

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5669132号
(P5669132)

(45) 発行日 平成27年2月12日(2015.2.12)

(24) 登録日 平成26年12月26日(2014.12.26)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 8/97 (2006.01)
 A 6 1 Q 19/08 (2006.01)
 A 6 1 K 36/24 (2006.01)
 A 6 1 P 17/16 (2006.01)

A 6 1 K 8/97
 A 6 1 Q 19/08
 A 6 1 K 35/78
 A 6 1 P 17/16

P

請求項の数 15 (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2010-506984 (P2010-506984)
 (86) (22) 出願日 平成20年5月7日(2008.5.7)
 (65) 公表番号 特表2010-526799 (P2010-526799A)
 (43) 公表日 平成22年8月5日(2010.8.5)
 (86) 国際出願番号 PCT/FR2008/050811
 (87) 国際公開番号 W02008/152268
 (87) 国際公開日 平成20年12月18日(2008.12.18)
 審査請求日 平成23年4月18日(2011.4.18)
 (31) 優先権主張番号 0755042
 (32) 優先日 平成19年5月11日(2007.5.11)
 (33) 優先権主張国 フランス (FR)

前置審査

(73) 特許権者 502189579
 エルブイエムエイチ レシエルシェ
 フランス・エフー45800・サン・ジャ
 ン・ドゥ・ブライ・アヴニユ・ドゥ・ヴェ
 ルダン・185
 (74) 代理人 100094318
 弁理士 山田 行一
 (74) 代理人 100123995
 弁理士 野田 雅一
 (74) 代理人 100107456
 弁理士 池田 成人
 (72) 発明者 ボンテ, フレデリック
 フランス, エフー45100 オリンズ
 , ルー トゥデレ 54

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アデニウム・オベスムの抽出物を含む化粧品組成物、その使用、及びその使用を含む美容ケアの方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アデニウム・オベスムの抽出物を含み、皮膚バリアの強化及び/又は真皮 - 表皮接合部の接着の補強に寄与する化粧活性剤であって、アデニウム・オベスムの抽出物が、水、C1 ~ C4 アルコール及びこれらの混合物からなる群から選択される少なくとも1種の溶媒で抽出することによって得られる、化粧活性剤。

【請求項 2】

アデニウム・オベスムの抽出物が、植物全体、葉、茎、花、又は根の抽出物から選択される、請求項 1 に記載の活性剤。

【請求項 3】

アデニウム・オベスムの抽出物が、植物全体の細胞、又はアデニウム・オベスムの葉の細胞を、植物細胞培地中で培養することによって得られる、請求項 1 又は 2 に記載の活性剤。

【請求項 4】

前記アルコールがエタノールである、請求項 3 に記載の活性剤。

【請求項 5】

得られたアデニウム・オベスムの抽出物を、続いて凍結乾燥又は噴霧して、粉末の形にする、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の活性剤。

【請求項 6】

粉末が、溶媒又は溶媒の混合物中に分散又は溶解している、請求項 5 に記載の活性剤。

10

20

【請求項 7】

得られたアデニウム・オベスムの抽出物を、多孔質又は非多孔質のナイロン粉末、及び雲母からなる群から選択される支持体に吸着させる、請求項 5 に記載の活性剤。

【請求項 8】

支持体に吸着させたアデニウム・オベスムの抽出物が、水性抽出物である、請求項 7 に記載の活性剤。

【請求項 9】

0.001 重量% ~ 5 重量% の請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の前記化粧活性剤を含むことを特徴とし、皮膚バリアを強化し、真皮 - 表皮接合部の接着を補強し、皮膚老化の影響を防止若しくは遅延させ、しわの形成を防止若しくは遅延させ、保護、修正、再構築、水分補給、若しくは保湿効果をもたらすためのケアから選択される美容ケアのための化粧品組成物。

10

【請求項 10】

0.01 重量% ~ 1 重量% の請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の前記化粧活性剤を含むことを特徴とする、請求項 9 に記載の組成物。

【請求項 11】

サポニン又はサポゲノール；大豆のサポニン又はサポゲノール、ウマゴヤシのサポニン又はサポゲノール、サンシチニンジンのサポニン又はサポゲノール、ジンセノサイドサポニン、ジンセノサイド R b 1 及び R d からなる群から選択される化粧活性剤をさらに含むことを特徴とする、請求項 9 又は 10 に記載の組成物。

20

【請求項 12】

ヨーロッパグリの抽出物、アジュガツルケスタニカの抽出物、セラミド、遊離脂肪酸、ステロール、エクジステロン、グルコン酸カルシウム、D - キシロース、L - セリン又はピロリドンカルボン酸及びその化粧品として許容できる塩からなる群から選択される 1 種又は複数の化粧活性剤をさらに含むことを特徴とする、請求項 9 ~ 11 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 13】

