

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5405067号
(P5405067)

(45) 発行日 平成26年2月5日(2014.2.5)

(24) 登録日 平成25年11月8日(2013.11.8)

(51) Int. Cl.		F 1
A 6 1 K 35/64	(2006.01)	A 6 1 K 35/64
A 6 1 P 39/06	(2006.01)	A 6 1 P 39/06
A 6 1 P 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P 17/18	(2006.01)	A 6 1 P 17/18

請求項の数 6 (全 24 頁)

(21) 出願番号	特願2008-200151 (P2008-200151)	(73) 特許権者	000186588
(22) 出願日	平成20年8月1日(2008.8.1)		小林製薬株式会社
(65) 公開番号	特開2010-37234 (P2010-37234A)		大阪府大阪市中央区道修町四丁目4番10号
(43) 公開日	平成22年2月18日(2010.2.18)	(74) 代理人	100140109
審査請求日	平成23年6月21日(2011.6.21)		弁理士 小野 新次郎
		(74) 代理人	100089705
			弁理士 社本 一夫
		(74) 代理人	100075270
			弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男
		(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 蜂の子を含有する抗酸化組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

蜂の子およびプロポリスを含む抗酸化剤。

【請求項 2】

プロポリス 1 重量部に対して蜂の子を 6 ~ 240 重量部含む、請求項 1 に記載の抗酸化剤。

【請求項 3】

さらにローヤルゼリーを含む、請求項 1 または 2 に記載の抗酸化剤。

【請求項 4】

プロポリスに蜂の子を加えることを特徴とする、抗酸化剤として使用するプロポリスの抗酸化活性の増強方法（但し、人間に投与する方法を除く）。 10

【請求項 5】

プロポリス 1 重量部に対して蜂の子を 6 ~ 240 重量部加える、請求項 4 に記載のプロポリスの抗酸化活性の増強方法。

【請求項 6】

さらにローヤルゼリーを加えることを特徴とする、請求項 4 または 5 に記載のプロポリスの抗酸化活性の増強方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、有効成分として蜂の子を含む抗酸化剤、蜂の子およびプロポリスを含む抗酸化剤、蜂の子、プロポリスおよびローヤルゼリーを含む抗酸化剤、ならびに当該抗酸化剤を含む経口摂取用組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

一般に酸素は、生命体にとって必須のものであるが、一方で生体に害を及ぼすことも知られている。特に、ヒドロキシラジカルなどの活性酸素および脂質などが酸化されて生じる過酸化物は、生体に大きな障害をもたらすことが指摘されている。近年、生活慣習病として位置づけられている血栓症や脳循環関連の疾患の発症にも酸化ストレス、特に血管内皮細胞の酸化ストレスが関与していることが知られている。さらに、酸化ストレスは、老化促進に
10 関与し、皮膚のしわ、シミ、くすみなどを誘発することも知られている。このため、生体において有害な酸化反応を制御することは、健康の維持および美容にとって大変有用なことであり、種々の抗酸化剤が注目されている。

【0003】

また、食品などの経口摂取用組成物の品質低下に酸化が関与することが知られている。特に、油脂類の酸化は、色や風味の悪化、栄養価の低下を引き起こし、場合によっては、酸化により生じた過酸化物が消化障害を引き起こすこともある。経口摂取用組成物の酸化を防止する抗酸化剤としては、アスコルビン酸、トコフェロール、カテキン、ジブチルヒドロキシトルエンなどが使用されている。

【0004】

従来、日本の一部の地域では、蜂の幼虫または蛹を「蜂の子」として食用に供している。蜂の子は、特定のアミノ酸組成を有する食品であり、疲労回復効果などを有すると報告がなされている（特許文献1～3）。

【0005】

蜂の巣の材料となる粘着性物質であるプロポリスは、蜂が野外から採取した植物の樹液などを成分として含み、抗酸化作用を含む種々の生理活性を有することが知られている（特許文献4～7）。そのため、プロポリスは健康食品の原料として利用されている。

【0006】

ローヤルゼリーは、働き蜂の頭部の分泌腺（咽頭腺）から分泌される乳白色のクリーム状の物質で、ミツバチの女王蜂の餌となる物質である。ローヤルゼリーは滋養強壯を目的とした健康食品に多く用いられており、化粧品、医薬部外品などの皮膚外用剤の成分としても使用されている（特許文献8～11）。

【特許文献1】特開2002-17296号公報

【特許文献2】特開2006-197911号公報

【特許文献3】特開2001-204421号公報

【特許文献4】特開2000-44479号公報

【特許文献5】特開2002-235084号公報

【特許文献6】特開2002-306092号公報

【特許文献7】特開2005-220087号公報

【特許文献8】特開2001-292712号公報

【特許文献9】特開2002-20226号公報

【特許文献10】特開2003-219816号公報

【特許文献11】特開2006-280249号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

酸化ストレスから体を守るために、また、経口摂取用組成物の酸化を防ぐために、日常的に摂取可能であり、かつ安全な抗酸化剤が求められている。本発明の目的は、安全に摂取可能な抗酸化剤を提供することである。本発明のさらなる目的は、特定の原料を組み合わせることにより相乗的に抗酸化効果を発揮する抗酸化剤を提供することである。

10

20

30

40

50

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者は、上記の課題解決のために鋭意研究を進めたところ、蜂の子を含む組成物に良好な抗酸化効果およびアンチエイジング効果を見だし、本発明を完成させた。

本発明の一つの側面によれば、蜂の子を含む抗酸化剤が提供される。

【0009】

本発明で使用される蜂の子は、食用に供せられている蜂の幼虫または蛹であれば特に限定されず、例えば、ミツバチ科の蜂（例えば、セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*)、トウヨウミツバチ (*Apis cerana*)、サバミツバチ (*Apis koschevnikovi*)、キナバルヤマミツバチ (*Apis nuluensis*)、クロオビミツバチ (*Apis nigrocincta*)、オオミツバチ (*Apis dorsata*)、ヒマラヤオオミツバチ (*Apis laboriosa*)、コミツバチ (*Apis florea*)、クロコミツバチ (*Apis andreniformis*)；スズメバチ科の蜂（例えば、オオスズメバチ (*Vespa mandarinia japonica*)、ヒメスズメバチ (*Vespa ducalis*)、キイロスズメバチ (*Vespa similima xanthoptera*)、コガタスズメバチ (*Vespa analis*)、モンズズメバチ (*Vespa crabro*)、チャイロスズメバチ (*Vespa dybowskii*)、クロスズメバチ (*Vespa flaviceps*)、キオビホオナガスズメバチ (*Dolichovespula media*)、ヤミスズメバチ (*Provespa* 属)；およびアシナガバチ科の蜂（例えば、セグロアシナガバチ (*Polistes jadwigae*)、キアシナガバチ (*Polistes rothneyi*)、フタモンアシナガバチ (*Polistes chinensis*)、コアシナガバチ (*Polistes snelleni*)、キボシアシナガバチ (*Polistes mandarinus*)）などの幼虫または蛹を使用することができる。本発明では、例えば、ミツバチ科の蜂（特に、セイヨウミツバチ）、オオスズメバチ、キイロスズメバチまたはクロスズメバチの蜂の子を、好ましくはセイヨウミツバチの蜂の子を使用することができる。

【0010】

蜂の子は、例えば、女王蜂、働き蜂および雄蜂、好ましくはオス蜂の幼虫または蛹を使用することができ、抗酸化効果に優れることから、例えば、孵化後10～24日後、好ましくは20～22日後の蛹を使用することができる。

【0011】

採取した蜂の子は、例えば、乾燥、粉碎し、粉末状にして使用することができ、例えば、特開2002-17296号公報（段落番号[0007]）に開示された蜂の子の粉末を本発明に用いてもよい。本発明の一つの態様においては、採取後に-80～-5で冷凍した蜂の子を使用前に自然解凍し、攪拌機で混合後、得られた混合物を10～20分間煮沸殺菌し、凍結乾燥の後に篩分（10～200メッシュ）して得られた粉末を使用することができる。

【0012】

また、本発明においては、前記蜂の子粉末から、例えば、低級アルコール（例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールなど）および/または水を抽出溶媒として用いて得られる蜂の子抽出物を使用することができる。

