

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)公開番号

特開2024-75143

(P2024-75143A)

(43)公開日 令和6年6月3日(2024.6.3)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	8/9789(2017.01)	A 6 1 K	8/9789	4 C 0 8 3	
A 6 1 Q	19/00 (2006.01)	A 6 1 Q	19/00	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	8/19 (2006.01)	A 6 1 K	8/19	4 C 0 8 8	
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/00		
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
		審査請求	未請求	請求項の数	8 O L (全17頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2022-186358(P2022-186358)	(71)出願人	000000918 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番 10号
(22)出願日	令和4年11月22日(2022.11.22)	(74)代理人	110000084 弁理士法人アルガ特許事務所
		(72)発明者	山本 泰徳 神奈川県小田原市寿町5-3-28 花 王株式会社研究所内
		(72)発明者	日下 あゆみ 神奈川県小田原市寿町5-3-28 花 王株式会社研究所内
		(72)発明者	川端 慶吾 神奈川県小田原市寿町5-3-28 花 王株式会社研究所内
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 角層剥離改善剤

(57)【要約】

【課題】皮膚の角層剥離機能を改善させ、肌の質感を改善する技術の提供。

【解決手段】炭酸ガス及びトウセンダン(Melia toosendan Sieb. et Zucc.)の抽出物を有効成分とする、角層剥離改善剤。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

炭酸ガス及びトウセンダン ( *Melia toosendan Sieb. et Zucc.* ) の抽出物を有効成分とする、角層剥離改善剤。

## 【請求項 2】

炭酸ガス及びトウセンダンの抽出物を有効成分とする、角層細胞間接着タンパク質分解促進剤。

## 【請求項 3】

炭酸ガス及びトウセンダンの抽出物を有効成分とする、肌の質感改善剤。

## 【請求項 4】

トウセンダンの抽出物を有効成分とする、炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤。

## 【請求項 5】

トウセンダンの抽出物を有効成分とする、炭酸ガスの角層細胞間接着タンパク質分解促進作用の増強剤。

## 【請求項 6】

角層細胞間接着タンパク質がデスマグレイン 1 である、請求項 2 記載の角層細胞間接着タンパク質分解促進剤又は請求項 5 記載の炭酸ガスの角層細胞間接着タンパク質分解促進作用の増強剤。

## 【請求項 7】

エアゾール製剤である、請求項 1 ~ 3 及び 6 のいずれか 1 項記載の角層剥離促進剤、角層細胞間接着タンパク質分解促進剤又は肌の質感改善剤。

## 【請求項 8】

エアゾール製剤における、炭酸ガスとトウセンダンの抽出物の配合量比 ( 炭酸ガス / トウセンダンの抽出物 ) が、質量比で 600000 ~ 0.025 である、請求項 7 記載の角層剥離促進剤、角層細胞間接着タンパク質分解促進剤又は肌の質感改善剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、角層剥離を正常化する、角層剥離改善剤に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

皮膚は、外界からの異物や微生物の侵入を防ぐとともに、恒常性を維持する機能を有する。表皮の最外層である角層は主に細胞間脂質、天然保湿因子 ( NMF )、及びタンパク質等から構成される。

## 【0003】

角層の形成には、角層細胞同士の接着構造 ( コルネオデスモソーム ) が重要である。コルネオデスモソームはデスマグレイン 1 ( *desmoglein 1 : DSG1* )、デスマコリン 1 ( *desmocollin 1 : DSC1* ) をはじめ複数のタンパク質から構成される。コルネオデスモソームはプロテアーゼであるカリクレイン 5 ( *kallikrein 5 : KLK5* ) 等により切断される ( 非特許文献 1 )。健全な皮膚では、コルネオデスモソームがプロテアーゼによって分解されることで、正常な角層剥離がおこる ( 非特許文献 2 )。一方、乾燥肌では、プロテアーゼの活性が低下しており、コルネオデスモソームの分解が抑制されることで角層細胞が堆積するといわれている ( 非特許文献 3 )。また、老人性乾皮症においても、角層細胞の堆積が認められる。その他、角層剥離機能の異常をとともなう皮膚疾患は多数報告されており、例えばフケ症、尋常性魚鱗癬、伴性遺伝性魚鱗癬、乾癬等が挙げられる ( 非特許文献 4 ~ 6 )。

## 【0004】

上記のような乾燥肌や乾皮症、種々の皮膚疾患では、皮膚表面状態に異常が認められ、肌の質感が損なわれる。これらにとともなう外見上の悩みは、感情面の QOL を著しく低下させることから、肌の質感を改善する技術は、美容的な側面のみでなく、人々が健康な生

10

20

30

40

50

活を保つ上で重要である。

【 0 0 0 5 】

これまでに、斯かる改善技術として、炭酸ガスが角層剥離酵素を活性化し、コルネオデスモソームの分解を促進する作用を有することに基づき、炭酸ガスを皮膚の角層剥離機能の改善や皮膚表面形状の早期改善の有効成分として用いることが報告されている（特許文献 1）。

【 0 0 0 6 】

一方、センレンシ（川棟子）は、センダン科センダン属のトウセンダンの果実を乾燥した生薬であり、薬効として鎮静作用、鎮痛作用、駆虫作用が知られている。また、トウセンダンの抽出物は、美白作用、保湿作用を有することが報告されている（特許文献 2 及び 3）。しかしながら、トウセンダンの抽出物の皮膚の角層剥離機能に対する作用やトウセンダンの抽出物が炭酸ガスの角層剥離改善作用に及ぼす影響については全く知られていない。

10

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 7 】

【 特許文献 1 】 特開 2 0 1 9 - 2 1 4 5 2 0 号公報

【 特許文献 2 】 特開 2 0 1 0 - 1 9 5 7 3 2 号公報

【 特許文献 3 】 特開 2 0 1 1 - 7 9 7 5 4 号公報

【 非特許文献 】

20

【 0 0 0 8 】

【 非特許文献 1 】 Borgono CA, et al., A potential role for multiple tissue kallikrein serine proteases in epidermal desquamation. *J Biol Chem.* 282 (6): 3640-3652 (2007)

【 非特許文献 2 】 Kubo A. et al., Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. *J Clin Invest.* 122(2): 440-447 (2012)

【 非特許文献 3 】 Rawlings AV. et al., Skin biology, xerosis, barrier repair and measurement *Drug Discovery Today.* 5(2): e127-e136 (2008)

【 非特許文献 4 】 Singh B. et al., Retention of corneodesmosomes and increased expression of protease inhibitors in dandruff. *Br J Dermatol.* 171(4): 760-770 (2014)

30

【 非特許文献 5 】 Kitajima Y. et al., Implications of normal and disordered remodeling dynamics of corneodesmosomes in stratum corneum. *Dermatologica Sinica.* 33(2): 58-63 (2015)

【 非特許文献 6 】 Simon M. et al., Alterations in the desquamation-related proteolytic cleavage of corneodesmosin and other corneodesmosomal proteins in psoriatic lesional epidermis. *Br J Dermatol.* 159(1): 77-85 (2008)

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 9 】

40

本発明は、皮膚の角層剥離機能を改善させ、肌の質感を改善する技術を提供することに関する。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 0 】

