

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4249710号  
(P4249710)

(45) 発行日 平成21年4月8日(2009.4.8)

(24) 登録日 平成21年1月23日(2009.1.23)

(51) Int.Cl. F I  
**A 6 1 K 8/64 (2006.01)** A 6 1 K 8/64  
**A 6 1 K 8/55 (2006.01)** A 6 1 K 8/55  
**A 6 1 Q 19/00 (2006.01)** A 6 1 Q 19/00  
**A 6 1 Q 17/04 (2006.01)** A 6 1 Q 17/04  
**A 6 1 Q 1/14 (2006.01)** A 6 1 Q 1/14

請求項の数 10 (全 21 頁)

|               |                               |           |                         |
|---------------|-------------------------------|-----------|-------------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2004-564302 (P2004-564302)  | (73) 特許権者 | 505247627               |
| (86) (22) 出願日 | 平成15年12月23日 (2003.12.23)      |           | トレル、ジャン ノエル             |
| (65) 公表番号     | 特表2006-513231 (P2006-513231A) |           | フランス国、 7 5 0 1 4 パリ、 リュ |
| (43) 公表日      | 平成18年4月20日 (2006.4.20)        |           | ラ ロシェル 3                |
| (86) 国際出願番号   | PCT/FR2003/003883             | (74) 代理人  | 100064908               |
| (87) 国際公開番号   | W02004/060393                 |           | 弁理士 志賀 正武               |
| (87) 国際公開日    | 平成16年7月22日 (2004.7.22)        | (74) 代理人  | 100089037               |
| 審査請求日         | 平成18年9月21日 (2006.9.21)        |           | 弁理士 渡邊 隆                |
| (31) 優先権主張番号  | 02/16871                      | (74) 代理人  | 100108453               |
| (32) 優先日      | 平成14年12月30日 (2002.12.30)      |           | 弁理士 村山 靖彦               |
| (33) 優先権主張国   | フランス (FR)                     | (74) 代理人  | 100110364               |
| (31) 優先権主張番号  | 02/16872                      |           | 弁理士 実広 信哉               |
| (32) 優先日      | 平成14年12月30日 (2002.12.30)      | (72) 発明者  | トレル、ジャン ノエル             |
| (33) 優先権主張国   | フランス (FR)                     |           | フランス国、 7 5 0 1 4 パリ、 リュ |
|               |                               |           | ラ ロシェル 3                |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 皮膚代謝生理活性物質

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第一に、水溶液中に、A T P（アデノシン三リン酸）のナトリウム塩、及び任意成分として A T P 前駆体、G p 4 G（ジグアノシン四リン酸）または A p 4 A（ジアデノシン四リン酸）、また第二に、ヒスチジン-β-アラニルまたは L-シトルリル-L-アルギニン、を組合わせてなる生理活性系を含む化粧用組成物。

【請求項 2】

前記 A T P のナトリウム塩がジナトリウム塩であることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

【請求項 3】

前記組成物に、クレアチン、デカルボキシカルノシン、およびグルタミン類、N-アセチルグルタミンからなる群から選択されるアミノ酸が含まれていることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

【請求項 4】

前記組成物に、スーパーオキシドジスムターゼ、エンドヌクレアーゼ、フォトリアーゼおよびミルクからのサイトカイン類からなる群から選択されるたんぱく質が含まれていることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

【請求項 5】

前記生理活性系が前記組成物の多くても 10 重量%を占めていることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

10

20

## 【請求項 6】

前記生理活性系が前記組成物の 1 重量%と  $10^{-7}$  重量%の間を占めていることを特徴とする請求項 5 記載の組成物。

## 【請求項 7】

前記組成物に、前記生理活性系により作用を高められた少なくとも 1 つの化粧用活性成分が含まれていることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

## 【請求項 8】

前記組成物が油中水型または水中油型エマルジョンの状態にあり、前記生理活性系が水相に含まれていることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

## 【請求項 9】

前記生理活性系、すなわち、前記 ATP および任意成分である ATP 前駆体が多くても 10 重量%を占めていることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

## 【請求項 10】

前記生理活性系、すなわち、前記 ATP および任意成分である ATP 前駆体が 0.01 重量%と 5 重量%の間を占めていることを特徴とする請求項 9 記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、化粧用組成物一般に関する。

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0002】

本発明の目的は、化粧品を媒介として、「代謝生理活性」と称される皮膚細胞の生存率および／または刺激に関する新規な思想を実施することである。より詳細には、本発明は皮膚の代謝生理活性物質に関する。

## 【0003】

個人のライフスタイル、攻撃的環境および老化により、皮膚組織の生物学的機能および生体機能は時間の経過とともに弱くなる。従って皮膚細胞（ケラチノサイト、ランゲルハンス細胞、メラノサイト、線維芽細胞など）が環境との間で外来エネルギーおよび機能性情報をやり取りできるように、皮膚細胞を修復し正しい代謝および異化を維持することが不可欠と考えられる。

## 【0004】

本発明の目的は、エネルギーの外部からの供給と細胞間メッセージの刺激とを組み合わせることにより皮膚の広範な能力を増大させ又は自然に修正することである。この供給と刺激の相乗作用は、皮膚（分子、細胞、組織機構）に元々存在する代謝メカニズムを活性化するとともに、場合によって皮膚のケアまたは治療で投与された化粧用活性剤と皮膚との間の相互作用をも最適化することにより、あらゆる攻撃または機能障害に対して皮膚を対応させる。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0005】

この目的のために、本発明は、第一に、ATP（アデノシン三リン酸）の安定型の水溶液、及び任意成分として ATP 前駆体例えば  $Gp_4G$ （ジグアノシン四リン酸）または  $Ap_4A$ （ジアデノシン四リン酸）と結合し、第二に、皮膚ポリペプチドまたは皮膚たんぱく質、あるいは前記ポリペプチドまたは前記たんぱく質について作動薬または拮抗薬である生体分子を模倣する最大 6 個のアミノ酸を含む少なくとも一種の生体模倣ペプチドを結合する生理活性系を含む化粧用組成物を提案している。

## 【0006】

「化粧用組成物」という用語は、人体の表面部分、主として皮膚の外観を維持、修復または改善する機能を有する組成物を意味している。前記組成物の投与方法は、外部局所投与でも内部経口投与でもよい。

10

20

30

40

50

## 【0007】

「ATP前駆体」という用語は、ATPの新生（*de novo*）生合成における中間体である任意の生化学化合物を意味しており、好適には、ATP前駆体はGp<sub>4</sub>G（ジグアノシン四リン酸）またはAp<sub>4</sub>A（ジアデノシン四リン酸）である。

## 【0008】

「生体模倣ペプチド」という用語は、皮膚ポリペプチドまたは皮膚たんぱく質、または前記ポリペプチド若しくはたんぱく質について作動薬または拮抗薬である生体分子を模倣した最大6個のアミノ酸を含むペプチドを意味する。これらのペプチドまたはたんぱく質は、皮膚における生合成または皮膚情報の伝達の一部をなすか又はそのためにある役割を果たしている。

10

## 【0009】

好適には、選択される生体模倣ペプチドは、皮膚の特性および免疫を調節するペプチドまたはたんぱく質を含む。

## 【0010】

本発明に係る生理活性系に属するペプチドにより模倣される皮膚のペプチドまたはたんぱく質の例として、次のようなものが選択される。

## 【0011】

1) カテコールアミン（ドーパミン、アドレナリン、ノルアドレナリン）、エンドルフィン（例えばベーターエンドルフィン）およびエンケファリン（例えばメトーエンケファリン）を含む神経メディエーター。例として、次のようなものが選択される。

20

- －ソマトスタチン、配列番号3を参照
- －β-CGRPペプチド、配列番号6参照
- －β-エンドルフィン、配列番号9を参照
- －ロイエンケファリン、配列番号10を参照
- －メトーエンケファリン、配列番号11を参照

