

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4598381号  
(P4598381)

(45) 発行日 平成22年12月15日(2010.12.15)

(24) 登録日 平成22年10月1日(2010.10.1)

(51) Int.Cl.

F 1

<b>A61K 36/48</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 K 35/78	J
<b>A61P 17/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 P 17/00	
<b>A61K 8/97</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 K 8/97	
<b>A61Q 19/02</b>	<b>(2006.01)</b>	A 61 Q 19/02	

請求項の数 4 (全 8 頁)

(21) 出願番号

特願2003-354808 (P2003-354808)

(22) 出願日

平成15年10月15日 (2003.10.15)

(65) 公開番号

特開2005-119993 (P2005-119993A)

(43) 公開日

平成17年5月12日 (2005.5.12)

審査請求日

平成18年9月7日 (2006.9.7)

(73) 特許権者 596162360

田北 雅夫

奈良県大和郡山市箕山町10番7号

(74) 代理人 100074206

弁理士 鎌田 文二

(74) 代理人 100084858

弁理士 東尾 正博

(74) 代理人 100087538

弁理士 鳥居 和久

(72) 発明者 田北 雅夫

奈良県大和郡山市箕山町10番7号

審査官 金子 亜希

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】美白性皮膚外用剤およびその製造方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

生薬である甘草の水性溶媒抽出液から懸濁物質を除去し、分取した透明性液体を濃縮し、この濃縮物を前記水性溶媒で希釈し、この濃縮および希釈過程で生じる前記水性溶媒に対する不溶性物質を分離して得るリクイリチンおよびグラブリジン非含有のチロシナーゼ阻害活性を有しない液体を有効成分として含有する美白用皮膚外用剤。

## 【請求項2】

生薬である甘草の水性溶媒抽出液を固液分離して透明性液体を濃縮し、分取した濃縮液を前記水性溶媒で希釈すると共に、生じた不溶物を分離除去し、得られたリクイリチンおよびグラブリジン非含有のチロシナーゼ阻害活性を有しない液体を有効成分として配合することからなる美白用皮膚外用剤の製造方法。

10

## 【請求項3】

濃縮が、複数回である請求項2に記載の美白用皮膚外用剤の製造方法。

## 【請求項4】

不溶性物質の分離が、活性炭もしくはタルクまたは両者の混合物からなる固体吸着剤に液体を接触させてから固体物を分離することである請求項2または3に記載の美白用皮膚外用剤の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

20

この発明は、皮膚の色素沈着を予防したまは沈着した色素を淡白化する化粧料等に用いる美白性皮膚外用剤およびその製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

一般に、ヒトの皮膚の表皮に存在するメラニン色素は、色素細胞によって産出されて皮膚の新陳代謝で自然に排出されるものであるが、多量の紫外線を浴びた後に、新陳代謝機能が充分に働く場合は、表皮や真皮内に残存するメラニン色素が沈着してしまい、シミやソバカスなどの皮膚に異常な色素沈着症状が起こることになる。

【0003】

ところで、漢方薬として知られる甘草の抽出物である甘草エキスの水溶性分画には、リクイリチンが含まれており、リクイリチンはメラニン色素生成阻害効果を持つことが知られている（特許文献1参照）。

【0004】

また甘草エキスの油溶性分画には、グラブリジンやグラブレンが含有され、グラブリジンやグラブレンにはチロシナーゼ阻害活性のあることが認められ、これらを有効成分として美白用の化粧料に配合することが知られている（特許文献2、非特許文献1参照）。

【0005】

【特許文献1】特開平1-63506号公報

【特許文献2】特開平6-271453号公報

【非特許文献1】聖マリアンナ医科大学雑誌「原本 泉：油溶性甘草エキスによるメラニン産生抑制効果」、1994年発行、第22巻、第941～948頁

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかし、上記した従来技術によると、甘草エキス中の美白性成分としては水溶性分画にリクイリチン、油溶性分画にはグラブリジン、グラブレンなどの美白有効成分が存在していると確認されているが、これら以外には美白効果を発揮する成分の所在が不明であり、甘草が有する全ての美白性成分が特定されていないという問題点がある。

【0007】

また、甘草エキス水溶性分画中に含まれている美白成分は、有効な成分とそれ以外の有効性の不確実な成分とが混ざり合っている一群の成分混合物であると考えられるため、本来ならば単独の成分で確実に奏されるべき美白作用が不確実になっている可能性もある。