本発明者らは、上記課題に鑑み鋭意検討した結果、トウセンダンの抽出物が、単独ではコルネオデスモソームの分解を促進する作用を示さないものの、炭酸ガスと併用することで、炭酸ガスのコルネオデスモソームの分解を促進する作用を増強できることを見出した。

【 0 0 1 1 】

すなわち、本発明は、以下の 1 ) ~ 5 ) に係るものである。

50

- 1) 炭酸ガス及びトウセンダンの抽出物を有効成分とする、角層剥離改善剤。
- 2) 炭酸ガス及びトウセンダンの抽出物を有効成分とする、角層細胞間接着タンパク質分解促進剤。
- 3) 炭酸ガス及びトウセンダンの抽出物を有効成分とする、肌の質感改善剤。
- 4) トウセンダンの抽出物を有効成分とする、炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤。
- 5) トウセンダンの抽出物を有効成分とする、炭酸ガスの角層細胞間接着タンパク質分解促進作用の増強剤。

【発明の効果】

【0012】

本発明によれば、炭酸ガス及びトウセンダンの抽出物の皮膚への適用により、炭酸ガスの角層細胞間接着タンパク質分解促進作用を増強し、角層剥離を効果的に正常化することができ、健全な角層形成を促し、肌の質感を改善することが可能となる。

10

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】トウセンダン抽出物、炭酸ガス、又は炭酸ガス及びトウセンダン抽出物の併用が3次元培養表皮のDSG1発現に及ぼす影響についての、蛍光免疫染色による組織学的観察結果を示す図である（図中、白色の破線は表皮最外層の位置を、表皮中の白色部分はDSG1の蛍光シグナル部分を示す）。

【図2】図1の蛍光免疫染色による組織学的観察における表皮中のDSG1に由来する蛍光シグナルを定量した結果を示す図である（コントロール群の蛍光シグナル量を1とする相対値）。

20

【発明を実施するための形態】

【0014】

本明細書中で引用された全ての特許文献、非特許文献、及びその他の刊行物は、その全体が本明細書中において参考として援用される。

【0015】

後記実施例に示すとおり、炭酸ガスとトウセンダンの抽出物をヒト3次元培養表皮に適用した場合、それぞれ単独での適用の場合と比べて、角層中のデスモグレイン1（DSG1）の分解亢進が認められる。炭酸ガスが角層中のDSG1の分解促進作用を有することが知られている（前記特許文献1）一方、トウセンダンの抽出物単独ではDSG1分解促進作用が認められないことから、斯かる効果は、トウセンダンの抽出物が炭酸ガスのDSG1分解促進作用を増強することにより得られるものであることが明らかである。また、炭酸ガスとトウセンダンの抽出物を含む組成物をヒトの肌に適用した場合、肌のなめらかさ、しっとり感、柔らかさに代表される肌の質感の改善が認められる。

30

前述したとおり、健全な皮膚では、角層細胞同士の接着構造（コルネオデスモソーム）を構成するDSG1等の角層細胞間接着タンパク質が角層剥離酵素により切断され分解されることにより、正常な角層剥離が起こると考えられている（非特許文献2）。

これらのことから、炭酸ガスとトウセンダンの抽出物の組み合わせは、角層細胞間接着タンパク質分解促進作用、角層剥離改善作用、肌の質感改善作用を有する。また、トウセンダンの抽出物は、炭酸ガスの角層細胞間接着タンパク質分解促進作用の増強作用、角層剥離改善作用の増強作用を有する。

40

【0016】

したがって、炭酸ガスとトウセンダンの抽出物の組み合わせは、角層細胞間接着タンパク質分解促進剤、角層剥離改善剤、肌の質感改善剤（以下、「角層剥離改善剤等」とも称する）となり得、またこれらを製造するために使用することができる。炭酸ガスとトウセンダンの抽出物の組み合わせをヒトの皮膚に供給することにより、角層細胞間接着タンパク質の分解を促進し、角層剥離を改善し、また肌の質感を改善することができる。炭酸ガスとトウセンダンの抽出物の組み合わせは、角層細胞間接着タンパク質分解促進のため、角層剥離改善のため、肌の質感改善のために使用することができる。

また、トウセンダンの抽出物は、炭酸ガスの角層細胞間接着タンパク質分解促進作用の

50

増強剤、炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤（以下、「炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤等」とも称する）となり得、またこれらを製造するために使用することができる。トウセンダンの抽出物をヒトの皮膚に供給することにより、炭酸ガスの角層細胞間接着タンパク質の分解促進作用を増強し、炭酸ガスの角層剥離改善作用を増強することができる。トウセンダンの抽出物は、炭酸ガスの角層細胞間接着タンパク質分解促進作用の増強のため、炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強のために使用することができる。

【0017】

ここで、炭酸ガスとトウセンダンの抽出物の組み合わせ又はトウセンダンの抽出物のヒトへの使用は、治療的使用であってもよいが、非治療的使用であってもよい。「非治療的」とは、医療行為を含まない、すなわち人間を手術、治療又は診断する方法を含まない、より具体的には医師、又は医療従事者もしくは医師の指示を受けた者が人間に対して手術、治療又は診断を実施する方法を含まない概念である。本発明において、非治療的使用としては、美容的又は審美的な目的での角層剥離改善のための炭酸ガスとトウセンダンの抽出物の組み合わせ又はトウセンダンの抽出物の使用、例えばエステティシャン、美容師、理容師、トリマー等による使用等が挙げられる。

10

【0018】

本発明において、「角層細胞間接着タンパク質」とは、角層細胞同士の接着構造（コルネオデスモソーム）を構成するタンパク質を意味し、例えばデスモグレイン1（DSG1）、デスコリン1（DSC1）、コルネオデスモシン（CDSN）等が挙げられ、好ましくはDSG1である。

20

本発明において、「角層剥離」とは、角層細胞間の接着機構が弱まって、古い角層細胞が皮膚表面からはがれ落ちることを意味し、その改善とは角層剥離の遅延を抑制し、又は角層剥離を促進し、正常化することを指す。

本発明において、「肌の質感の改善」とは、触知により評価される肌の状態の悪化の抑制又は向上を指し、具体的には角層剥離の改善による健全な角層形成を介した肌の質感の改善である。肌の質感としては、なめらかさ、しっとり感、柔らかさ等が挙げられ、好ましくはなめらかさである。ここで、肌のなめらかさとは肌表面を指で触った際の滑る感触、つるつるする感触のことをいい、しっとり感とは適度な水分を含み肌が潤っていることをいい、柔らかさとは肌が柔軟であることをいう。肌の質感は、官能評価、例えば専門判定員が各種評価基準によりスコア化することにより評価することができる。または機器測定において、例えば、なめらかさであれば皮膚表面における摩擦係数、しっとり感であれば角層水分量、柔らかさであれば皮膚の硬度や弾性係数などを指標として評価することも可能である。皮膚の質感の改善は、スコアの大小、機器測定における各種指標の測定値の大小に基づいて判定することができる。または肌の質感の改善度合いについての定性的な評価、例えばホームユーステストにおけるアンケート結果を集計することによって判定することも可能である。

30

【0019】

本発明において、トウセンダンとは、センダン科センダン属のトウセンダン（*Melia toosendan Sieb. et Zucc.*）を指す。トウセンダンの果実を乾燥したものは、川棟子（センレンシ）と呼ばれる生薬として知られている。