## 【0012】

- 2) 神経ペプチド、例えば、
- －P物質、配列番号1を参照
  - －神経ペプチドY、配列番号2を参照
  - －ニューロテンシン、配列番号4を参照
  - －α-CGRPペプチド（カルシトニン遺伝子関連ペプチド）、配列番号5を参照
  - －ニューロキニンAおよびB、
  - －GRPペプチド（ガストリン放出ペプチド）、配列番号7を参照
  - －ブラジキニン、配列番号8を参照

30

## 【0013】

- 神経ホルモン、例えば、
- －α-MSH（メラノサイト刺激ホルモン）ペプチド、配列番号12を参照
  - －ACTH（副腎皮質刺激ホルモン）ペプチド、配列番号13を参照
  - －「乳腺刺激ホルモン放出」ペプチド、配列番号14を参照

## 【0014】

一例として、本発明で用いる生体模倣ペプチドは、物質P拮抗薬またはCGRPペプチド拮抗薬であるペプチドを模倣する。

40

## 【0015】

一例として、本発明で用いる生体模倣ペプチドは、ソマトスタチン作動薬であるペプチドを模倣する。

## 【0016】

一例として、本発明で用いる生体模倣ペプチドは、神経ペプチドY拮抗薬または調節物質であるペプチドを模倣する。

## 【0017】

一例として、本発明で用いる生体模倣ペプチドは、ブラジキニン受容体拮抗薬であるペ

50

プチドを模倣する。

【0018】

一例として、本発明で用いる生体模倣ペプチドは、 $\alpha$ -MSH作動薬または拮抗薬であるペプチドを模倣する。

【0019】

「模倣」または「模倣体」という用語は、考慮対象であるペプチドが、生体外、特に本発明に係る組成物中において、関連生体分子（例えば、ペプチドまたはたんぱく質）の生体内（例えば、皮膚中）での生物学的機能に類似または近接した生物学的効果を発揮する特性を意味している。

【0020】

明細書本文および特許請求の範囲を通して、用語「ペプチド」は、置換されていない数個のアミノ酸の系列と、同一のアミノ酸の系列のうちいくつか、例えばN-末端アミノ酸および／またはC-末端アミノ酸が機能性又は非機能性の置換基で置換されたものとの両方を意味していると考えられるべきである。

【0021】

これらのペプチドは、構成要素であるアミノ酸またはそれらの誘導体から、普通の化学合成（固体相または均一な液体相における）または酵素合成（クルマンら [Kullman et al]、ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー [J. Biol. Chem. ]、1980年、第255号、p. 8234）のいずれかにより得ることができる。

【0022】

これらのペプチドは、遺伝子工学により修飾されたまたは修飾されていない菌株の発酵によって所望の配列またはそれらの配列の種々の断片を産生することでも得ることができる。

【0023】

最後に、これらのペプチドは、動物または植物由来（好適には植物由来）のたんぱく質の抽出と、制御された加水分解による当該ペプチドの放出により得ることができる。多くの植物性たんぱく質が、それらの構造内に有利な配列を含むことが発見された。制御された加水分解によりこれらのペプチド断片を解離させることができる。

【0024】

本発明の第一の変形形態によると、化粧用組成物において選択された生理活性系それ自体が、化粧用組成物の活性成分を構成する。

【0025】

この場合、生体模倣ペプチドの選択により化粧用組成物を「機能化する」ことができる。例えば、

- $\alpha$ -MSHの模倣体を選択することにより色素化活性が得られ、逆に、 $\alpha$ -MSH拮抗薬の模倣体を選択することにより脱色素化活性が得られる。
- P物質拮抗薬であるペプチドの模倣体を選択することにより、鎮静効果が得られる。
- CGRPペプチド拮抗薬であるペプチドの模倣体を選択することにより、神経原性の刺激を妨げる効果が得られる。
- ブラジキニン拮抗薬であるペプチドの模倣体を選択することにより、不耐性または感作を妨げる効果が得られる。

【0026】

第二の変形形態によると、化粧用組成物において選択された生理活性系は、前記組成物に存在する一つ以上の活性成分の効能を高める。

【0027】

本発明を特徴づける生理活性系は、表皮の正常な活性を回復しおよび／または維持することができる。この作用は特に、化粧用組成物が皮膚栄養素および／または皮膚細胞の生存率を保証する水相を含むならば確実となる。

【0028】

本発明は下記実施形態も提供する。

- － A T Pの安定型はナトリウム塩、例えば、A T Pのジナトリウム塩であり、
- － 生体模倣ペプチドは、皮膚構成分子または皮膚上に存在する酵素の生合成において機能的に活性であり、
- － 生体模倣ペプチドは、皮膚の情報伝達において機能的に活性であり、例えば、皮膚に存在するホルモンまたはサイトカインの生物学的に活性な画分であり、
- － 生体模倣ペプチドは、次の要素  
ヒスチジン-β-アラニル（スーパーオキシドジスムターゼ模倣体）、  
ペプチド R-G l y-G l n-P r o-A r g、  
ペプチド T y r-A r g、  
ペプチド R-L y s-T h r-T h r-L y s-S e r、  
N-アセチル-T y r-A r g-R（エンドルフィン模倣体、Rはアミノ酸）、  
ペプチド L y s-T h r-T h r-L y s-S e r、  
ペプチド A l a-A r g-H i s-L e u-P h e-T y r（アルファ-MSH模倣体）、  
ペプチド G l y-G l n-A s p-P r o-V a l-L y s（エラフィン模倣体）からなる群から選択され、
- － 生体模倣ペプチドは例えばジペプチドであり、このジペプチドは式 A r g-R若しくは H i s-R（Rはアミノ酸）に相当するか、又は式  $(R-R)_n$ （ $1 < n < 3$ ）、例えば式  $(A r g-L y s)_n$ （ $1 < n < 3$ ）のオリゴマーの形式を有し、
- － 生体模倣ペプチドは例えば式 G l y-H i s-L y s、G l y-G l u-P r oまたは L y s-P r o-V a lに相当するトリペプチドであり、
- － 生体模倣ペプチドは例えば、式 L e u-P r o-T h r-V a l、L y s-T h r-S e r-Rまたは G l y-G l u-P r o-R（Rはアミノ酸）に相当するテトラペプチドであり、
- － 生体模倣ペプチドはペンタペプチド、例えば V a l-A l a-L y s-L e u-R（Rはアミノ酸）であり、
- － 生体模倣ペプチドはヘキサペプチド、例えば、A l a-R<sub>1</sub>-R<sub>2</sub>-R<sub>3</sub>-P h e-T r y（R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>はアミノ酸）であり、
- － 化粧用組成物は生理活性系と共にアミノ酸を含み、前記アミノ酸は例えばクレアチン、デカルボキシカルノシン、およびグルタミン類例えばN-アセチルグルタミンからなる群から選択され、
- － 本発明による化粧用組成物には、生理活性系と共に、例えば、スーパーオキシドジスムターゼ、エンドヌクレアーゼ、フォトリアーゼ、およびミルクからのサイトカイン類からなる群から選択されるたんぱく質が含まれ、
- － 生理活性系は、前記組成物の10重量%以下、好適には1重量%と $10^{-7}$ 重量%との間を占め、
- － 本発明に係る化粧用組成物には、本発明の生理活性系により効能を高められた少なくとも一種の化粧用活性成分が含まれ、
- － 化粧用組成物は通常油中水または水中油エマルジョンの状態にあるが、生理活性系は、例えばそのうちの水相に溶液として含まれており、
- － 本発明に係る生理活性系において、A T Pおよび任意成分であるA T P前駆体は最大10重量%、好適には0.01重量%と5重量%との間を占める。

#### 【0029】

本発明の組成物中に任意に存在する活性剤の有効量は、所望の結果を得るのに必要な量に相当し、本発明に係る組成物はまたそれらの組成物の用途にも左右される。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【0030】

第一の部類には、皮膚の美感および快適さを改善するために健康な皮膚に適用される化粧用組成物がある。健康な皮膚は、完璧な状態にあるわけではないが、病理のない状態と定義することができる。皮膚は、乾燥現象、肌荒れ現象、時間的加齢または日射性加齢に

10

20

30

40

50

関わるしわ、皮脂が過剰に分泌されている領域、または色素化の過小な領域や過大な領域を有することがある。さらに、健康な皮膚は、日光により良く耐えるため一時的または恒久的な光防御を必要とすることがある。

