

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)公開番号

特開2023-7747

(P2023-7747A)

(43)公開日 令和5年1月19日(2023.1.19)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	36/14 (2006.01)	A 6 1 K	36/14	Z N A	4 B 0 1 8
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	4 C 0 8 3
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 7	4 C 0 8 8
A 6 1 K	8/9761(2017.01)	A 6 1 P	17/00		
A 6 1 Q	19/00 (2006.01)	A 6 1 K	8/9761		
		審査請求	未請求	請求項の数	4 O L (全12頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2021-110789(P2021-110789)	(71)出願人	592262543 日本メナード化粧品株式会社 愛知県名古屋市西区鳥見町2丁目130番地
(22)出願日	令和3年7月2日(2021.7.2)	(72)発明者	瀬岡 真緒 名古屋市西区鳥見町2-7 日本メナード化粧品株式会社 総合研究所内
		(72)発明者	村上 祐子 名古屋市西区鳥見町2-7 日本メナード化粧品株式会社 総合研究所内
		(72)発明者	坂井田 勉 名古屋市西区鳥見町2-7 日本メナード化粧品株式会社 総合研究所内
		Fターム(参考)	4B018 LB08 LB10 LE01 LE02 MD07 MD09 MD30 MD 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 MMP阻害剤、ヒアルロン酸産生促進剤及び内用剤

(57)【要約】 (修正有)

【課題】MMP阻害作用及びヒアルロン酸産生促進作用に優れた新規な外用剤又は内用剤を提供する。

【解決手段】ジュニパーベリーの抽出物は、優れたMMP阻害作用及びヒアルロン酸産生促進作用を有し、安定性にも優れていた。ジュニパーベリーの抽出物は、皮膚の老化予防といった美容分野だけではなく、老化による機能低下の抑制、ガンの予防、治療等といった医療分野にも利用でき、化粧品、食品、医薬部外品及び医薬品等への応用が期待される。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ジュニパーベリーの抽出物を含有することを特徴とする MMP 阻害剤。

【請求項 2】

ジュニパーベリーの抽出物を含有することを特徴とする MMP の亢進が原因で起こる各種疾患の予防改善用食品組成物。

【請求項 3】

ジュニパーベリーの抽出物を含有することを特徴とするヒアルロン酸産生促進剤。

【請求項 4】

ジュニパーベリーの抽出物を含有することを特徴とするシワ改善剤。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、MMP 阻害剤、ヒアルロン酸産生促進剤及び内用剤に関する。

【背景技術】

【0002】

真皮には線維芽細胞やコラーゲンが存在し、I 型コラーゲンが全体の 80% を占める。I 型コラーゲンの他には、III、V、XII 及び XIV 型コラーゲンの存在が知られている。シワやたるみの原因の一つとして、I 型コラーゲンの減少が挙げられる。従って、I 型コラーゲンの産生を促進させることがシワ・たるみの予防・改善に有効であると考えられる。また、I 型コラーゲンの産生促進は皮膚の創傷治癒の改善にも有効である。

20

【0003】

また、皮膚は紫外線その他、乾燥、寒冷、熱、薬物等の様々な物理的及び化学的ストレスに日々曝されている。その結果、皮膚の機能低下が引き起こされ、様々な皮膚の老化現象が顕在化する。皮膚の老化現象の一つにシワがある。シワには、表皮性のシワと、真皮性のシワの二種類が存在することが知られている。表皮性のシワは小ジワと呼ばれ、皮膚の乾燥により、表皮角質中の水分量が低下することによって一時的に生じるシワである。一方、真皮性のシワは、太陽光線に含まれる紫外線や加齢によって形成されるシワである。その形成メカニズムとしては、紫外線や加齢による真皮線維芽細胞におけるコラーゲン合成能の低下や、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の増加によるコラーゲンの分解促進が挙げられる。

30

【0004】

乾燥に起因する表皮性のシワと真皮性のシワでは、組織学的形態、発症メカニズム、治療方法が異なり、紫外線や加齢により生じる真皮性のシワは、保湿効果を有する化粧品の使用によって改善することは困難である。