40

【0020】

本発明において用いるトウセンダンは、全ての任意の部分が使用可能である。例えば、全木又は任意の部位（根、根茎、幹、枝、莖、葉、樹皮、樹液、樹脂、花、果実、種子、果皮、莢、芽、花穂、心材等）、及びそれらの組み合わせのいずれか1つ又は複数を用いることができる。このうち、果実を用いるのが好ましい。また、トウセンダンの果実を用いる場合、生薬のセンレンシを用いてもよい。

【0021】

トウセンダンの抽出物の製造方法については特に限定はなく、トウセンダンを通常の方法で抽出することにより抽出物を得ることができる。具体的には、トウセンダンを乾燥させた乾燥物、その粉碎物等を圧搾抽出することにより得られる搾汁、水蒸気蒸留物、各種

50

抽出溶剤による粗抽出物、粗抽出物を分配又はカラムクロマトなどの各種クロマトグラフィーなどで精製して得られた抽出物画分などを本発明におけるトウセンダンの抽出物として用いることができる。

トウセンダンは生のままで抽出に供することも可能であるが、より抽出効率を高めるために、乾燥、細断、粉碎などの工程を加えることも好ましい。また、本発明においては、上記の抽出物、水蒸気蒸留物、圧搾物等を、いずれかを単独で、又は2種以上を組み合わせ使用してもよい。なかでも、本発明のトウセンダンの抽出物としては、トウセンダンを乾燥させた乾燥物又はその粉碎物から、抽出溶剤を用いて得られた抽出物を用いることがより好ましく、センレンシから抽出溶剤を用いて得られた抽出物を用いることがさらに好ましい。

10

#### 【0022】

抽出溶剤としては、極性溶剤、非極性溶剤のいずれをも使用することができ、これらを混合して用いることもできる。例えば、水；メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等の1価アルコール類；エチレングリコール、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ポリエチレングリコール等の多価アルコール類；アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類；酢酸メチル、酢酸エチル等のエステル類；テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル等の鎖状及び環状エーテル類；ポリエチレングリコール等のポリエーテル類；ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類；ヘキササン、シクロヘキササン、石油エーテル等の炭化水素類；ベンゼン、トルエン等の芳香族炭化水素類；ピリジン類；超臨界二酸化炭素；油脂、ワックス、その他オイル等が挙げられる。あるいは、上記溶剤の2種以上を組み合わせた混合物を、抽出溶剤として用いることができる。このうち、水、1価又は多価アルコール類、水-1価又は多価アルコール混合液を用いるのが好ましく、1価又は多価アルコール類、水-1価又は多価アルコール混合液を用いるのがより好ましく、1価又多価アルコール類を用いるのがさらに好ましい。ここで1価又は多価アルコール類としては、エタノール、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコールを用いるのが好ましく、エタノール、1,3-ブチレングリコールを用いるのがより好ましく、エタノールを用いるのがさらに好ましい。

20

#### 【0023】

本発明で用いられるトウセンダンの抽出物を得るための抽出条件については、使用する溶剤によって異なり特に制限はないが、例えば水、1価又多価アルコール類又は水-1価又多価アルコール混合液により抽出する場合、好ましくはトウセンダン1質量部に対して1~50容量部の溶剤を用い、好ましくは3~100、より好ましくは20~80の温度で、好ましくは1時間~数週間、より好ましくは1日~30日間浸漬又は加熱還流するのが好ましい。また、抽出効率を上げる為、併せて攪拌を行ったり、溶媒中でホモジナイズ処理を行ったりしてもよい。

30

#### 【0024】

上記溶媒で抽出して得られたトウセンダンの抽出物はそのまま使用してもよいが、さらに適当な分離手段、例えばゲル濾過、クロマトグラフィー、精密蒸留等により活性の高い画分を分画して用いることもできる。本発明において、トウセンダンの抽出物とは、このようにして得られた各種抽出物、その希釈液、その濃縮液、その精製物又はそれらの乾燥末を包含するものである。

40

#### 【0025】

本発明の角層剥離改善剤等は、炭酸ガスとトウセンダンの抽出物を皮膚角層に供給できるものであればその手段は特に限定されるものではない。炭酸ガスとトウセンダンの抽出物はどちらを先に投与しても、同時に投与してもよい。両者を同時に投与しない場合、両者の投与間隔は、炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強効果を奏するかぎり適宜選択しうる。

炭酸ガスとトウセンダンの抽出物を組み合わせてなる剤は、炭酸ガスとトウセンダンの抽出物を配合剤として一の剤型に製剤化したものでも、また単独に製剤化したものを同時に又は間隔を空けて別々に使用できるようにしたキットであってもよい。好ましくは、炭

50

酸ガスとトウセンダンの抽出物を一緒に含む1剤型形態の製剤である。

【0026】

本発明の角層剥離改善剤等としては、好ましくは、噴射剤として炭酸ガスを封入したエアゾール化粧料のような皮膚外用剤（特開2014-129306号公報、特開2017-125003号公報等）、水分と反応して炭酸ガスを発生する炭酸ガス発生剤を含有する発泡性の皮膚外用剤、不織布シート（特開2015-105451号公報）、入浴剤（特開平9-2942号公報、特開2000-191429号公報等）、パッド（特開2006-249025号公報等）等の炭酸ガスを皮膚角層に供給し得る形態の剤であって、さらにトウセンダンの抽出物が配合された剤が挙げられる。なかでも、皮膚外用剤（原液）にトウセンダンの抽出物を含有し、噴射剤として炭酸ガスを封入したエアゾール化粧料のようなエアゾール製剤がより好ましい。

10

【0027】

炭酸ガスを皮膚外用剤に噴射剤として封入する場合、皮膚上において本発明の角層剥離改善効果を得る観点から、噴射剤の総量を基準として、炭酸ガスを90質量%以上含むことが好ましく、95質量%以上含むことがより好ましく、98質量%以上含むことがさらに好ましく、100質量%であることがさらに好ましい。

【0028】

炭酸ガスを噴射剤として封入したエアゾール製剤を調製する場合における、皮膚外用剤（原液）と炭酸ガスを含む噴射剤の質量割合は、94:6~99.5:0.5が好ましく、95:5~99:1がより好ましく、96.5:3.5~98.5:1.5がさらに好ましい。エアゾール製剤の噴射の形態としては、噴射剤として配合した炭酸ガスを皮膚上に持続的に滞留させる観点から、皮膚外用剤が泡状に吐出されるフォームタイプとするのが好ましい。

20

【0029】

原液として用いる皮膚外用剤におけるトウセンダンの抽出物の含有量は、皮膚上において炭酸ガスの角層剥離改善作用を増強する観点から、原液中に0.00001質量%以上が好ましく、0.0001質量%以上がより好ましく、0.001質量%以上がさらに好ましく、20質量%以下が好ましく、10質量%以下がより好ましく、5質量%以下がさらに好ましく、1質量%以下がさらに好ましく、0.1質量%以下がさらに好ましく、0.01質量%以下がさらに好ましい。また、トウセンダンの抽出物の含有量は、原液中に0.00001~20質量%が好ましく、0.0001~10質量%がより好ましく、0.001~5質量%がさらに好ましく、0.001~1質量%がさらに好ましく、0.001~0.1質量%がさらに好ましく、0.001~0.01質量%がさらに好ましい。尚、本明細書においてトウセンダンの抽出物の含有量とは、トウセンダンの抽出物の乾燥固形分換算の含有量を意味する。

