

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4709377号
(P4709377)

(45) 発行日 平成23年6月22日 (2011.6.22)

(24) 登録日 平成23年3月25日 (2011.3.25)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 36/18 (2006.01)

A 6 1 K 35/78

C

A 6 1 K 36/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/78

Y

A 6 1 K 8/97 (2006.01)

A 6 1 K 8/97

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/00

A 6 1 Q 5/00 (2006.01)

A 6 1 Q 5/00

請求項の数 20 (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-537560 (P2000-537560)
 (86) (22) 出願日 平成11年2月19日 (1999.2.19)
 (65) 公表番号 特表2002-507575 (P2002-507575A)
 (43) 公表日 平成14年3月12日 (2002.3.12)
 (86) 国際出願番号 PCT/FR1999/000384
 (87) 国際公開番号 WO1999/048512
 (87) 国際公開日 平成11年9月30日 (1999.9.30)
 審査請求日 平成18年1月17日 (2006.1.17)
 (31) 優先権主張番号 98/03787
 (32) 優先日 平成10年3月24日 (1998.3.24)
 (33) 優先権主張国 フランス (FR)

(73) 特許権者 506109306
 コグニ・フランス (ソシエテ・パー・アク
 シオン・サンプリファイエ)
 フランス国、31360・ブツサン
 (74) 代理人 100062007
 弁理士 川口 義雄
 (74) 代理人 100114188
 弁理士 小野 誠
 (74) 代理人 100119253
 弁理士 金山 賢教
 (74) 代理人 100103920
 弁理士 大崎 勝真
 (74) 代理人 100124855
 弁理士 坪倉 道明

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 モリंगा属植物種子の少なくとも1種のタンパク質抽出物の使用及び対応する化粧品及び／又は医薬組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

皮膚、唇、毛髪及び／又は爪の局所用化粧品の製造のための、単独使用又は少なくとも1種の別の活性成分と併用する活性成分としての *Moringaceae* 科に属する *Moringa* 属植物の種子から抽出され、少なくとも部分的に脱脂されている少なくとも1種のタンパク質フラクションの使用。

【請求項2】

タンパク質フラクションが完全に脱脂されている請求項1に記載の使用。

【請求項3】

タンパク質フラクションが *Moringa oleifera* 植物の抽出物から構成されることを特徴とする請求項1又は2に記載の使用。

【請求項4】

タンパク質フラクションが場合により超音波発生器を使用して水又は水溶液で抽出されることを特徴とする請求項1から3のいずれか一項に記載の使用。

【請求項5】

水溶液が種々の pH の塩類溶液である請求項4に記載の使用。

【請求項6】

タンパク質フラクションが部分的もしくは完全に脱脂した殻つきもしくは殻をとった種子の水性もしくは緩衝溶媒抽出物又はタンパク質濃縮物又は精製タンパク質又は前記成分の少なくとも2種の混合物から構成されることを特徴とする請求項1から5のいずれか一

10

20

項に記載の使用。

【請求項 7】

タンパク質フラクションが乾燥抽出物に基づき 0.01 ~ 100 重量%のタンパク質を含有していることを特徴とする請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 8】

タンパク質フラクションが乾燥抽出物に基づき 45 重量%のタンパク質を含有していることを特徴とする請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 9】

タンパク質フラクションが 7 を上回る等電点をもつ少なくとも 1 種のタンパク質化合物を含むことを特徴とする請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の使用。

10

【請求項 10】

タンパク質フラクションが 8 ~ 12 の等電点をもつ少なくとも 1 種のタンパク質化合物を含むことを特徴とする請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 11】

タンパク質フラクションが pH 8 ~ 12 の等電点沈殿により得られることを特徴とする請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 12】

タンパク質フラクションがイオン交換クロマトグラフィーにより得られることを特徴とする請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 13】

20

タンパク質フラクションがアフィニティークロマトグラフィー、ゲル濾過、限外濾過、溶媒、硫酸アンモニウム等の塩等による沈殿又は有機ポリマーもしくは温度変化による沈殿から構成される群から選択される製造方法により得られることを特徴とする請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 14】

タンパク質フラクションが天然タンパク質から構成されることを特徴とする請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 15】

タンパク質フラクションが皮膜形成剤、リポソーム、シクロデキストリン、ミセル、カイロミクロン、マクロ粒子、ミクロ粒子、ナノ粒子、マクロカプセル、マイクロカプセル又はナノカプセル等の適当な化粧品ビヒクルに組み込まれているか又は結合されていることを特徴とする請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の使用。

30

【請求項 16】

タンパク質フラクションが有機ポリマー又は無機キャリアーに吸着又はグラフトされていることを特徴とする請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 17】

抽出されたタンパク質フラクションが皮膚、唇、毛髪、爪、表皮、角質層に実質及び水分補給活性を与えることを特徴とする請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 18】

抽出されたタンパク質フラクションが皮膚、唇、毛髪及び爪の生理的調節作用、皮膚、唇、毛髪及び爪の再生、修復及び水分補給作用、皺防止作用並びに汚染防止作用を与えることを特徴とする請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の使用。

40

【請求項 19】

活性成分として請求項 1 から 18 のいずれか一項に記載の 1 種以上のタンパク質フラクション 0.01 ~ 80 重量%を単独又は少なくとも 1 種の別の活性成分と共に含むことを特徴とする皮膚、毛髪又は爪に対する局所使用のための化粧品。

【請求項 20】

前記タンパク質フラクションが 2 重量%である請求項 1 から 18 のいずれか一項に記載の皮膚、毛髪又は爪に対する局所使用のための化粧品。

【発明の詳細な説明】

50

【 0 0 0 1 】

本発明は特に化粧品及び皮膚科学分野、特に皮膚及び皮膚付属器ケア用化粧品に関し、化粧品、皮膚科学及び／又は医薬用途における *Moringa* 属植物種子の少なくとも１種のタンパク質抽出物の使用と、少なくとも１種の前記抽出物を含む化粧品及び／又は医薬組成物を目的とする。