30

【0008】

そこで、この発明は、上記した問題点を解決して、甘草に含まれている美白性成分を可及的に精度よく分離し、精製によって、より確実で有効な作用を発揮する成分を含有する美白性皮膚外用剤およびその製造方法とすることを解決すべき課題としている。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本願の発明者は、甘草エキスの水溶性分画に、リクイリチン以外の皮膚美白成分が少なうとも二種類存在しているのではないかと考え、すなわち、チロシナーゼ阻害活性を有する美白成分とチロシナーゼ阻害活性を有しない美白成分の存在を推測し、これを実験により確認することにより、この発明を完成させたものである。

40

【0010】

すなわち、本願の美白性皮膚外用剤に係る発明は、前記の課題を解決するために、生薬である甘草の水性溶媒抽出液から懸濁物質を除去し、分取した透明性液体を濃縮し、この濃縮物を前記水性溶媒で希釈し、この濃縮および希釈過程で生じた前記水性溶媒に対する不溶性物質を分離して得るリクイリチン非含有の液体を有効成分として含有する美白性皮膚外用剤としたのである。この発明において、さらに美白性皮膚外用剤がチロシナーゼ阻害活性を有しないものであるという構成要件を追加することもできる。

【0011】

50

または、生薬である甘草の水性溶媒抽出液を固液分離して透明性液体を濃縮し、分取した濃縮液を前記水性溶媒で希釈し、その濃縮および希釈過程で生じた不溶物を分離除去し、得られたリクイリチン非含有の液体を有効成分として配合することからなる美白性皮膚外用剤の製造方法を採用したのである。

#### 【0012】

上記したように構成されるこの発明の美白性皮膚外用剤およびその製造方法では、甘草エキスとして水性溶媒抽出液を用いるので、その中には油溶性のグラブリジンは溶解していない。

#### 【0013】

さらにこの抽出液から懸濁成分が分離された透明性液体を濃縮し再度水などの水性溶剤で希釈した後、生じた不溶性物質を分離除去する操作を行なうので、濃縮および希釈時の反応によりリクイリチンが水に不溶性の物質に変化しており、これを活性炭に吸着して除去できる。

因みに、植物エキスに対して濃縮と希釈を繰り返すと、その濃縮液は濃く着色されることが経験的に認められるが、この現象は、濃縮時に起こる化学反応で溶解液中に不溶性の反応物が生成したためであると考えられている。

#### 【0014】

すなわち、この発明においては、懸濁成分が分離された甘草の水性溶媒抽出液から濃縮時に生じた固形状のリクイリチンを分離することにより、抽出液からリクイリチンを確実に除去し、その他の美白有効成分を残存させるようにしている。そのため、この美白性皮膚外用剤は、チロシナーゼ阻害活性を有しないにも拘わらず、美白作用の顕著な美白性皮膚外用剤になる。

#### 【0015】

前記した吸着剤として、活性炭もしくはタルクまたは両者の混合物を採用すると、微細な不溶物が吸着されて分離除去されやすく、これによりリクイリチンの除去および精製は確実になる。

#### 【0016】

また、前記した製造方法では、濃縮工程を複数回行なうことにより、濃縮時に化学反応を確実に起こさせて溶解液中に不溶性の反応物がより多く生成するから、充分にリクイリチンを除去し、リクイリチン非含有の液体を確実に製造することができる。

#### 【発明の効果】

#### 【0017】

上述のように、この発明では、甘草の水性溶媒抽出液から懸濁成分が分離された透明性液体を濃縮し再度水などの水性溶媒で希釈した後、濃縮により生じた前記水性溶媒に対する不溶性物質を分離して得る液体を有効成分として含有する美白性皮膚外用剤としたので、甘草の水溶性分画に含まれているリクイリチン以外の美白性成分が有効成分となり、多種類の成分との競合がなくなってチロシナーゼ阻害活性を有する物質は完全に除去されているにも拘わらず、確実な美白作用を期待できる美白性皮膚外用剤になるという利点がある。

#### 【0018】

また、この発明の美白性皮膚外用剤の製造方法では、甘草の水性溶媒抽出液を固液分離して得られた透明性液体を濃縮し、濃縮液を前記水性溶媒で希釈すると共に、生じた不溶物を分離除去して、得られたリクイリチン非含有の液体を有効成分として配合することからなる美白性皮膚外用剤の製造方法であるから、甘草に含まれている美白性成分を可及的に精度よく個々に分離し、より確実な作用が期待できる美白性皮膚外用剤の製造方法になるという利点がある。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0019】