【0013】

また、本発明においては、前記蜂の子粉末を、例えば、プロテアーゼ、セルラーゼ、アミラーゼなどの酵素により分解して得られる酵素分解物を使用することができる。

本発明の一つの態様において、蜂の子に水を加え、攪拌しながら25～50で30分～3時間加熱抽出し、室温まで冷却後、濾過して得られた溶液（蜂の子抽出液）に任意で賦形剤を加え、その後噴霧乾燥し、造粒・篩分して得られる粉末を本発明の蜂の子として使用することができる。

【0014】

本発明において、蜂の子抽出液に賦形剤を加えることで製造における取り扱いを容易にすることができる。本発明で使用できる賦形剤としては、医薬または食品に利用可能な賦形剤、例えば、デキストリン、コーンスターチ、米粉、乳糖、バレイショデンプン、還元澱粉糖化物、二酸化ケイ素などを使用することができる。

【0015】

本発明の抗酸化剤中の蜂の子の配合量は、特に制限されないが、好ましくは50重量%以上、より好ましくは60重量%以上、さらに好ましくは70重量%以上、とくに好ましくは80重量%以上含有されることが好ましい。

【0016】

本発明のさらなる側面によれば、蜂の子およびプロポリスを含む抗酸化剤が提供される。

10

本発明で使用されるプロポリスは、食品に通常使用されるプロポリスであれば特に限定されず、ミツバチ科の蜂、例えば、セイヨウミツバチおよびその亜種 (*Apis mellifera*、*Apis mellifera adansonii*、*Apis mellifera scutellata*) から採取されるプロポリスを使用することができる。プロポリスの起源植物も特に限定されず、例えば、バッカス、ポプラ、サンザシ、ユーカリなどの植物を起源とするプロポリスを使用することができる。

【0017】

プロポリスとしては、例えば、プロポリス原塊を粉末化したもの、またはプロポリス原塊から適当な抽出方法により得られるプロポリス抽出物を使用することができ、例えば、低級アルコール (例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールなど) および/または水を抽出溶媒として用いて得られるプロポリス抽出物を使用することができる。例えば、エタノールによるプロポリス抽出物、および特開2002-306092号公報に記載の方法により得られるプロポリス抽出物を本発明に使用することができる。プロポリス抽出物としては、例えば、森川健康堂株式会社、アルテクノ工業株式会社、日新蜂蜜株式会社から商業的に入手可能なものを本発明に使用することができる。

20

【0018】

また、本発明においては、前記プロポリス抽出物を、例えば、プロテアーゼ、セルラーゼ、アミラーゼなどの酵素により分解して得られるプロポリス酵素分解物を使用することができる。

30

【0019】

本発明の1つの態様において、プロポリス原塊にエタノールを加え、攪拌しながら30~70で1~3時間加熱し、室温まで冷却後、濾過して得られた溶液を濃縮して蠟状の固体物を得た。当該固体物 (プロポリス抽出物) に任意で賦形剤を加え、その後噴霧乾燥し、造粒・篩分して得られる粉末を本発明のプロポリスとして使用することができる。

【0020】

本発明において、プロポリス抽出物に賦形剤を加えることで製造における取り扱いを容易にすることができる。本発明で使用できる賦形剤としては、医薬または食品に利用可能な賦形剤、例えば、デキストリン、コーンスターチ、米粉、乳糖、バレイショデンプン、還元澱粉糖化物、二酸化ケイ素などを使用することができる。

40

【0021】

本発明の蜂の子およびプロポリスを含む抗酸化剤は、その配合比率は特に制限されないが、プロポリス1重量部に対して蜂の子が24重量部以上であることが好ましく、40重量部以上であることがより好ましく、60重量部以上であることがさらに好ましい。また、プロポリス1重量部に対して蜂の子が240重量部以下であることが好ましく、120重量部以下であることがより好ましい。この範囲であれば、優れた抗酸化効果を奏する抗酸化剤とすることができる。

【0022】

本発明の抗酸化剤中の蜂の子およびプロポリスの配合量は、特に制限されないが、好ま

50

しくは合計で50重量%以上、より好ましくは合計で60重量%以上、さらに好ましくは合計で70重量%以上、とくに好ましくは合計で80重量%以上含有されることが好ましい。

【0023】

本発明のさらなる側面において、蜂の子、プロポリスおよびローヤルゼリーを含む抗酸化剤が提供される。

本発明で使用されるローヤルゼリーは、食用に供せられているローヤルゼリーであれば特に限定されず、例えば、「ローヤルゼリーの表示に関する公正競争規約」（社団法人全国ローヤルゼリー公正取引協議会により作成）に記載されている「生ローヤルゼリー」、「乾燥ローヤルゼリー」および「調製ローヤルゼリー」を使用することができ、いずれも、例えば、ミツバチ科の蜂（特に、セイヨウミツバチおよびその亜種（*Apis mellifera*、*Apis mellifera adansonii*、*Apis mellifera scutellata*））から採取されるローヤルゼリー、好ましくはセイヨウミツバチから採取されるローヤルゼリーを使用することができる。本発明では、例えば、セイヨウミツバチから採取されるローヤルゼリーを乾燥して得られる粉末を使用することが好ましい。

10

【0024】

本発明の1つの態様において、採取後に-80~-5で冷凍したローヤルゼリーの原液を凍結乾燥の後に攪拌機で粉碎し、篩分（10~200メッシュ）して得られた粉末を本発明のローヤルゼリーとして使用することができる。

20

【0025】

本発明においては、前記ローヤルゼリー粉末から、例えば、低級アルコール（例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノールなど）および/または水を抽出溶媒として用いて得られるローヤルゼリー抽出物を使用することができる。

【0026】

本発明においては、前記ローヤルゼリー粉末、およびローヤルゼリー抽出物を、例えば、プロテアーゼ、セルラーゼ、アミラーゼなどの酵素により分解して得られる酵素分解物を使用することができる。

【0027】

本発明の1つの態様において、ローヤルゼリーに水を加え、攪拌しながら25~50で30分~3時間加熱抽出し、室温まで冷却後、濾過して得られた溶液（ローヤルゼリー抽出液）に任意で賦形剤を加え、その後噴霧乾燥し、造粒・篩分して得られる粉末を本発明のローヤルゼリーとして使用することができる。

30

【0028】

本発明において、ローヤルゼリー抽出液に賦形剤を加えることで製造における取り扱いを容易にすることができる。本発明で使用できる賦形剤としては、医薬または食品に利用可能な賦形剤、例えば、デキストリン、コーンスターチ、米粉、乳糖、バレイショデンプン、還元澱粉糖化物、二酸化ケイ素などを使用することができる。

【0029】

本発明の蜂の子、プロポリスおよびローヤルゼリーを含む抗酸化剤は、その配合比率はとくに制限されないが、プロポリス1重量部に対して蜂の子が6重量部以上であることが好ましく、12重量部以上であることがより好ましく、16重量部以上であることがさらに好ましく、24重量部以上であることが特に好ましい。また、プロポリス1重量部に対して蜂の子が240重量部以下であることが好ましく、120重量部以下であることがより好ましい。さらに、ローヤルゼリー1重量部に対して蜂の子が0.3重量部以上であることが好ましく、0.6重量部以上であることがより好ましく、0.86重量部以上であることがさらに好ましい。また、ローヤルゼリー1重量部に対して蜂の子が60重量部以下であることが好ましく、2重量部以下であることがより好ましい。この範囲内であれば、優れた抗酸化効果を奏する抗酸化剤とすることができる。

40

50

【0030】

本発明の抗酸化剤中の蜂の子、プロポリスおよびローヤルゼリーの配合量は、特に制限されないが、好ましくは合計で50重量%以上、より好ましくは合計で60重量%以上、さらに好ましくは合計で70重量%以上、とくに好ましくは合計で80重量%以上含有されることが好ましい。

【0031】

本発明において使用される各原料には、それぞれの原料に特有の成分が含まれている。蜂の子に特有の成分としては、蛹や成虫の外殻成分であるキチンが挙げられ、蜂の子の乾燥粉末に1~10重量%含まれている。