【 0 0 0 2 】

Moringa 属は約 14 種の植物（特に *Moringa peregrina*、*M. aptera*、*M. concanensis*、*M. drouhardii*、*M. hildebrandtii*、*M. longituba*）を含み、*Moringa pterygo sperma*（*Moringa oleifera* とも言う）が最もよく知られている。

10

【 0 0 0 3 】

この植物は多様な環境に非常によく適応する成長の早い樹木であり、アジア、アフリカ及び南アメリカの熱帯地方の至る所で生育している。長さ 30 ~ 50 cm の果実がドラムスティック状にぶら下がっていることから、英名では “drumstick tree” と呼ばれ、その緑色の莢果は世界中で野菜として食用されている。そのため、種子を油の製造に利用することは稀である。

【 0 0 0 4 】

この植物が生育する地方では樹木の種々の部分（葉、根、根の皮、花、種子）が伝統薬として使用されている。

【 0 0 0 5 】

20

Moringa 種子は品種と種子の成熟度に依存して含油率 21 ~ 53 % を特徴とする。

【 0 0 0 6 】

文献によると、*Moringa oleifera* 種の含油率は 21 ~ 34 % である。

【 0 0 0 7 】

Moringa oleifera、*M. peregrina*、*M. concanensis* 及び *M. drouhardii* の種子油を比較すると、脂肪酸組成が非常によく似ており、いずれもオレイン酸（71 ~ 78 %）と飽和脂肪酸濃度が非常に高い。

【 0 0 0 8 】

ベヘン酸（ $C_{22}H_{44}O_2$ ）はモリンガ油に特徴的な飽和脂肪酸である（含量 2.6 ~ 4.7 %）。

30

【 0 0 0 9 】

モリンガ油（ベヘン油又はベン油とも言う）は酸化安定性に優れ、香り定着性が良好であるため、古代文明で化粧品及び宗教用香油の調合者に最もよく使用された油である。

【 0 0 1 0 】

この油は前世紀まで化粧品調合者に使用されていたが、その使用が最近「再認」されている。

【 0 0 1 1 】

含油率だけでなく、*Moringa* 種子は伝統的に浄水に使用されており、従って、最近では発展途上国で水処理及び精製の経済的資源として利用できる可能性からも研究者に注目されている。

40

【 0 0 1 2 】

更に、最も多く存在し、栽培されている 6 種の *Moringa* 種の種子は凝集性化合物を含有していることが判明した。

【 0 0 1 3 】

この活性に関与する化合物は単離及び同定されており、タンパク性化合物であることが分かっている（特に論文 “Isolation and characterisation of a flocculating protein from *Moringa oleifera* lam”, GASSENSCHMIDT U., JANY K.D., TAUSCHE B 及び NIEBERGALL H.R., *Biochimica et biophysica acta*, 1243: 477 - 481, 1995 - “

50

Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using moringa oleifera", NDABIGENGESERE A., SUBBA NARASIAH K. 及び TALBOT B.G., Water research, 29, 2: 703-710, 1995 参照)。

【0014】

Moringa oleifera 種子の脱脂粉末からこれらのタンパク質を水性緩衝溶媒で抽出した後、カチオン交換クロマトグラフィーにより単離した。

【0015】

これらの凝集性タンパク質を NaCl 勾配により溶離すると、3種の活性フラクション (MO1、MO2 及び MO3 と呼ぶ) に分離する。

10

【0016】

第2のクロマトグラフィー段階により、MO2 を更に3種の活性フラクション (MO2.1、MO2.2 及び MO2.3) に分離することができる。

【0017】

非変性条件下の PAGE 電気泳動によると、MO2.1、MO2.2 は均質であると思われるが、MO2.3 は数種のタンパク質から構成される。

【0018】

他方、SDS-PAGE によると MW 6.5 kDa 及び 7 kDa に対応する2種のバンドがタンパク質 MO2.1 及び MO2.2 に観察されるので、これらは二量体である。

20

【0019】

エレクトロフォーカシングによると、これらの凝集性タンパク質の等電点は 10 である。

【0020】

MO2.1 のアミノ酸組成を調べると、このタンパク質はグルタミン (15 残基)、アルギニン (7 残基) 及びプロリン (7 残基) 含量の高い 60 個のアミノ酸を含み、末端はピログルタミン酸基によりブロックされている。

【0021】

本発明者らは予想外且つ驚くべきことに、濁水浄化作用で知られる Moringa 種子タンパク質抽出物が特殊な新規性質も備えており、良好な耐性に結び付けられる有益なその皮膚及び皮膚付属器作用によりケア用化粧品及び特に皮膚科学用途での医薬に直接利用できることを発見した。

30

【0022】

従って、本発明の主目的は、皮膚及び/又は皮膚付属器の局所用化粧品及び/又は医薬組成物の製造のための、単独使用又は少なくとも1種の別の活性成分と併用する活性成分としての Moringaceae 科に属する Moringa 属植物の種子から抽出した少なくとも1種のタンパク質フラクションの使用である。

【0023】

これらのタンパク質抽出物の新規性質はその特定性質及び特性、特に塩基性等電点と凝集能に直接起因する。

【0024】

特に柔軟効果と、高い実質性による調節及び水分補給効果と、汚染防止活性成分の範囲での利用効果的なキレート化効果が確認された。

40

【0025】

本発明の好適実施態様によると、タンパク質フラクションは Moringa oleifera 植物の抽出物から構成され、前記タンパク質フラクションは乾燥抽出物に基づき 0.01 ~ 100 重量%、好ましくは約 45 重量%のタンパク質を含有している。