この発明に用いる甘草は、スペイン、シベリヤ、中国などに産するマメ科の薬用植物であるカンゾウを保存性を高める目的で乾燥した生薬であり、学名がグリシルリーザ ウラ

10

20

30

40

50

レンシス フィッシャー (*Glycyrrhiza urarelensis Fischer*) またはグリシルリーザ グラブラ エル バー グランダリフェラ レグ エ ヘルド (*Glycyrrhiza glabra* L. var. *glandulifera* REG. Et HERD) と称される植物またはこれらの近縁種の根または根茎 (葡萄茎またはストロンとも呼ばれる) を皮付きのままか、またはコルク皮を除いて、粉碎または摩碎して粉末状としたもの、または水性溶媒で抽出したものを皮膚外用剤の成分として用いることができる。

【0020】

有効成分を抽出する水性溶媒は、水 (中性、弱酸または弱アルカリ性のいずれであってもよい。) または水を主成分とする水性の抽出溶剤であり、アルコール含有の水溶液なども採用できる。

10

【0021】

水性溶媒は、温水または熱水の状態で抽出効率がよくて好ましいが、特に 100 以上、好ましくは 100 ~ 130 で抽出操作を行なうと、美白に有効な成分が効率よく抽出されることが判明している。

【0022】

得られた抽出液は、先ず、活性炭などの吸着剤を濾材に用いて濾過するか、または固体と液体との比重差、重力または遠心力による沈降速度の差を利用して固液分離し、懸濁物質を除去して透明性液体を作成する。

【0023】

この発明に用いる吸着剤は、多量の正吸着を起こさせるような界面を提供する物質であればよく、上記のようにして得られた透明性液体を濃縮し再度水などで希釈した後、加えられて濃縮により生じた不溶物を分離除去し、精製をより完全なものにするものである。このような吸着剤の具体例としては、活性炭のような多孔質体からなる無機系吸着剤、または合成吸着剤 (有機系吸着剤とも別称される。) が挙げられる。

20

【0024】

無機系吸着剤としては、活性アルミナ、シリカゲル、酸化チタンなどの金属酸化物、還元物、水酸化物、ベントナイト、酸性白土などの粘土鉱物、珪藻土、タルクなどのヘキ開性のある含水ケイ酸塩鉱物が挙げられる。

【0025】

活性炭は、その材質を特に限定して使用するものではないが、木炭、竹または椰子殻を原料としたものが、微小粒子からなる懸濁物質の吸着効率が良くて好ましいものである。

30

【0026】

合成吸着剤は、微細な連続孔が粒子の内部まで形成されたイオン交換樹脂製の粒子からなり、芳香族系の架橋スチレン系の多孔質重合体、芳香族重合体の芳香核に臭素原子を化合させた置換芳香族系のもの、またはメタクリル酸エステル重合体を骨格とする親水性吸着材とするアクリル性のものなどが挙げられる。

【0027】

前述のように、分離除去の操作は、活性炭の粒を詰めたカラムなどの容器に抽出液を通過させるか、または抽出液に活性炭粉末を加え、さらに必要に応じてタルクなどの濾過補助剤を加えて攪拌し、その混合物をろ紙や濾布などの前記活性炭の粉末粒子を捕捉するフィルターを用いてろ過する方法も採用できるが、その他にも遠心分離、沈降速度差による分離手段などを採用してもよい。

40

【0028】

固液分離して得られたリクイリチン非含有の濾液を有効成分として配合するには、抽出液を適当な親水性・親油性があつて、皮膚付着性の良い皮膚外用剤用の基剤に混和するか、または抽出液をクリーム、軟膏、乳液などの基材に混合すればよい。

【0029】

この発明の皮膚外用剤の製剤形態は、特に限定されるものではなく、化粧料として周知の形態をとることができ、例えば水溶性、乳液 (スキンミルク)、クリーム、軟膏、パウダーなどのように皮膚に塗布容易な製剤形態にすることが好ましい。

50

## 【実施例 1】

## 【0030】

## [抽出処理]

処理 A ) 甘草 100 kg に水 1200 リットルを加え、ステンレス容器に入れ、95 にて 2 時間加熱し、619 G で 2 時間の遠心分離を行なって固液分離し、分取した液を 300 メッシュのステンレス製振動篩でろ過して透明性液体を得た。