#### 【0031】

もう一つの部類には、予防措置または医療の一環として、疾患または投薬により傷つきやすくなっている皮膚に適用する組成物がある。

#### 【0032】

本発明の化粧用組成物には、酸化防止剤、フリーラジカル捕捉剤、 $\alpha$ -ヒドロキシ酸、ビタミン、日焼け止め剤またはフィルター、昆虫忌避剤および抗炎症剤から選択された少なくとも一種の化粧用活性剤も含まれている。

10

#### 【0033】

もちろん当業者は、任意成分である活性剤の種類および／または分量の選択に際しては、予定する添加物により本発明の生理活性系の有益な特性が変えられないか、又は実質的に変えられないように注意すべきである。好ましくは本発明の生理活性系と考慮している活性剤の間の相乗作用を探索すべきである。

#### 【0034】

本発明の組成物の作成には当業者、特に水中油（O/W）または油中水（W/O）型エマルジョンの製造技術における当業者に公知の技法が用いられる。

#### 【0035】

これらの組成物は、特に、単純なエマルジョンまたは複雑なエマルジョン、例えば、クリーム、ミルク、ゲルまたはクリームゲルなどの二重（O/WまたはW/O）または三重（W/O/WまたはO/W/O）エマルジョンの形式、粉末または固体の形式、場合によってはエアロゾルとしてパッケージされたムースまたはスプレーの形式で提供できる。

20

#### 【0036】

本発明の化粧用組成物がヒトの表皮の保護若しくはケアのため、または抗日光組成物として使われる場合、この組成物は、懸濁液の形、溶媒若しくは脂肪物質中に分散した形、非イオン性小胞性分散体の形、エマルジョン（好適にはクリームやミルクなどの水中油型）の形、軟膏、ゲル、クリームゲル、固体チューブ、粉末、棒、エアロゾル・ムースまたはスプレーの形で提供することができる。

#### 【0037】

本発明の化粧用組成物を毛髪の保護に用いる場合は、この組成物はシャンプー、ローション、ゲル、エマルジョン、または非イオン性小胞性分散体の形にあり、さらに、例えば、シャンプーの前後、毛染めや漂白の前後、髪の毛にパーマメント・ウエーブをかけたり、髪の毛を真っ直ぐにする前後やその間に適用するすすぎ洗い用組成物を構成することができる。この組成物はまたスタイリングやトリートメント用ローションやゲル、ヘアドライヤーで整髪したりまたはヘアセットするローションやゲル、または髪の毛にパーマメント・ウエーブをかけたり、髪の毛を真っ直ぐにしたり、毛染めや漂白する組成物の形で提供することができる。

30

#### 【0038】

この組成物は、爪、まつげ、まゆ毛または肌のメーキャップ製品、例えば表皮トリートメント・クリーム、ファンデーション、口紅のチューブ、アイシャドウ、ほお紅、マスカラまたはアイライナーなどとして使われ、この組成物は、固体またはペースト状、無水または水性の形態、例えば水中油または油中水エマルジョン、非イオン性小胞性分散体または懸濁液などの形で提供することができる。

40

#### 【0039】

本発明の組成物の場合、pHは4と7との間の生理的な値になる。この組成物を局部的に適用する場合、少なくとも一種のATPおよび任意成分として少なくとも一種の生体模倣ペプチドに共役した前駆体を含む組成物は、顔、首、頭皮、粘膜、爪、体幹、胸部、足、脚、または身体その他の部分に適用することができる。

#### 【0040】

50

本発明の組成物には公知の化粧品補助剤、特に脂肪性物質、本発明の文脈において特定目的に使われているものを除く有機溶媒、乳化剤、イオン性または非イオン性増粘剤、鎮静剤、乳白剤、安定剤、皮膚軟化剤、シリコン、発泡防止剤、保湿剤、ビタミン、香料、保存剤、界面活性剤、充填材、ポリマー、噴射剤、アルカリ性化剤または酸性化剤、または染料または化粧品において通常使われているその他の成分、特にエマルジョンの形で組成物を製造するための成分から選ばれた物質を含むこともできる。例えば本発明の組成物には、屋外環境および太陽の下で使われる製品の場合、遮蔽剤または反射剤が含まれている。

#### 【0041】

脂肪物質は油またはワックスまたはそれらの混合物からなり、またこれらの物質には脂肪酸、脂肪族アルコールおよび脂肪酸エステルも含まれる。油は、動物系、植物系、鉱物系または合成系油類から選ばれ、特に液状石油ジェリー、パラフィン油、揮発性または非揮発性シリコン油、イソパラフィン、ポリオレフィン、およびフルオロ油とパーフルオロ油から選ばれる。同様に、ワックスは、それら自体は公知である、動物系、化石系、植物系、鉱物系または合成系ワックスから選ばれる。

#### 【0042】

極性油の中では、「Finsolv TN」として知られる油、トリメリット酸トリデシル、イソノナン酸イソノニル、ミリスチン酸イソプロピル、炭酸デカプリル、またはGuerbetアルコール安息香酸およびヒドロキシ安息香酸、例えばCP Hall Companyの「ホールブライト (Hallbrite) BHB」と呼ばれる製品などが特記される。

#### 【0043】

水中油エマルジョン型キャリアーを有する本発明による抗日光製剤の場合、目安として、水相（特に親水性遮蔽剤を含む）はほぼ全製剤の50～95重量%、好適には70～90重量%を占め、油相（特に親油性遮蔽剤を含む）は全製剤の5～50重量%、好適には10～30重量%を占め、さらに、（共）乳化剤は全製剤の0.5～20重量%、好適には2～10重量%を占める。

#### 【0044】

特に、本発明の組成物は、透明性および半透明性を有する無水の組成物の形で得ることができ、これは注目に値する。

#### 【0045】

本発明の別の主題は、本発明に係る化粧用組成物を利用したスキンケア製品、肌、唇および／または外皮用メーキャップ製品、抗日光製品、およびスキンケアおよび／またはトリートメント用皮膚科学的組成物である。

#### 【0046】

本発明の組成物は、肌、唇および／または外皮などのケラチン物質のための着色された皮膚科学的組成物またはケア組成物の形、抗日光組成物や身体衛生用組成物、特に脱臭剤製品または棒状のメーキャップ除去製品の形を有する。この組成物は、特に、肌、外皮または唇のためのケアベース（寒冷や日光や風から唇を保護するリップクリーム、または肌、爪または髪をケアするクリーム）として使われる。

#### 【0047】

本発明の組成物はまた、肌の着色メーキャップ製品、特に選択的機能としてケアまたはトリートメント特性を有するファンデーション、ほお紅、化粧用ルージュ、アイシャドー、コンシーラー製品、アイライナー、身体化粧用製品、選択的機能としてケアまたはトリートメント特性を有するリップスティックなどの唇化粧用製品、爪またはまつげなどの外皮化粧用製品特にマスカラケーキ、またはペンシル状のまゆ毛および髪の毛用化粧用製品の形を有する。特に、本発明の組成物は、生理活性系の他に、化粧用および／または皮膚科学的活性剤を含む化粧製品である。

#### 【0048】

本発明の化粧用組成物には、真珠様光沢剤、色素、または被覆または非被覆の金属酸化

10

20

30

40

50

物からなるナノ色素（一次粒子の平均サイズが、一般に、5 nmと100 nmとの間、好適には10 nmと50 nmとの間にある）、例えば、酸化チタン（アモルファスまたはルチル型および／またはアナターゼ型の結晶）、酸化鉄、酸化亜鉛、酸化ジルコニウムまたは酸化セリウムおよびそれらの混合物のナノ色素を含む。これらは酸化物はすべて公知の紫外線光保護剤である。また、普通のコーティング剤はアルミナおよび／またはステアリン酸アルミニウムである。この種の被覆または非被覆金属酸化物ナノ色素は欧州特許出願公開第0518772号および欧州特許出願公開第0518773号で詳細に説明されている。