【0026】

有利な態様によると、タンパク質フラクションは場合により超音波発生器を使用して水又は水溶液、特に種々の pH の塩類溶液で抽出される。

【0027】

50

従って、タンパク質フラクションは部分的もしくは完全に脱脂した殻つきもしくは穀をとった種子の水性抽出物、種々のpHの塩類溶媒抽出物もしくは緩衝溶媒抽出物又はタンパク質濃縮物又は精製タンパク質又は前記成分の少なくとも2種の混合物から構成され、7を上回る等電点、好ましくは8～12の等電点をもつ。

【0028】

活性成分として使用されるタンパク質フラクションは、

- pH 8～12の等電点沈殿、
- イオン交換クロマトグラフィー、
- アフィニティークロマトグラフィー、ゲル濾過、限外濾過、溶媒、硫酸アンモニウム等の塩等による沈殿又は有機ポリマーもしくは温度変化による沈殿から構成される群から選択される抽出方法により得ることが好ましい。

10

【0029】

更に、等電点沈殿の場合には、周囲温度よりも低温、特に+4前後でタンパク質フラクションの獲得を助長できることが確認された。

【0030】

以下、本発明の範囲で使用可能なMoringa種子抽出物及び種子タンパク質フラクションの種々の獲得及び製造方法を例示として非限定的に説明する。

【0031】

製造例1（抽出物1の製造）

種子から殻を取り除いた後に得られる含油率33.4%（w/w）のMoringa oleiferaの核をヘキサン還流下に2回連続抽出して脱脂し、濾過後、粉末を40でオープン乾燥し、残留含油率2.5%とする。

20

【0032】

反応器に脱脂粉末200gと蒸留水2リットルを加える。

【0033】

10分間攪拌後に4N NaOHを加えてpHを7.5に調整した後、pHを7.5に維持しながら周囲温度で1時間抽出する。

【0034】

15分間5000gで遠心分離して不溶分を除去する。

【0035】

上清を集めた後、0.45μmで濾過すると、乾燥抽出物含量4.69%及びビウレット法によるタンパク質濃度21.54g/l（即ち乾燥抽出物に基づくタンパク質純度45.92%）の黄色い濾液1.77リットルが得られる。

30

【0036】

抽出物を噴霧乾燥すると、推定タンパク質濃度54.7%（N×6.25）の噴霧乾燥物65.72gが得られる。

【0037】

排出容量とカラムの総容量の間で溶離したピークを考慮するならば、Superose 12HRカラムによるこの抽出物のゲル濾過分析のクロマトグラフィープロファイル（添付図1参照）は面積の52%に相当し且つ7800～11000Daの分子量に対応する主フラクションを示す。このピークには肩が存在するので数種の化合物の存在が裏付けられ、分子量範囲はMoringaの凝集性タンパク質のモノマー（6500～7000Da）と二量体（13000Da）について文献に記載されている範囲に近似する。

40

【0038】

製造例2（抽出物2の製造）

製造例1と同様に脱脂粉末300gを抽出し、粗水性抽出物を得る。

【0039】

4N NaOHを徐々に加えて濾液（2.74リットル）のpHを11.8に調整する。

【0040】

pH 8.0付近で沈殿が開始する（溶液の明白な混濁）ので30分後に溶液を15分間5

50

0 0 0 g で遠心分離する。

【 0 0 4 1 】

粘着性沈殿（油状物 4 3 . 2 g ）を集めた後、p H 1 1 . 8 の蒸留水 5 0 0 m l で 2 回洗浄する。

【 0 0 4 2 】

次に沈殿を蒸留水 2 7 0 m l （初期容量の 1 0 % ）に溶かし、6 N H C l で溶液の p H を連続的に 4 . 5 に調整して沈殿を溶解させる（商品名 T u r a x で知られる型の装置を使用して分散を助長する）。

【 0 0 4 3 】

3 0 分間攪拌後に混合物を 1 5 分間 5 0 0 0 g で遠心分離して不溶分を除去し、W h a t m a n 濾紙 N o . 4 1 を敷いたブフナー漏斗で上清を濾過する。 10

【 0 0 4 4 】

こうして得られ黄色い透明タンパク質濃縮液 2 6 0 m l を凍結乾燥する。

【 0 0 4 5 】

こうしてタンパク質含量 9 0 ~ 9 5 重量 % の凍結乾燥物 1 1 . 5 g が得られる。

【 0 0 4 6 】

この抽出物を S u p e r o s e 1 2 H R カラムでゲル濾過分析すると（添付図 2 参照）、面積の 7 0 % に相当し且つ約 8 8 0 0 D a の分子量に対応する主フラクションが検出される。

【 0 0 4 7 】

製造例 3 （抽出物 3 の製造）

M o r i n g a o l e i f e r a 種子から殻を取り除いて得られる核油を K O M E T の名称で知られる型のプレスで圧縮抽出し、得られたケーキを粉碎し、均質粉末を得る。

【 0 0 4 8 】

製造例 1 及び 2 に記載した操作手順によりケーキ 1 . 2 4 k g から粗抽出物を製造する。

【 0 0 4 9 】

タンパク質の沈殿を助長するために + 4 で一晩の付加デカンテーション段階を追加する以外は製造例 2 に従ってタンパク質を p H 1 1 . 8 で沈殿させる。

【 0 0 5 0 】

製造例 2 と同一条件で沈殿を処理する（但し、沈殿の再構成用溶液の p H は 4 . 5 でなく 6 とする）。 30

【 0 0 5 1 】

こうして得られたタンパク質濃縮液（乾燥抽出物含量 4 . 5 9 % 、 1 . 0 5 リットル）を噴霧乾燥し、噴霧乾燥物 3 4 . 6 g を集める（即ち乾燥抽出物に基づく噴霧乾燥収率 7 1 . 5 % ）。