【0032】

プロポリスに特有の成分としては、p-クマル酸が挙げられ、プロポリス抽出物50重量%の粉末に0.5~5重量%含まれている。

ローヤルゼリーに特有の成分としては、デセン酸が挙げられ、ローヤルゼリー乾燥粉末に2~10重量%含まれている。

【0033】

本発明の一つの態様において、本発明の抗酸化剤に含まれる蜂の子由来のキチンの量は、例えば0.0005重量%以上、特に0.001重量%以上であり、例えば0.1重量%以下、特に0.05重量%以下である。また、本発明の抗酸化剤に含まれるプロポリス由来のp-クマル酸の量は、例えば0.00001重量%以上、特に0.00004重量%以上であり、例えば0.005重量%以下、特に0.002重量%以下である。さらに、本発明の抗酸化剤に含まれるローヤルゼリー由来のデセン酸の量は、例えば0.0015重量%以上、特に0.003重量%以上であり、例えば0.3重量%以下、特に0.08重量%以下である。

【0034】

なお、本発明の抗酸化剤における各成分は、それぞれ当業者に周知の方法によって測定することができ、その測定値に基づいて配合量を算出することができる。

本発明の抗酸化剤は、優れた抗酸化効果を奏することから、そのまま又は経口摂取用組成物に配合して用いることができる。例えば、本発明の抗酸化剤を経口摂取用組成物に配合して用いた場合、活性酸素に起因して生じる各種障害などの治療、改善および/または予防用としてだけでなく、当該経口摂取用組成物自体の酸化防止剤としても有効に使用できる。本発明の経口摂取用組成物中の抗酸化剤の配合量は特に制限されないが、優れた抗酸化効果を得るために、アスコルビン酸当量0.0003重量%以上であることが好ましい。ここで、経口摂取用組成物には、例えば、食品組成物、医薬組成物などが含まれる。

【0035】

本発明の食品組成物は、抗酸化作用を有する健康食品（栄養機能食品、特定保健用食品、サプリメントなど）、病者用食品などとすることができる。

本発明の食品組成物は、本発明の抗酸化剤（好ましくはアスコルビン酸当量として0.0003重量%以上）を含み、アスコルビン酸やトコフェロールなどの公知の酸化防止剤を含まなくとも非常に優れた抗酸化効果を奏し、安全であり、色、風味、栄養価などの点で長期安定性に優れる。また、本発明の食品組成物は、高い抗酸化活性を有するので、当該食品組成物の摂取により、生体内に存在する活性酸素に起因して生じる各種障害（心筋梗塞、動脈硬化、糖尿病、癌、脳卒中、白内障、肩こり、冷え性、高血圧、老人性痴呆症、シミ、ソバカス、しわ、肝斑、くすみ、その他の肌の衰えなど）の改善および/または予防用、ならびに肌のハリ、肌のつや、化粧ののり、肌のかさつき、肌のきめ、肌のくすみ、肌の吹き出物・にきび、肌の弾力性の改善および/または予防用として摂取することができる。

【0036】

本発明の医薬組成物は、本発明の抗酸化剤を（好ましくはアスコルビン酸当量として0.0003重量%以上）を含み、非常に優れた抗酸化活性を有するので、当該医薬組成物

10

20

30

40

50

の摂取により、生体内に存在する活性酸素に起因して生じる各種障害（心筋梗塞、動脈硬化、糖尿病、癌、脳卒中、白内障、肩こり、冷え性、高血圧、老人性痴呆症、シミ、ソバカス、しわ、肝斑、くすみ、その他の肌の衰えなど）の治療、改善および/または予防用、ならびに肌のハリ、肌のつや、化粧ののり、肌のかさつき、肌のきめ、肌のくすみ、肌の吹き出物・にきび、肌の弾力性の治療、改善および/または予防用として摂取することができる。また、本発明の医薬組成物はそれ自体も酸化されにくく、本発明の抗酸化剤以外の有効成分の酸化や変色などを長期間防ぐことができる。

【0037】

本発明の経口摂取用組成物は、必要に応じ、本発明の効果を損なわない範囲で従来公知の着色剤、保存剤、香料、風味剤、コーティング剤等の成分を配合することもできる。

10

また、本発明の経口摂取用組成物は、本発明の効果を損なわない範囲で、上記抗酸化剤に加えて、さらに植物の加工物、機能性成分、または薬効成分を配合することができる。なお、これらの成分は、1種単独で上記抗酸化剤と組み合わせ使用してもよいし、また、2種以上を任意に組み合わせ使用して上記抗酸化剤と併用することもできる。

【0038】

併用できる植物の例としては、本発明で使用する抗酸化剤と同様に、抗酸化作用などを有する植物抽出物（例えば、アカメガシワ、カキノキ、クワ、セイヨウトドリソウ、ツボクサ、サクヨウガラガ、ヤーバサンタ、ローズヒップ、アスナロ、アセンヤク、イタドリ、イチヤクソウ、アンズ、ケイカンカ、ハクカユマトウ、シラカバ、セイヨウサンザシ、セイヨウノコギリソウ、タラヨウ、ドクダミ、トルメンチラ、バクモンドウ、ヒバ、ブドウ、ムクロジ、モッカ、レイシ、ローマカツミレなどの抽出物）；ヒアルロニダーゼ阻害作用を有する植物抽出物（例えば、ブドウの種子、ひじき、モロヘイヤ、ハマスゲ、穀類（例えば、豆、米および麦など）、ハーブ類（例えば、ミルラ、バジル、タイムなど）、カカオエキス、コーヒーエキス、梅肉エキス、サンザシエキス、およびクロレラなどの抽出物）；女性ホルモン様作用を有する大豆抽出物やブラックコホシエエキス；血圧降下作用および精神安定を有する米胚芽抽出物などを挙げる事ができる。

20

【0039】

また、本発明の経口摂取用組成物の栄養面を向上させる成分の例としては、フィチン酸、黒ニンニク、黒酢、ローヤルゼリー、黒胡椒、エゾウコギ、トンカットアリ、パフィア、ムイラブアマ、タヒボ、田七人參、紅景天、羅漢果、レイシ、ニガウリ、カイアポ、ヤーコン、マテ茶、スギナ、トナカイの角などを挙げる事ができる。

30

【0040】

機能性成分の例としては、抗酸化剤、血糖降下剤、抗コレステロール剤、免疫賦活剤などを挙げる事ができる。

ここで、抗酸化剤の例としては、制限されないが、乾燥酵母、グルタチオン、リポ酸、ケルセチン、カテキン、コエンザイムQ10、エンゾジノール、プロアントシアニジン類、アントシアニジン、アントシアニン、カロチン類、リコピン、フラボノイド、リザベラトロール、イソフラボン類、亜鉛、イチヨウ葉、月桃葉、ハイビスカス、メラトニンを挙げる事ができる。

【0041】

血糖降下剤の例としては、制限されないが、難消化性デキストリン、グアバ葉、小麦アルブミン、L-アラビノース、豆鼓エキス、桑葉、しょうが、サラシア、 γ -リノレン酸、アマチャヅル、オオムギ、キダチアロエ、セイヨウタンポポ、ダイダイ、チョウセンアザミ、ニンニク、ハトムギ、バナバ、ビルベリー、ブラックコホシエ、マコモ、コタラヒム、杜仲葉を挙げる事ができる。

40

【0042】

抗コレステロール剤の例としては、制限されないが、大豆タンパク質、リン脂質結合大豆ペプチド、キトサン、植物ステロールエステル、植物ステロール、植物スタノールエステル、難消化性デキストリン、アルギン酸ナトリウム、サイリウム種皮、アスタキサンチン、イノシトール、コエンザイムA、カルシウム、マグネシウム、カルニチン、シルクブ

50

ロテイン、タウリン、メチオニン、 γ -リノレン酸、グアガム、コンドロイチン硫酸、アマチャヅル、アルファルファ、イチョウ、オオバコ、オオムギ、オーツ麦、オリーブ、ガジュツ、ギムネマ、キャットクロー、クコ、クロレラ、スピルリナ、西洋サンザシ、大豆サポニン、唐辛子、ニンニク、ビルベリー、ベニバナ、ユッカ、ラフマ、アガリクス、紅麹を挙げることができる。