30

【0030】

炭酸ガスを噴射剤として封入するエアゾール製剤（エアゾール化粧料）における炭酸ガスとトウセンダンの抽出物の配合量比（炭酸ガス/トウセンダンの抽出物）は、質量比で600000~0.025が好ましく、より好ましくは5000~0.1、さらに好ましくは3500~0.3、さらに好ましくは2000~1、さらに好ましくは1000~30である。

40

【0031】

原液として用いる皮膚外用剤には、さらに化粧料、医薬部外品、医薬品等の皮膚外用剤に通常使用される各種の成分を配合することができる。具体的には、皮膚外用剤を泡状に吐出させ、皮膚における泡ののびを良好とし、使用感に優れ、泡を持続させ炭酸ガスの効果を高める観点から、粉体、油剤、界面活性剤、水溶性増粘剤、水等の成分を含有させることが好ましい。また、通常の化粧料に用いられる成分として、例えば、エタノール、血行促進剤、冷感剤、制汗剤、殺菌剤、美白剤、抗炎症剤、皮膚賦活剤、湿潤剤、保湿剤、防腐剤、酸化防止剤、キレート剤、増粘剤、紫外線吸収剤、乳化安定剤、pH調整剤、色素、香料等も配合することができる。

50

## 【 0 0 3 2 】

粉体としては、平均粒子径  $0.01 \sim 30 \mu\text{m}$  を有する酸化ケイ素、酸化チタン、酸化亜鉛、タルク、マイカ、(メタ)アクリル酸又はその塩 / (メタ)アクリル酸アルキルクロスポリマー及びシリコンラスタマーから選ばれる1種以上の粉体が挙げられる。上記粉体の中で、本発明においては、特に酸化ケイ素を用いる。本発明で用いる酸化ケイ素は、平均粒径  $0.25 \sim 20 \mu\text{m}$  であり、より良い使用感を与える点から  $0.25 \sim 10 \mu\text{m}$  のものが好ましい。この粉体は、水、アルコール、油剤等には、溶解しないものである。その形状は、球状、板状等いずれでも良い。粉体の内部構造にも制限はなく、多孔質、中空、無孔質等いずれのものも使用することができる。感触の点からは、球状であることが好ましい。なお、本発明において、平均粒径の測定は、レーザー回折散乱式粒子径分布測定装置 LA-920 / HORIBA / メジアン径で、測定される。

10

## 【 0 0 3 3 】

本発明で用いる酸化ケイ素は、化粧品に通常用いられるものであれば制限されず、表面を化合物等で処理した改質粉体、シリコン油、脂肪酸金属塩等を用いた疎水化処理をしていないもの、親水的な表面を有するものを用いて良い。具体的には、市販品としては、サンスフェア NP-30、NP-100、H-31 (AGC エスアイテック社)、サイロピュア 35 (富士シリシア化学社)、HCS 160M5 (池田物産社) 等が挙げられる。より良い使用感を与える点から、NP-30 がより好ましい。

## 【 0 0 3 4 】

原液における上記粉体の含有量は、炭酸ガスを含む泡の皮膚への均一な塗布性及び炭酸ガスの皮膚への浸透性を向上させる観点から、原液中に  $0.001$  質量% 以上が好ましく、 $0.005$  質量% 以上がより好ましく、 $0.01$  質量% 以上がさらに好ましく、また  $2.5$  質量% 以下が好ましく、 $2.0$  質量% 以下がより好ましく、 $1.5$  質量% 以下がさらに好ましい。具体的な含有量の範囲は、 $0.001 \sim 2.5$  質量% が好ましく、 $0.005 \sim 2.0$  質量% がより好ましく、 $0.01 \sim 1.5$  質量% がさらに好ましい。

20

## 【 0 0 3 5 】

油剤としては、通常の化粧品に用いられるものであれば制限されず、例えば、炭化水素油、シリコン油、エステル油、エーテル油、フッ素油等が挙げられる。より具体的には、例えば、 $25$  で液状のものとして、メチルポリシロキサン等のシリコン油類、パラフィン、スクワラン、スクワレン等の炭化水素類；ツバキ油、ホホバ油、オリーブ油、マカデミアナッツ油、アボガド油、オリーブ油等のトリグリセリドを主体とする天然動植物油；グリセリンモノステアリン酸エステル、グリセリンジステアリン酸エステル、グリセリンモノオレイン酸エステル、パルミチン酸イソプロピル、ステアリン酸イソプロピル、ステアリン酸ブチル、ミリスチン酸イソプロピル、フタル酸ジエチル、乳酸ミリスチル、ミリスチン酸セチル、乳酸セチル、2-エチルヘキサン酸セチル、パルミチン酸-2-エチルヘキシル、ミリスチン酸-2-オクチルドデシル、オレイン酸-2-オクチルドデシル、トリスステアリン酸グリセロール、ジ-パラメトキシケイヒ酸-モノ-2-エチルヘキサン酸グリセリル、イソノナン酸イソトリデシル、モノイソステアリン酸モノミリスチン酸グリセリル、安息香酸アルキル(炭素数  $12 \sim 15$  のアルキル基)等のモノエステル油；アジピン酸ジイソプロピル、アジピン酸ジイソブチル、ジカプリン酸ネオペンチルグリコール、トリ(カプリル・カプリン酸)グリセリル、トリカプリン酸グリセリン、ジ-2-エチルヘキサン酸ネオペンチルグリコール、ジ(カプリル酸/カプリン酸)プロパンジオール、1-イソステアロイル-3-ミリスチルグリセロール、リンゴ酸ジイソステアリル、N-ラウロイル-L-グルタミン酸ジ(コレステリル・オクチルドデシル)等のジエステル油；アルキル-1,3-ジメチルブチルエーテル、ジカプリリルエーテル、ジカプリリルエーテル等のエーテル油；ユーカリ油、ハッカ油等の精油などが挙げられる。これらのうち、炭酸ガス濃度を高め、なめらかな使用感を付与する点から、モノエステル油、ジエステル油が好ましく、イソノナン酸イソトリデシル、安息香酸アルキルがより好ましい。また、 $25$  で液状以外の油剤としては、 $25$  で固体状のワックス、ペーストや固体脂が挙げられ、炭素数  $12 \sim 24$  の高級アルコール、炭素数  $12 \sim 24$  の高級脂

30

40

50

肪酸、パラフィンワックス等が挙げられる。

油剤の粘度としては、炭酸ガスの皮膚への浸透性を向上させる観点から、 $1\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 以上であり、 $2\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 以上が好ましく、 $3\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 以上がより好ましく、 $4\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 以上がさらに好ましく、 $100\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 以下であり、 $50\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 以下が好ましく、 $30\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 以下がより好ましく、 $20\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 以下がさらに好ましい。また、油剤は、 $1\sim 100\text{ mPa}\cdot\text{s}$ のものであり、 $2\sim 50\text{ mPa}\cdot\text{s}$ のものが好ましく、 $3\sim 30\text{ mPa}\cdot\text{s}$ のものがより好ましく、 $4\sim 20\text{ mPa}\cdot\text{s}$ のものがさらに好ましい。

