

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6242575号
(P6242575)

(45) 発行日 平成29年12月6日(2017.12.6)

(24) 登録日 平成29年11月17日(2017.11.17)

(51) Int.Cl.		F 1	
A 6 1 K 36/02	(2006.01)	A 6 1 K 36/02	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 K 8/9711	(2017.01)	A 6 1 K 8/9711	
A 6 1 Q 19/02	(2006.01)	A 6 1 Q 19/02	

請求項の数 2 (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2013-1527 (P2013-1527)	(73) 特許権者	000166959 御木本製薬株式会社 三重県伊勢市黒瀬町1425番地
(22) 出願日	平成25年1月9日(2013.1.9)	(72) 発明者	濱口 雅則 三重県伊勢市黒瀬町1425番地 御木本製薬株式会社内
(65) 公開番号	特開2014-133708 (P2014-133708A)	(72) 発明者	服部 文弘 三重県伊勢市黒瀬町1425番地 御木本製薬株式会社内
(43) 公開日	平成26年7月24日(2014.7.24)	(72) 発明者	荒巻 要 三重県伊勢市黒瀬町1425番地 御木本製薬株式会社内
審査請求日	平成27年11月25日(2015.11.25)	審査官	中村 俊之

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 デンドライト伸長抑制剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

イシゲの抽出物を有効成分とするデンドライト伸長抑制剤。(但し、美白用途を除く)

【請求項2】

イシゲの抽出物を有効成分とするメラノサイトのデンドライト伸長抑制剤。(但し、美白用途を除く)

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、デンドライト伸長を抑制する製剤に関する。

【背景技術】

【0002】

樹状突起の形成機構には、細胞内における低分子量Gタンパクが関与している。この低分子量Gタンパクは細胞の増殖、接着、遊走、分泌など様々な細胞活動を制御している。また、低分子量Gタンパクはがん細胞における転移や浸潤などとも密接に関与していることが報告されている。(非特許文献1)

メラノサイトにおいても、デンドライトの形成には、低分子量Gタンパクの関与が報告されており、その活性化には炎症性サイトカインとして知られているプロスタグランジンE2による作用が報告されている。(非特許文献2)

一方で、色素沈着の詳細な発現機構は十分には解明されていないが、大まかには、次のよ

うな機構が考えられている。

皮膚の基底層に存在するメラニン細胞（メラノサイト）の小胞（メラノソーム）内でチロシナーゼを触媒として、チロシンからメラニンが生成されるとともに、成熟したメラノソームを形成する。同時にメラノサイトから樹状突起が形成され、メラノサイトの先端から周囲に存在する角化細胞（ケラチノサイト）へメラノソームが受け渡される。

そして、ケラチノサイトはメラノソームを受け取ることで皮膚が暗色化する。メラノサイトのデンドライトが形成、伸長されないとケラチノサイトへのメラノソームの転移が効率よく行われず、結果的に皮膚に沈着するメラニン色素の量が減少するものと考えられる。

また、メラノサイトを含めデンドライトの伸長を抑制することは神経細胞腫の治療などにおいて有用であることが知られている。（特許文献1）

10

メラノサイトの樹状突起形成阻害剤としては、ヒドラングェノールまたはその誘導体、酵母抽出物、キサントン誘導体等が知られている。（特許文献2～4）

【0003】

ジャトバは、マメ科(Leguminosae)Hymenaea courbaril L.の果実である。ジャトバに関しては、テストステロン-5-リダクターゼ阻害剤、ヒスタミン遊離抑制剤、ヒアルロニダーゼ阻害剤、美白作用、エラスターゼ阻害剤などについて検討された。（特許文献5～8）

白朮（ビャクジュツ）は、漢方生薬の1種であり、キク科の植物であるオケラ（*Atractylodes japonica*）、オオバナオケラ（*Atractylodes ovata*）等のオケラ属の周皮を除いた根茎部分（ワビャクジュツ）、オオバナオケラ（*Atractylodes ovata*）の根茎部をいう。

20

美白、シワ改善等の目的で外用剤に用いられている。（特許文献9～10）。

また、イシゲは、褐藻植物門、褐藻綱、ナガマツモ目、イシゲ科、イシゲ属の海藻で、学名 *Ishige okamurai* Yendo といい、茨城以南の沿岸で広く分布する褐藻類である。食用には硬いので適さない。