#### 【0049】

もちろん、本発明の組成物は、化粧品としてまたは皮膚科学的に許容される必要がある。すなわち、この組成物には、生理学的に許容される無毒の媒体が含まれるべきであり、人体の皮膚、外皮または唇に適用可能でなければならない。本発明では、「化粧品として許容できる」という用語は好ましい外観、においおよび感触を有する組成物を意味している。

#### 【0050】

##### 試験

##### 試験1

普通のヒトのケラチノサイトの細胞代謝に対する、ATPと結合または非結合のL-シトルリル-L-アルギニン（L-citrull-L-Arginine）ペプチドのジナトリウム塩のバイオシミュレーター（biosimulatory）活性を評価した。

#### 【0051】

##### 1. 原理

血清欠乏性（2%）の培地において線維芽細胞の培養におけるATPの量を測定し、下記培地と比較した。

- 様々な濃度のシトルリル-L-アルギニンを添加した培地
- 様々な濃度のATPを添加した培地
- 様々な濃度のシトルリル-L-アルギニンおよびATPを添加した培地

#### 【0052】

この試験の狙いは、普通のヒトのケラチノサイトによるATP合成に対する、ATPジナトリウム塩と結合または非結合の本混合物の活性化効果を評価することである。

#### 【0053】

##### 2. 方法

##### 細胞培養

この試験は、6ウェルプレートにおいて「 $10^5$ 細胞／ウェル」の密度で播種された普通のヒトのケラチノサイトの生体外培養に関して行われた。

#### 【0054】

##### L-シトルリル-L-アルギニン

この試験において適用できる濃度を定めるために、前もって細胞生存率テストを普通のヒトのケラチノサイトについて行った。

#### 【0055】

L-シトルリル-L-アルギニンを水に溶解し、最終濃度を0.1%に固定した。

#### 【0056】

$10^{-4}\%$ ～ $10^{-2}\%$ のL-シトルリル-L-アルギニンの6つの希釈物を、細胞と24時間および48時間接触させた。対照実験として「水」条件の培養を実施した。

#### 【0057】

試験では、L-シトルリル-L-アルギニンは、48時間の接触後、細胞生存率を80%より高い最高レベルに維持できた2つの濃度、すなわち、0.0001%および0.01%においてテストすることにした。

#### 【0058】

10

20

30

40

50



## U V B 照射

6 ウェルプレートにおいて「 $10^5$  細胞/ウェル」の密度で播種したケラチノサイトを標準培地 (E p i l i f e S i g m a) で 48 時間培養した。照射前に培養培地を取り除き、細胞を P B S 緩衝液ですすぎ、その 1 m l は照射用細胞と接触したまま残された。このケラチノサイトに、 $20 \text{ mJ} / \text{cm}^2$  の U V B 照射 (312 nm) を実施した。並行実験として同一の非照射条件の培養を実施した。

## 【0059】

照射 (および非照射並行実験) 後、P B S を除去し、細胞を下記のような種々の条件下に置いた。

培地中に水を用いた対照実験

10

培地中に 0.001% L-シトルリル-L-アルギニンを用いた条件

培地中に 0.01% L-シトルリル-L-アルギニンを用いた条件

## 【0060】

各条件は 3 回ずつ実施された。

## 【0061】

照射後細胞に 24 時間または 48 時間接触させた後、前記条件の培養上澄み液を回収した。100  $\mu$  l の上澄み液に含まれる、ケラチノサイトにより分泌されたエンドセリン-1 の量を、E L I S A 技法 (英国、アビングドンの R & D S y s t e m s 社) により測定した。エンドセリン-1 のレベルは合成したヒトのエンドセリン-1 を用いて作られた標準曲線により計算した。結果は、たんぱく質濃度当たりのエンドセリン-1 の量を p g を単位として表示した (p g [エンドセリン-1] / m g [たんぱく質])。

20

## 【0062】

## 3. 結果

テストした最低濃度 (0.0001%) の L-シトルリル-L-アルギニンを 24 時間適用した実験では、「水」対照条件と比べて、ケラチノサイト (非照射条件) によるエンドセリン-1 の基礎的分泌量が 20% 増加した。より高い濃度 (0.01%) では、この活性化効果は 70% とはるかに顕著であった。

## 【0063】

U V B 照射により、「水」対照条件下でのケラチノサイトによるエンドセリン-1 の分泌量が 50% 増加する結果となった。0.0001% の L-シトルリル-L-アルギニンと 24 時間接触させたものは、照射した「水」対照実験と比べてエンドセリン-1 の分泌量が 6% 増加した。濃度 0.001% では、L-シトルリル-L-アルギニンの活性化効果は実に 28% 増大した。

30

## 【0064】

テストした最低濃度 (0.0001%) の L-シトルリル-L-アルギニンを 48 時間適用した実験では、「水」対照条件と比べて、ケラチノサイト (非照射条件) によるエンドセリン-1 の基礎的分泌量が 26% 増加した。より高い濃度 (0.01%) では、この活性化効果は 82% とはるかに顕著であった。

## 【0065】

U V B 照射により、「水」対照条件下でのケラチノサイトによるエンドセリン-1 の分泌量が 40% 増加する結果となった。0.0001% の L-シトルリル-L-アルギニンと 48 時間接触させた実験では、照射した「水」対照実験に比べてエンドセリン-1 の分泌量が 4% 増加した。濃度 0.01% では、L-シトルリル-L-アルギニンの活性化効果は実に 63% 増大した。

40

## 【0066】

## 4. 結論

上記の実験条件下で、選ばれた希釈物および培養時間について、次の事実が認められた。

## 【0067】

L-シトルリル-L-アルギニンは、0.01% の濃度で、普通のヒトのケラチノサイ

50

トにおけるエンドセリンー１の分泌量に対してかなりの活性化効果があった。

【００６８】

０．０１％のＡＴＰが存在すると、活性化効果は２０％向上した。これは明らかにＡＴＰ分子とＬ－シトルリル－Ｌ－アルギニン・ペプチドとの間の相乗効果と考えられる。

【００６９】

ＡＴＰ単独でも同じ試験を実施したが、エンドセリンー１の合成にいかなる効果もみられなかった。

【００７０】

試験Ｎｏ．２

普通のヒト線維芽細胞の成長に対するＡＴＰとジペプチドの併用効果を試験した。

10

【００７１】

試験した製品は下記の通りである。

ジナトリウム塩の形を有するＡＴＰ

β－アラニル－Ｌ－ヒスチジン（カルノシン）

シトルリル－アルギニン（exsy al g i n e）

【００７２】

１．本試験の目的

この試験の目的は、ヒト線維芽細胞の永久増殖系、HaCaT細胞の成長に対する、培養培地に添加されたＡＴＰとペプチド類との併用効果を評価することである。

【００７３】

20

この試験では、二種のペプチド、すなわち、β－アラニル－Ｌ－ヒスチジン（Dragoco）およびＬ－シトルリル－Ｌ－アルギニン（Exsymol）をＡＴＰと同時に使用した。

【００７４】

この試験は、２または１０％のうし胎仔血清（SVF）の存在下で、HaCaT細胞の標準培養培地DMEM（Sigma社）における培養について行われた。

【００７５】

２．技法

HaCaT細胞を標準培地（DMEM＋１０％SVF）で９６ウェルプレートに低密度で播種し、その後２４時間成長させた。

30

【００７６】

二日目に、これらの細胞を種々の条件下に置いた。

【００７７】

予備的な細胞毒性試験の後で、ＡＴＰ、β－アラニル－Ｌ－ヒスチジン（カルノシン）、Ｌ－シトルリル－Ｌ－アルギニン（exsy al g i n e）に関するテスト濃度が決定された。

【００７８】

次のような条件が用意された。

- ・ 対照条件：培養培地単独＋SVF
- ・ ０．５％のβ－アラニル－Ｌ－ヒスチジンのみからなる条件
- ・ ０．５％のＬ－シトルリル－Ｌ－アルギニンからなる条件
- ・ １μg／mlのＡＴＰのみからなる条件
- ・ ＡＴＰ（１μg／ml）＋β－アラニル－Ｌ－ヒスチジン（０．５％）からなる条件
- ・ ＡＴＰ（１μg／ml）＋Ｌ－シトルリル－Ｌ－アルギニン（０．５％）からなる条件
- ・ ＡＴＰ（１μg／ml）＋β－アラニル－Ｌ－ヒスチジン（０．５％）＋Ｌ－シトルリル－Ｌ－アルギニン（０．５％）からなる条件