コハクのグリコール抽出物、コハク酸、リンゴ酸、サリチル酸、ゲンチジン酸、トコフェロールゲンチサート、エクトイン及びノ又はそのヒドロキシ誘導体、マンニトール、ホルスコリン、尿素、サルコシン、トリメチルグリシン、クレアチン、グルタチオン、UV A 及びノ又は UV B フィルター、フリーラジカル捕捉剤；ワレモコウの抽出物、トコフェロールホスファート；クシェノール B、アルブチン、コウジ酸、及びカルシウムパントテノスルホナートから選択される顔色を明るくする物質；甘草の抽出物、ユリの抽出物；アスコルビン酸又はエリスルビン酸の誘導体からなる群から選択される 1 種又は複数の活性剤をさらに含むことを特徴とする、請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 14】

前記フリーラジカル捕捉剤が、トコフェロール、リスベラトロール、リスベラトロールオリゴマー、アストリンギニン、トコトリエノールから選択されることを特徴とする、請求項 13 に記載の組成物。

【請求項 15】

顔又は体の皮膚の全部又は一部に適用するのに適した、セラム、ローション、乳濁液、リッチクリーム、着色クリーム、ヒドロゲル、マスク、スティック、及び口紅から選択される形であることを特徴とする、請求項 9 ~ 14 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、アデニウム・オベスム (*Adenium obesum*) の抽出物を含む化粧品組成物、この植物の抽出物の化粧品分野における新規な使用、特に皮膚バリアの強化、及びノ又は真皮 - 表皮接合部の補強のためのその使用、並びにその適用を含む美容ケア

50

方法に関する。

【0002】

皮膚は、我々の体を保護する最外層である。

皮膚の最浅層をなす角層及び表皮は、それらに働く力及び機械的ストレスに対する抵抗性を示さなければならず、水の蒸発に対する抵抗性も示さなければならない。

【0003】

例えば、表皮のような上皮細胞の細胞間結合は、その超微細構造と機能に従って2つのグループに分類することができる。

- 細胞同士の機械的付着を可能にし、且つ密封系の機械的固体性を補強する接着又は固定結合、別名「デスモソーム」；

- 表皮によって構成された重層上皮の透過性を制限することができ、且つ2つの細胞コンパートメント間の水封をもたらす密着結合、別名「閉鎖結合」。

【0004】

デスモソームは、2つの細胞（角化細胞又は角質細胞）間におけるケラチンの結合部位であり、したがって角化細胞同士の接着、角化細胞と層の角質細胞との接着、及び角質細胞同士の接着を補強する。

【0005】

これらの接着又は固定結合は、ある細胞の細胞骨格の要素と別の細胞のものを組み合わせることによって、細胞群が固体構造単位として作用することを可能にする。

【0006】

角化細胞及び角質細胞内のケラチンのフィラメントは、その細胞質の構造の枠組みを形成し、横力及び垂直力、並びにこれらの細胞が受ける機械的ストレスに対する抵抗性をもたらす。

【0007】

さらに詳細については、A . H . M . Shabanaら、*Biologie infectiologie* 1997年、III巻、1号の文献を参照することができる。

【0008】

デスモソームは、分子量160kDaの糖タンパク質であるデスモグレインと、ケラチンフィラメントを固定する分子量285kDaのデスモプラキンの2種類の主要なタンパク質を含む複合体構造である。

【0009】

したがって、デスモソームは、表皮の細胞が受ける力に対する抵抗性のこれらのメカニズムにおいて、及び皮膚の乾燥の原因となり、且つ皮膚の老化につれて加速する現象である細胞内水の蒸発の防止において本質的な役割を果たす。

〔従来技術〕

【0010】

特開2001288113号公報（ライオン株式会社（LION CORP））には、皮膚の乾燥又はしわの形成などの皮膚老化の影響に対する予防効果又は有益な効果を得る目的で、デスモソームの構成タンパク質であるデスモグレイン、デスモコリン、又はデスモプラキンの発現を可能にする物質を含む化粧品組成物が開示されている。

【0011】

仏国特許第2803523号明細書（TEXINFINE SA）は、サイトケラチン1及び10の合成を増幅し、デスモソームタンパク質を増加させて、角化細胞の成熟を引き起こすアミグサ目（Dictyotales）のファミリーからの藻類抽出物、より特定すればパディナパボニカ（Padina pavonica）の抽出物に基づく化粧品組成物に関する。

【0012】

それにもかかわらず、本出願人は、まったく予想外なことにアデニウム・オベスムの抽出物の使用によって、ヒト皮膚表皮の細胞のデスモソームの構成タンパク質、別名デスモソームタンパク質の発現を刺激することが可能であるということを見出したという利点を

10

20

30

40

50

有する。

【0013】

アデニウム・オベスム、別名「砂漠のバラ」は、イエメンを原産とするキョウチクトウ科 (Apocynaceae) のファミリーに属する植物であり、鑑賞用熱帯植物として栽培されている。

【0014】

先行の研究では、アデニウム・オベスムの異なる部分から抽出された成分、及びその可能な酸化防止性又は細胞毒性薬理活性を同定することが試みられた (Hoffman、J. Pharm. Sci.、66巻(9号)、1336~38頁(1977年)、又はPaleら、Comptes-rendus Chimie 7巻(10~11号)、973~80頁を参照のこと)。