すでに、美白、育毛、痩身或いは抗菌・防腐等の目的で皮膚外用剤や食品に利用されている。（特許文献11～13）

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

30

【特許文献1】特開2006-67940公報

【特許文献2】特開2000-7546号公報

【特許文献3】特開2003-252742号公報

【特許文献4】特開2005-2056号公報

【特許文献5】特開平07-258106号公報

【特許文献6】特開平08-53360号公報

【特許文献7】特開平10-236943号公報

【特許文献8】特開2000-72649号公報

【特許文献9】特開平09-077635号公報

【特許文献10】特開平10-194946号公報

40

【特許文献11】特開平04-95012号公報

【特許文献12】特開平11-180813号公報

【特許文献13】特開2000-236846号公報

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Nature Medicine 1999 5:221-225

【非特許文献2】Exp Cell Res 2007 313(18) 3840-3850

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

50

本発明の目的はデンドライト伸長を抑制する製剤を得ることにある。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明者らが鋭意検討した結果、ジャトバ、白朮、イシゲの抽出物が上記目的を達することがわかった。

ジャトバの実、白朮、イシゲを、抽出効率を考え、細切、乾燥、粉碎等の処理を行った後に抽出を行うことが好ましい。ジャトバの実、すなわち豆果は成熟すると非常に堅いので、必要な細切、粉碎等の処理を行う。

乾燥は天日で行ってもよいし、通常使用される乾燥機を用いてもよい。

前記抽出に用いる溶媒としては、水若しくは親水性有機溶媒又はこれらの混合液を用いる。

10

前記抽出溶媒として使用し得る水としては、例えば、純水、水道水、井戸水、鉱泉水、鉱水、温泉水、湧水、淡水等の他、これらに各種処理を施したものが含まれる。水に施す処理としては、例えば、精製、加熱、殺菌、ろ過、イオン交換、浸透圧の調整、緩衝化等が含まれる。従って、本発明において抽出溶媒として使用し得る水には、精製水、熱水、イオン交換水、生理食塩水、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等も含まれる。

前記親水性有機溶媒としては、例えば、メタノール、エタノール、プロピルアルコール、イソプロピルアルコール等の炭素数1～5の低級アルコール；アセトン、メチルエチルケトン等の低級脂肪族ケトン；1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン等の炭素数2～5の多価アルコールなどが挙げられ、これら親水性有機溶媒と水との混合溶媒などを用いることができる。

20

なお、前記水と親水性有機溶媒との混合溶媒を使用する場合には、低級アルコールの場合は水10質量部に対して1～20質量部、低級脂肪族ケトンの場合は水10質量部に対して1～15質量部添加することが好ましい。多価アルコールの場合は水10質量部に対して1～20質量部添加することが好ましい。

抽出に使用する有機溶媒の量は、原料となる植物（海藻）に対して望ましくは5～100倍量程度、さらに望ましくは10～50倍量程度が良い。さらに抽出効率を上げるため、抽出溶媒中で攪拌やホモジナイズしてもよい。抽出温度としては、5℃程度から抽出溶媒の沸点以下の温度とするのが適切である。抽出時間は抽出溶媒の種類や抽出温度によっても異なるが、1時間～14日間程度とするのが適切である。

30

尚、抽出操作は1回のみ操作に限定されるものではない。抽出後の残渣に再度新鮮な溶媒を添加し、抽出操作を施すこともできるし、抽出溶媒を複数回抽出原料に接触させることも可能である。

必要ならば、その効果に影響のない範囲で更に脱臭、脱色等の精製処理を加えても良く、エバポレーターのような減圧濃縮装置や加熱による溶媒除去などにより、濃縮することができる。

また、この抽出物を合成吸着剤（ダイアイオンHP20やセファブースSP825、アンバーライトXAD4、MCIGelCHP20P等）やデキストラン樹脂（セファデックスLH-20など）、限外濾過等を用いてさらに精製することも可能である。

【0008】

40

本発明の製剤は、経口、注射、外用のいずれでも薬効を発現するが、皮膚外用剤として用いるのが好ましい。皮膚外用剤には、皮膚化粧品、外用医薬部外品、医療用皮膚外用剤が含まれる。

【0009】

また、本発明の製剤には、上記成分の他に医薬品や化粧品の各種製剤において使用されている界面活性剤、油性成分、保湿剤、高分子化合物、紫外線吸収剤、抗炎症剤、殺菌剤、酸化防止剤、金属イオン封鎖剤、防腐剤、ビタミン類、色素、香料、水等を配合することができる。