40

【００７９】

これら種々の条件は、２％SVFを含むDMEMおよび１０％SVFを含むDMEMの両方において準備された。

50

## 【0080】

各条件は3回ずつ実施された。これらの培地は、実験の途中で新しいものと入れ替えられることはない。

## 【0081】

細胞密度は、細胞の播種24時間後、細胞が種々の試験条件に接触する前に測定された(=T0)。HaCaT細胞の成長は、WST-1変換方法(450nmで読み取る)により培養の2日目、5日目および7日目に測定された。

## 【0082】

## 3. 結果

細胞成長は、実験の各時点における細胞生存率の測定により検証された。実験結果からT0における初期細胞密度に対する細胞生存率を、T0での細胞密度を100%として計算した。実験の各時点に関して、細胞成長に対する種々の生成物の作用を同じ時点における未処理対照実験との比較により分析した。

10

## 【0083】

> 培養の2日後、対照実験において、T0対照値に対する細胞生存率の成長の持続が失われたことが観察された。これは成長因子枯渇培地(2%SVF)への切り替えにより説明される。

## 【0084】

・ 0.5%濃度のβアラニル-L-ヒスチジンのみを添加すると、細胞成長を大いに刺激した(未処理対照実験に比べて+22%)。濃度0.1%では成長に対する効果は認められなかった。

20

## 【0085】

・ ATPのみの添加では、細胞生存率を実質的に低下させた。

## 【0086】

・ テストした2つの濃度において、βアラニル-L-ヒスチジンへATPを添加すると、細胞生存率に対するATPの妨害効果を打ち消し、βアラニル-L-ヒスチジンのみを用いて得られたレベルを超えて細胞生存率を高めた。

## 【0087】

・ 濃度0.1%および0.5%のL-シトルリル-L-アルギニンのみを添加したものは、未処理対照実験に比べて細胞成長を高めなかった(+5%)。

30

## 【0088】

> 培養の5日後、培養が成長因子枯渇培地中で継続されているために、T0に対する細胞生存率がわずかに低下した。

## 【0089】

・ 濃度0.5%のβアラニル-L-ヒスチジンの細胞成長に対する促進効果(+12%)が再度認められた。

## 【0090】

・ ATPのみを添加すると細胞生存率を実質的に低下させたが、この効果は0.5%のβアラニル-L-ヒスチジンを添加すると消失した。

## 【0091】

・ L-シトルリル-L-アルギニンのみでは、いかなる濃度で使用しても、細胞成長を高めることはなかった。

40

## 【0092】

## 4. 結論

上の実験条件下およびテストした濃度において、ATPのみの添加では、2~5日接触後の普通のヒト線維芽細胞の生存率を実質的に低下させた(-5~-10%)ようである。

## 【0093】

ATPとβアラニル-L-ヒスチジンとの併用は、細胞生存率に対するATPの妨害効果を打ち消し、0.5%の濃度で細胞成長に対して促進効果を発揮するβアラニル-

50

L-ヒスチジンのみを用いて得られたレベルを超えて細胞生存率を高めた。

【0094】

ATPとL-シトルリル-L-アルギニンとの併用は、いかなる濃度を用いても、細胞成長に対して促進効果を発揮しなかった。

【0095】

試験No. 3

1. 細胞培養

普通のヒトのメラノサイト (MHNS) の培養物は、包茎を患っている幼児および新生児の包皮から作られた。皮膚断片から得られたメラノサイトは、MCDB153培地 (米国ミズーリ州セントルイス、Sigma社) 中に置かれ、 $30 \mu\text{g}/\text{ml}$  のうし脳下垂体抽出物 (BPE) (英国、ペイズリー、Life Technologies社)、2% のうし胎仔血清 (SVF) (フランス、ブリュマツト、Dominique Dutsc her社)、 $16 \text{ nM}$  のホルボール-12-ミリステート-13-アセテート (Sigma社)、 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$  のインスリンおよび  $1.1 \mu\text{M}$  のヒドロコルチゾン (Sigma社) が補充された。培養物は、5% の  $\text{CO}_2$  を含む雰囲気中、 $37^\circ\text{C}$  で恒温器に置かれた。2~3週後にメラノサイトの純粋培養物が得られた。

【0096】

2. 接触時間、細胞の照射およびスライドの作成

テストしたすべての組成物は、許容された最高濃度においてDMSOに可溶であった。ケラチノサイトのサブトキシック濃度を決めるために予備的試験を行った。DMSOの最終濃度は常に2%未満であった。

【0097】

メラノサイトを製品と $37^\circ\text{C}$ で30分間接触させ、次いでUVA放射線をこの細胞に照射した。UVA放射線は、Bio-Sun UV照射装置 (Vilbert Lourmat社、マルヌ・ラ・バレ) により作られた。この装置は、 $312 \text{ nm}$  および/または  $365 \text{ nm}$  の波長を発する単色ランプを備えている。このランプの放出エネルギーは、RMN-365/312放射線計により計算された。放出されたエネルギーは、UVA領域について  $0.8 \text{ J}/\text{cm}^2$  であった。露光後すぐに「コメット」検定が行われた。これらの実験には2つの型の対照実験が含まれている。

負の対照実験：処置されないがUVA放射線を照射されないメラノサイト；テストした組成物を用いて30分間処置されるが照射されないメラノサイト。

正の対照実験：処置されないが照射されるメラノサイト。

【0098】

トリプシン/EDTA混合物 (0.05%/0.02%) を用いて2~3分間処理後、培養物を遠心分離により回収し、 $\text{Ca}^{++}$  および  $\text{Mg}^{++}$  を含まないPBS緩衝液 (Sigma社) に入れた。第2の遠心分離の後、細胞 ( $4.5 \sim 5.0 \times 10^4$  細胞) を0.5%低融点 (LMP) アガロース (Sigma社) に懸濁させた。この混合物を、アガロース (1.6%) の予備層で被覆し、室温で一晩乾燥し、次いで、第2のアガロース (0.8%) 層で予備被覆したばかりの顕微鏡スライドの上に直接付着させた。

【0099】

3. コメット検定 (乾燥スライド技法) および酵素処理

コメット検定の試験手順は、「乾燥スライド」技法 [2] を組み込んだDe Meo等 [1] の方法によった。照射後、スライドを溶解槽 ( $2.5 \text{ M}$  の  $\text{NaCl}$ 、 $100 \text{ mM}$  の  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ 、 $10 \text{ mM}$  の  $\text{Tris-HCl}$ 、 $\text{pH} 10$ 、1% のサルコシン  $\text{Na}$ 、1% の  $\text{Triton X-100}$  および10% の  $\text{DMSO}$ ) に入れた。細胞溶解は、 $4^\circ\text{C}$  で60分間行い、続いて強アルカリ性溶液 ( $1 \text{ mM}$   $\text{Na}_2\text{EDTA}$  および  $300 \text{ mM}$  の  $\text{NaOH}$ 、 $\text{pH} > 13.0$ ) 中で室温で20分間DNAを変性した。20分間の電気泳動 ( $25 \text{ V}$ 、 $300 \text{ mA}$ ) の後、これらのスライドを  $\text{Tris-HCl}$  緩衝液 ( $0.4 \text{ M}$ 、 $\text{pH} 7.4$ ) で中和し、無水エタノールまたはメタノール中で脱水した。

【0100】

#### 4. 顕微鏡観察および画像解析

これらのスライドを臭化エチジウム溶液 ( $2 \mu\text{g}/\text{ml}$  を  $75 \mu\text{l}$ ) で染色し、20 B G-Wダイクロイックフィルター (励起:  $515-560 \text{ nm}$ ; 放射:  $590 \text{ nm}$ ) および Apo D-Plan 20x 対物レンズを備えた BH2-RFL 蛍光顕微鏡 (日本、オリンパス社) を用いて観察した。画像解析は、Matrox IP-8 データ収集用ボードに接続した高感度単色 CCD カメラ (Cohu 4912-5000) を用いて行った。組立体全体は、Fenestra Komet Software (英国、リバプール、Kinetic Imaging 社、バージョン 3.1) により制御した。