【0005】

これまでに、紫外線によって生じる真皮性のシワを改善することを目的として、加水分解アーモンドを有効成分とする皮膚のシワ形成防止・改善剤 (特許文献 1)、ジョチヨウケイ、テンキシ及びキセンソウの抽出物を有効成分とする紫外線照射に起因するシワの改善剤 (特許文献 2) が報告されている。

40

【0006】

また、コラーゲンは、哺乳動物組織の約 1/3 を占める主要な構造タンパク質であり、軟骨、骨、腱、及び皮膚等の、多くのマトリックス組織の必須な成分である。MMP に属するコラゲナーゼ (MMP-1) により一箇所を切断されると、通常組織内では安定なコラーゲン分子は、変性して一本鎖のゼラチンとなり、他の様々なプロテアーゼにより分解されるようになる。その結果、マトリックス組織の構造の完全性が失われてしまう。

【0007】

コラゲナーゼの阻害活性を有する素材として、例えば、カカオ豆皮であるカカオハスク抽出物 (特許文献 3)、バラ科オニチゴ抽出物 (特許文献 4)、ラクトフェリン (特許文献 5) 等が提案されている。皮膚老化や口腔衛生にますます関心が高まっている状況下

50

で、副作用がなく、安全性が高い、コラゲナーゼ活性阻害作用の優れた素材を見出すことが求められている。

【0008】

MMPに属するゼラチナーゼ(MMP-2)は、線維芽細胞や内皮細胞、ガン細胞等が産生する酵素であり、コラーゲン、ゼラチン、エラスチン(動脈、腱、皮膚等の弾性組織の特殊成分を成す構造タンパク質)等の基質を分解する。従って、ゼラチナーゼに対して阻害活性を有する物質は、ガン組織における血管新生やガンの転移を抑制する効果が期待され、ガン疾患の予防、治療に有用であると考えられる。更にMMPの阻害はガン疾患のみならず、潰瘍形成、慢性関節リウマチ、骨粗鬆症、歯周炎等、MMPの亢進が原因で起こる各種疾患の予防、治療及び改善に有用である。

10

【0009】

また、線維芽細胞はコラーゲン等のタンパク質及びヒアルロン酸等のグリコサミノグリカンを生産して真皮結合組織を形成し、皮膚のハリを保っている。この結合組織が収縮力を失い、更に弾性を失う結果として、皮膚のシワやたるみが発生すると考えられている。

【0010】

特にヒアルロン酸は結合組織に広く分布する高分子多糖体として知られており、真皮中でゲル状の形態を呈し、肌の弾力を維持している。従って、ヒアルロン酸の変質や減少が皮膚老化において重要であると考えられている。また、ヒアルロン酸は高分子であるため、それを含有した化粧品を皮膚に直接塗布しても吸収されにくいという問題があった。そこで、これまで、線維芽細胞を活性化することで、細胞自らのコラーゲンやヒアルロン酸の産生を促進させることができる皮膚外用剤が模索されてきた(特許文献6)。

20

【0011】

また、ヒアルロン酸は関節にも存在しており、関節の荷重の衝撃を和らげたり、関節の動きを滑らかにしたりする機能を果たしていることが知られている。正常人間関節液中のヒアルロン酸濃度は約2.3mg/mLであるが、慢性関節リウマチの場合、関節液中のヒアルロン酸濃度は約1.2mg/mLと低下し、同時に関節液の粘度も著しく低下する(非特許文献1)。また、化膿性関節炎や痛風性関節炎等でも、慢性関節リウマチの場合と同様、ヒアルロン酸含量の低下が起こることが知られている(非特許文献2)。上記疾患において、潤滑機能の改善、関節軟骨の被覆・保護、疼痛抑制及び病的関節液の改善のために、関節液中のヒアルロン酸量を増加させることが考えられる。例えば、慢性関節リウマチの患者にヒアルロン酸ナトリウムの関節注入法を行うと、上記の症状の改善が認められることが知られている(非特許文献3)。しかしながら、上記疾患の治療は長期に渡る。従って、日常生活の中で手軽に予防や治療等ができるように、ヒアルロン酸産生促進剤を含有させた皮膚外用剤や食品、医薬品が望まれている。