【0010】

上記界面活性剤としては、アニオン性、カチオン性、非イオン性、天然、合成のいずれ

50

の界面活性剤も使用できるが、皮膚に対する刺激性を考慮すると非イオン性のものを使用することが好ましい。非イオン性界面活性剤としては、例えばグリセリン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビット脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンヒマシ油、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、アルキルグリコシド等が挙げられる。

【 0 0 1 1 】

油性成分としては、油脂類、ロウ類、炭化水素類、高級脂肪酸類、高級アルコール類、エステル類、精油類、シリコーン油類などを挙げることができる。油脂類としては、例えば大豆油、ヌカ油、ホホバ油、アボガド油、アーモンド油、オリーブ油、カカオ油、ゴマ油、パーシク油、ヒマシ油、ヤシ油、ミンク油、牛脂、豚脂等の天然油脂、これらの天然油脂を水素添加して得られる硬化油及びミリスチン酸グリセリド、2 - エチルヘキサン酸トリグリセリド等の合成トリグリセリド等が；ロウ類としては、例えばカルナバロウ、鯨ロウ、ミツロウ、ラノリン等が；炭化水素類としては、例えば流動パラフィン、ワセリン、パラフィンマイクロクリスタリンワックス、セレシン、スクワラン、プリスタン等が；高級脂肪酸類としては、例えばラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、ベヘニン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、ラノリン酸、イソステアリン酸等が；高級アルコール類としては、例えばラウリルアルコール、セチルアルコール、ステアリルアルコール、オレイルアルコール、ラノリンアルコール、コレステロール、2 - ヘキシルデカノール等が；エステル類としては、例えばオクタン酸セチル、オクタン酸トリグリセライド、乳酸ミリスチル、乳酸セチル、ミリスチン酸イソプロピル、ミリスチン酸ミリスチル、ミリスチン酸オクチルドデシル、パルミチン酸イソプロピル、アジピン酸イソプロピル、ステアリン酸ブチル、オレイン酸デシル、イソステアリン酸コレステロール、POEソルビット脂肪酸エステル等が；精油類としては、例えばハッカ油、ジャスミン油、ショウ脳油、ヒノキ油、トウヒ油、リュウ油、テレピン油、ケイ皮油、ベルガモット油、ミカン油、ショウブ油、パイン油、ラベンダー油、ベイ油、クローブ油、ヒバ油、バラ油、ユーカリ油、レモン油、タイム油、ペパーミント油、ローズ油、セージ油、メントール、シネオール、オイゲノール、シトラール、シトロネラル、ボルネオール、リナロール、ゲラニオール、カンファー、チモール、スピラントール、ピネン、リモネン、テルペン系化合物等が；シリコーン油類としては、例えばジメチルポリシロキサン等が挙げられる。これら上述の油性成分は一種又は二種以上を組み合わせて使用することができる。本発明においては、このうち特にミリスチン酸グリセリド、2 - エチルヘキサン酸トリグリセリド、ラノリン、流動パラフィン、ワセリン、パラフィンマイクロクリスタリンワックス、スクワラン、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、リノール酸、リノレン酸、イソステアリン酸、セチルアルコール、ステアリルアルコール、オレイルアルコール、コレステロール、オクタン酸セチル、オクタン酸トリグリセライド、ミリスチン酸イソプロピル、ミリスチン酸オクチルドデシル、イソステアリン酸コレステロール、POEソルビット脂肪酸エステル、ハッカ油、トウヒ油、ケイ皮油、ローズ油、メントール、シネオール、オイゲノール、シトラール、シトロネラル、ゲラニオール、ピネン、リモネン、ジメチルポリシロキサンを使用することが好ましい。

【 0 0 1 2 】

本発明の製剤には、さらに下記のような成分を配合することができるが、その成分もこれらに限定されるものではない。

色素類；黄色4号、青色1号、黄色202号等の厚生省令に定められたタール色素別表I及びIIの色素、クロロフィル、リボフラビン、クロシン、紅花、アントラキノン等の食品添加物として認められている天然色素等。

ビタミン類；ビタミンA、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE等。

その他；殺菌剤、防腐剤、その他製剤上必要な成分等。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 3 】