【0043】

免疫賦活剤の例としては、アガリクス、ラクトフェリン、冬虫夏草、アルギニン、トリプトファン、バリン、ロイシン、キチン、キトサン、アロエ、キダチアロエ、エキナセア、オウギ、キャットクロー、クコ、スピルリナ、ハトムギ、紅花、マカ、マコモ、ラフマを挙げることができる。

10

【0044】

薬効成分の例としては、ビタミン、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、ミネラル分（鉄、亜鉛、マグネシウム、ヨードなど）、脂肪酸（EPA、DHAなど）を挙げることができる。

【0045】

ここでビタミンの例としては、ビタミンA群に属するビタミン〔例えば、レチナール、レチノール、レチノイン酸、カロチン、デヒドロレチナール、リコピン及びそれらの薬理的に許容される塩類（例えば、酢酸レチノール、パルミチン酸レチノールなど）など〕、ビタミンB群に属するビタミン〔例えば、チアミン、チアミンジスルフィド、ジセチアミン、オクトチアミン、シコチアミン、ビスイブチアミン、ビスベンチアミン、プロスルチアミン、ベンフォチアミン、フルスルチアミン、リボフラビン、フラビンアデニンジヌクレオチド、ピリドキシン、ピリドキサル、ヒドロキシコバラミン、シアノコバラミン、メチルコバラミン、デオキシアデノコバラミン、葉酸、テトラヒドロ葉酸、ジヒドロ葉酸、ニコチン酸、ニコチン酸アミド、ニコチンアルコール、パントテン酸、パントノール、ピオチン、コリン、イノシトール、パンガミン酸及びそれらの薬理的に許容されるこれらの塩類（例えば、塩酸チアミン、硝酸チアミン、塩酸ジセチアミン、塩酸フルスルチアミン、酪酸リボフラビン、フラビンアデニンジヌクレオチドナトリウム、塩酸ピリドキシン、リン酸ピリドキサル、リン酸ピリドキサルカルシウム、塩酸ヒドロキシコバラミン、酢酸ヒドロキシコバラミン、パントテン酸カルシウム、パントテン酸ナトリウムなど）など〕、ビタミンC群に属するビタミン〔アスコルビン酸及びその誘導体、エリソルビン酸及びその誘導体及びそれらの薬理的に許容される塩類（例えば、アスコルビン酸ナトリウム、エリソルビン酸ナトリウムなど）など〕、ビタミンD群に属するビタミン〔例えば、エルゴカルシフェロール、コレカルシフェロール、ヒドロキシコレカルシフェロール、ジヒドロキシコレカルシフェロール、ジヒドロタキステロール及びそれらの薬理的に許容される塩類など〕、ビタミンE群に属するビタミン〔例えば、トコフェロール及びその誘導体、ユビキノン誘導体及びそれらの薬理的に許容される塩類（酢酸トコフェロール、ニコチン酸トコフェロール、コハク酸トコフェロール、コハク酸トコフェロールカルシウムなど）など〕、その他のビタミン〔例えば、カルニチン、フェルラ酸、 α -オリザノール、オロチン酸、ルチン（ビタミンP）、エリオシトリン、ヘスペリジン及びそれらの薬理的に許容される塩類（塩化カルニチンなど）など〕を挙げることができる。

20

30

40

【0046】

またアミノ酸の例としては、ロイシン、イソイロイシン、バリン、メチオニン、トレオニン、アラニン、フェニルアラニン、トリプトファン、リジン、グリシン、アスパラギン、アスパラギン酸、セリン、グルタミン、グルタミン酸、プロリン、チロシン、システイン、ヒスチジン、オルニチン、ヒドロキシプロリン、ヒドロキシリジン、グリシルグリシン、アミノエチルスルホン酸（タウリン）、シスチンまたはこれらの薬理的に許容される塩類（例えばアスパラギン酸カリウム、アスパラギン酸マグネシウム、塩酸システインなど）などを挙げることができる。好ましい例は、バリン、ロイシンおよびイソロイシン等の分岐鎖アミノ酸、グルタチオン、システイン、グルタミン酸、グリシン、セリン、ト

50

リプトファン、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、メチオニン、スレオニン、リジン、シスチン、アルギニン、アラニン、アスパラギン酸、プロリン、アミノエチルスルホン酸である。

【0047】

また、本発明の経口摂取用組成物は、上記の抗酸化剤をそのまま経口摂取用組成物として使用してもよいし、継続的な摂取が行いやすいように、例えば顆粒剤（ドライシロップを含む）、カプセル剤（軟カプセル剤、硬カプセル剤）、錠剤（チュアブル剤などを含む）、散剤（粉末剤）、丸剤などの各種の固形製剤、または内服用液剤（液剤、懸濁剤、シロップ剤を含む）などの液状製剤等の形態で調製することが望ましく、なかでもカプセル剤、錠剤の形態が各成分の安定性や摂取の簡便さの点からは好ましいが、特に限定されるものではない。

10

【0048】

カプセル剤、錠剤形態の本発明の経口摂取用組成物は、薬学的に許容される公知の担体を用いることができ、医薬や食品（特にサプリメント）の分野で採用されている通常の製剤化手法を適用することができる。例えば、錠剤は、各成分を処方に従って添加配合し、粉碎、造粒、乾燥、整粒および混合を行い、得られた調製混合物を打錠することによって調製することができる。

【0049】

さらに、必要に応じて、製剤化のための添加物、例えば、賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、流動化剤、分散剤、湿潤剤、防腐剤、粘稠剤、pH調整剤、着色剤、矯味矯臭剤、界面活性剤、溶解補助剤などを配合することができる。また、液剤の形態にする場合は、ペクチン、キサンタンガム、グアガムなどの増粘剤を配合することができる。これにより、蜂の子など水に溶けにくい成分を多く配合した場合であっても液剤中に首尾よく分散させることができ、また安定性も向上させることができる。また、コーティング剤を用いてコーティング錠剤にしたり、ペースト状の膠剤とすることもできる。さらに、他の形態に調製する場合であっても、従来の方法に従えばよい。

20

【0050】

さらに、顆粒状、粉末状、液状等の形態の本発明の経口摂取用組成物は、例えば、飲料、菓子類、パン類、スープ類等の各種飲食品；ドッグフード、キャットフード等の各種ペットフード等に添加して各種飲食品として調製される。これらの飲食品の製造方法は、本発明の効果を損なわないものであれば特に限定されず、各用途で当業者によって使用されている方法に従えばよい。

30

【0051】

本発明の経口摂取用組成物の投与量は、対象の体型、年齢、体調、重篤度等により、適宜選択することができる。例えば、体重60kgの成人を基準として、本発明の抗酸化剤が100～3000mg/日、好ましくは300～2000mg/日、さらに好ましくは500～1000mg/日の用量で使用される。当該経口摂取用組成物の投与は、単回投与または複数回投与であってもよく、たとえば他の抗酸化剤などの他の薬剤と組み合わせて使用することもできる。

【0052】

本発明のさらなる別の側面において、プロポリスに蜂の子を加えることを特徴とするプロポリスの抗酸化増強方法ならびにプロポリスに蜂の子およびローヤルゼリーを加えることを特徴とするプロポリスの抗酸化増強方法を提供する。

40

【0053】

本発明のプロポリスの抗酸化増強方法において使用できる蜂の子、プロポリスおよびローヤルゼリーは前述のとおりのもを使用できる。また、本発明のプロポリスの抗酸化増強方法において、プロポリスと蜂の子との配合比率およびプロポリスとローヤルゼリーとの配合比率は、とくに制限されないが、好ましくは前述のとおりである。

【発明の効果】

【0054】

50

本発明の抗酸化剤は優れた抗酸化作用を有する。これにより、(1)当該抗酸化剤を含む経口摂取用組成物の変色、風味の悪化、および栄養価の低下を防止し、ならびに当該経口摂取用組成物に含まれる有効成分の効果を長期間安定化することができる、(2)当該抗酸化剤を含む経口摂取用組成物を摂取することで、生体内に存在する活性酸素に起因して生じる各種障害(心筋梗塞、動脈硬化、糖尿病、癌、脳卒中、白内障、肩こり、冷え性、高血圧、老人性痴呆症、シミ、ソバカス、しわ、肝斑、くすみ、その他の肌の衰えなど)の治療、改善および/または予防、ならびに肌のハリ、肌のつや、化粧ののり、肌のかさつき、肌のきめ、肌のくすみ、肌の吹き出物・にきび、肌の弾力性などを改善および/または予防することができる。