10

【0015】

さらに、国際公開第96/11015号パンフレットには、経口経路による吸収のためのホメオパシー保湿組成物が開示されている。

【0016】

これは、保湿効果が内部における水及びイオンの通過の改善又は促進を目標としているからである。この文献には、化粧品への応用又は皮膚への効果は何ら開示も教示もされていない。賦形剤については何ら記載されていない。

【0017】

Journal of Ethnopharmacology、Elsevier Scientific Publishers Limited、1~4頁 (ISSN 0378-8741) で公表されたAdamuらのXP004852864として要約された文献は、様々な疾患の治療において局所的に使用されている薬用植物の研究を対象にしている。化粧品用途は、記載も、さらには想定もされていない。

20

【0018】

2004年10月にCompte-rendu Chimie、Editions Scientifiques et Medicales Elsevier、973~980頁 (ISSN 1631-0748) で公表された「Caracterisation des mesures anti-radicalaires d'anthocyanes de plantes du Burkina-Faso (ブルキナファソの植物アントシアニン類のフリーラジカル捕捉剤測定のキャラクターゼーション)」というタイトルのPALE Eらの文献には、アデニウム・オベスムの花を含めて様々な植物のフリーラジカル捕捉剤活性の測定が含まれている。

30

【0019】

しかし、ラムノシルの存在が有名である植物アデニウム・オベスムの抽出物のフリーラジカル捕捉剤活性は弱いようである。したがって、当業者にとって、この植物の抽出物のフリーラジカル捕捉剤活性は重要ではない。この文献では、化粧品用途は何ら想定されていない。

【0020】

したがって、現在までに公表された研究はいずれも、アデニウム・オベスムの抽出物の可能な化粧品特性、より特定すれば表皮のデスモソームタンパク質に及ぼすその刺激効果に興味を示さなかった。

40

【0021】

本出願人は、アデニウム・オベスムの抽出物が、表皮及び角層を形成する細胞の細胞間結合部に存在するデスモソームのタンパク質の発現を刺激すること、より特定すれば角化細胞間又は角質細胞間接着に關与するデスモグレイン、より特定すれば表皮のデスモソーム結合を構成するタンパク質のうちの2種類であるデスモグレイン1又はデスモプラキンの発現の刺激を可能にすることを実証した。

【0022】

この種類の刺激によって、これらの接着結合の有効性が増大し、したがってこれらの細

50

胞層が受けるストレスに対する抵抗性を改善し、細胞内水の蒸発を制限することが可能になる。

【 0 0 2 3 】

したがって、皮膚バリアの強化は、主にこれら 2 つの生理現象に起因するものであり、第 1 に、角層及び表皮の細胞が受けるストレスに対する抵抗性の改善、第 2 に、細胞内水の蒸発に対する抵抗性の増大である。

【 0 0 2 4 】

本出願人は、同じアデニウム・オベスムの抽出物によって、表皮の基底部、より特定すれば真皮 - 表皮接合部 (D E J) でヘミデスモソーム及びデスモソームの構成タンパク質の発現の刺激が可能になることも実証した。

10

【 0 0 2 5 】

したがって、このような刺激によって、細胞コンパートメント間、特に角層 (角質層) と生体表皮の間又は表皮と真皮の間の接着を補強すること、言い換えれば真皮 - 表皮接合部の補強が可能になる。

〔 発明の目的 〕

【 0 0 2 6 】

本発明の主目的は、皮膚バリアを補強する際に良好な活性を有し、また皮膚老化の影響を予防又は遅延させることも、或いは実質的な又は改善された保湿又は水分補給効果をもたらすこともできる新規な化粧剤又は新規な化粧品組成物を提供することである。

【 0 0 2 7 】

20

本発明の別の目的は、特に単純で比較的安価であり、工業規模及び化粧品規模で使用する事ができる溶液によって技術的問題を解決することである。

〔 発明の説明 〕

【 0 0 2 8 】

したがって、本発明は、活性剤としてアデニウム・オベスムの抽出物、及び少なくとも 1 種の化粧品として許容できる賦形剤を含む化粧品組成物を提供する。

【 0 0 2 9 】

また、前記活性剤が皮膚バリアの強化及び / 又は真皮 - 表皮接合部の接着の補強の役に立つ化粧品組成物も提供する。

【 0 0 3 0 】

30

本発明による化粧品組成物は、所望の効果を得るための有効量のアデニウム・オベスムの抽出物を含む。

【 0 0 3 1 】

したがって、本発明による組成物は、優先的に 0 . 0 0 1 重量 % ~ 5 重量 %、好ましくは 0 . 0 1 重量 % ~ 1 重量 % のアデニウム・オベスムの抽出物を含む。

【 0 0 3 2 】

抽出物は、植物全体、又は例えば葉、茎、花、若しくは根などこの植物の部分から得ることができる。

【 0 0 3 3 】

前記抽出物は、植物全体又は植物の部分の細胞、より特定すればアデニウム・オベスムの葉の細胞を、当業者に知られている植物細胞培地中で栽培することによって得ることができる。

40

【 0 0 3 4 】

アデニウム・オベスムの抽出物は、前記植物の少なくとも部分を水、C 1 ~ C 4 アルコール、例えばエタノール、並びに好ましくはブチレングリコール及びプロピレングリコールから選択されるグリコールからなる群から有利に選択される少なくとも 1 種の溶媒で抽出することによって得ることが可能である。