##### 【0101】

一試料あたり全部で 100 細胞 (50 細胞/スライド) が解析された。用いたパラメータは、「コメット」の尾部に存在する DNA の百分率として定義される「尾部 DNA」である。実験の各系列ごとに負の対照実験 (非照射細胞) および正の対照実験 (テストされた組成物で処理しない照射細胞) を行った。

##### 【0102】

#### 5. 統計解析

$\chi^2$  関数に基づく非線形回帰が、各試料の TM (尾部モーメント) 分布度数から直接計算される。具体的には、パウアー等 [3] が、これらの分布は  $\chi^2$  関数に従うことを最近証明した。この方法は、 $\chi^2$  法則による分布の解析に基づいている。

##### 【0103】

関数の自由度を表す因子  $n$  ( $\chi^2$  TM と呼ばれる) は、損傷度 (平均 TM) と直接関連する。因子  $n$  は、2 (無傷の細胞) から 15 (極端に損傷した細胞、ガウス分布度数を有する) まで変わる。

##### 【0104】

自由度 ( $n$ ) は、DNA 損傷の指標として使うことができる。分布度数は、Excel 97 作表ソフト (マイクロソフト社) を用いて計算され、非線形回帰は Table Curve 2D ソフトウェア (Jandel Scientific 社、バージョン 5.0) を用いて計算された。

##### 【0105】

#### 6. 引用文献

##### 【表 1】

#### 6. References

[1] De Méo M, M. Laget M, Castegnaro M, Duménil G. Genotoxic activity of potassium permanganate acidic sodium. Mutation Res. 1991; 260; 295-306.

[2] Klaude M, Ericksson S, Nygren J, Annstrom G. The comet assay: mechanism and technical consideration. Mutation Res. 1996; 363; 89-96.

[3] Bauer E, Recknagel RD, Fiedler U, Wollweber L, Bock C, Greulich K.O. The distribution of the tail moments in single cell electrophoresis (comet assay) obeys a chi-square ( $\chi^2$ ) not a gaussian distribution. Mutation Res. 1998; 398: 101-110.

10

20

30

40

50

- [1] ド・メオ M、ラゲット M、カステニャーロ M、デュメニル G、  
「過マンガン酸カリウム酸性ナトリウムの遺伝毒性活性」  
ムテーション・リサーチ (Mutation Res.)、1991年、260号  
、  
p. 295-306
- [2] クロード M、エリックソン S、ナイグレン J、アンストローム G、  
「コメット検定：メカニズムおよび技術的考察」  
ムテーション・リサーチ (Mutation Res.)、1996年、363号  
、  
p. 89-96
- [3] バウアー E、レックナーゲル RD、フィードラー U、ボルウエーバー L、  
ボック C、グルーリッヒ K. O.  
「単一細胞電気泳動における尾部モーメントの分布（コメット検定）は、ガウス分  
布ではなく  $\chi^2$  に従う」  
ムテーション・リサーチ (Mutation Res.)、1998年、398号  
、  
p. 101-110

10

## 【0106】

## 7. テストされた組成物による保護度

下表のような結果が得られた。

20

| 組成物                             | OTM- $\chi^2$ | 保護度 (%)     |    |
|---------------------------------|---------------|-------------|----|
| NI                              | 2.08 ± 0.02   | —           |    |
| NI + ATP (4 mM)                 | 2.08 ± 0.02   | —           |    |
| NI + Citru (4 mM)               | 2.06 ± 0.02   | —           |    |
| NI + ATP (4 mM) + Citru (4 mM)  | 2.07 ± 0.02   | —           |    |
| UVA                             | 9.16 ± 0.32   | 0.00 %      |    |
| UVA + ATP (4 mM)                | 6.31 ± 0.38   | 14.6 % (NS) |    |
| UVA + Citru (4 mM)              | 2.22 ± 0.20   | 67.7 %      |    |
| UVA + ATP (4 mM) + Citru (4 mM) | 2.11 ± 0.04   | 99.6 %      | 30 |

OTM- $\chi^2$  = 尾部モーメント、 $\chi^2$  : OTMの正規化された度数分布の非線形回帰により計算された関数の自由度。すべての場合におけるモデルの確率は、 $P < 0.001$ である。

## 【0107】

NI : 非照射メラノサイト。

NI + ATP : ATP (4 mM) で30分間予備処理された非照射メラノサイト。

NI + Citru : シトルリルアルギニン (4 mM) で30分間予備処理された非照射メラノサイト。

UVA : UVA放射線 (0.8 J/cm<sup>2</sup>) で照射されたメラノサイト。

40

UVA + ATP : UVA放射線 (0.8 J/cm<sup>2</sup>) で照射され、ATP (4 mM) で30分間予備処理されたメラノサイト。

UVA + Citru : UVA放射線 (0.8 J/cm<sup>2</sup>) で照射され、シトルリルアルギニン (4 mM) で30分間予備処理されたメラノサイト。

NS : UVA + Citru と UVA + ATP との間で有意の差はなかった。

## 【0108】

シトルリルアルギニンによる保護度は、ATPによる保護度よりもはるかに大きかった。ATP分子とペプチドとの間の相乗作用は非常に明確であった。

## 【0109】

以下の実施例は本発明を説明しており、本発明の範囲を制限するものではない。

50

## 【実施例】

## 【0110】

## 実施例1：しわ防止クリーム

|                             |            |    |
|-----------------------------|------------|----|
| ステアリン酸スクロース                 | 0.5～6%     |    |
| ジステアリン酸スクロース                | 0.5～6%     |    |
| ATPジナトリウム塩                  | 0.01～0.05% |    |
| ジグアノシン四リン酸 (Gp4G)           | 0.5～1%     |    |
| トリ (カプリル酸／カプリン酸) グリセリル      | 3～15%      |    |
| トリ (カプリル酸／カプリン酸／コハク酸) グリセリル | 3～15%      | 10 |
| セラミデス3                      | 0.05～1%    |    |
| パルミチン酸アスコルビル                | 0.01～0.1%  |    |
| 酢酸トコフェリル                    | 0.05～1%    |    |
| 尿素                          | 0.5～2%     |    |
| 塩化カルシウム                     | 0.05～0.5%  |    |
| 塩化マグネシウム                    | 0.05～0.5%  |    |
| β-アラニル-L-ヒスチジン (カルノシン)      | 0.5～1%     |    |
| Gly-His-Lys (ペプチド粉末)        | 10～5ppm    |    |
| セリン                         | 0.2～2%     |    |
| グリセロール                      | 0.5～3%     | 20 |
| クエン酸                        | 0.1～0.5%   |    |
| クエン酸3ナトリウム                  | 0.5～1.5%   |    |
| パルミチン酸ビタミンA                 | 0.1～0.5%   |    |
| リン脂質                        | 0.1～0.4%   |    |
| スーパーオキシドジスルターゼ              | 0.5～2%     |    |
| ヒアルロン酸ナトリウム                 | 0.5～3%     |    |
| ソルビン酸カリウム                   | 0.2～0.5%   |    |
| スクレロチウムガム                   | 0.1～0.5%   |    |
| キサントガム                      | 0.1～0.5%   |    |
| 水                           | 全体で100%    | 30 |
| 香料                          | 適量         |    |
| 保存剤                         | 適量         |    |