処理 B ) 得られたろ液 1000 リットルを減圧濃縮して 100 リットルとし、これに活性炭（日本エンバイロケミカルズ社製：粒状白鷺 K L ）2.7 kg を加えて、混和後に 100 メッシュのステンレス製振動篩でろ過した。

処理 C ) 処理 B のろ過処理で分取したろ液 100 L を、減圧濃縮して 2 L に濃縮し、さらに 13000 G で 20 分の遠心分離により、活性炭除去と減圧濃縮によって水分 40 % 含有のエキスを作成した。

ここまで処理 A ~ C を行なうに際して、処理 B が一回のみで得られたエキスを B<sub>1</sub> とした。 B<sub>1</sub> に水を加え 1000 リットルとした後、B の操作を 12 回繰り返して得られたエキスを B<sub>12</sub> とした。

処理 D ) B<sub>12</sub> の 120 g に水を加えて 3 リットルとし、これに活性炭（和光純薬社製：活性炭素粉末）300 g を加えて攪拌すると共に、750 グラムのタルク（丸石製薬社製）を加えて更に攪拌した後、濾紙にて濾過し、得られた濾液を 95 以下に加熱してタル状の濃縮エキス B<sub>12c</sub> を得た。

## 【0031】

20

得られた B<sub>1</sub> 、 B<sub>12c</sub> について、リクイリチンおよびグラブリジンの含有量を以下の条件のカラムクロマトグラフィーで調べた。

リクイリチン： カラム MILLIPORE 社 Puresil C18 、直徑 4.6 mm × 150 mm 、 30 、 257 nm 、 1 ml / 分。移動相： CH<sub>3</sub>CN : 2%CH<sub>3</sub>COOH = 20 : 80

グラブリジン： カラム MILLIPORE 社 Puresil C18 、直徑 4.6 mm × 150 mm 、 40 、 282 nm 、 1 ml / 分。移動相： CH<sub>3</sub>CN : 2%CH<sub>3</sub>COOH = 60 : 40

## 【0032】

上記のカラムクロマトグラフィーによると、 B<sub>1</sub> 、 B<sub>12c</sub> のいずれの抽出液からもリクイリチンおよびグラブリジンは検出されなかった。

一方、通常のカンゾウエキス（日本薬局方、日本粉末株式会社製）のリクイリチンの含有量は 4.72 mg / g 。 HPLC による測定条件は以下の通りであった。

30

## [HPLC 条件]

検出器：紫外吸光光度計（測定波長： 254 nm ）、カラム温度： 30 、カラム： Inertsil

ODS-2 (5 μm 、 4.6 × 150 mm) 、移動相：酢酸（ 2 % ） / アセトニトリル混液（ 8 : 2 ）、流速： 0.8 ml / 分、流入量： 20 μl 。

## 【0033】

次に、エキス B<sub>1</sub> またはカンゾウエキス（日本薬局方、日本粉末株式会社製）を用いた皮膚外用剤のチロシナーゼ活性阻害作用に必要な有効濃度を調べた。

<吸光度法によるチロシナーゼ活性抑制作用（阻害率の計算）>

40

フナコシ社製のマッシュルーム由来のチロシナーゼを用い、以下の試薬 A ~ E を用いてチロシナーゼ活性阻害作用について検討した。

A . L - チロシン溶液（ 0.5 mg / ml ） 0.1 ml

B . 7.8 mM アスコルビン酸を含む 1/5 M リン酸緩衝液（ pH7.0 ） 0.025 ml

C . 0.1% 硫酸銅液 0.025 ml

D . チロシナーゼ溶液（ 37.5 mg / 100 ml ） 0.02 ml

E . 希釈した試料溶液 0.1 ml

## 【0034】

酵素反応は、大日本製薬社製マルチプレートリーダー（マルチスキャンアセント）を用い、ファルコン（FALCON）社の 96 穴マルチウェルプレートで反応を行って吸光度を測定し

50

た。

すなわち、最初に A、B、C、D、E の各液を加えて 0 時間での 620 nm の吸光度 (A<sub>0</sub>) を測定した。その後 37° で 1 時間インキュベートし、再び 620 nm の吸光度 (A<sub>t</sub>) を測定した。また同時に E 液の代わりに精製水を 0.1 ml 加えた物を用意し、同様の反応を行って吸光度 (A<sub>b</sub>) を測定し、下記の式に従ってチロシナーゼ活性阻害率を算出した。