【 0 0 3 5 】

続いて、抽出によって得られたアデニウム・オベスムの抽出物は、場合によっては凍結乾燥又は噴霧して、粉末の形とすることができる。

50

【 0 0 3 6 】

粉末は、本発明による化粧品組成物中に存在しているように使用してもよく、又は溶媒若しくは溶媒の混合物中に再分散させてもよい。

【 0 0 3 7 】

粉末の形の抽出物を再分散させている溶媒又は溶媒の混合物は、抽出に使用したものと同一でも異なってもよい。

【 0 0 3 8 】

アデニウム・オベスムの抽出物は、口紅又は保湿ファンデーションなどのメーキャップ組成物にそれを組み込む目的で、例えば多孔質若しくは非多孔質ナイロン粉末、及び雲母又は任意の層状鉱物物質からなる群から選択される支持体に吸着させてもよい。

10

【 0 0 3 9 】

この場合、アデニウム・オベスムの抽出物は、好ましくは水性抽出物である。

【 0 0 4 0 】

まったく予想外なことに、本発明の抽出物は、皮膚バリアの補強及び真皮 - 表皮接合部の接着の改善に役立つような活性を示すことが判明した。

【 0 0 4 1 】

結果は、皮膚の保湿の改善、及び老化防止効果である。

【 0 0 4 2 】

したがって、魅力的な皮膚、柔らかい皮膚、又は「きめ (grain)」のより細かい皮膚を得ることが可能である。

20

【 0 0 4 3 】

本発明の発明者らによって実施された試験は、アデニウム・オベスムの抽出物と、アデニウム・オベスムの抽出物と同様及び/又はそれに相補的である美容効果を有する他の活性物とを組み合わせ、前記抽出物の特性を化粧品組成物で得る又は改善できることも示した。

【 0 0 4 4 】

アデニウム・オベスムの抽出物の第 1 に有利な組合せは、サポニン又はサポゲノールを用いて行われる。これらのサポニン又はサポゲノールは、様々な植物から極性溶媒、特にアルコール又は水/アルコール混合物で抽出することによって得ることができる。具体的なサポニンは、大豆、又は植物ウマゴヤシ (Med i c a g o) 若しくはアルファルファから抽出されたものである。特に有利なサポニンは、植物サンシチニンジン (P a n a x n o t o g i n s e n g) から抽出によって得られたもの、より特定すればジンセノサイド型サポニンの形のものである。

30

【 0 0 4 5 】

本出願人の先の文献である国際公開第 9 9 / 0 7 3 3 8 号パンフレットには、サンシチニンジン (P a n a x n o t o g i n s e n g) から抽出され、より特定すればジンセノサイド型のサポニン、例えばジンセノサイドサポニン G R b 1 ; 又は G R g 1 ; 又は G R d ; 又は G R 1 ; 又は G R e、及びそれらの混合物が、皮膚線維芽細胞によるエラスチンの合成を刺激する際にどのように特に有効であるかが記載されている。これによって、皮膚の弾力性、張り、又は引締りの喪失を予防又は修正するための化粧活性剤としてそれらを使用することが可能になる。

40

【 0 0 4 6 】

サンシチニンジンのサポニンの使用及びその抽出条件に関する他の情報を得るために、当業者は、前記文献の国際公開第 9 9 / 0 7 3 3 8 号パンフレットを参照することができる。

【 0 0 4 7 】

大豆サポニンに関して、米国特許第 6 , 1 4 9 , 1 4 8 号 (B 1) として公開された P a r f u m s C h r i s t i a n D i o r の特許出願に記載されており、これには、化粧品において使用して、コラーゲン I V の合成を改善するサポニン又はサポゲノールが記載されている。当業者は、これらのサポニン及びサポゲノールの抽出条件、並びに真皮

50

- 表皮接合を改善するための化粧品においてそれらを使用する条件を見出すために、その文献を参照することができるであろう。

【0048】

上記のサポニン又はサポゲノールは、その由来にかかわらず、より特定すれば植物抽出物の形で、化粧品組成物中、組成物の全重量に対して0.001重量%~5重量%の濃度、好ましくはそれらを含む組成物の全重量に対して0.01%~0.1%の濃度で、局所経路により使用される。

【0049】

皮膚バリアを強化するのに好ましい組合せを、ヨーロッパグリ(Castanea sativa)の抽出物、アジュガツルケスタニカ(Ajuga turkestanica)の抽出物、セラミドの混合物、遊離脂肪酸の混合物、及びステロールの混合物、エクジステロン、グルコン酸カルシウム、D-キシロース、L-セリン、又はピロリドンカルボン酸及び例えばカルシウム塩などその化粧品として許容できる塩からなる群から選択される1種又は複数の活性剤と共に使用する。