【 0 0 5 2 】

窒素添加量（N × 6 . 2 5 ）に基づくタンパク質含量は 9 0 % を上回る（約 9 5 % ）。

【 0 0 5 3 】

製造例 4 （抽出物 4 の製造）

製造例 1 、 2 及び 3 に記載した操作手順によりケーキ 1 5 0 g から粗抽出物を製造する。 40

【 0 0 5 4 】

0 . 4 5 μ m で濾過後に黄色い透明濾液 1 . 3 5 リットルが得られる。

【 0 0 5 5 】

カルボキシメチルセルローズ（C M 5 2 , W H A T M A N ） 1 0 0 g を p H 7 . 5 の蒸留水 5 0 0 m l で 3 0 分間平衡化する。

【 0 0 5 6 】

W H A T M A N 濾紙 N o . 4 2 を敷いたブフナー漏斗で混合物を濾過した後、セルローズを集め、p H 7 . 5 の水 5 0 0 m l で再び平衡化する。

【 0 0 5 7 】

水性媒体の濾去後、周囲温度で 1 時間攪拌下にセルローズを M o r i n g a o l e i f 50

e r a の核ケーキの水性抽出物と接触させる。

【 0 0 5 8 】

吸着しなかった化合物（図 3 に破線で示すクロマトグラフィープロフィルをもつフラクション）をブフナー漏斗で濾去した後、「負荷」セルロースを pH 7 . 5 の蒸留水 1 リットルで 2 回洗浄し、その後、ブフナー漏斗で濾過する。

【 0 0 5 9 】

次に、セルロースを pH 7 . 5 の 6 0 g / l N a C l 溶液 1 2 0 m l と 3 0 分間接触させる。

【 0 0 6 0 】

N a C l 溶媒で溶離したタンパク質をブフナー漏斗で濾取する（C M 5 2 に吸着し、6 0 g / l N a C l 溶媒で溶離したタンパク質のクロマトグラフィープロフィルは図 3 に実線で示す）。

【 0 0 6 1 】

こうして乾燥抽出物含量 9 . 6 3 % とタンパク質濃度 6 4 . 6 g / l （即ち乾燥抽出物に基づくタンパク質純度 6 7 % ）をもつ濾液 1 1 0 m l が得られる。

【 0 0 6 2 】

この抽出物を S u p e r o s e 1 2 H R カラムでゲル濾過分析すると（添付図 3 参照）、面積の 7 0 % に相当し且つ約 7 1 0 0 D a の分子量に対応する主フラクションが検出される。

【 0 0 6 3 】

溶液は透析又は限外濾過により脱塩し、凍結乾燥、噴霧乾燥又は他の任意の適切な手段により脱水することができる。

【 0 0 6 4 】

本発明により製造した生成物の活性と利点は単に非限定的な例示として以下に示す本発明者らによる試験の説明から自明である。

【 0 0 6 5 】

上記製造例により製造した M o r i n g a 種子タンパク質フラクション（抽出物 1、3 及び 4）の実質効果を非損傷天然人毛とパーマにより損傷した人毛で脱着試験により評価した。

【 0 0 6 6 】

実質剤の毛髪ケラチン吸着評価プロトコールは特定条件で脱着した物質の分析に基づく。

【 0 0 6 7 】

ペプチド性実質タンパク質を

- 高温（5 0 、 1 時間）、
- 高イオン強度（0 . 5 M N a C l、 1 6 時間）

の異なる 2 条件で毛髪から抽出し、フルオレサミンとの反応（第 1 アミンとの反応）後に抽出液中で分光光度法（T e g l i a ら、 1 9 9 2 ）により定量した。フルオレサミンとの反応は抽出物 1 では pH 8、抽出物 3 及び 4 では pH 6 の硼酸緩衝液中で実施した。

【 0 0 6 8 】

結果を下表 I と添付図 4 A 及び 4 B に要約し、夫々非損傷対照毛髪（図 4 A）とパーマにより損傷した毛髪（図 4 B）からなる人毛房に濃度 2 % で添加した抽出物 1、3 及び 4 の実質効果（脱着による評価）を示す。

【 0 0 6 9 】

【表 1】

10

20

30

40

抽出物	非損傷天然毛髪	パーマで損傷した毛髪
1	3.53mg/g 毛髪	4.81mg/g 毛髪
3	1.24mg/g 毛髪	1.02mg/g 毛髪
4	0.84mg/g 毛髪	1.21mg/g 毛髪

【 0 0 7 0 】

角質層に及ぼす *Moringa* 種子タンパク質フラクションの実質効果を *in vitro* 角質層水分補給モデル (ObataとTagami, 1990) で評価した。 10

【 0 0 7 1 】

評価プロトコールとしては、ヒト皮膚から正形状に切り取った角質層を実質タンパク質 (抽出物 1、3 及び 4) 又は対照蒸留水で処理した。

【 0 0 7 2 】

標準リンス及び乾燥後、角質層を誘電コンダクタンス測定による *in vitro* 皮膚水分補給評価モデルに載せた。

【 0 0 7 3 】

HR = 44 % の制御湿度条件で出発誘電コンダクタンスを測定後、角質層を常法で加湿し、蒸留水添加から 1、2、4、6 及び 24 時間後にコンダクタンス測定を行った。 20

【 0 0 7 4 】

実質剤の存在下の角質層のほうが長時間水分補給される (= 良好な保湿)。

【 0 0 7 5 】

in vitro 皮膚水分補給測定により評価した角質層に対する抽出物 1、3 及び 4 の実質性試験比較結果を図 5 A 及び 5 B に要約する (10 回の試験の平均 / $\pm$ SEM / 1 因子 ANOVA / アポステリオリフィッシャー検定)。

【 0 0 7 6 】

抽出物 3 及び 4 は角質層水分補給効果が高く且つ持続し、添加後 4 時間まで 50 % の誘電コンダクタンス増加を示し、添加後 24 時間まで水分補給効果を観察できた。