ここで、粘度は、25 で、BM粘度計（東機産業社製）（ローターNo. 1、60rpm、1分）により測定される。

#### 【0036】

油剤は、1種又は2種以上を用いることができ、炭酸ガスの皮膚への浸透性、塗布後の皮膚の皮膜感を向上させる観点から、その含有量は、原液中に1質量%以上であり、2質量%以上が好ましく、4質量%以上がより好ましく、25質量%以下であり、15質量%以下が好ましく、12質量%以下がより好ましい。また、油剤の含有量は、原液中に1~25質量%であり、2~15質量%が好ましく、4~12質量%がさらに好ましい。

#### 【0037】

界面活性剤としては、非イオン界面活性剤、アニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤などが挙げられるが、炭酸ガスの原液への溶解量、溶解性促進と塗布時の泡立ち性の観点から、非イオン、アニオン界面活性剤が好ましく用いられる。本発明で使用される非イオン界面活性剤は、HLB3~20の非イオン界面活性剤であり、非イオン界面活性剤のHLBは、泡の皮膚への浸透感、組成物の保存安定性を向上させる観点から、7以上が好ましく、9以上がより好ましく、11以上がさらに好ましく、塗布後の皮膚の皮膜感を向上させる観点から、18以下が好ましく、16以下がより好ましく、15以下がさらに好ましい。また、非イオン界面活性剤のHLBは、7~18が好ましく、9~16がより好ましく、11~15がさらに好ましい。

ここで、HLB（親水性-親油性のバランス *Hydrophilic-Lipophilic Balance*）とは、界面活性剤の全分子量に占める親水基部分の分子量を示すものであり、グリフィン（*Griffin*）の式により求められるものである。2種以上の非イオン界面活性剤から構成される混合界面活性剤のHLBは、各非イオン界面活性剤のHLB値をその配合比率に基づいて相加算平均することにより求められる。

#### 【0038】

具体的な非イオン界面活性剤としては、ソルビタン脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、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アルキルエーテル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等が挙げられ、ポリグリセリン脂肪酸エステル、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硬化ヒマシ油が好ましく、ソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油がより好ましく、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油がさらに好ましい。

ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油は、炭酸ガスの皮膚への浸透性、泡の安定性を向上させる観点から、エチレンオキサイドの平均付加モル数が、20~90であるのが好ましく、30~80がより好ましく、50~70がさらに好ましい。

#### 【0039】

非イオン界面活性剤は、1種又は2種以上を組み合わせることで用いることができ、その含有量は、泡ののび、炭酸ガスの皮膚への浸透性、塗布後の皮膚の皮膜感を向上させる観点から、原液中に0.05質量%以上であり、0.1質量%以上が好ましく、0.3質量%以上がより好ましく、6質量%以下であり、2質量%以下が好ましく、1質量%以下がより好ましい。また、非イオン界面活性剤の含有量は、原液中に0.05~6質量%であり、0.1~2質量%が好ましく、0.3~1質量%がより好ましい。

#### 【0040】

水溶性増粘剤としては、通常の化粧品に用いられるものであれば良く、例えば、カラギ

10

20

30

40

50

ーナン、デキストリン、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、カルボキシビニルポリマー、(アクリル酸/アクリル酸アルキル(C10-30))コポリマー、キサンタンガム、カルボキシメチルキチン、キトサン等が挙げられる。これらのうち、炭酸ガスの揮散抑制、原液の安定性、塗布時及び塗布後の使用感(べたつきのなさ、なめらかさ及びやわらかさ付与)の点から、アクリル酸系ポリマーが好ましく、カルボキシビニルポリマー、アクリル酸/アクリル酸アルキルコポリマーがより好ましく、(アクリル酸/アクリル酸アルキル(C10-30))コポリマーがより好ましい。ここで、(アクリル酸/アクリル酸アルキル(C10-30))コポリマーとは、C10-30アルキルアクリル酸とアクリル酸、メタクリル酸又はこれらの低級アルキルエステルとの共重合体であって、ショ糖のアリルエーテル又はペンタエリスリトールのアリルエーテルで架橋したものであり、ペムレンTR-1、ペムレンTR-2、カーボポールETD2020、カーボポール1342、カーボポール1382(以上、Lubrizol Advanced Materials社)等の市販品を用いることができる。また、ポリアクリル酸、カルボキシビニルポリマー、(アクリル酸/アクリル酸アルキル(C10-30))コポリマーなどの酸型の水溶性増粘剤は、水酸化カリウム、水酸化ナトリウム等のアルカリ金属水酸化物を中和剤として用い、水溶性ないし水分散性の塩として用いるのが好ましい。

10

#### 【0041】

水溶性増粘剤は、上記から選ばれる1種又は2種以上を組み合わせて用いることができ、その含有量は、塗布時のべたつきのなさ、原液の安定性を向上させる点から、原液中に0.05質量%以上であり、0.1質量%以上が好ましく、0.2質量%以上がより好ましく、1質量%以下であり、0.8質量%以下が好ましく、0.7質量%以下がより好ましい。また、水溶性増粘剤の含有量は、原液中に0.05~1質量%であり、0.1~0.8質量%が好ましく、0.2~0.7質量%がより好ましい。

20

#### 【0042】

水は、溶媒として働き、原液中に、55質量%以上が好ましく、60質量%以上がより好ましく、65質量%以上がさらに好ましく、95質量%以下が好ましく、93質量%以下がより好ましく、90質量%以下がさらに好ましい。また、水の含有量は、原液中に、55~95質量%が好ましく、60~93質量%がより好ましく、65~90質量%がさらに好ましい。

30

#### 【0043】

原液は、安定性、泡の吐出性、炭酸ガスの皮膚への浸透性を向上させる観点から、25における粘度が、500mPa・s以上であるのが好ましく、1000mPa・s以上がより好ましく、1500mPa・s以上がさらに好ましく、20000mPa・s以下が好ましく、15000mPa・s以下がより好ましく、10000mPa・s以下がさらに好ましい。原液は、25における粘度が、500~20000mPa・sであるのが好ましく、1000~15000mPa・sがより好ましく、1500~10000mPa・sがさらに好ましい。

ここで、粘度は、25で、BM粘度計(東機産業社製)を用いて、ローターNo.3、12rpm、1分で測定し、粘度が10000mPa・sを超えた場合は、ローターNo.3、6rpm、1分で測定した値である。

40

#### 【0044】

発泡性皮膚外用剤において用いられる炭酸ガス発生剤としては、通常、炭酸ガス発生物質と酸性物質からなり、水と接触することにより両者が反応し、炭酸ガスを発生する製剤が挙げられる。

ここで、酸性物質としては、無機酸、有機酸のいずれでもよく、これらの1種又は2種以上が用いられる。有機酸としては、例えば、コハク酸、フマル酸、リンゴ酸、アジピン酸、酒石酸、安息香酸、クエン酸、ピロリドンカルボン酸、サリチル酸から選ばれる1種又は2種以上が挙げられる。また、無機酸としては、具体的には、例えば、リン酸、ホウ酸、メタケイ酸及び無水ケイ酸から選ばれる1種又は2種以上が挙げられる。なかでも、