【0050】

単独のアデニウム・オベスムの抽出物又は皮膚バリアを強化する際に役割を果たす他の活性剤と組み合わせたアデニウム・オベスムの抽出物は、有利にコハクのグリコール抽出物、コハク酸、リンゴ酸、サリチル酸、ゲンチシン酸、トコフェロールゲンチサート(tocopherol gentisate)、エクトイン及び/又はそのヒドロキシ誘導体、マンニトール、ホルスコリン、尿素、サルコシン、トリメチルグリシン、クレアチン、グルタチオン、UVA及び/又はUVBフィルター; トコフェロール、リスベラトロール、そのモノマー又はオリゴマー、アストリンギニン、トコトリエノール、又はワレモコウ(Sanguisorba officinalis)の抽出物などのフリーラジカル捕捉剤、トコフェロールホスファートなど鎮静薬である物質、並びにクシェノールB、アルブチン、コウジ酸、カルシウムパントテノスルホナート、甘草(liquorice)の抽出物、ユリの抽出物、或いはアスコルビン酸又はエリソルビン酸の誘導体など顔色を明るくし及び/又は色素性皮膚障害を調節する物質からなる群から選択される1種又は複数の活性剤と組み合わせることもできる。

【0051】

アデニウム・オベスムの抽出物に関して、前記化粧品組成物は少なくとも1種の化粧品として許容できる賦形剤を含み、これは、顔料、染料、ポリマー、界面活性剤、レオロジー剤、香料、電解質、pH調整剤、酸化防止剤、保存剤、及びそれらの混合物からなる群から選択することができる。

【0052】

本発明による化粧品組成物は、顔又は体の皮膚の全部又は一部に適用するためのものである。

【0053】

本発明による化粧品組成物は、例えばセラム、ローション、乳濁液、リッチクリーム、着色クリーム、又はヒドロゲル、好ましくはマスクとすることができ、或いは、スティックの形、例えば口紅とすることができる。

【0054】

組成物は、皮膚老化の影響を防止又は遅延する際に特に所望の効果を示し、より特定すれば前記化粧品組成物を顔又は体の皮膚に適用すると、保護、修正、再構成、保湿、又は水分補給効果を得ることが可能になる。

【0055】

本発明は、他の主題事項、より特定すれば化粧品分野におけるこれらの抽出物の使用も提供する。

【0056】

したがって、第2の態様によれば、本発明はさらに、化粧剤としてのアデニウム・オベスムの抽出物の使用、或いは皮膚バリアを強化し、真皮-表皮接合部の接着を補強し、皮

10

20

30

40

50

膚老化の影響、より特定すればしわの形成を防止若しくは遅延させ、又は保護、修正、再構築、水分補給、若しくは保湿効果をもたらすよう意図されている化粧品組成物の調製を提供する。

【0057】

第3の態様によれば、本発明は、皮膚バリアを強化し、真皮 - 表皮接合部の接着を補強し、皮膚老化の影響、より特定すればしわの形成を防止若しくは遅延させ、皮膚に対する保護、修正、再構築、水分補給、若しくは保湿効果をもたらす、又は皮膚の弱点に対処するよう意図されている美容ケア方法であって、上記に定義し又は以下の説明に記載するアデニウム・オベスムの抽出物を含む化粧品組成物を皮膚の少なくとも1つの患部に適用することを含むことを特徴とする方法を提供する。

10

【0058】

本発明の実施形態は、より特定すれば本発明の第2と第3の態様のそれぞれについて、第1の態様の実施形態の結果として生じる。

【0059】

本発明の他の目的、特徴、及び利点は、抽出物の調製のいくつかの実施例、及びこのような抽出物を使用する化粧品組成物の実施例を参照することにより、次に記載されている解説的な説明を読めば明らかになる。実施例は、純粹に例示として記載され、したがって本発明の範囲を決して限定するものではない。実施例では、別段の示唆のない限り、百分率はすべて、重量により記載され、温度は であり、圧力は大気圧である。

【図面の簡単な説明】

20

【0060】

【図1】実施例1で得られたアデニウム・オベスムの凍結乾燥抽出物に基づいて実施例4の試験で得られた結果を示すグラフであり、横軸に、アデニウム・オベスムの抽出物のDMSO溶液の濃度（単位：試験溶液の重量／体積％（％（w/v）））、縦軸に、対照に対して百分率として表したデスモグレイン1の発現を示す。一方、濃度0.02％（w/v）の実施例1の本発明のアデニウム・オベスムの抽出物、及び0.04％（w/v）の同じ抽出物の結果を、ヒストグラムの形で表す。

【図2】同様の結果を示すグラフであるが、今回は、同じ濃度0.02％及び0.04％（w/v）の実施例1のアデニウム・オベスムの抽出物について、タンパク質デスモブラキンの発現に関する。

30

【実施例】

【0061】

〔発明の実施例〕

実施例1 - アデニウム・オベスムの葉からの抽出物の調製

当業者によく知られている通常の植物細胞培地を用いて、アデニウム・オベスムの葉からの細胞をバイオテクノロジーで培養して、何週間か後に、カルス（Calli）と呼ばれる未分化細胞凝集塊を得る。

当業者が通常使用するこのような植物細胞培地の例は、以下の論文に記載されている。

E. F. Georges、D. J. Puttock及びJ. G. Heather、（1987年）Plant Culture Media、（1巻、Formulations and uses）、Exegetics Ltd.。

40

Dodds J. H.、Roberts L. W.（1982年）。Experiments in Plant Tissue Culture、Cambridge Univ. Press、Cambridge、178頁。