30

【0012】

飛蚊症とは、視界内に糸くずや蚊のように見える薄い影が現れる症状で、目の内部を満たす硝子体内の混濁が網膜上に影を落とすことで発生する。飛蚊症は大きく2種類に分けることができ、加齢や紫外線、活性酸素等の影響で発症する生理的飛蚊症と、網膜剥離、網膜裂孔、硝子体出血、ぶどう膜炎等の疾患の一症状として現れる病的飛蚊症がある。生理的飛蚊症は、硝子体の主要成分であるヒアルロン酸の減少による液状化と、それに伴うコラーゲン線維の分解で硝子体内が混濁することで生じる。治療法として、硝子体切除手術やレーザー治療があるが、これらの施術は安全性の観点から日本ではあまり行われていないという実情があり、海外で治療を行うには多額の費用が必要となる。そのため、生理的飛蚊症を予防改善するためには日常的に利用可能なヒアルロン酸産生促進剤を含有させた食品や医薬品が望まれている。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0013】

【特許文献1】特開2000-119125号公報

50

【特許文献2】特開2006-199611号公報

【特許文献3】特開平3-44331号公報

【特許文献4】特開2003-137801号公報

【特許文献5】特開平5-186368号公報

【特許文献6】特開2007-1924号公報

【非特許文献】

【0014】

【非特許文献1】“Arthritis Rheumatism”, vol. 10, pp 357, 1967

【非特許文献2】「結合組成」、金原出版、481項、1984年

10

【非特許文献3】「炎症」、日本炎症学会、11巻、16項、1991年

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0015】

安全で安定性に優れ、MMP阻害作用及びヒアルロン酸産生促進作用に優れた素材が望まれているが、未だ十分満足し得るものが提供されていないのが現状である。

【課題を解決するための手段】

【0016】

このような事情により、本発明者らは鋭意検討した結果、ジュニパーベリーの抽出物が優れたMMP阻害作用及びヒアルロン酸産生促進作用を持ち、安定性においても優れていることを見出した。更に、その抽出物を含有する外用剤又は内用剤が、安全で安定であり、MMP阻害作用に優れており、多機能性美容・健康用素材、医薬品と成り得ることを見出し、本発明を完成するに至った。

20

【0017】

即ち、本発明は以下の発明を包含する。

(1) ジュニパーベリーの抽出物を含有することを特徴とするMMP阻害剤。

(2) ジュニパーベリーの抽出物を含有することを特徴とするMMPの亢進が原因で起こる各種疾患の予防改善用食品組成物。

(3) ジュニパーベリーの抽出物を含有することを特徴とするヒアルロン酸産生促進剤。

(4) ジュニパーベリーの抽出物を含有することを特徴とするシワ改善剤。

30

【発明の効果】

【0018】

本発明によれば、ジュニパーベリーの抽出物を有効成分として含有するMMP阻害剤及びヒアルロン酸産生促進剤が提供される。

【発明を実施するための形態】

【0019】

本発明に用いるジュニパーベリー(学名: *Juniperus communis*)は、別名をセイヨウネズという、ヒノキ科ビャクシン属に属する針葉樹である。乾燥耐性があり、寒冷地帯に自生し、日本では北海道などでみられる。果実は黒紫色をした漿果で、葉は常緑の針葉である。本発明において、ジュニパーベリーの抽出物とは、その果実の抽出物をいう。また、抽出には、植物体をそのまま使用しても良く、乾燥、粉碎、細切等の処理を行っても良い。

40

【0020】

抽出方法は、特に限定されないが、水もしくは熱水、又は水と有機溶媒の混合溶媒を用い、攪拌又はカラム抽出する方法等により行うことができる。抽出溶媒としては、例えば、水、低級アルコール類(メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール等)、液状多価アルコール類(1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン等)、ケトン類(アセトン、メチルエチルケトン等)、アセトニトリル、エステル類(酢酸エチル、酢酸ブチル等)、炭化水素類(ヘキサン、ヘプタン、流動パラフィン等)、エーテル類(エチルエーテル、テトラヒドロ