本発明の製剤は、前記必須成分に必要な応じて前記任意成分を加え、常法に従って製造することができる、クリーム、乳液、化粧水等の形態とすることができる。

【実施例】

【 0 0 1 4 】

次に実施例（製造例）を挙げて本発明を詳細に説明する。

【 0 0 1 5 】

製造例 1

ジャトバの実（成熟した乾燥品）を 20 メッシュ以下となるようにミルで粉碎し、そのうち、50.0 g をはかりとり、50% エタノール水溶液 450 g を加え、攪拌しつつ 10 10 時間抽出した。

これを遠心分離（2000 G、15 分間）し、その上澄みを濾過した。（No 5 C）
濾液をエバポレーターで濃縮したのち、凍結乾燥した。

【 0 0 1 6 】

製造例 2

白朮（日本薬局方ビャクジュツ末柝本天海堂）を 100 g に精製水 500 ml を加え、2 時間湯煎（水温 90 ）で抽出した。放冷したのち、濾過した（No 5 C）のち、凍結乾燥した。

【 0 0 1 7 】

製造例 3

イシゲ 50 g（湿重量）に精製水 500 g を加え、ミキサーを用いてホモジナイズした。これを遠心分離し濾液を得た。この濾液に 4 倍量のエタノール 2 L を加え、ときどき攪拌しながら、24 時間後に濾過（No 5 C）し、これを凍結乾燥した。

【 0 0 1 8 】

確認試験（メラノサイトのデンドライト伸長抑制試験）

4 well ラブテック 2 チェンバースライドシステム (nunc 製) に正常ヒトメラニン細胞（クラボウ製）を 700 cell/well 播種する。24 時間培養した後、増殖因子を含まない、基礎培地である DermaLife M (登録商標) (Lifeline Cell Technology 製) へ交換する。更に 24 時間培養したのち、試験品および、樹状突起伸長因子として Y - 27632（和光純薬）を含む DermaLife M へ交換し、24 時間培養した。（Y - 27632 は終濃度 5 30 0 uM になるように濃度を調整した）

24 時間後、培地を除去し Acti-Stain 488 phalloidin (Cytoskeleton, Inc) にて細胞骨格を染色し、DAPI（同仁化学）にて核を染色した。

染色後、画像解析ソフト (Image J) にてメラノサイトの樹状突起の長さを計測し、サンプルにおける樹状突起の長さを比較した。

【 0 0 1 9 】

下記の MTT 活性の確認試験を行い、製造例が細胞の存在に影響のないことを確認を行い、製造例が細胞の存在に影響のない範囲の確認試験（メラノサイトのデンドライト伸長抑制試験）の結果を以下の図 1 ~ 3 に示す。

24well plate で、確認試験と同一条件で培養した後、培地を交換し、1/10 量の 5 mg/ml 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide を添加してさらに 4 時間培養後、等量の 0.04N HCl を含む イソプロパノール を添加して完全に溶解する。この溶液をリファレンス波長 630nm、測定波長 560nm で測定して、コントロールに対する相対値として算出した。 40

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 0 】

【図 1】製造例 1 のメラノサイトのデンドライト伸長抑制試験の結果であり、終濃度 0.0005% よりメラノサイトのデンドライトの伸長を抑制することがわかった。

【図 2】製造例 2 のメラノサイトのデンドライト伸長抑制試験の結果であり、終濃度 0.0005% よりメラノサイトのデンドライトの伸長を抑制することがわかった。 50

【図3】製造例3のメラノサイトのデンドライト伸長抑制試験の結果であり、終濃度0.0005%でメラノサイトのデンドライトの伸長を抑制することがわかった。

【0021】

製造例1～3をそのまま外用剤としても利用できるが、これに他の原料を配合して外用剤を作成することも可能である。

【0022】

外用剤1

オリーブ油	0.5	
ポリオキシエチレン(20E.O.)ソルビタンモノステアレート	2.0	
ポリオキシエチレン(60E.O.)硬化ヒマシ油	2.0	10
エタノール	10.0	
精製水	80.0	
製造例1	0.3	
パラオキシ安息香酸メチル	0.2	

【0023】

外用剤2

オリーブ油	0.5	
ポリオキシエチレン(20E.O.)ソルビタンモノステアレート	2.0	
ポリオキシエチレン(60E.O.)硬化ヒマシ油	2.0	
エタノール	10.0	20
精製水	80.0	
製造例3	0.3	
パラオキシ安息香酸メチル	0.2	