Evans D. A.、Sharp W. R.、Ammirato P. V.、Yamada Y.（1984年）。Handbook of Plant Cell Culture. Techniques for Propagation and Breeding. Macmillan Publ. Co.、New York、970頁、1～6巻。

Reinert J.、Yeoman M. M.（1982年）。Plant Cell

50

l and Tissue Culture, A Laboratory Manual、Springer-Verlag、Berlin、Heidelberg、New York、83頁。

Sala F.、Parisi B.、Cella R.、Cifferi O. (1980年)。Plant cell cultures. Elsevier/North Holland、Amsterdam。

Sharp W. R.、Larsen P. O.、Paddock E. F.、Raghavan V. (1979年)。Plant Cell and tissue culture、Principles and applications、Ohio State University Press、Columbus。

Vasil I. (1985~1991年)。Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants、1~8巻。

Bhojwani S.、Razdan I. Z. K. (1983年)。Plant tissue culture: theory and practice、Elsevier、Amsterdam。

Debergh P.、Zimmermann (1991年)。Micropropagation、Technology and application、Kluwer、London。

Zyrd J. P. (1988年)。Cultures de cellules、tissus et organes végétaux [Plant organ, tissue and cell cultures]。Presses Polytechniques Romandes、Lausanne。

これらのカルスは、水、砂糖、鉍物塩、及びビタミンを含む培養液に連続継代培養することによって得られる。

細胞を何回か慎重に洗浄し、凍結乾燥し、次いで細かく粉碎し、スクリーニングする。凍結乾燥物は、タンパク質、脂質、グルコース、フルクトース、及びスクロース、ビタミン類 (PP、B1、B5、B6、B8、B9)、及び構成要素、より特定すれば膜要素に富む。

凍結乾燥物を滅菌水に10%で再溶解する。

この凍結乾燥した抽出物を、化粧剤又は化粧品組成物の活性成分であるように、特に実施例4の試験を実施するために使用してもよい。

【0062】

実施例2 - アデニウム・オベスムの地上部からの抽出物の調製

地上部の抽出物を、攪拌しながら、蒸留水及び/又は10%エタノールで冷却する。植物/溶媒の比は、1~10(重量による)。次いで、抽出物を0.45µmのフィルターで濾過し、使用する前に真空下で濃縮又は凍結乾燥する。

この凍結乾燥した抽出物又は真空下の抽出物を、化粧剤又は化粧品組成物の活性成分であるように使用してもよい。

【0063】

実施例3 - アデニウム・オベスムの挺幹 (caudex) からの抽出物の調製

アデニウム・オベスムの挺幹を回収し、粉碎し、5時間攪拌しながら1:20の重量比で蒸留水を用いて解離によって冷温抽出し、次いで濾過し、凍結乾燥する。

この凍結乾燥した抽出物又は真空下の抽出物を、化粧剤又は化粧品組成物の活性成分であるように使用してもよい。

一変形は、臨時の媒体、例えばグリコール中に前記抽出物を再分散したものである。

【0064】

実施例4 - ヒト角化細胞の処理及び表皮のデスモソームタンパク質をコードする遺伝子の活性のRT-PCR (逆転写 - ポリメラーゼ連鎖反応) による測定

正常なヒト角化細胞を、0.25ng/mlのEGF (上皮成長因子; Invitrogen) 及び25µg/mlの下垂体抽出物 (Invitrogen) を含むSFM培地

10

20

30

40

50

(無血清培地; Invitrogen) 中で、湿度飽和雰囲気、37℃、及び5%のCO₂下に3回繰り返して培養する。

培養物はコンフルエントの状態まで達し、次いでさらに6日間培養する(ポストコンフルエンス)。

続いて、実施例1に従って得られたアデニウム・オベスムの抽出物の溶液を用いて、ジメチルスルホキシド(DMSO)中10%重量/体積(w/v)で、培養物中0.02及び0.04%(w/v)の最終濃度で24時間処理する。

同様に3回繰り返して行われる対照培養物は、同じ量のDMSO溶媒で同じ時間処理した。

抽出した後24時間インキュベーションした終わりに、培養上清を除去し、細胞のカーペットを2回PBS(リン酸緩衝生理食塩水、Invitrogenから入手可能)ですすぐ。

次いで、細胞をトリリエージェント(Tri Reagent)(商標)(Sigma)300µl/培養ウェルの存在下で溶解し、次いでそれからRNAを抽出するために使用するまで-80℃で凍結させる。各細胞試料の全RNAを、Sigmaから供給された通常のプロトコルに従って抽出する。

潜在的に混入している微量のDNAを、DNA Free(Ambion)システムで処理することによって除去する。

続いて、全mRNAを、オリゴ(dT)プライマー及び酵素逆転写酵素(GibcoからのSuperscript II)の存在下で逆転写にかけて、対応する全相補的DNA(cDNA)を得る。

定量PCR反応(ポリメラーゼ連鎖反応)は、Roche Molecular SystemsからのLightcyclerシステムを用いて、供給業者が推奨する手順に従って実施した。