50

炭酸ガス発生量を確保する観点から、有機酸が好ましく、クエン酸、リンゴ酸、フマル酸、コハク酸、及び酒石酸から選ばれる1種又は2種以上であることがより好ましく、クエン酸、リンゴ酸及びフマル酸から選ばれる1種又は2種であることがさらに好ましい。

【0045】

炭酸ガス発生物質としては、炭酸塩が挙げられ、具体的には、例えば、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸カルシウム、炭酸マグネシウム、及びセスキ炭酸ナトリウムから選ばれる1種又は2種以上が挙げられる。なかでも、炭酸塩としては、炭酸ガス発生量を確保する観点から、炭酸ナトリウム及び炭酸水素ナトリウムから選ばれる1種又は2種以上であることが好ましい。

【0046】

斯かる炭酸ガス発生剤は、酸性物質、炭酸ガス発生物質を同一剤に含んでいてもよく、また複数の剤に分けて含有していてもよい。

【0047】

発泡性皮膚外用剤におけるトウセンダンの抽出物の含有量は、皮膚上において炭酸ガスの角層剥離改善作用を増強する観点から、組成物全量中に0.00001質量%以上が好ましく、0.0001質量%以上がより好ましく、0.001質量%以上がさらに好ましく、20質量%以下が好ましく、10質量%以下がより好ましく、5質量%以下がさらに好ましく、1質量%以下がさらに好ましく、0.1質量%以下がさらに好ましく、0.01質量%以下がさらに好ましい。また、トウセンダンの抽出物の含有量は、組成物全量中に0.00001~20質量%が好ましく、0.0001~10質量%がより好ましく、0.001~5質量%がさらに好ましく、0.001~1質量%がさらに好ましく、0.001~0.1質量%がさらに好ましく、0.001~0.01質量%がさらに好ましい。

【0048】

発泡性皮膚外用剤の剤形は、固形状、液体状、ジェル状等いずれでもよい。固形状の場合、顆粒状、細粒状、粉末状であり得る。当該皮膚外用剤は、化粧品、医薬部外品、医薬品のいずれの形態でもよいが、化粧品又は医薬部外品として用いることが好ましい。具体的には、化粧水、乳液、美容ジェル、パック料、育毛料、洗顔料、クレンジング料、シャンプー、コンディショナー等、様々な形態を挙げることができ、使用に際し、手のひらの上あるいは容器内で含水物質と混合し、発泡させて使用する態様が好ましい。

【0049】

不織布シートとしては、粉体である炭酸ガス発生剤（酸性物質及び炭酸ガス発生物質）及びトウセンダンの抽出物を担持し、皮膚に貼付した不織布シートに水や湯をかけるのみで、シートを貼付した皮膚上において十分な量の炭酸ガスを発生させ、十分な量のトウセンダンの抽出物を供給することができるシートが挙げられる。

具体的には、(A)有機酸及び無機酸から選ばれる粉体、(B)炭酸塩である粉体、(C)融点が50以上110以下であり、かつ25で固体である物質（例えば、ポリエチレングリコール等のポリエーテルやヒドロキシエチルセルロース等のセルロース誘導体のような高分子化合物；ミリスチン酸、パルミチン酸等の高級脂肪酸；セチルアルコール、ヘキサデシルアルコール、セテアシルアルコール、ステアシルアルコール等の高級アルコール；グルコース、マルトース等の糖類）、及び(D)繊維を含有する不織布シート（特開2015-105451号公報）にトウセンダンの抽出物がさらに配合された不織布シートが挙げられる。

【0050】

トウセンダンの抽出物の含有量は、皮膚上において炭酸ガスの角層剥離改善作用を増強する観点から、不織布シート1m<sup>2</sup>あたり、0.000005g以上が好ましく、0.00005g以上がより好ましく、0.0005g以上がさらに好ましく、200g以下が好ましく、100g以下がより好ましく、50g以下がさらに好ましく、10g以下がさらに好ましく、1g以下がさらに好ましく、0.1g以下がさらに好ましい。また、トウセンダンの抽出物の含有量は、不織布シート1m<sup>2</sup>あたり、0.000005~200g

10

20

30

40

50

が好ましく、0.00005～100gがより好ましく、0.0005～50gがさらに好ましく、0.00005～10gさらに好ましく、0.00005～1gがさらに好ましく、0.00005～0.1gがさらに好ましい。

**【0051】**

入浴剤としては、(a)界面活性剤を10重量%以上及び炭酸塩を該界面活性剤の2重量倍以上含む固体状賦形物、(b)炭酸塩又は炭酸水素塩、(c)有機酸を含有し、成分(a)の含有量が入浴剤中3～20重量%である発泡性錠剤型入浴剤(特開平9-2942号公報)にトウセンダンの抽出物がさらに配合された発泡性錠剤型入浴剤や、(A)常温で固体の酸又は水に溶解したときに酸性を示す無機物、(B)炭酸塩、(C)冷感剤又は温感剤を含有する発泡性化粧品(特開2000-191429号公報)にトウセンダンの抽出物がさらに配合された発泡性化粧品が挙げられる。

10

**【0052】**

トウセンダンの抽出物の含有量は、皮膚上において炭酸ガスの角層剥離改善作用を増強する観点から、組成物全量中に0.00001重量%以上が好ましく、0.0001重量%以上がより好ましく、0.001重量%以上がさらに好ましく、20重量%以下が好ましく、10重量%以下がより好ましく、5重量%以下がさらに好ましく、1質量%以下がさらに好ましく、0.1質量%以下がさらに好ましく、0.01質量%以下がさらに好ましい。また、トウセンダンの抽出物の含有量は、組成物全量中に0.00001～20重量%が好ましく、0.0001～10重量%がより好ましく、0.001～5重量%がさらに好ましく、0.001～1質量%がさらに好ましく、0.001～0.1質量%がさらに好ましく、0.001～0.01質量%がさらに好ましい。

20

**【0053】**

パッドとしては、吸水性を有する基底層と、該基底層を被覆するように設けられたガスバリア性を有する保護層と、該保護層と前記基底層の間に封入された、炭酸ガス発生剤を含んでなり、保護層の周縁部分で皮膚に貼着できるようにされたパッド(特開2006-249025号公報)の炭酸ガス発生剤にトウセンダンの抽出物がさらに配合されたパッドが挙げられる。

**【0054】**

本発明の炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤等は、トウセンダンの抽出物を皮膚角層に供給できるものであればその手段は特に限定されるものではない。本発明の炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤等は、炭酸ガスの投与に先立って投与しても、炭酸ガスと同時に投与しても、炭酸ガスの投与後に投与してもよい。本発明の炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤等と炭酸ガスを同時に投与しない場合、両者の投与間隔は、本発明の炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤等の効果を奏するかぎり適宜選択しうる。

30

**【0055】**

本発明の炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤等の投与形態としては、固形、半固形又は液状であり得、好ましくは皮膚外用剤、貼付剤等による非経口投与形態である。より好ましくは皮膚外用剤である。剤形としては、軟膏剤、クリーム剤、ゲル剤、貼付剤、チック剤、リニメント剤、ローション剤、スプレー剤等が挙げられる。