【 0 0 7 7 】

抽出物 1、5 % と BASF 社から商品名 *Kollidon 30* で市販されているポリビニルピロリドン (皮膜形成剤) 1、5 % を加えた水溶液の保湿性試験により *Moringa* タンパク質フラクション (抽出物 1、3 及び 4) の実質効果をヒトで *in vivo* 確認した。 30

【 0 0 7 8 】

上腕前内面の 5 カ所の皮膚ゾーンで精製水を染み込ませたガーゼによりもたらされる水分補給を静電容量により 30 秒おきに 2 分間測定した。最初のゾーンは処理せず、次の 3 ゾーンは 1、5 % の抽出物 1、3 又は 4 と 1、5 % の *Kollidon 30* を加えた水溶液 $4 \mu\text{l} / \text{cm}^2$ 、最後のゾーンは 1、5 % の *Kollidon 30* のみを加えた水溶液 $4 \mu\text{l} / \text{cm}^2$ で予め処理した。 40

【 0 0 7 9 】

添付図 6 (被験者の保湿を示す) に示す結果から明らかなように、皮膚水分補給は無処理又は皮膜形成剤単独を加えた対照ゾーンに比較して抽出物 + *Kollidon 30* で予め処理した皮膚ゾーンのほうが顕著である。

【 0 0 8 0 】

従って、1、5 % 抽出物 + 1、5 % *Kollidon 30* を加えた溶液は実質効果による保湿活性をもつ。

【 0 0 8 1 】

Moringa タンパク質の濁水浄化作用は既に知られているが、意外にもヒト皮膚に対して植物炭等の粒子収集による汚染防止作用も示した。 50

【 0 0 8 2 】

M o r i n g a 種子タンパク質フラクションのこの浄化性は、抽出物 1 の水溶液 0 . 7 5 m l と薬用植物炭の 0 . 5 % 水性懸濁液 3 m l を試験管に加え、蒸留水 0 . 7 5 m l を同様に同一植物炭水性懸濁液 3 m l と接触させた場合に比較することにより i n v i t r o で確認された。

【 0 0 8 3 】

1 時間接触後に抽出物 1 を加えた試験管では元の黒い植物炭懸濁液は試験管の底の沈殿と上清の完全に透明な水に分離したが、抽出物を加えなかった試験管では炭の黒い水性懸濁液は殆ど変化しなかった。

【 0 0 8 4 】

K o l l i d o n 3 0 (ポリビニルピロリドンの登録商標) 等の皮膜形成化合物を加えると、浄化プロセスを更に促進するという利点があることも認められた。

【 0 0 8 5 】

特別に開発された i n v i v o ヒト試験によると、皮膚に塗布した汚染性薬用植物炭の水性懸濁液は相当の表面汚染を生じ、角質層の表層レベルへの粒子侵入を伴うことが観察された。

【 0 0 8 6 】

炭のこの汚染作用と汚染性粒子の角質層侵入に対する皮膚汚染除去剤としての抽出物 1 の効力も実験評価した。

【 0 0 8 7 】

標準化条件で実施した試験では、水中 1 . 5 % の M o r i n g a 抽出物と K o l l i d o n の混合物 4 m g / c m ² を上腕前内面に塗布した。この処理後に同一 0 . 5 % 炭水性懸濁液で皮膚を故意に汚染した。その後、濯ぎ水を再吸収させながら皮膚をこすらずに蒸留水で濯いだ。

【 0 0 8 8 】

次に、「ストリッピング」乃至ゴマージュ (ピーリング支持体) を皮膚に貼付けた後、剥がした。

【 0 0 8 9 】

ストリッピング乃至ゴマージュを 1 0 0 倍顕微鏡で観察すると、表面皮膚状態を示すストリッピングと角質層の表層レベルの微細な皮膚凹凸が観察された。

【 0 0 9 0 】

予め処理しない皮膚ゾーンも同様に汚染した。

【 0 0 9 1 】

ストリッピング乃至ゴマージュの 1 0 0 倍皮膚画像から明らかなように、M o r i n g a 抽出物と K o l l i d o n の混合物で予め処理した皮膚 (図 7 B) では炭粒子の角質層侵入が非常に少ないが、対照皮膚 (図 7 A) では侵入がかなり顕著である。

【 0 0 9 2 】

抽出物 + K o l l i d o n 混合物で予め処理した皮膚からのストリッピング (図 8 B) の顕微鏡画像は炭粒子量の顕著な減少を示しており、抽出物と K o l l i d o n のこの混合物が濯ぎ操作中に皮膚を著しく有効に洗浄できたことを立証している。実際に、抽出物で予め処理しなかった皮膚のストリッピング (図 8 A) に比較すると、濯ぎ操作により除去されなかった多数の炭粒子がストリッピングに付着していた。

【 0 0 9 3 】

従って、M o r i n g a 抽出物は次の異なる 2 種の相補的方法で汚染防止活性を発揮する。

- 炭粒子を捕獲し、皮膜形成剤と協働して炭粒子の角質層侵入を阻止する。
- 炭粒子を保持することにより、1 回の濯ぎ操作で炭粒子を除去し易くする。

【 0 0 9 4 】

上記本発明の抽出物はスキンケア及びヘルス用 (顔及び身体用製品、昼又は夜用製品、紫外線製品、皺防止健康製品、汚染防止製品) のみならず、ヘアケア及びヘルス分野 (ロー

10

20

30

40

50

ション、シャンプー、クリーム、ムース、保護剤、修復剤、柔軟剤、光保護剤又はパーマ及びカラーリング剤)、爪用製品(クリーム、ローション、マニキュア、モイスチャライザー、皮膚形成剤、保護剤及び修復剤)及び唇用製品(スティックアプリケーション、口紅、バルサム、モイスチャライザー、皮膚形成剤)でも利用することができる。