## 【0111】

## 実施例2：肌に潤いを与える乳剤

|                        |         |    |
|------------------------|---------|----|
| ジグアノシン四リン酸 (Gp4G)      | 0.5～1%  |    |
| リン脂質                   | 3%      |    |
| セラミド3                  | 0.1%    |    |
| パルミチン酸ビタミンA            | 0.15%   |    |
| ステアレス-20               | 0.2%    | 40 |
| ステアレス-2                | 1～3%    |    |
| メチルパラベン (パラオキシ安息香酸メチル) | 0.25%   |    |
| 塩化カルシウム                | 0.01%   |    |
| 塩化マグネシウム               | 0.01%   |    |
| 水                      | 全体で100% |    |
| セトステアリルアルコール           | 2～4%    |    |
| ミリスチン酸ミリスチル            | 2～4%    |    |
| ミリスチン酸イソプロピル           | 4%      |    |
| グリセロール                 | 1%      |    |
| L-シトルリル-L-アルギニン        | 0.1～2%  | 50 |

|            |       |
|------------|-------|
| ジメチコン      | 0.5%  |
| ラノリン族アルコール | 0.5%  |
| プロピルパラベン   | 0.25% |

## 【0112】

実施例3：肌に潤いを与えるクリーム

|                                                                  |            |    |
|------------------------------------------------------------------|------------|----|
| A T P ジ ナ ト リ ウ ム 塩                                              | 0.01～0.05% |    |
| オレイン酸ソルビタン                                                       | 3.5%       |    |
| ポリソルベート80                                                        | 2～4%       |    |
| コムギの麦芽油                                                          | 3%         | 10 |
| スイート・アーモンド油                                                      | 5%         |    |
| ミリスチン酸イソプロピル                                                     | 12%        |    |
| リン脂質                                                             | 0.5%       |    |
| セラミド3                                                            | 0.1%       |    |
| ポリアクリルアミド & C <sub>14</sub> -C <sub>13</sub> イソパラフィン &<br>ラウレスー7 | 2～3.5%     |    |
| パルミチン酸ビタミンA                                                      | 0.1%       |    |
| トコフェロール                                                          | 0.05%      |    |
| ナトリウムPCA                                                         | 0.5%       |    |
| ジグアノシン四リン酸 (Gp4G)                                                | 0.5～1%     | 20 |
| ヒアルロン酸ナトリウム                                                      | 0.1%       |    |
| 水                                                                | 全体で100%    |    |
| L-シトルリル-L-アルギニン                                                  | 0.1～2%     |    |
| 保存剤                                                              | 適量         |    |
| 香料                                                               | 適量         |    |

## 【0113】

実施例4：日焼け保護クリーム

|                                                               |            |    |
|---------------------------------------------------------------|------------|----|
| A T P ジ ナ ト リ ウ ム 塩                                           | 0.01～0.05% |    |
| メトキシ桂皮酸オクチル<br>(Neo Helio pan AV)                             | 6.00%      | 30 |
| ブチルメトキシジベンゾイルメタン<br>(Parsol 1789)                             | 3.00%      |    |
| オクチルトリアゾン<br>(Uvinul T150)                                    | 2.00%      |    |
| 酒石酸ジ(C <sub>12</sub> -C <sub>13</sub> )アルキル<br>(Cosmacol ETI) | 8.00%      |    |
| セチルアルコール                                                      | 0.50%      |    |
| ジメチコン                                                         | 0.50%      |    |
| ココ・カプリレート／カプレート                                               | 8.00%      | 40 |
| PVP／エイコセン・コポリマー                                               | 2.00%      |    |
| セチルリン酸カリウム                                                    | 2.00%      |    |
| メチルおよびプロピル・パラベン                                               | 0.25%      |    |
| EDTA二ナトリウム                                                    | 0.10%      |    |
| BHT                                                           | 0.05%      |    |
| カルボマー                                                         | 10.00%     |    |
| ジグアノシン四リン酸 (Gp4G)                                             | 0.5～1%     |    |
| アラニル-L-ヒスチジン (カルノシン)                                          | 0.8～1%     |    |
| プロピレングリコール                                                    | 5.00%      |    |
| 水酸化カリウム                                                       | 4.05%      | 50 |



|                                                 |                |    |
|-------------------------------------------------|----------------|----|
| フェニルベンズイミダゾールスルホン酸<br>(Eusolex 232)             | 2.00%          |    |
| 酢酸トコフェリル                                        | 2.50%          |    |
| パンテオール                                          | 1.00%          |    |
| MSH (Ala-His-Lys-Phe-Tyr)<br>%                  | 0.0001~0.00001 |    |
| フォトリアーゼ                                         | 0.1%           |    |
| 水                                               | 全体で100%        |    |
| 香料                                              | 適量             |    |
| 【0114】                                          |                | 10 |
| 実施例5：光保護および回復サンククリーム                            |                |    |
| ATP二ナトリウム塩                                      | 0.01~0.05%     |    |
| エトキシジグリコールおよびキュウリ                               | 8.00%          |    |
| 酒石酸ジ(C <sub>12-13</sub> )アルキル<br>(Cosmacol ETI) | 5.00%          |    |
| メトキシ桂皮酸オクチル<br>(Parsol MCX)                     | 5.00%          |    |
| ブチルメトキシジベンゾイルメタン<br>(Parsol 1789)               | 2.00%          | 20 |
| ジメチコン・トリメチルシロキシケイ酸                              | 3.00%          |    |
| 酢酸トコフェリル                                        | 0.20%          |    |
| ジステアリン酸スクロース                                    | 5.00%          |    |
| ヘキシレングリコール                                      | 5.00%          |    |
| ブチル、メチル、プロピル・パラベン＋<br>フェノキシエタノール                | 0.40%          |    |
| L-シトルリル-L-アルギニン                                 | 0.1~2%         |    |
| 水                                               | 全体で100%        |    |
| ジグアノシン四リン酸(Gp4G)                                | 1~1.5%         |    |
| MSH (Ala-His-Lys-Phe-Tyr)<br>%                  | 0.0001~0.00001 | 30 |
| エンドヌクレアーゼ                                       | 0.2%           |    |
| アラニル-L-ヒスチジン(カルノシン)                             | 0.5~1%         |    |
| 香料                                              | 適量             |    |
| 【0115】                                          |                |    |
| 実施例6：鎮静用光回復乳液                                   |                |    |
| 鉱油                                              | 2.00%          |    |
| ジグアノシン四リン酸(Gp4G)                                | 0.5~1%         |    |
| 酒石酸ジ(C <sub>12-13</sub> )アルキル<br>(Cosmacol ETI) | 4.00%          | 40 |
| ステアリン酸オクチル                                      | 3.00%          |    |
| メトキシ桂皮酸オクチル<br>(Parsol MCX)                     | 5.00%          |    |
| ブチルメトキシジベンゾイルメタン<br>(Parsol 1789)               | 1.00%          |    |
| ジイソステアリン酸ポリグリセリル-3                              | 4.00%          |    |
| ラウリン酸グリセリルPEG-20                                | 1.00%          |    |
| カーボマー                                           | 0.4%           |    |
| プロピレングリコール                                      | 2.00%          | 50 |

|                                             |         |    |
|---------------------------------------------|---------|----|
| 保存剤                                         | 0.50%   |    |
| キサンタンガム                                     | 0.30%   |    |
| トリエタノールアミン                                  | 0.85%   |    |
| フェニルベンズイミダゾールスルホン酸<br>(Neo Helioopen Hydro) | 2.5%    |    |
| アセチルチロシン                                    | 2.00%   |    |
| アラニル-L-ヒスチジン (カルノシン)                        | 0.5~1%  |    |
| Gly-His-Lys (ペプチド粉末)                        | 10~5ppm |    |
| 水                                           | 全体で100% |    |
| 香料                                          | 適量      | 10 |