最終反応混合物の構成は以下の通りである。

- cDNA、
- 研究の異なる標的(デスモグレイン1及びデスモプラキン)の特定のプライマー(オリゴヌクレオチド)、
- 酵素DNAポリメラーゼ(初期のcDNA及び特定のプライマーからDNAの連続的複製物が形成することを可能にする)、蛍光色素SYBR Green I(式C₃₂H₃₇N₄Sの芳香族有機化合物、不斉シアニンの一部分を構成し、二本鎖DNA複製に挿入される)、及び塩化マグネシウムMgCl₂を含有する反応混合物(Roche)。

ハウスキーピング遺伝子(G3PDH)、言い換えれば細胞によって構成的に発現している遺伝子に対応するmRNAに関する内部細胞チェックを、この方法について通常述べられているように、所望のmRNAの定量化と同時に実施した。このチェックによって、抽出物の作用の結果生じるはずのない所望のmRNAの変種からの分離が可能になる。

タンパク質であるデスモグレイン-1及びデスモプラキンのそれぞれについて得られた結果を、添付の図1及び2に示す。

結果は、任意の単位で表され、それによって、対照培養物中のタンパク質のそれぞれについて表された量(図中で「対照」と呼ばれる)は値100を基準とする。

下記に示し、図中に示した結果は、3つの試験培養物について測定された発現値の相加平均に対応し、これは、3つの対照培養物について得られた値の相加平均で表される対照に対して、それ自体規準化されていることを意味する。

DMSO中0.02%(w/v)の濃度のアデニウム・オベスムの抽出物で処理した培養物:

	試験	対照
デスモグレイン1	112	100
デスモプラキン	113	100

DMSO中0.04%(w/v)の濃度のアデニウム・オベスムの抽出物で処理した培養物:

10

20

30

40

50

	試験	対照
デスモグレイン 1	1 4 3	1 0 0
デスモブラキン	1 2 0	1 0 0

【 0 0 6 5 】

結論：

試験したアデニウム・オベスムの抽出物は、デスモソーム結合の主な構成タンパク質であるデスモグレイン 1 とデスモブラキンの両方の発現を刺激する。したがって、本発明によるアデニウム・オベスムの抽出物によって、m R N A の発現を刺激することが可能になり、デスモソームタンパク質の生合成が可能になる。

したがって、このことから、それらがもたらすデスモソーム結合の改善に基づいて、アデニウム・オベスムの抽出物は、皮膚バリアの強化及び / 又は真皮 - 表皮接合部の接着の補強を可能にすると結論付けることが可能である。

したがって、これらの抽出物は、皮膚老化の影響を防止又は遅延させ、或いは水分補給又は保湿効果を得ることを可能にする化粧剤又は活性成分を構成する。

【 0 0 6 6 】

実施例 5 - アデニウム・オベスムの抽出物を含む再生保湿セラム

実施例 1 ~ 3 の 1 つに従って得られたアデニウム・オベスムの抽出物を含む再生保湿セラムを調製する。

処方は以下の通りである（％（組成物の重量に対する乾燥重量で表す））：

アデニウム・オベスムの抽出物	0 . 1 5 %
エクジステロン	0 . 0 8 %
ヒアルロン酸	0 . 4 %
酢酸トコフェロール	0 . 1 %
グリコール酸	0 . 1 5 %
D - キシロース	0 . 0 5 %
香料、保存剤	0 . 2 %
ゲル化賦形剤及び水	1 0 0 % にするだけの十分量

アデニウム・オベスムの抽出物を含む再生保湿セラムは、メーキャップが施される前に適用され、浸透されるべきである。

【 0 0 6 7 】

実施例 6 - 高保護日中用保湿クリーム

実施例 1 ~ 3 の 1 つに従って得られたアデニウム・オベスムの抽出物を含む高保護日中用保湿クリームを調製する。

処方は以下の通りである（％（組成物の重量に対する乾燥重量で表す））：

アデニウム・オベスムの抽出物	0 . 2 %
ヨーロッパグリの抽出物	1 . 0 %
ワレモコウのグリコール抽出物	0 . 1 %
ヒアルロン酸ナトリウム	0 . 4 %
L - セリン	0 . 2 %
テトライソパルミチン酸アスコルビル	0 . 0 5 %
P a r s o l M C X	5 . 0 %
グリセロール	3 . 0 %
香り付き賦形剤及び水	1 0 0 % にするだけの十分量

高保護日中用保湿クリームは午前中に適用されるべきである。

【 0 0 6 8 】

実施例 7 - 抗シワ性夜用リストラクチャリングクリーム

実施例 1 ~ 3 の 1 つに従って得られたアデニウム・オベスムの抽出物を含む夜用リストラクチャリングクリームを調製する。

処方は以下の通りである（％（組成物の重量に対する乾燥重量で表す））：

アデニウム・オベスムの抽出物	0 . 2 %
----------------	---------

セラミド 3	0 . 1 %
ヒアルロン酸	0 . 4 %
ビタミン A パルミタート	0 . 0 5 %
トコトリエノール	0 . 0 5 %
シアバター	1 . 0 %
グリセロール	2 . 0 %
ツバキ油	2 . 0 %
マデカッソシド	0 . 5 %
賦形剤及び水	1 0 0 % にするだけの十分量