50

フラン、プロピルエーテル等)が挙げられる。好ましくは、水、低級アルコール及び液状多価アルコール等の極性溶媒が良く、特に好ましくは、水、エタノール、1,3-ブチレングリコール及びプロピレングリコールが良い。これらの溶媒は一種でも二種以上を混合して用いても良い。特に好ましい抽出溶媒としては、水、水-エタノールの混合極性溶媒又は水-1,3-ブチレングリコールの混合極性溶媒が挙げられる。溶媒の使用量については、特に限定はなく、例えばジュニパーベリーの果実(乾燥重量)に対し、10倍以上、好ましくは20倍以上であれば良いが、抽出後に濃縮を行ったり、単離したりする場合の操作の便宜上100倍以下であることが好ましい。また、抽出温度や時間は、用いる溶媒の種類や抽出時の圧力等によって適宜選択できる。

【0021】

上記抽出物は、抽出した溶液のまま用いても良いが、必要に応じて、本発明の効果を奏する範囲で、濃縮(減圧濃縮、膜濃縮等による濃縮)、希釈、濾過、活性炭等による脱色、脱臭、エタノール沈殿等の処理を行ってから用いても良い。更には、抽出した溶液を濃縮乾固、噴霧乾燥、凍結乾燥等の処理を行い、乾燥物として用いても良い。

【0022】

本発明は、上記抽出物をそのまま使用しても良く、抽出物の効果を損なわない範囲で、化粧品、医薬部外品、医薬品又は食品等に用いられる成分である油脂類、ロウ類、炭化水素類、脂肪酸類、アルコール類、エステル類、界面活性剤、金属石鹼、pH調整剤、防腐剤、香料、保湿剤、粉体、紫外線吸収剤、増粘剤、色素、酸化防止剤、美白剤、キレート剤、賦形剤、皮膜剤、甘味料、酸味料等の成分が含有されていても良い。

【0023】

本発明は、化粧品、医薬部外品、医薬品、食品のいずれにも用いることができ、その剤形としては、例えば、化粧水、クリーム、乳液、ゲル剤、エアゾール剤、エッセンス、パック、洗浄剤、浴用剤、ファンデーション、打粉、口紅、軟膏、パップ剤、錠剤、チョコレート、ガム、飴、飲料、散剤、顆粒剤、錠剤、糖衣錠剤、カプセル剤、シロップ剤、丸剤、懸濁剤、液剤、乳剤、坐剤、注射用溶液等が挙げられる。

【0024】

外用の場合、本発明に用いる上記抽出物の含有量は、固形物に換算して0.0001重量%以上が好ましく、0.001~10重量%がより好ましい。更に、0.01~5重量%が最も好ましい。0.0001重量%未満では十分な効果は望みにくい。10重量%を超えると、効果の増強は認められにくく不経済である。

【0025】

内用の場合、摂取量は年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なる。通常、成人1人当たりの1日の摂取量としては、5mg以上が好ましく、10mg~5gがより好ましい。更に、20mg~2gが最も好ましい。

【0026】

次に本発明を詳細に説明するため、実施例として本発明に用いる抽出物の製造例、処方例及び実験例を挙げるが、本発明はこれに限定されるものではない。特記していない場合は、実施例に示す%とは重量%を示す。

【実施例1】

【0027】

ジュニパーベリーの抽出物の製造例

ジュニパーベリーの抽出物を以下の通り製造した。製造例1~4において、抽出材料にはジュニパーベリーの果実を用いた。

【0028】

(製造例1)ジュニパーベリーの熱水抽出物の調製

ジュニパーベリーの乾燥物10gに200mLの水を加え、95~100で2時間抽出した。得られた抽出液を濾過し、その濾液を濃縮し、凍結乾燥してジュニパーベリーの熱水抽出物を3.3g得た。

【0029】

10

20

30

40

50

(製造例 2) ジュニパーベリーの 50% エタノール抽出物の調製

ジュニパーベリーの乾燥物 10 g を 200 mL の 50% エタノール水溶液に室温で 7 日間浸漬し、抽出を行った。得られた抽出液を濾過した後、エバポレーターで濃縮乾固してジュニパーベリーの 50% エタノール抽出物を 3.7 g 得た。