## 【0116】

実施例7：低感受性顔面クリーム

|                                                              |            |    |
|--------------------------------------------------------------|------------|----|
| トリ (カプリル酸／カプリン酸／コハク酸) グリセリル                                  | 1~10%      |    |
| パルミチン酸アスコルビル                                                 | 0.01~0.1%  |    |
| ステアリン酸グリセリル                                                  | 1~5%       |    |
| ステアリン酸                                                       | 1~5%       |    |
| 酢酸トコフェロール                                                    | 0.1~1%     |    |
| トリ (カプリル酸／カプリン酸) グリセリル                                       | 1~15%      |    |
| ATPジナトリウム塩                                                   | 0.01~0.05% | 20 |
| ピリドキシン                                                       | 0.01~0.05% |    |
| クエン酸                                                         | 0.1~0.5%   |    |
| グルコン酸亜鉛                                                      | 0.1~1%     |    |
| クエン酸三ナトリウム                                                   | 1~2.5%     |    |
| L-シトルリル-L-アルギニン                                              | 0.1~2%     |    |
| ジグアノシン四リン酸 (Gp4G)                                            | 0.5~1%     |    |
| グリセロール                                                       | 1~4%       |    |
| パルミチン酸ビタミンA                                                  | 0.01~1%    |    |
| d-パンテノール                                                     | 0.1~1%     |    |
| ラムノース                                                        | 0.1~1%     | 30 |
| L-フコース                                                       | 0.01~1%    |    |
| ラクトフェリン／ラクトパーオキシダーゼ                                          | 0.01~1%    |    |
| スーパーオキシドジスムターゼ                                               | 0.01~1%    |    |
| ポリアクリルアミド／C <sub>13</sub> - <sub>14</sub> イソパラフィン<br>／ラウレスー7 | 0.2~1%     |    |
| 水                                                            | 全体で100%    |    |

## 【0117】

実施例8：鎮静用ボディ乳液

|              |            |    |
|--------------|------------|----|
| アクリル酸ポリマー    | 0.1~1.5%   | 40 |
| グリシルレチン酸     | 0.1~1%     |    |
| トリエタノールアミン   | 0.1~2%     |    |
| ブチレングリコール    | 0.5~4%     |    |
| ATPジナトリウム塩   | 0.01~0.05% |    |
| パルミチン酸アスコルビル | 0.01~0.1%  |    |
| 酢酸トコフェロール    | 0.1~1%     |    |
| ピリドキシン       | 0.01~0.05% |    |
| クエン酸         | 0.1~0.5%   |    |
| グルコン酸亜鉛      | 0.1~1%     |    |
| クエン酸三ナトリウム   | 1~2.5%     | 50 |

|                           |           |    |
|---------------------------|-----------|----|
| L-アルギニン                   | 0.1～2%    |    |
| パルミチン酸ビタミンA               | 0.01～1%   |    |
| d-パンテノール                  | 0.1～1%    |    |
| L-フコース                    | 0.1～1%    |    |
| ラクトフェリン／ラクトペルオキシダーゼ       | 0.01～1%   |    |
| アラニル-L-ヒスチジン（カルノシン）       | 0.5～1%    |    |
| R-G l y-G l n-P r o-A r g | 15～20 ppm |    |
| スーパーオキシドジスムターゼ            | 0.01～1%   |    |
| ソルビン酸カリウム                 | 0.1～0.6%  |    |
| 保存剤                       | 適量        | 10 |
| 水                         | 全体で100%   |    |

## 【0118】

実施例9：脂ぎった皮膚を和らげるクリーム

|                           |            |    |
|---------------------------|------------|----|
| プロピレングリコール                | 1～8%       |    |
| モノラウリン酸ソルビタン              | 0.5～5%     |    |
| ジメチコンコポリオール               | 0.1～5%     |    |
| サリチル酸                     | 0.01～0.5%  |    |
| EDTAジナトリウム                | 0.05～0.5%  |    |
| ジグアノシン四リン酸（Gp4G）          | 0.5～1%     | 20 |
| ATPジナトリウム塩                | 0.01～0.05% |    |
| グルコン酸亜鉛                   | 0.01～1%    |    |
| パルミチン酸アスコルビル              | 0.01～0.1%  |    |
| 酢酸トコフェロール                 | 0.1～1%     |    |
| ピリドキシン                    | 0.01～0.05% |    |
| クエン酸                      | 0.1～0.5%   |    |
| 塩化ナトリウム                   | 0.1～1.5%   |    |
| クエン酸三ナトリウム                | 1～2.5%     |    |
| L-アルギニン                   | 0.1～2%     |    |
| パルミチン酸ビタミンA               | 0.01～1%    | 30 |
| d-パンテノール                  | 0.1～1%     |    |
| ラムノース                     | 0.1～1%     |    |
| L-フコース                    | 0.01～1%    |    |
| ラクトフェリン／ラクトペルオキシダーゼ       | 0.01～1%    |    |
| G l y-H i s-L y s（ペプチド粉末） | 10～5 ppm   |    |
| スーパーオキシドジスムターゼ            | 0.01～1%    |    |
| 保存剤                       | 適量         |    |
| 水                         | 全体で100%    |    |

## 【0119】

実施例10：メーキャップ除去ローション

|                            |          |    |
|----------------------------|----------|----|
| ジグアノシン四リン酸（Gp4G）           | 1～2%     |    |
| ATPジナトリウム塩                 | 0.1～0.5% |    |
| クエン酸三ナトリウム                 | 1～2.5%   |    |
| グリセロール                     | 0.5～3%   |    |
| ヘキシレングリコール                 | 4～5%     |    |
| d-パンテノール                   | 0.1～1%   |    |
| アラニル-L-ヒスチジン（カルノシン）        | 0.5～1%   |    |
| 保存剤（メチルパラベンおよびフェノキシ・エタノール） | 適量       |    |
| 水                          | 全体で100%  | 50 |

## 【0120】

配列の記載

配列番号1 H-Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> (11A)

配列番号2 H-Tyr-Pro-Ser-Lys-Pro-Asp-Asn-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Pro-Ala-Glu-Asp-Met-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH<sub>2</sub> (36AA)

配列番号3 H-Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH (14AA) 10

配列番号4 pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH (13AA)

配列番号5 H-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Thr-Cys-Val-Thr-His-Arg-Leu-Ala-Gly-Leu-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Val-Val-Lys-Asn-Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH<sub>2</sub> (37AA)

配列番号6 H-Ala-Cys-Asp-Thr-Ala-Thr-Cys-Val-Thr-His-Arg-Leu-Ala-Gly-Leu-Leu-Ser-Arg-Ser-Gly-Gly-Met-Val-Lys-Ser-Asn-Phe-Val-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Lys-Ala-Phe-NH<sub>2</sub> (37AA) 20

配列番号7 H-Val-Pro-Leu-Pro-Ala-Gly-Gly-Gly-Thr-Val-Leu-Thr-Lys-Met-Tyr-Pro-Arg-Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH<sub>2</sub> (27AA)

配列番号8 H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH (9AA)

配列番号9 H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu-OH (31AA) 30

配列番号10 H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (5AA)

配列番号11 H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH (5AA)

配列番号12 Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (13AA)

配列番号13 H-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Val-Lys-Val-Tyr-Pro-Asn-Gly-Ala-Glu-Asp-Glu-Ser-Ala-Glu-Ala-Phe-Pro-Leu-Glu-Phe-OH (39AA) 40

配列番号14 H-Ser-Arg-Thr-His-Arg-His-Ser-Met-Glu-Ile-Arg-Thr-Pro-Asp-Ile-Asn-Pro-Ala-Trp-Tyr-Ala-Ser-Arg-Gly-Ile-Arg-Pro-Val-Gly-Arg-Phe-NH<sub>2</sub> (31AA)

【配列表】

0004249710000001.app

---

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 02/16873

(32)優先日 平成14年12月30日(2002.12.30)

(33)優先権主張国 フランス(FR)

(31)優先権主張番号 02/16874

(32)優先日 平成14年12月30日(2002.12.30)

(33)優先権主張国 フランス(FR)

(72)発明者 レジニャック、 ジェラルド

フランス国、 9 2 1 6 0 アントニー、 リュ プロスペル ルグート 3 8

審査官 福井 美穂

(56)参考文献 特開平08-325135 (JP, A)  
特開平08-099860 (JP, A)  
特開平02-221213 (JP, A)  
特開平05-170637 (JP, A)  
特開平04-187610 (JP, A)  
特開平06-199626 (JP, A)  
特開平04-334310 (JP, A)  
特開平05-124980 (JP, A)  
特開平11-240817 (JP, A)  
特表平06-506000 (JP, A)  
特表平09-501925 (JP, A)  
特表2000-508530 (JP, A)  
特表2004-517844 (JP, A)  
国際公開第02/049593 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 8、A61Q