【実施例】

【0055】

以下、本発明の好適な実施例についてさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。なお、本明細書において示されるパーセンテージは特に言及がなければ重量%を意味する。

【0056】

各試料の調製

試験に使用した蜂の子、プロポリス、およびローヤルゼリーは以下の方法で調製した。

[蜂の子]

セイヨウミツバチの孵化後20~22日の蛹を採取後に-18℃で冷凍した。その後使用前に自然解凍した蜂の子を攪拌機で混合後、得られた混合物を60分間煮沸殺菌した。その後、凍結乾燥して篩分(50メッシュ)し、蜂の子粉末を得た。当該蜂の子粉末を以下の試験(「抗酸化活性測定試験」、「ヒトにおける有効性確認試験」および「マウス皮膚層厚測定試験」)において使用した。

【0057】

また、得られた蜂の子粉末のキチン含量をキチン・キトサン実験マニュアル(キチン・キトサン研究会編 技報堂出版)の「第5章 キチン,キトサンの分析」に従って測定した結果、キチン含有率は5.0重量%(乾燥粉末重量あたり)であった。

【0058】

[プロポリス]

蜂の巣から採取したプロポリス原塊にエタノールを加えて攪拌しながら50℃で2時間過熱し、室温まで冷却後、ろ過して得られた溶液を濃縮して蠟状の固体物を得た(プロポリス抽出物)。得られた固体物に当該固体物と同重量のデキストリンを添加してプロポリス粉末を得た。当該プロポリス粉末を以下の試験において使用した。

【0059】

また、得られたプロポリス粉末を高速液体クロマトグラフィー法(高速液体クロマトグラフィーハンドブック(改定2版)、日本分析化学学会関東支部編参照)に供し、p-クマル酸の含有率を測定した結果、p-クマル酸の含有率は2.1重量%(プロポリス抽出物50%の粉末重量あたり)であった。

【0060】

また、以下の「抗酸化活性測定試験」の表2~6におけるプロポリス量は、当該プロポリス粉末(プロポリス抽出物含有率50重量%)に含まれるプロポリス抽出物の量を示す。なお、賦形剤に使用したデキストリンには抗酸化活性がないことを確認している。

【0061】

[ローヤルゼリー]

採取後に-18℃で冷凍したローヤルゼリーの原液を凍結乾燥して得られた固体を粉砕機で粉砕し、篩分(50メッシュ)して得られた粉末をローヤルゼリーとして使用した。また、得られたローヤルゼリー粉末を高速液体クロマトグラフィー法(高速液体クロマトグラフィーハンドブック(改定2版)、日本分析化学学会関東支部編参照)に供し、デセン酸含有率を測定した結果、デセン酸の含有率は5.9重量%(乾燥粉末重量あたり)であった。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 2 】

[試験例 1] 抗酸化活性測定試験

[試料溶液の調製]

以下表 1 ~ 6 に従い、所定の濃度となるように調製した各試料の粉末のジメチルスルホキシド溶液から 100 μ L を取り、遠心分離 (5000 rpm \times 5 分) の後に、上澄み液から 10 μ L を採取し試料溶液とした。

【 0 0 6 3 】

[測定方法]

ジフェニル - 2 - ピクリルヒドラジル (以下、DPPH と称する ; ナカライテスク、# 13933 - 61) をエタノール (Wako、特級) に溶解させ、200 μ M の DPPH / エタノール溶液を調製した。96 ウェルマイクロプレートの各ウェルに、DPPH 溶液 (190 μ L) および試料溶液 (10 μ L) を加え、5 分間攪拌後、30 分間室温にて放置し、その後マイクロプレートリーダー (テカンジャパン株式会社製、製品名 : GENios) にて 530 ~ 550 nm の波長の吸光度を測定した。

10

【 0 0 6 4 】

[検量線の作成]

まず、試料溶液として L - アスコルビン酸を用いて濃度と吸光度の変化を測定した。その結果を表 1 に示す。表中、Asc は L - アスコルビン酸の濃度 (重量 %)、Abs は試料の 550 nm における吸光度の測定値、(Bla - Abs (550 nm)) は (ブランク吸光度測定値 - 試料吸光度測定値) を示す。また、表 1 より検量線を作成し、以下の式を得て、各試料の抗酸化活性を L - アスコルビン酸当量 (Asc (%) [EQ]) で示した。

20

(ブランク吸光度測定値 - 試料吸光度測定値) = 24.566 \times (L - アスコルビン酸濃度) + 0.0029

【 0 0 6 5 】

【表 1】

表 1. L - アスコルビン酸の抗酸化活性

Asc (%)	Abs (550nm)	Bla-Abs (550nm)
0	0.743	0
0.0005	0.729	0.0144
0.001	0.720	0.0237
0.005	0.619	0.1248
0.008	0.544	0.1991
0.01	0.488	0.2552
0.015	0.365	0.3784
0.02	0.257	0.4861

30

【 0 0 6 6 】

蜂の子の抗酸化活性

蜂の子粉末を試料溶液として抗酸化活性を測定し、L - アスコルビン酸当量を算出した。結果を表 2 に示す。

40

【 0 0 6 7 】

【表 2】

表 2. 蜂の子の抗酸化活性

蜂の子(重量%)	Asc(%) [EQ]
0.05	0.0003
0.1	0.0005
0.2	0.0006
0.3	0.0009
0.4	0.0017
0.5	0.0024
0.6	0.0031
0.7	0.0039
1	0.0058
2	0.0105
5	0.0179
10	0.0194

10

【 0 0 6 8 】

上記結果より、蜂の子が抗酸化活性を有することが確認された。

ここで、飲食品や化粧品およびその原材料の酸化防止剤として一般的に使用されているアスコルビン酸は、例えば、酸化防止剤として食品素材に注入または配合される場合の使用量は、0.0003～0.0005重量%程度である（食品添加物公定書解説書（第8版）、谷村顕雄著、廣川書店、2007年参照）。本試験の結果、蜂の子0.05重量%において、L-アスコルビン酸0.0003重量%と同等の抗酸化活性が得られていることから、蜂の子は抗酸化剤として優れていることが分かった。

20

【 0 0 6 9 】

プロポリスおよびローヤルゼリーの抗酸化活性測定試験

プロポリス粉末およびローヤルゼリー粉末のそれぞれを試料溶液として抗酸化活性を測定し、L-アスコルビン酸当量を算出した。結果を表3に示す。

【 0 0 7 0 】

30

【表 3】

表 3. プロポリスおよびローヤルゼリーの抗酸化活性

プロポリス(重量%)	ローヤルゼリー(重量%)	Asc(%)[EQ]
0.0025	-	0.0005
0.005	-	0.0005
0.009	-	0.0006
0.001	-	0.0007
0.015	-	0.0013
0.025	-	0.0028
0.0375	-	0.0040
0.05	-	0.0058
0.1	-	0.0123
-	0.01	-0.0001
-	0.05	-0.0001
-	0.1	-0.0001
-	0.2	0.0001
-	0.3	0.0003
-	0.4	0.0004
-	0.5	0.0005
-	0.6	0.0008
-	0.7	0.0009
-	1	0.0016

10

20

【 0 0 7 1 】

プロポリスには抗酸化効果が確認されたが、ローヤルゼリーの抗酸化効果は非常に低く、単独での抗酸化剤として使用するには不十分であった。

蜂の子とプロポリスの混合物の抗酸化活性測定試験

蜂の子粉末とプロポリス粉末の混合物試料溶液として抗酸化活性を測定した。その結果を表 4 に示す。表中の理論値は、蜂の子およびプロポリスを各濃度で単独で使用した場合の Asc(%) [EQ] 測定値(表 2 および表 3) の和であり、相乗効果は、混合物の Asc(%) [EQ] 測定値と理論値の比である。