【0095】

従って、本発明は活性成分として1種以上の上記タンパク質フラクション0.01~80重量%、好ましくは約2重量%を単独又は少なくとも1種の別の活性成分と共に含むことを特徴とする皮膚又は皮膚付属器の特に局所用化粧品及び/又は医薬組成物にも関する。

【0096】

本発明による得られるタンパク質フラクションは構造を修飾せずに天然形態(天然タンパク質)で使用してもよいし、以下の処理:

- *Moringa* 属植物から抽出した天然タンパク質の重合、
- 微生物又は植物細胞による発酵、
- *Moringa* 属植物から抽出した天然タンパク質の化学的加水分解、
- 動物、植物、微生物又は真菌起源のプロテアーゼによる天然タンパク質の酵素加水分解、
- 化学的又は酵素官能化、
- 例えば単糖類、配糖体、脂質等の分子又は化合物のグラフトによる化学的修飾のいずれか1種により修飾又は官能化した形態で使用してもよい。

【0097】

前記フラクションは例えば皮膚形成剤、リポソーム、シクロデキストリン、ミセル、カイロミクロン、マクロ粒子、ミクロ粒子、ナノ粒子、マクロカプセル、マイクロカプセル及びナノカプセル等の適当な任意化粧品ビヒクルに組み込むか又は結合してもよいし、有機ポリマー又は無機キャリアーに吸着又はグラフトしてもよい。

【0098】

以上の通り、抽出タンパク質フラクションは皮膚、唇及び皮膚付属器、特に表皮、特に角質層及び皮膚付属器、即ち皮膚、毛髪及び爪の実質及び水分補給活性に加え、皮膚、唇及び皮膚付属器(爪及び毛髪)の生理的調節作用、皮膚及び皮膚付属器(爪及び毛髪)の再生、修復及び水分補給作用、皺防止作用並びに汚染防止作用(皮膚、唇、毛髪)を特にもつことが確認及び立証された。

【0099】

以下、本発明の組成物の非限定的な実施例として、*Moringa oleifera* 植物の少なくとも1種の種子タンパク質抽出物を含む種々の化粧品処方について説明する。

【0100】

実施例1

モイスチャライジングリペアミルク形態の化粧品は例えば下記のような水相と油相から構成される重量組成とすることができる。

油相: コハク酸イソステアリルジグリセリル	3.00	
パラフィン油	15.00	
Quaternium-18ヘクトライト	0.50	
ポリ(PEG-22/ドデシルグリコール)	1.00	
水相: 硫酸マグネシウム	0.80	
ブチレングリコール	4.00	
<i>Moringa oleifera</i> タンパク質抽出物(製造例1)	1.00	
蒸留水	9.00	
Elestab 4112(Laboratoires Serobiologiques)	0.35	
香料	0.30	
蒸留水		合計で100.00

【0101】

上記モイスチャライジングリペアミルクの製造方法は主に油相を80に加熱し、水相の

水も 80 に加熱して防腐剤 (Elestab 4112) を溶かした後、タービン攪拌下に水相を油相に注入し、攪拌下に徐々に冷却した後、約 50 で Moringa タンパク質抽出物母水溶液、次いで香料を加え、最後に完全に冷却するまで攪拌することからなる。

【0102】

実施例 2

アンチリンクルリペアクリーム形態の化粧品は例えば下記のような水相と油相から構成される重量組成とすることができる。

油相: Cetareth 25	2.00	
Cetareth 6 (及び) ステアリルアルコール	1.00	10
セチルアルコール	4.00	
ステアリン酸グリセロール	4.00	
ペトロラタム	5.00	
カプリル酸/カプリン酸トリグリセリド	5.00	
水相: グリセリン	10.00	
Moringa oleifera タンパク質 (製造例 2)	1.50	
蒸留水	8.50	
Elestab 4112 (Laboratoires Serobiologiques)	0.40	
香料	0.30	
蒸留水	合計で 100.00	20

【0103】

上記アンチリンクルリペアクリームの製造方法は主に油相を 80 に加熱し、水相も 80 に加熱して Elestab 4112 を溶かし、別に Moringa oleifera タンパク質抽出物母溶液を調製し、タービン攪拌下に油相を水相に注入した後、約 50 で Moringa 抽出物母溶液を加え、最後に冷却するまで攪拌することからなる。

【0104】

実施例 3

モイスチャライジングアンチポリューションデイクリーム形態の化粧品は例えば下記のような水相と油相から構成される重量組成とすることができる。

油相: ステアリン酸グリセロール	14.00	30
オクチルドデカノール	6.00	
アジピン酸ジブチル	6.00	
Cetareth 12	1.50	
Cetareth 20	1.50	
水相: PVP	0.50	
グリセリン	4.00	
Elestab 388 (Laboratoires Serobiologiques)	2.00	
Moringa タンパク質抽出物 (抽出物 2)	1.00	
蒸留水	9.00	
香料	0.20	40
蒸留水	合計で 100.00	

【0105】

上記モイスチャライジングアンチポリューションデイクリームの製造方法は主に油相を 80 に加熱し、水相も 80 に加熱して Elestab 388 と PVP を溶かし、80 でタービン攪拌下に油相を水相に注入した後、攪拌下に徐々に冷却した後、約 50 で Moringa タンパク質母分散液を加え、最後に冷却するまで攪拌することからなる。

【0106】

実施例 4

アンチポリューションリペア生体皮膜形成無リンスヘアローション形態の化粧品は例えば下記のような重量組成とすることができる。

製造例 4 により製造したMoringaタンパク質	0.50
蒸留水	9.50
ヒドロキシエチルセルロース	0.50
Elestab 305(Laboratoires Serobiologiques)	0.50
香料	0.10
Cremophor RH40	0.30
蒸留水	合計で100.00

【0107】

上記アンチポリューションリペア生体皮膜形成無リンスヘアローションの製造方法は主に約50 に加熱した水にElestab 505とヒドロキシエチルセルロースを溶かし、香料とCremophor RHを分散した後、混合物を周囲温度にし、Moringaタンパク質を溶かし、最後に濾過することからなる。