このような種々の剤形の製剤は、有効成分であるトウセンダンの抽出物を、必要に応じて、薬学的に又は化粧品に許容される担体、その他の薬効成分又は化粧成分と適宜組み合わせ、それぞれ一般的な製造方法により調製することができる。当該薬学的に又は化粧品に許容される担体としては、例えば、水、油剤、界面活性剤、溶剤、増粘剤、ゲル化剤、アルコール、キレート剤、乳化安定剤、pH調節剤、塩類、防腐剤、酸化防止剤、紫外線吸収剤、色素、香料等が挙げられる。また、その他の薬効成分又は化粧成分としては、例えば、植物抽出物、保湿剤、抗菌剤、抗炎症剤、清涼剤、メイクアップ成分等が挙げられる。

40

**【0056】**

上記製剤中のトウセンダンの抽出物の含有量は、その使用形態により異なるが、皮膚上において炭酸ガスの角層剥離改善作用を増強する観点から、0.00001質量%以上が

50

好ましく、0.0001質量%以上がより好ましく、0.001質量%以上がさらに好ましく、20質量%以下が好ましく、10質量%以下がより好ましく、5質量%以下がさらに好ましく、1質量%以下がさらに好ましく、0.1質量%以下がさらに好ましく、0.01質量%以下がさらに好ましい。また、トウセンダンの抽出物の含有量は、上記製剤中に0.00001~20質量%が好ましく、0.0001~10質量%がより好ましく、0.001~5質量%がさらに好ましく、0.001~1質量%がさらに好ましく、0.001~0.1質量%がさらに好ましく、0.001~0.01質量%がさらに好ましい。

#### 【0057】

本発明の角層剥離改善剤等又は炭酸ガスの角層剥離改善作用の増強剤等は、任意の適用計画に従って、皮膚に噴霧、塗布等の方法で適用され得るが、1日1回~数回に分け、適用され得る。適用期間は適宜決定することができ、例えば、1日以上が好ましく、7日以上がより好ましく、14日以上がさらに好ましい。

10

#### 【0058】

本発明の角層剥離改善剤等の適用対象としては、それを必要としていれば特に限定されないが、角層剥離の正常化を目的とするヒト、肌の質感の改善を必要とするヒト、肌の質感の改善を希望するヒト等が挙げられる。

#### 【実施例】

#### 【0059】

実施例1 コルネオデスモソーム分解亢進作用

20

#### (1) 表皮モデルの調製

トウセンダン抽出物、炭酸ガス、及びこれらの併用が皮膚の角層剥離機能に与える効果を、ヒト正常表皮細胞を重層培養したヒト3次元培養表皮モデルであるLabCytEPI-MODEL126D(J-TEC)を用いて検証した。LabCytEPI-MODEL126Dに付属の培地1.0mLを培養カップの外側に添加し、37、5%CO<sub>2</sub>インキュベータ内にて24時間、静置培養した。

#### 【0060】

#### (2) トウセンダン抽出物の添加、炭酸ガス製剤の塗布

トウセンダン抽出物として、トウセンダンの乾燥果実(川棟子)のエタノール抽出物(乾燥固形分)を0.5質量%、1,3-ブチレングリコールを79.75質量%、精製水を19.75質量%含有するトウセンダン抽出液を使用した。トウセンダン抽出物の対照として、1,3-ブチレングリコール79.75質量%、精製水20.25質量%を含有する溶媒(以下、対照溶媒)を調製した。

30

#### 【0061】

炭酸ガス製剤とその対照(炭酸ガス非含有製剤)の組成を下記表1に示す。全ての原料は、60の温度下で原料を攪拌させながら混合した。まず、メッキンス-Mとリン酸2水素カリウム、適量の精製水を混合し、攪拌した。次に、PEMULENTR-1を混合し、攪拌した。これに、液体苛性カリ(48%)と精製水を適宜混合し、攪拌した。さらに、エマノンCH60(K)と精製水の残りを全て混合し、攪拌した。これを下記表1中に示す原液とした。これに、炭酸ガスを封入したものを炭酸ガス製剤とし(原液と炭酸ガスの比は、97.8:2.2)、炭酸ガスを封入しなかったものを炭酸ガス非含有製剤とした(原液のみ)。

40

#### 【0062】

【表 1】

炭酸ガス製剤とその対照（炭酸ガス非含有製剤）の組成（単位は質量%）

原料名	薬事成分名	炭酸製剤	対照
PEMULEN TR-1	アクリル酸・メタクリル酸アルキル共重合体	0.3	0.3
医薬部外品原料規格 リン酸二水素カリウム	リン酸二水素カリウム	0.12	0.12
液体苛性カリ（48%）	水酸化カリウム液（A）	0.47	0.47
エマノーンCH60(K)	ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	0.5	0.5
メッキンスーM	パラオキシ安息香酸メチル	0.2	0.2
精製水	精製水	98.41	98.41
原液合計		100	100
原液の粘度（mPa・s）		4900	4900
<b>原液：炭酸ガス</b>		<b>97.8 : 2.2</b>	<b>100 : 0</b>

10

20

Pemulen™ TR-1 polymerはLubrizol Advanced Materials, Inc.、リン酸二水素カリウムは太平化学産業株式会社、液体苛性カリ（48%）はAGC株式会社、エマノーン CH-60（K）は花王株式会社、メッキンスーMは上野製薬株式会社の原料を用いた。

## 【0063】

本試験では、以下に示す4群で試験を実施した。

コントロール群：トウセンダン抽出物非適用（対照溶媒適用）且つ炭酸ガス非適用（炭酸ガス非含有製剤適用）

トウセンダン抽出物群：トウセンダン抽出物適用且つ炭酸ガス非適用（炭酸ガス非含有製剤適用）

炭酸ガス群：トウセンダン抽出物非適用（対照溶媒適用）且つ炭酸ガス適用（炭酸ガス含有製剤適用）

併用群：トウセンダン抽出物適用且つ炭酸ガス適用（炭酸ガス含有製剤適用）

まず、付属の培地に前記のトウセンダン抽出液を終濃度が0.3%となるように添加してトウセンダン抽出物含有培地を調製した（トウセンダン抽出物の終濃度0.0015%、乾燥固形分換算）。トウセンダン抽出物非適用については、付属の培地に対照溶媒を終濃度が0.3%となるように添加して対照溶媒含有培地を調製した。次に、LabCyte EPI-MODEL 126Dの培養カップの外側の培地を除去し、調製したトウセンダン抽出物含有培地もしくは対照溶媒含有培地1.0mLを添加した。これを37、5%CO<sub>2</sub>インキュベータ内に戻し、48時間静置培養した。培養後、培養カップ内側の表皮モデル表面に炭酸ガス含有製剤もしくは炭酸ガス非含有製剤0.5gを塗布した。その後、これを37、5%CO<sub>2</sub>インキュベータ内で、2時間静置培養した。

30

40

## 【0064】

## (3) 切片の作製

炭酸ガス含有製剤もしくは炭酸ガス非含有製剤を塗布して2時間静置培養した後、表皮モデルを回収し、O.C.T.コンパウンド（サクラファインテックジャパン製）に包埋して凍結ブロックを作製した。凍結ブロックは5μm厚に薄切し、スライドガラスに貼付した。