30

【 0 0 7 2 】

【表 4】

表 4. 蜂の子とプロポリスの混合物の抗酸化活性

プロポリス(重量%)	蜂の子(重量%)	配合比率(重量部)	Asc(%) [EQ]	理論値	相乗効果
0.0025	0.6	1:240	0.0043	0.0036	1.21
0.005	0.6	1:120	0.0049	0.0036	1.35
0.009	0.6	1:66.7	0.0050	0.0037	1.37
0.01	0.6	1:60	0.0050	0.0038	1.33
0.015	0.6	1:40	0.0053	0.0044	1.20
0.025	0.6	1:24	0.0067	0.0059	1.12

40

【 0 0 7 3 】

表 4 では、プロポリス 1 重量部に対して蜂の子を 24 ~ 240 重量部を含む混合物において、理論値を上回る抗酸化効果を確認した。この結果より、蜂の子およびプロポリスを混合することにより抗酸化活性が相乗的に高まることが確認された。

【 0 0 7 4 】

50

蜂の子、プロポリス、およびローヤルゼリーの混合物の抗酸化活性測定試験

以下の表5に蜂の子粉末、プロポリス粉末、およびローヤルゼリー粉末の混合物を試料溶液としての抗酸化活性測定を行った。結果を表5に示す。表中の理論値は、蜂の子、プロポリス、およびローヤルゼリーを各濃度で単独で使用した場合のAsc(%) [EQ]測定値(表2および表3)の和であり、相乗効果は、混合物のAsc(%) [EQ]測定値と当該理論値の比である。

【0075】

【表5】

表5. 蜂の子、プロポリス、およびローヤルゼリーの混合物の抗酸化活性

プロポリス (重量%)	ローヤルゼリー (重量%)	蜂の子 (重量%)	配合比率(重量部) プロポリス:蜂の子	Asc(%) [EQ]	理論値	相乗 効果
0.0025	0.5	0.6	1:240	0.0057	0.0041	1.40
0.005	0.5	0.6	1:120	0.0072	0.0041	1.74
0.009	0.5	0.6	1:66.7	0.0092	0.0042	2.21
0.01	0.5	0.6	1:60	0.0093	0.0043	2.17
0.015	0.5	0.6	1:40	0.0101	0.0049	2.06
0.025	0.5	0.6	1:24	0.0117	0.0064	1.82
0.0375	0.5	0.6	1:16	0.0120	0.0076	1.58
0.05	0.5	0.6	1:12	0.0117	0.0094	1.25
0.1	0.5	0.6	1:6	0.0179	0.0159	1.12
プロポリス (重量%)	ローヤルゼリー (重量%)	蜂の子 (重量%)	配合比率(重量部) ローヤルゼリー:蜂の子	Asc(%) [EQ]	理論値	相乗 効果
0.009	0.01	0.6	1:60	0.0050	0.0036	1.41
0.009	0.05	0.6	1:12	0.0055	0.0036	1.54
0.009	0.1	0.6	1:6	0.0056	0.0036	1.55
0.009	0.2	0.6	1:3	0.0060	0.0038	1.57
0.009	0.3	0.6	1:2	0.0072	0.0040	1.80
0.009	0.4	0.6	1:1.5	0.0092	0.0041	2.25
0.009	0.6	0.6	1:1	0.0094	0.0045	2.08
0.009	0.7	0.6	1:0.86	0.0095	0.0046	2.06
0.009	1	0.6	1:0.6	0.0098	0.0052	1.87
0.009	2	0.6	1:0.3	0.0107	0.0073	1.47

【0076】

表5では、蜂の子、プロポリス、およびローヤルゼリーを含む混合物において、プロポリス1重量部に対して蜂の子を6~240重量部含む場合、またはローヤルゼリー1重量部に対して蜂の子を0.3~60重量部含む場合において理論値を上回る抗酸化効果を確認した。さらに、表5の結果と表4の結果を比較すると、蜂の子、プロポリス、およびローヤルゼリーの3種を混合することにより、2種の混合物よりもさらに高い抗酸化活性が得られることがわかる。

【0077】

[試験例2] ヒトにおける有効性確認試験

抗酸化剤は、当該抗酸化剤を摂取した動物において、酸化に起因する種々の障害を治療、改善および/または予防する。そこで、本発明の経口摂取用組成物の有効性を確認するために、ヒトモニターを使った摂取試験を行い、肌への影響を調べた。

【0078】

[錠剤の調製]

表6に示す処方錠剤を慣用法に従って作成した。具体的には、各成分を処方に従って

10

20

30

40

50

配合し、粉碎、造粒、乾燥、整粒および混合を行い、それを定法により打錠して錠剤の形態にした。蜂の子粉末、プロポリス粉末、およびローヤルゼリー粉末としては、前述のとおり調製したものを使用した。また、各成分の配合比率は、プロポリス抽出物 1 重量部に対して蜂の子粉末が 65.6 重量部、ローヤルゼリー粉末 1 重量部に対して蜂の子粉末が 1.3 重量部である。

【0079】

【表6】

表6. 錠剤の処方

原材料名	(mg/粒)	10
蜂の子粉末	105	
プロポリス粉末(抽出物50重量%含有)	3.2*	
ローヤルゼリー粉末	80.5	
メチルヘスペリジン	(アルプス薬品工業株式会社) 4.0	
結晶セルロース	(旭化成ケミカルズ株式会社) 75	
還元麦芽糖	(三菱商事フードテック株式会社) 34.5	
二酸化珪素	(富士シリシア化学株式会社) 6.5	
ステアリン酸カルシウム	(太平化学産業株式会社) 4.3	
乳清カルシウム粉	(明治乳業株式会社) 10.6	
合計	323.6	20

※プロポリス抽出物として1.6mgである。

【0080】

アンケートによる肌の評価

前記錠剤を1日5粒ずつ1ヶ月間摂取した、20~40歳の女性モニター19名に、摂取開始時および摂取開始後1ヶ月時点で主観的な顔の肌状態についてアンケートを行った。その結果を表7に示す。

【0081】

【表 7】

表 7. アンケート結果

肌のハリについて、 どう思われますか？	摂取前	摂取後1ヶ月
ハリがある	6%	13%
ややハリがある	38%	31%
どちらともいえない	38%	56%
ややハリがない	19%	0%
ハリがない	0%	0%

肌のツヤについて、 どう思われますか？	摂取前	摂取後1ヶ月
ツヤがある	0%	6%
ややツヤがある	13%	44%
どちらともいえない	19%	50%
ややツヤがない	56%	0%
ツヤがない	13%	0%

化粧のりについて、 どう思われますか？	摂取前	摂取後1ヶ月
良い状態	0%	13%
やや良い状態	19%	38%
どちらともいえない	44%	50%
やや悪い状態	31%	0%
悪い状態	6%	0%

肌のかさつきについて、 どう思われますか？	摂取前	摂取後1ヶ月
しっとりしている	6%	19%
ややしっとりしている	6%	38%
どちらともいえない	31%	31%
ややかさつく	38%	13%
かさつく	19%	0%

肌のキメについて、 どう思われますか？	摂取前	摂取後1ヶ月
整っている	0%	13%
やや整っている	6%	19%
どちらともいえない	19%	63%
やや荒れている	50%	6%
荒れている	25%	0%

肌のくすみについて、 どう思われますか？	摂取前	摂取後1ヶ月
明るい(透明感がある)	0%	0%
やや明るい	6%	19%
どちらともいえない	38%	56%
ややくすんでいる	44%	25%
くすんでいる	13%	0%

肌の吹き出物・にきびにつ いて、どう思われますか？	摂取前	摂取後1ヶ月
ない	0%	19%
ほとんどない	13%	31%
どちらともいえない	19%	31%
ややある	56%	19%
ある	13%	0%

【 0 0 8 2 】

表 7 の結果から、摂取開始時に比べ摂取開始 1 ヶ月時では、肌のハリ、肌のつや、化粧のり、肌のかさつき、肌のきめ、肌のくすみ、肌の吹き出物・にきびの全ての項目において、評価が高まる傾向が認められた。