【0030】

(製造例 3) ジュニパーベリーの エタノール抽出物の調製

ジュニパーベリーの乾燥物 10 g を 200 mL の エタノールに室温で 7 日間浸漬し、抽出を行った。得られた抽出液を濾過した後、エバポレーターで濃縮乾固してジュニパーベリーの エタノール抽出物を 2.1 g 得た。

【0031】

(製造例 4) ジュニパーベリーの 1, 3 - ブチレングリコール抽出物の調製

ジュニパーベリーの乾燥物 10 g を 200 mL の 1, 3 - ブチレングリコールに室温で 7 日間浸漬し、抽出を行った。得られた抽出液を濾過して、ジュニパーベリーの 1, 3 - ブチレングリコール抽出物を 192 g 得た。

【実施例 2】

【0032】

(処方例 1) 化粧水

処方	含有量 (%)	
1. ジュニパーベリーの熱水抽出物 (製造例 1)	2.0	
2. 1, 3 - ブチレングリコール	8.0	20
3. グリセリン	2.0	
4. キサンタンガム	0.02	
5. クエン酸	0.01	
6. クエン酸ナトリウム	0.1	
7. エタノール	5.0	
8. パラオキシ安息香酸メチル	0.1	
9. ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (40E.O.)	0.1	
10. 香料	適量	
11. 精製水にて全量を 100 とする		
[製造方法] 成分 1 ~ 6 及び 11 と、成分 7 ~ 10 をそれぞれ均一に溶解し、両者を混合し濾過して製品とする。		30

【0033】

(比較処方例 1) 従来の化粧水

処方例 1 において、ジュニパーベリーの熱水抽出物を精製水に置き換えたものを、従来の化粧水とした。

【0034】

(処方例 2) クリーム

処方	含有量 (%)	
1. ジュニパーベリーの 50% エタノール抽出物 (製造例 2)	1.0	
2. スクワラン	5.5	40
3. オリーブ油	3.0	
4. ステアリン酸	2.0	
5. ミツロウ	2.0	
6. ミリスチン酸オクチルドデシル	3.5	
7. ポリオキシエチレンセチルエーテル (20E.O.)	3.0	
8. ベヘニルアルコール	1.5	
9. モノステアリン酸グリセリン	2.5	
10. 香料	0.1	
11. パラオキシ安息香酸メチル	0.2	
12. 1, 3 - ブチレングリコール	8.5	50

13. 精製水にて全量を100とする

[製造方法] 成分2～9を加熱溶解して混合し、70に保ち油相とする。成分1及び11～13を加熱溶解して混合し、75に保ち水相とする。油相に水相を加えて乳化して、かき混ぜながら冷却し、45で成分10を加え、更に30まで冷却して製品とする。

【0035】

(比較処方例2) 従来のクリーム

処方例2において、ジュニパーベリーの50%エタノール抽出物を精製水に置き換えたものを、従来のクリームとした。

【0036】

(処方例3) 乳液

処方	含有量(%)	
1. ジュニパーベリーのエタノール抽出物(製造例3)	0.01	
2. スクワラン	5.0	
3. オリーブ油	5.0	
4. ホホバ油	5.0	
5. セタノール	1.5	
6. モノステアリン酸グリセリン	2.0	
7. ポリオキシエチレンセチルエーテル(20E.O.)	3.0	
8. ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート(20E.O.)	2.0	20
9. 香料	0.1	
10. プロピレングリコール	1.0	
11. グリセリン	2.0	
12. パラオキシ安息香酸メチル	0.2	
13. 精製水にて全量を100とする		
[製造方法] 成分1～8を加熱溶解して混合し、70に保ち油相とする。成分10～13を加熱溶解して混合し、75に保ち水相とする。油相に水相を加えて乳化して、かき混ぜながら冷却し、45で成分9を加え、更に30まで冷却して製品とする。		