夜用リストラクチャリングクリームは、就寝前の夜に適用されるべきである。これには、2つの作用がある。これは、皮膚バリアを強化することによって、皮膚の深部まで保湿し、且つ真皮 - 表皮接合部の接着を補強することによって、しわの形成に対抗するように働く。

10

【 0 0 6 9 】

実施例 8 - 日中用ライトニング及び保湿ケア製品

実施例 1 ~ 3 の 1 つに従って得られたアデニウム・オベスムの抽出物を含む日中用ライトニング及び保湿ケア製品を調製する。

処方は以下の通りである（％（組成物の重量に対する乾燥重量で表す））：

アデニウム・オベスムの抽出物	0 . 2 %
カルシウムパントテノスルホナート	0 . 1 %
甘草の抽出物	0 . 5 %
グリセロール	2 . 0 %
賦形剤及び水	1 0 0 % にするだけの十分量

20

【 0 0 7 0 】

実施例 9 - ハイドロゲルマスク

実施例 1 ~ 3 の 1 つに従って得られたアデニウム・オベスムの抽出物を含むハイドロゲルマスクを調製する。

処方は以下の通りである（％（組成物の重量に対する乾燥重量で表す））：

アデニウム・オベスムの抽出物	0 . 0 5 %
グルコン酸カルシウム	0 . 2 %
ヒアルロン酸	0 . 2 %
賦形剤及び水	1 0 0 % にするだけの十分量

30

【 0 0 7 1 】

実施例 10 - 保護用保湿ファンデーション

実施例 1 ~ 3 の 1 つに従って得られたアデニウム・オベスムの抽出物を含む保護用保湿ファンデーションを調製する。

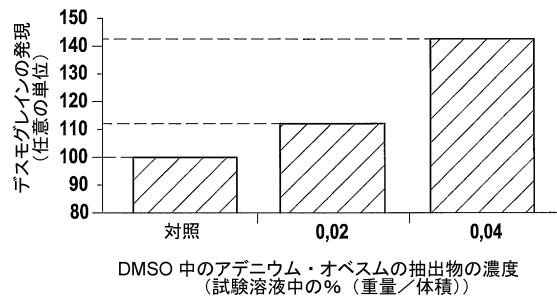
処方は以下の通りである（％（組成物の重量に対する乾燥重量で表す））：

アデニウム・オベスムの抽出物	0 . 0 2 %
吸着剤ナイロン粉末	2 . 0 %
着色顔料	5 . 0 %
ホホバ油	2 . 0 %
UVフィルター	4 . 0 %
微粒子化二酸化チタン	2 . 0 %
グリセロール	2 . 0 %
賦形剤	1 0 0 % にするだけの十分量

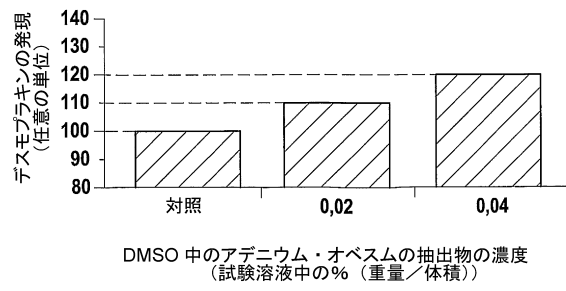
40

保湿ファンデーションで使用するため、アデニウム・オベスムの抽出物をナイロン粉末に予め吸着させる。

【図 1】



【図 2】



フロントページの続き

- (72)発明者 デュマ, マーク
フランス, エフ - 4 5 6 5 0 サン ジャン レ ブラン, アレ ドゥ ヴィユー - ポワリエ
1 8
- (72)発明者 アーシャムボルト, ジャン - クリストフ
フランス, エフ - 4 5 1 3 0 マン スル ロワール, ルー パヴェ デ ヴァンドーム 1
0

審査官 松本 直子

- (56)参考文献 特表平 1 0 - 5 0 9 1 3 3 (J P , A)
特開 2 0 0 6 - 2 9 0 7 4 2 (J P , A)
特開 2 0 0 3 - 1 7 1 3 1 0 (J P , A)
特開 2 0 0 7 - 0 0 1 9 5 0 (J P , A)
特開 2 0 0 6 - 2 7 3 7 8 9 (J P , A)
特表 2 0 0 1 - 5 2 2 7 9 1 (J P , A)
PALE E , COMPTES RENDUS CHIMIE , ET , MEDICALES ELSEVIER , 2 0 0 4 年 1 0 月 , V7 , P973-980
ADAMU H M , JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY , IE , ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD. , 2 0
0 5 年 5 月 1 3 日 , V99 , P1-4
Natural Medicine , 2 0 0 0 年 , Vol.54 , No.3 , p.158-159

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 8 / 0 0 - 8 / 9 9
A 6 1 Q 1 / 0 0 - 9 0 / 0 0
A 6 1 K 3 6 / 2 4
A 6 1 P 1 7 / 1 6
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / K O S M E T (S T N)