【 0 0 8 3 】

肌の弾力性および水分量の変化の測定

客観的な肌状態の変化を測定するために、11名のモニターについては、投与開始時および開始後1ヶ月時に、顔の皮膚(頬骨の部分)の弾力性および水分量を測定した。

【 0 0 8 4 】

[測定方法]

測定は洗顔後、湿度60%、温度25℃に調整された部屋で20分馴化した後に行い、弾力値はCutometer MPA580(Courage + Khazaka electronic社製)を用い、添付のマニュアルに従ってUf値を測定した。肌の弾力性が高いほどUf値は高くなる。水分値はSkicon200EX(アイ・ビー・エス株式会社製)を用い、添付のマニュアルに従い、電気伝導度(μS)として測定した。肌表面の水分含量が多いほど電気伝導度は高くなる。

【 0 0 8 5 】

結果を図1および図2に示す。肌の弾力値は摂取開始時に比較して、摂取開始1ヶ月時

10

20

30

40

50

に有意な向上が確認された ($p < 0.05$)。水分値については、有意差は確認されなかったが、増加傾向が確認された。

【0086】

上記試験から、本発明の経口摂取用組成物が美容効果を有することが明らかとなった。

[試験例3] マウス皮膚層厚測定試験

本発明の抗酸化剤の肌組織への影響をより詳細に調べるために、マウスを用いて以下の給餌試験を行った。

【0087】

[試料の調製]

下記の表8に示す試料を調製した。蜂の子粉末、ローヤルゼリー粉末およびプロポリス粉末は、前述のとおり調製したものを6:5:0.3(プロポリス抽出物として0.15)の重量比で混合したものを使用した。ビタミンMixおよびミネラルMixは日本クレア株式会社製のCLEA精製用を使用した。使用したミルクカゼインはタンパク質を86.2重量%、コーンスターチは炭水化物86.3重量%、コーンオイルは脂質重量の100重量%含有しており、飼料1~3は全てタンパク質含有量が20重量%となるように調製した。

10

【0088】

[表8]

表8. 飼料配合比

20

原材料名	飼料1	飼料2	飼料3	低タンパク質飼料
ミルクカゼイン	7	7	23.5	7
コーンスターチ	37.7	31.7	46.5	63
ローヤルゼリー粉末	-	36.8	-	-
蜂の子粉末、プロポリス粉末、およびローヤルゼリー粉末の混合物	31.3	-	-	-
グラニュー糖	10	10	10	10
コーンオイル	-	0.5	6	6
セルロースパウダー	5	5	5	5
α -スターチ	1	1	1	1
ビタミン Mix	1	1	1	1
ミネラル Mix	7	7	7	7
合計	100	100	100	100

30

(重量%)

【0089】

[試験方法]

ヘアレスマウス(日本エルエスシー株式会社: BALB/c Slc-nu/nu (SPF) 3週齢)をA~E群(各群n=6)に分け、上記表8に示した飼料を表9の給餌スケジュールに従って給餌した。具体的には、各群に低タンパク飼料(6%タンパク質含有)を3週間与えて馴化させ、その後A群には飼料1を、B群には飼料2を、C群には飼料3を与え、D群には低タンパク飼料を引き続き与えた。E群は対照群として3週間後に屠殺し皮膚層厚を測定した。

40

【0090】

【表 9】

表 9. 給餌スケジュール

	1 週	2 週	3 週	4 週	5 週	6 週	7 週
A群	低タンパク質飼料			飼料1			
B群	低タンパク質飼料			飼料2			
C群	低タンパク質飼料			飼料3			
D群	低タンパク質飼料			低タンパク質飼料			
E群	低タンパク質飼料			-			

【 0 0 9 1 】

10

試験開始 7 週間経過後に A ~ D 群のマウスを屠殺し、皮膚層厚（真皮層の厚み）を測定した。具体的には、背中中央の脊柱線から右側部分の皮膚約 1 c m 四方を切り取り、ホルマリンにて固定後、エラスチカ・ワンギ - ソン（E V G）染色標本作製を施し、標本の顕微鏡写真（図 3）を撮影した。真皮層の厚さは、写真上で濃紫色に染色された真皮層部分の任意の 1 0 箇所距離を測定し、その平均値を顕微鏡の拡大倍率で割ることによって求めた。

【 0 0 9 2 】

測定結果を図 4 に示す。蜂の子粉末、ローヤルゼリー粉末およびプロポリス粉末の混合物を含む飼料 1 を与えた A 群のマウスの真皮層の厚みは、同量のタンパク質を含有する飼料を与えた B 群および C 群のマウスと比べて有意に増加した（図 3 および図 4）。

20

【 0 0 9 3 】

[処方例]

処方例 1 ~ 2 6（錠剤）

表 1 0 に記載する処方からなる組成物を（処方例 1 ~ 2 6）を、慣用法に従って錠剤として調製した。具体的には、各成分を処方に従って配合し、粉碎、造粒、乾燥、整粒および混合を行い、それを定法に従って打錠して錠剤の形態に調製した。

【 0 0 9 4 】

【 0 0 9 5 】

表10. 錠剤の処方例(処方例1~26)

原材料名	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
蜂の子粉末	0.1	50	100	150	50	50	50	100	100	100	150	150	150
プロポリス粉末(抽出物50%含有)	0	0	0	0	0.42	4.2	17.5	0.3	0.83	3	4.5	12.5	50
ローヤルゼリー粉末	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
コラーゲン粉末	100	30	30	30	30	30	0	30	30	0	10	5	5
L-アスコルビン酸	10	10	5	5	10	10	0	10	10	0	5	5	5
メチルヘスペリジン	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
結晶セルロース	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78
還元麦芽糖	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部
二酸化珪素	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9
ステアリン酸カルシウム	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
食用乳糖カルシウム粉	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6
合計(mg)	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3

【 0 0 9 5 】

処方例 2 7 ~ 4 1 (顆 粒 剤)

原材料名	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
蜂の子粉末	50	50	50	50	50	100	100	100	100	150	150	150	150
プロポリス粉末(抽出物50%含有)	0.15	0.42	1.5	4.2	50	0.83	3	8.3	35	0.45	4.5	12.5	52.5
ローヤルゼリー粉末	0.5	0.83	41.5	167	41.5	1	83.5	10	83.5	2.5	2.5	2.5	15
コラーゲン粉末	0	0	10	0	0	10	0	10	0	0	10	0	0
L-アスコルビン酸	0	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	0
メチルヘスペリジン	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
結晶セルロース	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78
還元麦芽糖	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部
二酸化珪素	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9	5.9
ステアリン酸カルシウム	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
食用乳糖カルシウム粉	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6	11.6
合計(mg)	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3	327.3

10

20

30

40

50

表 1 1 に記載する処方からなる組成物（処方例 2 7 ~ 4 1 ）を、慣用法に従って顆粒剤として調製した。具体的には、各成分を処方に従って配合し、定法に従って混合、造粒、乾燥および整粒して顆粒剤の形態にした。

【 0 0 9 6 】
【 表 1 1 】

表 1.1. 顆粒剤の処方例(処方例 27~41)

原材料名	27	28	29	30	31	32	33	34
蜂の子粉末	75	150	230	75	75	150	150	230
プロポリス粉末(抽出物50%含有)	0	0	0	0.63	6.25	1.26	4.5	6.9
ローヤルゼリー粉末	0	0	0	0	0	0	0	0
コラーゲン粉末	50	50	30	50	0	30	0	0
L-アスコルビン酸	0	5	5	5	0	5	0	0
メチルヘスペリジン	4	4	4	4	4	4	4	4
デキストリン	78	78	78	78	78	78	78	78
キサンタンガム	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部
合計(mg)	500	500	500	500	500	500	500	500

原材料名	35	36	37	38	39	40	41
蜂の子粉末	230	75	75	150	150	230	230
プロポリス粉末(抽出物50%含有)	19	0.63	2.25	12.5	4.5	1.92	6.9
ローヤルゼリー粉末	0	1.25	62.25	15	125	2.3	23
コラーゲン粉末	10	50	0	30	0	0	10
L-アスコルビン酸	5	5	0	3	0	0	3
メチルヘスペリジン	4	4	4	4	4	4	4
デキストリン	78	78	78	78	78	78	78
キサンタンガム	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部
合計(mg)	500	500	500	500	500	500	500