【0037】

(処方例4) ゲル剤

処方	含有量(%)	
1. ジュニパーベリーの		
1,3-ブチレングリコール抽出物(製造例4)	1.0	
2. エタノール	5.0	
3. パラオキシ安息香酸メチル	0.1	
4. ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(60E.O.)	0.1	
5. 香料	適量	
6. 1,3-ブチレングリコール	5.0	
7. グリセリン	5.0	
8. キサンタンガム	0.1	40
9. カルボキシビニルポリマー	0.2	
10. 水酸化カリウム	0.2	
11. 精製水にて全量を100とする		
[製造方法] 成分2～5と、成分1及び6～11をそれぞれ均一に溶解し、両者を混合して製品とする。		

【0038】

(処方例5) パック

処方	含有量(%)	
1. ジュニパーベリーの熱水抽出物(製造例1)	1.0	
2. ジュニパーベリーの		50

1, 3 - ブチレングリコール抽出物 (製造例 4)	5.0	
3. ポリビニルアルコール	12.0	
4. エタノール	5.0	
5. 1, 3 - ブチレングリコール	8.0	
6. パラオキシ安息香酸メチル	0.2	
7. ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (20E.O.)	0.5	
8. クエン酸	0.1	
9. クエン酸ナトリウム	0.3	
10. 香料	適量	
11. 精製水にて全量を 100 とする		10

[製造方法] 成分 1 ~ 11 を均一に溶解し製品とする。

【0039】

(処方例 6) ファンデーション

処方	含有量 (%)	
1. ジュニパーベリーの 50% エタノール抽出物 (製造例 2)	1.0	
2. ステアリン酸	2.4	
3. ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート (20E.O.)	1.0	
4. ポリオキシエチレンセチルエーテル (20E.O.)	2.0	
5. セタノール	1.0	
6. 液状ラノリン	2.0	20
7. 流動パラフィン	3.0	
8. ミリスチン酸イソプロピル	6.5	
9. カルボキシメチルセルロースナトリウム	0.1	
10. ベントナイト	0.5	
11. プロピレングリコール	4.0	
12. トリエタノールアミン	1.1	
13. パラオキシ安息香酸メチル	0.2	
14. 二酸化チタン	8.0	
15. タルク	4.0	
16. ベンガラ	1.0	30
17. 黄酸化鉄	2.0	
18. 香料	適量	
19. 精製水にて全量を 100 とする		

[製造方法] 成分 2 ~ 8 を加熱溶解し、80 に保ち油相とする。成分 19 に成分 9 をよく膨潤させ、続いて、成分 1 及び 10 ~ 13 を加えて均一に混合する。これに粉碎機で粉碎混合した成分 14 ~ 17 を加え、ホモミキサーで攪拌し 75 に保ち水相とする。油相に水相をかき混ぜながら加え、乳化する。その後、冷却し、45 で成分 18 を加え、かき混ぜながら 30 まで冷却して製品とする。

【0040】

(処方例 7) 浴用剤

処方	含有量 (%)	
1. ジュニパーベリーの エタノール抽出物 (製造例 3)	1.0	
2. 炭酸水素ナトリウム	50.0	
3. 黄色 202 号 (1)	適量	
4. 香料	適量	
5. 硫酸ナトリウムにて全量を 100 とする		

[製造方法] 成分 1 ~ 5 を均一に混合し製品とする。

【0041】

(処方例 8) 軟膏

処方	含有量 (%)	50
----	---------	----

1. ジュニパーベリーの熱水抽出物 (製造例 1)	5.0
2. ジュニパーベリーの 1, 3-ブチレングリコール抽出物 (製造例 4)	1.0
3. ポリオキシエチレンセチルエーテル (30E.O.)	2.0
4. モノステアリン酸グリセリン	10.0
5. 流動パラフィン	5.0
6. セタノール	6.0
7. パラオキシ安息香酸メチル	0.1
8. プロピレングリコール	10.0
9. 精製水にて全量を 100 とする	

10

[製造方法] 成分 3 ~ 6 を加熱溶解して混合し、70 に保ち油相とする。成分 1、2 及び 7 ~ 9 を加熱溶解して混合し、75 に保ち水相とする。油相に水相を加えて乳化して、かき混ぜながら 30 まで冷却して製品とする。

【0042】

(処方例 9) 散剤

処方

含有量 (%)