10

【0108】

当然のことながら、本発明は上記実施態様に限定されない。本発明の保護範囲内で特に種々の成分の組成や、等価技術の置き換えによる変更が可能である。

【図面の簡単な説明】

【図1】 製造例1の抽出物のゲル濾過クロマトグラフィープロファイルを示す。

【図2】 製造例2の抽出物のゲル濾過クロマトグラフィープロファイルを示す。

【図3】 製造例4の抽出物のゲル濾過クロマトグラフィープロファイルを示す。

【図4】 図4Aは非損傷対照毛髪に対する製造例1、3及び4の抽出物の実質効果を示す。

20

図4Bはパーマにより損傷した毛髪に対する製造例1、3及び4の抽出物の実質効果を示す。

【図5】 図5Aは製造例1、3及び4の抽出物で処理した皮膚の誘電コンダクタンス測定によるin vitro皮膚水分補給評価の結果を示す。

図5Bは対照に対する製造例1、3及び4の抽出物の誘電コンダクタンス増加率を示す。

【図6】 精製水を染み込ませたガーゼによる水分補給後の静電容量の測定値として表した製造例1、3及び4の抽出物の保湿能を示す。

【図7】 図7Aは無処理対照皮膚の100倍顕微鏡写真である。

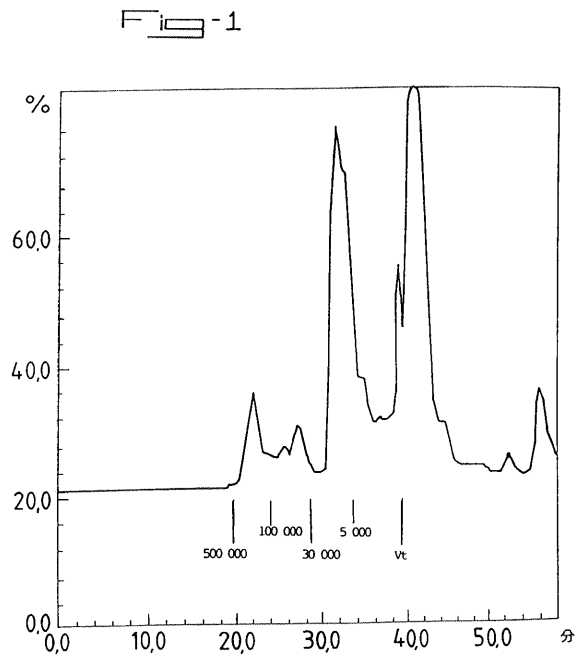
図7Bは製造例1の抽出物とKollidon 30の混合物で予め処理した皮膚の100倍顕微鏡写真である。