【 0 0 9 7 】

処方例 4 2 ~ 5 3 (液剤)

表 1 2 に記載する処方からなる組成物（処方例 4 2 ~ 5 3 ）を、慣用法に従って液剤として調製した。具体的には、各成分を処方に従って配合し、定法に従って混合して液剤の形態にした。

【 0 0 9 8 】

10

20

30

40

【 表 1 2 】

表12. 液剤の処方例(処方例 42~53)

原材料名*	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53
蜂の子粉末(mg)	25	500	1000	500	500	1000	1000	1000	500	500	1000	1000
プロポリス抽出物(mg)	0	0	0	7	88	4	15	42	22	88	15	42
ローヤルゼリー酵素分解物(mg)	0	0	0	0	0	0	0	0	420	8	830	17
コラーゲン(mg)	1000	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500
L-アスコルビン酸(mg)	0	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
メチルヘスペリジン(mg)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
レモン果汁粉(mg)	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78	78
ペクチン(mg)	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500
水	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部	残部
合計(ml)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 9 9 】

【 図 1 】 本発明の組成物の投与による顔の皮膚弾力値の変化に関する試験結果を示すグラフである。図中のアスタリスク(*)は有意差 p < 0 . 0 5 を示す。

【 図 2 】 本発明の組成物の投与による顔の皮膚水分値の変化に関する試験結果を示すグラフ

10

20

30

40

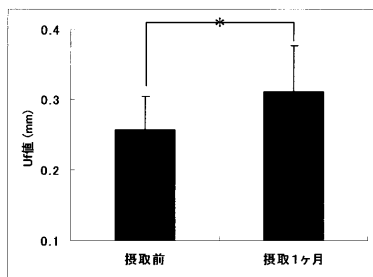
50

フである。

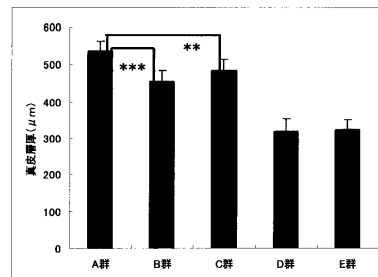
【図3】表12のA～E群マウスの皮膚組織断面の顕微鏡写真の一例である。スケールバーは200 μmを示す。

【図4】本発明の組成物の投与したマウスの皮膚層厚（真皮層の厚み）に関する試験結果を示すグラフである。図中のアスタリスク（**）は、有意差 $p < 0.01$ を、（***）は、有意差 $p < 0.001$ を示す。

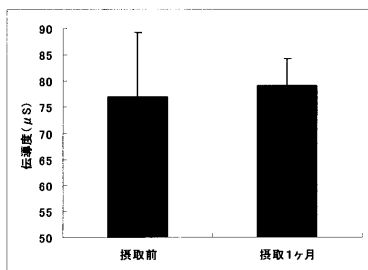
【図1】



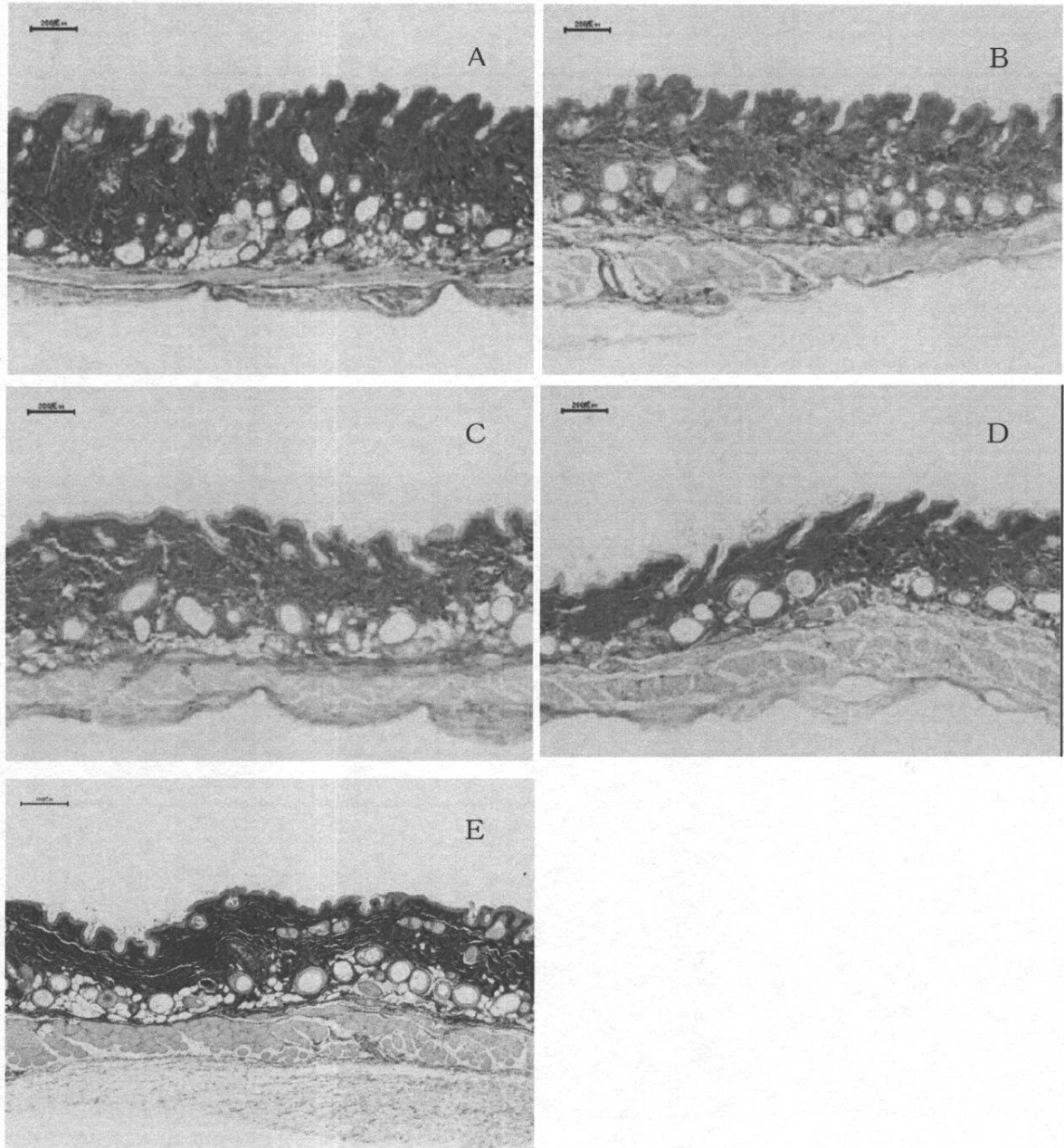
【図4】



【図2】



【 図 3 】



フロントページの続き

(74)代理人 100122644

弁理士 寺地 拓己

(72)発明者 高畑 宗幸

大阪府茨木市豊川一丁目30番3号 小林製薬株式会社 中央研究所内

審査官 川崎 洋祐

(56)参考文献 特開2006-211946(JP,A)

中国特許出願公開第1899129(CN,A)

中国特許出願公開第1875770(CN,A)

特開2002-173413(JP,A)

特開2010-051313(JP,A)

Hamerlinck FF et al., Neopterin: a review., Exp Dermatol., 1999年 6月, Vol.8 No.3, pp.167-176

小島周二, 内因性抗酸化物質としてのネオプテリン, 衛生化学, 1996年 8月, Vol.42 No.4, pp.273-284

Kojima S et al., Neopterin as an endogenous antioxidant., FEBS Lett., 1992年 6月15日, Vol.304 No.2-3, pp.163-166

池野久美子ら, ミツバチ花粉の抗酸化作用 他のミツバチ生産物との比較, ミツバチ科学, 2004年10月15日, Vol.25 No.3, pp.113-118

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 35/00 - 35/76

A61K 31/00 - 31/327

A61K 31/33 - 31/80

A61K 33/00 - 33/44

A23L 1/27 - 1/308

A61K 38/00 - 38/58

A61K 41/00 - 45/08

A61K 48/00

A61P 1/00 - 43/00

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)