1. ジュニパーベリーの熱水抽出物 (製造例 1)	1.0
2. 乾燥コーンスターチ	39.0
3. 微結晶セルロース	60.0

[製造方法] 成分 1 ~ 3 を混合し、散剤とする。

20

【0043】

(処方例 10) 錠剤

処方

含有量 (%)

1. ジュニパーベリーのエタノール抽出物 (製造例 3)	5.0
2. 乾燥コーンスターチ	25.0
3. カルボキシメチルセルロースカルシウム	20.0
4. 微結晶セルロース	40.0
5. ポリビニルピロリドン	7.0
6. タルク	3.0

[製造方法] 成分 1 ~ 4 を混合し、次いで成分 5 の水溶液を結合剤として加えて顆粒成型する。成型した顆粒に成分 6 を加えて打錠する。1錠 0.52g とする。

30

【0044】

(処方例 11) 錠菓

処方

含有量 (%)

1. ジュニパーベリーのエタノール抽出物 (製造例 3)	2.0
2. 乾燥コーンスターチ	49.8
3. エリスリトール	40.0
4. クエン酸	5.0
5. ショ糖脂肪酸エステル	3.0
6. 香料	0.1
7. 精製水	0.1

[製造方法] 成分 1 ~ 4 及び 7 を混合し、顆粒成型する。成型した顆粒に成分 5 及び 6 を加えて打錠する。1粒 1.0g とする。

40

【0045】

(処方例 12) 飲料

処方

含有量 (%)

1. ジュニパーベリーの熱水抽出物 (製造例 1)	0.05
2. ステビア	0.05
3. リンゴ酸	5.0
4. 香料	0.1

50

5. 精製水にて全量を100とする

[製造方法] 成分1~3を少量の水に溶解する。次いで、成分4及び5を加えて混合する。

【0046】

次に、本発明の効果を詳細に説明するため、実験例を挙げる。

【実施例3】

【0047】

(実験例1) MMP-1、MMP-2及びヒアルロン酸合成酵素2(HAS-2) mRNA発現量の測定

MMP-1、MMP-2及びHAS-2 mRNA発現量の測定を行った。ヒト皮膚線維芽細胞を60mm dishに 1×10^5 個播種し、10% FBSを含むDMEM培養液にて、37℃、5% CO₂条件下で培養した。コンフルエントな状態になったところで、各試料を最終濃度1、10又は100 µg/mLとなるように添加したDMEM(-)培養液にて24時間培養した後、総RNAの抽出を行った。細胞からの総RNAの抽出はRNAiso Plus(タカラバイオ)を用いて行い、総RNA量は分光光度計(Nanodrop)を用いて260nmにおける吸光度により求めた。mRNA発現量の測定は、細胞から抽出した総RNAを基にしてリアルタイムRT-PCR法により行った。リアルタイムRT-PCR法には、High Capacity RNA-to-cDNA Kit(Applied Biosystems)及びSYBR Select Master Mix(Applied Biosystems)を用いた。即ち、500ngの総RNAを逆転写反応後、PCR反応(95℃:15秒間、60℃:60秒間、40cycles)を行った。その他の操作は定められた方法に従い、MMP-1、MMP-2及びHAS-2 mRNAの発現量を、内部標準であるactin mRNAの発現量に対する割合として求めた。MMP-1発現抑制率、MMP-2発現抑制率及びHAS-2発現促進率は、Control(試料未添加)群のMMP-1、MMP-2及びHAS-2 mRNAの発現量に対する試料添加群のMMP-1、MMP-2及びHAS-2 mRNAの発現量の比率として算出した。尚、各遺伝子の発現量の測定に使用したプライマーは次の通りである。

【0048】

MMP-1用のプライマーセット

GGGAGATCATCGGGACAACTC(配列番号1)

TGAGCATCCCTCCAATACC(配列番号2)

MMP-2用のプライマーセット

CCGTCGCCCATCATCAA(配列番号3)

CTTCTGCATCTTCTTTAGTGTGTCTCTT(配列番号4)

HAS-2用のプライマーセット

TGGATGACCTACGAAGCGATTA(配列番号5)

GCTGGATTACTGTGGCAATGAG(配列番号6)