30

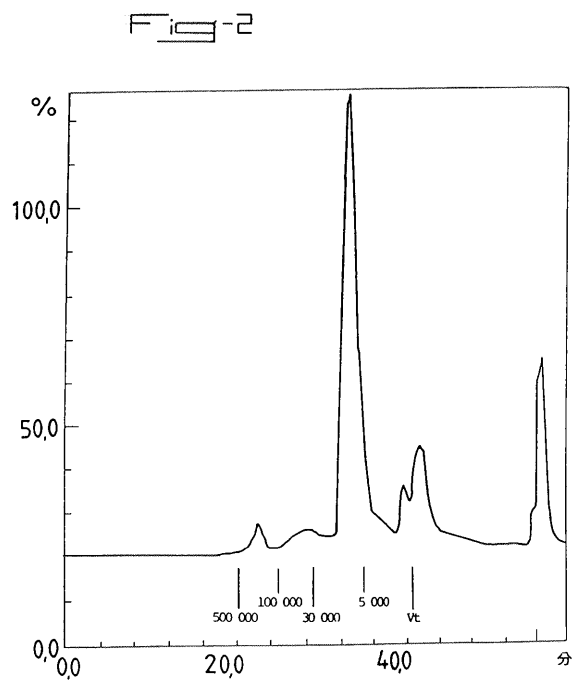
【図8】 図8Aは無処理対照皮膚の100倍顕微鏡写真である。

図8Bは製造例1の抽出物とKollidon 30の混合物で予め処理した皮膚の100倍顕微鏡写真である。

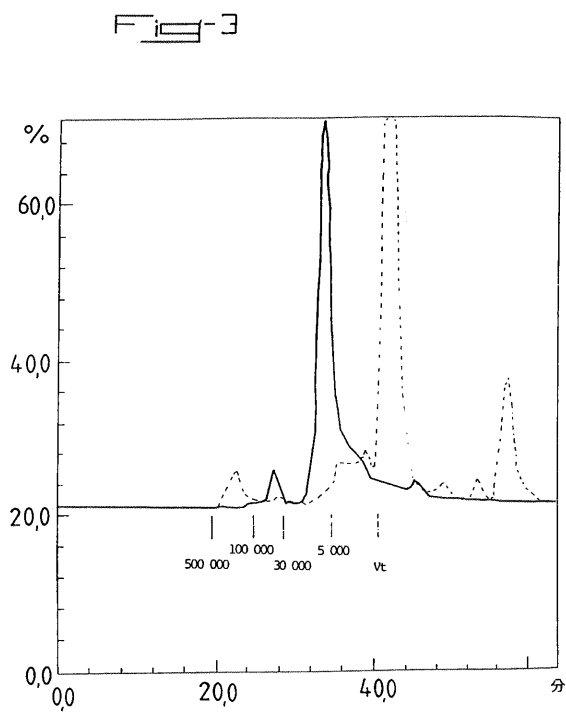
【図 1】



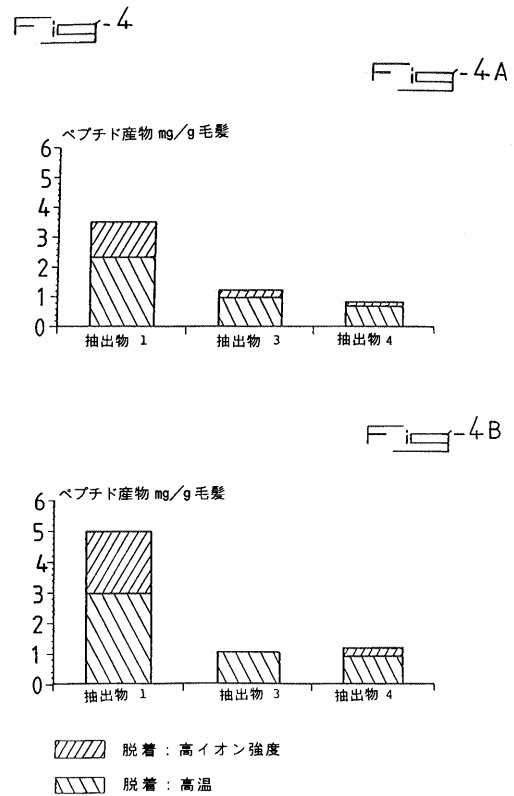
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【図 5】

Fig-5

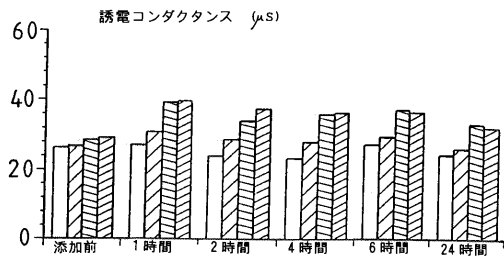
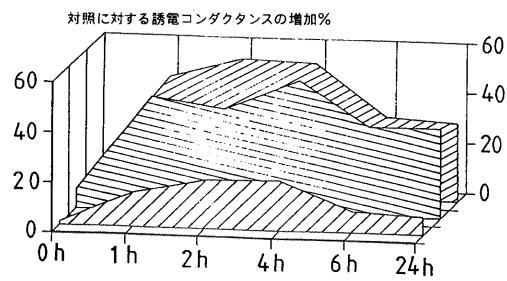


Fig-5A

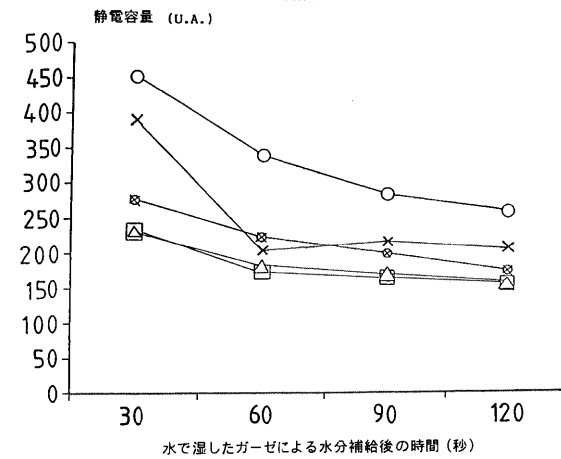
Fig-5B



抽出物 1 抽出物 3
 対照 抽出物 4

【図 6】

Fig-6



□ 対照 ○ 抽出物 3 + Kollidon 30
 △ 抽出物 30 × 抽出物 4 + Kollidon 30
 × 抽出物 1 + Kollidon 30

【図 7】

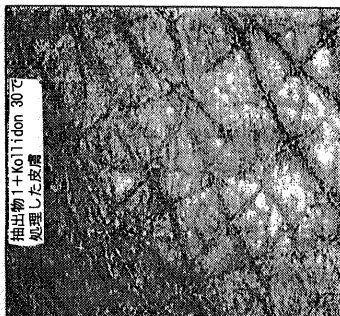


Fig. 7B

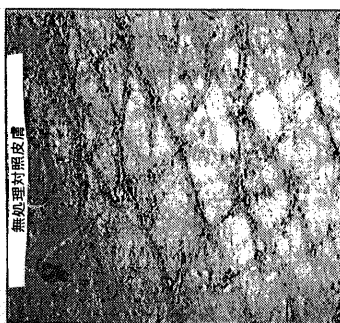


Fig. 7A

【図 8】

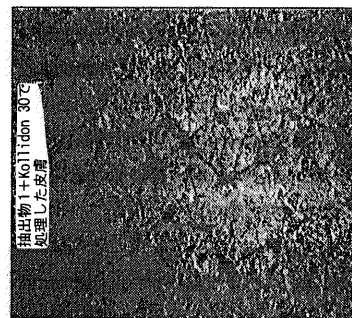


Fig. 8B

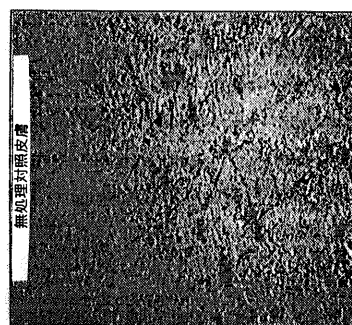


Fig. 8A

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 Q 19/00 (2006.01) A 6 1 Q 19/00

(74)代理人 100105393
弁理士 伏見 直哉

(72)発明者 ポリ, ジル
フランス国、エフ - 5 4 0 0 0 ・ナンシー、リュ・デ・ベゴニア、5

審査官 鶴見 秀紀

(56)参考文献 CACERES A et al , PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF MORINGA-OLEIFERA 3. EFFECT OF SEED EXTR
ACTS IN THE TREATMENT OF EXPERIMENTAL PYODERMIA , Fitoterapia , 1 9 9 1 年 , Vol.62, No.5
, pp.449-450

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A61K 36/18

A61K 8/97

CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)