## 【0065】

50

## (4) 抗DSG1抗体を用いた免疫染色

スライドガラスを4%パラホルムアルデヒド・りん酸緩衝液(富士フイルム和光純薬製)100mLに10分間浸漬して組織を固定した。続いて、0.05% Tween(登録商標)-20/PBS(PBS-T)溶液100mL中にスライドガラスを5分間浸漬し、これを3回繰り返して洗浄した。

切片のブロッキング処理を行うために、スライドガラスを湿潤箱(モイストチャンバー、アズワン製)に並べて、ブロッキング液(1%ウシ血清アルブミン/PBS-T溶液)100 $\mu$ Lを切片に滴下し、30分間静置した。30分後、ブロッキング液を除去し、ブロッキング液で10倍希釈した抗Desmoglein1抗体(Progen Biotechnik.製, #651110)50 $\mu$ Lを切片に滴下して、4 $^{\circ}$ Cで一晩反応させた(1次抗体反応)。翌日、PBS-T溶液100mL中にスライドガラスを5分間浸漬し、これを3回繰り返して洗浄した。洗浄後、スライドガラスを湿潤箱に並べて、ブロッキング液で100倍希釈した蛍光標識した抗マウス抗体(Jackson製, #715-095-151)50 $\mu$ Lを切片に滴下し、37 $^{\circ}$ Cで30分間反応させた(2次抗体反応)。その後、PBS-T溶液100mL中にスライドガラスを5分間浸漬し、これを3回繰り返して洗浄し、カバーガラスを被せて封入した。切片の観察は、共焦点レーザー顕微鏡(LSM710, カールツァイス製)を用いて画像を撮影した。

【0066】

## (5) DSG1シグナルの計測

ImageJ(ver.1.53C)を用いて、以下の方法によりDSG1シグナルを算出した。まず、取得した画像中の薄切組織底面の長さを計測した。次に、表皮モデル全体の総輝度を算出した。表皮モデル全体の総輝度を薄切組織底面の長さで除した値(総輝度(-)/薄切組織底面の長さ( $\mu$ m))をDSG1シグナルとした。コントロール群のDSG1シグナルを1としたとき、各群のDSG1シグナルの相対値を算出し、トウセンダン抽出物、炭酸ガス含有組成物、及びこれらの併用が表皮モデル中のDSG1発現に与える効果を検証した。

【0067】

## (6) 結果

図1に各群の抗DSG1抗体を用いた免疫染色画像を、図2に各群のDSG1シグナル強度を、コントロール群を1とする相対値で示す。図1に示すように、コントロール群において観察されたDSG1の蛍光発色部分(表皮中の白色部分)は、トウセンダン抽出物群ではほとんど変化は見られなかったが、炭酸ガス群では白色部分の減少が観察され、炭酸ガスとトウセンダン抽出物の併用群ではその減少はさらに顕著であった。この結果はDSG1の蛍光発色を計測した結果にも反映されており、図2に示すように炭酸ガスとトウセンダン抽出物の併用により、有意にDSG1シグナルが減衰した。本結果から、トウセンダン抽出物は、単独ではDSG1分解促進作用を示さないものの、炭酸ガスと併用することで炭酸ガスのDSG1分解促進作用を亢進したと考えられる。

【0068】

## 実施例2 肌の質感改善効果(ヒト試験)

## (1) 評価方法

20~59歳の健常女性18名を試験参加者とし、2週間、毎日朝夜の2回、化粧水の塗布前に、トウセンダン抽出物として実施例1のトウセンダン抽出液を1%含有する原液(トウセンダン抽出物の終濃度0.005%、乾燥固形分換算)に炭酸ガスを封入した炭酸製剤(原液と炭酸ガスの比は、97.8:2.2)約1g(吐出時直径3cm)を顔全体に塗布させた。その後の肌ケアは普段通りとした。

【0069】

試験期間終了後、試験期間開始前と比べた肌の質感の改善度についてのアンケートをとり、なめらかさ、しっとり感、柔らかさを評価項目として、「肌がなめらかになった」、「肌がしっとりした」、「肌が柔らかくなった」という点について、どのように感じたかを以下の5つからいずれかを選択してもらい、全試験参加者のアンケート結果を集計して

40

40

肌の質感の改善度を評価した。

【 0 0 7 0 】

- 1 : そう思う ( 改善した )
- 2 : ややそう思う ( 少し改善した )
- 3 : どちらともいえない
- 4 : あまりそう思わない ( 少し悪化した )
- 5 : そう思わない ( 悪化した )

【 0 0 7 1 】

結果を表 2 に示す。炭酸ガスとトウセンダン抽出物の適用により、9 割以上の試験者がいずれの評価項目においても肌の質感の改善効果を実感しており ( 1 又は 2 を選択 )、特に肌のなめらかさの改善に優れていた。本結果から、炭酸ガスとトウセンダン抽出物の併用により角層剥離が改善され、肌の質感が改善したものと考えられる。

10

【 0 0 7 2 】

【 表 2 】

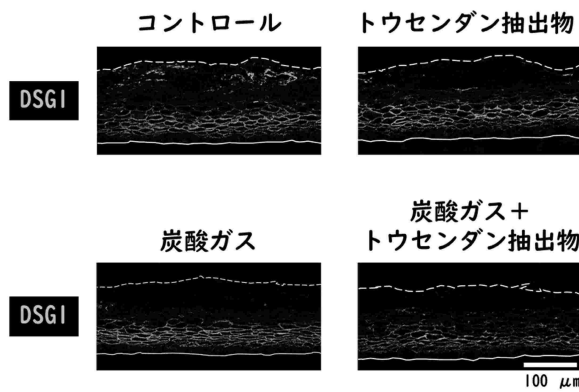
炭酸ガスとトウセンダン抽出物の併用剤を塗布して肌質感の改善度を評価した結果 ( 1 ~ 5 の選択肢を選択した試験参加者の割合 ( % ) を示す)

評価項目	1	2	3	4	5
なめらかさ	83	17	0	0	0
しっとり感	56	39	6	0	0
柔らかさ	50	39	11	0	0

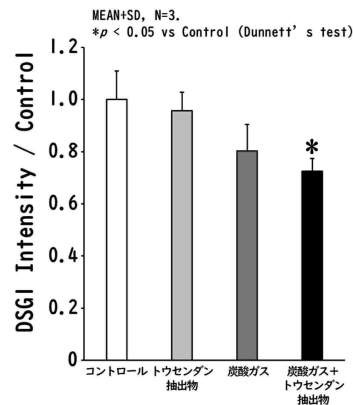
20

【 図 面 】

【 図 1 】



【 図 2 】



30

40

50

---

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

**A 6 1 K 33/00 (2006.01)**      A 6 1 K 33/00  
**A 6 1 K 36/58 (2006.01)**      A 6 1 K 36/58

(72)発明者 小林 由佳

東京都墨田区文花 2 - 1 - 3 花王株式会社研究所内

Fターム (参考) 4C083 AA111 AA112 AB032 AB131 AB132 AB282 AC432 AC482 AD092 DD08  
EE12  
4C086 AA01 AA02 HA16 MA02 MA04 MA13 MA63 NA05 ZA89 ZC75  
4C088 AB42 BA08 CA03 MA06 MA13 MA63 NA05 ZA89 ZC75