-actin用のプライマーセット

CACTCTTCCAGCCTTCCTTCC(配列番号7)

GTGTTGGCGTACAGGTCTTTG(配列番号8)

【0049】

これらの実験結果を表1~3に示した。その結果、本発明のジュニパーベリーの抽出物には、優れたMMP-1発現抑制効果(MMP-1阻害作用)、MMP-2発現抑制効果(MMP-2阻害作用)及びHAS-2発現促進効果が認められた。特にジュニパーベリーの50%エタノール抽出物(製造例2)のMMP-1発現抑制効果、MMP-2発現抑制効果及びHAS-2発現促進効果において、顕著に効果が高かった。尚、他の抽出方法で得られたジュニパーベリーの抽出物(製造例4)にも同等の効果が認められた。

【0050】

【表 1】

試料	試験終濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MMP-1 発現量 (% of Control)
熱水抽出物 (製造例 1)	100	23.4
50%エタノール抽出物 (製造例 2)	10	19.2
エタノール抽出物 (製造例 3)	10	35.3

【0051】

【表 2】

試料	試験終濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MMP-2 発現量 (% of Control)
熱水抽出物 (製造例 1)	100	39.0
50%エタノール抽出物 (製造例 2)	10	22.3
エタノール抽出物 (製造例 3)	10	40.5

【0052】

【表 3】

試料	試験終濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	HAS-2 発現量 (% of Control)
熱水抽出物 (製造例 1)	1	155.8
50%エタノール抽出物 (製造例 2)	10	366.6
エタノール抽出物 (製造例 3)	10	249.4

【実施例 4】

【0053】

(実験例 2) 使用試験

処方例 2 のクリーム及び比較処方例 2 の従来 of クリームを用いて、シワ、たるみがある 5 人 (25 ~ 66 歳) を対象に 1 ヶ月間の使用試験を行った。使用後、シワ、たるみの程度をアンケートにより判定した。

【0054】

その結果、本発明の抽出物を含有するクリームにより、シワ、たるみが軽減した。尚、試験期間中、皮膚トラブルは 1 人もなく、安全性においても問題なかった。また、処方成分の劣化についても問題なかった。

【0055】

また、処方例 1 の化粧水及び比較処方例 1 の従来 of 化粧水を用い、同様に使用試験を行った。その結果、本発明の抽出物を含有する化粧水により、シワ、たるみの軽減が認められた。

【産業上の利用可能性】

【0056】

以上のことから、本発明のジュニパーベリーの抽出物は、優れた MMP 阻害作用を有し、安定性にも優れていた。よって、本発明のジュニパーベリーの抽出物は、皮膚の老化といった美容分野だけではなく、老化による機能低下の抑制、ガンの予防、治療等といった医療分野にも利用でき、化粧品、食品、医薬部外品及び医薬品への応用が期待される。

【配列表】

[2023007747000001.app](#)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 Q 19/08 (2006.01)
A 2 3 L 33/105 (2016.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 1/04 (2006.01)
 A 6 1 P 19/02 (2006.01)
 A 6 1 P 29/00 (2006.01)
 A 6 1 P 1/02 (2006.01)
 A 6 1 K 131/00 (2006.01)

F I

A 6 1 Q 19/00
 A 6 1 Q 19/08
 A 2 3 L 33/105
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 1/04
 A 6 1 P 19/02
 A 6 1 P 29/00 1 0 1
 A 6 1 P 1/02
 A 6 1 K 131:00

テーマコード (参考)

F ターム (参考)

32 MD34 MD35 MD42 MD52 ME14 MF01
 4C083 AA082 AA111 AA112 AA122 AB032 AB232 AB242 AB312 AB352 AB432
 AB442 AC022 AC072 AC102 AC122 AC182 AC242 AC302 AC352 AC422 AC432
 AC442 AC482 AC542 AC842 AD092 AD112 AD272 AD352 AD512 CC04 CC05
 CC07 CC12 CC25 DD23 DD31 DD41 EE12
 4C088 AB03 AC04 CA05 CA06 MA28 MA35 MA43 NA14 ZA67 ZA68
 ZA96 ZA97 ZB15 ZB22 ZB26 ZC20 ZC52