【0024】

外用剤3

A

スクワラン	20.0	
オリーブ油	2.0	
ミンク油	1.0	
ホホバ油	5.0	30
ミツロウ	5.0	
セトステアリルアルコール	2.0	
グリセリンモノステアレート	1.0	
ソルビタンモノステアレート	2.0	

B

精製水	51.0	
製造例2	0.7	
ポリオキシエチレン(20E.O.)ソルビタンモノステアレート	2.0	
ポリオキシエチレン(60E.O.)硬化ヒマシ油	1.0	
グリセリン	5.0	40
L-アスコルビン酸-2-グルコシド	2.0	
パラオキシ安息香酸メチル	0.1	

【0025】

外用剤4

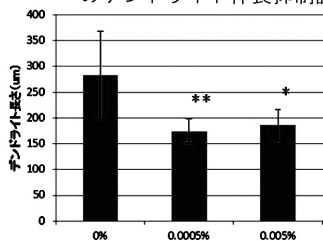
A

スクワラン	20.0	
オリーブ油	2.0	
ミンク油	1.0	
ホホバ油	5.0	
ミツロウ	5.0	50

セトステアリルアルコール	2 . 0
グリセリンモノステアレート	1 . 0
ソルビタンモノステアレート	2 . 0
B	
精製水	5 1 . 0
製造例 1	0 . 7
ジプロピレングリコール	2 . 0
グリセリン	3 . 0
ポリオキシエチレン (2 0 E . O .) ソルビタンモノステアレート	2 . 0
ポリオキシエチレン (6 0 E . O .) 硬化ヒマシ油	1 . 0
L - アスコルビン酸 - 2 - グルコシド	2 . 0
パラオキシ安息香酸メチル	0 . 1

【 図 1 】

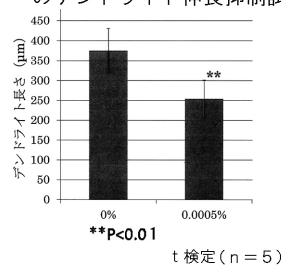
製造例 1 のメラノサイトの
のデンドライト伸長抑制試験



* P<0.05、**P<0.01
Dunnetの多重比較 (n=5、但し0.005% n=4)

【 図 3 】

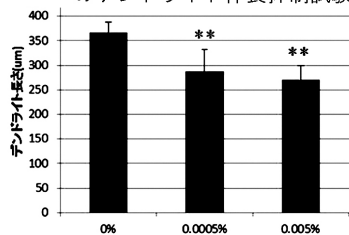
製造例 3 のメラノサイトの
のデンドライト伸長抑制試験



**P<0.01
t 検定 (n = 5)

【 図 2 】

製造例 2 のメラノサイトの
のデンドライト伸長抑制試験



**P<0.01
Dunnetの多重比較 (n=5)

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2006-241102(JP,A)
特開2009-102378(JP,A)
特表2005-511596(JP,A)
特開2002-154919(JP,A)
特開2002-179516(JP,A)
特開平09-077635(JP,A)
特開平10-236943(JP,A)
特開2003-055190(JP,A)
特開2003-300822(JP,A)
特開平08-053360(JP,A)
特開平07-258106(JP,A)
特表2012-500231(JP,A)
特開2005-206568(JP,A)
特開平10-194946(JP,A)
特開2006-316050(JP,A)
特開2006-347903(JP,A)
特開平10-067674(JP,A)
特開平07-278003(JP,A)
特開平11-180813(JP,A)
特開2006-045075(JP,A)
特開2006-036680(JP,A)
特開2006-069972(JP,A)
特開2001-316239(JP,A)
特表2003-500346(JP,A)
特開2000-236846(JP,A)
特開2004-250354(JP,A)
特開平09-012441(JP,A)
特開平04-095012(JP,A)
特開平07-277944(JP,A)
特開2003-252742(JP,A)
樹状細胞の分化を誘導するサイトカイン, 臨床免疫, 日本, 2000年 4月25日, 第33巻
第4号, 第514~518頁
厚生労働省がん研究助成金による研究報告集 平成16年度, 日本, 国立がんセンター, 2005年 9月, 第706~第708頁

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 8/00 - 8/99
A61K 36/00 - 36/05
A61K 36/07 - 36/9068
A61P 1/00 - 43/00
A61Q 1/00 - 90/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE(STN)