【0035】

$$\text{チロシナーゼ活性阻害率 (\%)} = [A_b - (A_t - A_0) / A_b] \times 100$$

【0036】

濃度と阻害率をグラフにプロットし、50% 阻害に必要な濃度を測定したところ、エキス B<sub>1</sub> の 50% チロシナーゼ活性阻害に必要な濃度は、1.20 mg / ml であった。また、カンゾウエキス (日本薬局方、日本粉末株式会社製) での 50% チロシナーゼ活性阻害に必要な濃度は、5.86 mg / ml であった。

10

【0037】

次に、エキス B<sub>1</sub> 4.5 g に精製水を加え、160 ml になるように溶解 (回転攪拌、1 時間) し、不溶物を 7000 rpm、10° で 20 分間遠心分離して除いた。次いで、不溶物を取り除いた溶液を凍結乾燥したところ、得られた乾燥物の重量は、32 g であった。

【0038】

この凍結乾燥物 (24.5 g) にメタノール 300 ml を加え、一晩、回転攪拌で溶解した。次に、メタノールに不溶な物質を取り除くために、8000 rpm で 20 分間遠心分離し、上澄液に 70 ml のメタノール溶液を得た。このメタノール液をエバポレーターで濃縮し、脱イオン水 (75 ml) で溶解し、この操作を 10 回繰り返した後、メタノールを除去し、12 ml の濃縮液を得た。

20

【0039】

次に、カラムクロマトグラフィーを行ない、分画分子量 10000 以下の樹脂 (TOYOPEAL HW40SW) を詰めたカラム (2.5 × 102 cm、全量 500 ml) に、上記で得られた濃縮液を 2 回に分けて負荷した。次いで、流速 2.5 ml/h で脱イオン水を流し溶出した。

【0040】

この操作によりチロシナーゼ阻害活性成分は、291 ml ~ 390 ml の画分に溶出された。この溶出物を凍結乾燥して得られた濃縮物 5 g を脱イオン水に溶解し、15 ml とした。この溶液にはチロシナーゼ阻害活性が認められ、B<sub>12c</sub> にはチロシナーゼ阻害活性が認められなかった。

30

【0041】

このように、エキス B<sub>1</sub> に存在するが、エキス B<sub>12c</sub> には存在しなかったチロシナーゼ阻害活性を有する物質は、1 回目の濃縮では除去されなかつたが、濃縮を繰り返すことで除去されていき、エキス B<sub>12c</sub> ではチロシナーゼ阻害活性を有する物質は完全に除去されていた。

【0042】

次に、濃縮エキス B<sub>12c</sub> に精製水を加えて 15% 外用剤を製造し、これを実施例とした。また、通常のカンゾウエキス (日本薬局方、日本粉末株式会社製) を用いて 15% 外用剤を作成し、これを比較例とした。

40

【0043】

このようにして得られた実施例と比較例を、それぞれ顔面にシミのある成人のパネラーに対し、表 1 中に示す例数だけ毎日塗布させ、使用の 1 ヶ月後にシミの色の改善効果をアンケート調査した。この結果は、以下の評価基準に従って点数化し表 1 中に併記した。

【0044】

非常に有効：本人及び他の人も薄くなったと感じる。

有効：本人又は他の人のどちらかが薄くなったと感じる。

やや有効：本人又は他の人のどちらかが薄くなつたかもしだいと感じる。

50

無効 : 本人及び他の人のどちらも薄くなつたと感じない。

無効 : 0点 やや有効 : 1点 有効 : 2点 非常に有効 : 3点

【0045】

【表1】

	例数	無効	やや有効	有効	非常に有効	平均点数
実施例	12	2	1	1	8	2.25
比較例	9	6	3	0	0	0.33

10

【0046】

表1の結果からも明らかのように、エキスB<sub>12c</sub>はチロシナーゼ阻害活性を有する物質は完全に除去されているにも拘わらず美白効果を有しており、一方の複数の美白成分が精製されずに混在していると考えられる比較例に比べて、極めて有効に作用していることがわかる。これにより、チロシナーゼ阻害活性のある美白性物質を除去して精製したエキスB<sub>12c</sub>の美白有効性が確かめられた。

---

フロントページの続き

(56)参考文献 特開2003-183123(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 K 36/00 - 36/9068

A 61 K 8/97

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I )