

16.一種用以製造用以防止或改善皮膚之乾燥、皺紋及鬆弛的皮膚化妝料之使用，其係選自由如請求項 1~4 及 7 中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或如請求項 5、6 及 8~11 中任一項定義之萃取物。

17.一種用以製造用以防止或改善皮膚之乾燥、皺紋及鬆弛的準藥品(*quasi drug*)之使用，其係選自由如請求項 1~4 及 7 中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或如請求項 5、6 及 8~11 中任一項定義之萃取物。

18.一種用以製造 MMP-1 產生抑制劑之使用，其係將選自由如請求項 1~4 及 7 中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或如請求項 5、6 及 8~11 中任一項定義之萃取物。

19.一種用以製造膠原合成促進劑之使用，其係選自由如請求項 1~4 及 7 中任一項定義之玫瑰花青苷類化合物及玫瑰飛燕草素苷類化合物所構成之群組中之一種以上的化合物、或如請求項 5、6 及 8~11 中任一項定義之萃取物。