

|                          |               |       |
|--------------------------|---------------|-------|
| (51)Int.Cl.              | F I           |       |
| A 6 1 K 36/899 (2006.01) | A 6 1 K 35/78 | U     |
| A 6 1 P 43/00 (2006.01)  | A 6 1 P 43/00 | 1 1 1 |
| A 6 1 P 17/00 (2006.01)  | A 6 1 P 17/00 |       |
| A 6 1 K 8/97 (2006.01)   | A 6 1 K 8/97  |       |
| A 6 1 Q 19/00 (2006.01)  | A 6 1 Q 19/00 |       |

請求項の数1 (全6頁)

|          |                              |          |                           |
|----------|------------------------------|----------|---------------------------|
| (21)出願番号 | 特願2007-278097(P2007-278097)  | (73)特許権者 | 000135324                 |
| (22)出願日  | 平成19年10月25日(2007.10.25)      |          | 株式会社ノエビア                  |
| (65)公開番号 | 特開2009-102284(P2009-102284A) |          | 兵庫県神戸市中央区港島中町 6 丁目 1 3 番  |
| (43)公開日  | 平成21年5月14日(2009.5.14)        |          | 地の 1                      |
| 審査請求日    | 平成22年8月17日(2010.8.17)        | (73)特許権者 | 000119472                 |
|          |                              |          | 一丸ファルコス株式会社               |
|          |                              |          | 岐阜県本巣市浅木 3 1 8 番地 1       |
|          |                              | (72)発明者  | 三舛 祐美                     |
|          |                              |          | 兵庫県神戸市中央区港島中町 6 - 1 3 - 1 |
|          |                              |          | 株式会社ノエビア内                 |
|          |                              | (72)発明者  | 平田 和也                     |
|          |                              |          | 兵庫県神戸市中央区港島中町 6 - 1 3 - 1 |
|          |                              |          | 株式会社ノエビア内                 |
|          |                              | 審査官      | 鈴木 理文                     |
|          |                              |          | 最終頁に続く                    |

(54)【発明の名称】線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤

(57)【特 許 請 求 の 範 囲】

【 請 求 項 1 】

イネ科オガルカヤ属レモングラス( *Cymbopogon citratus* )の水、  
エタノール、 1 , 3 - ブチレングリコール、ジブロピレングリコール、およびグリセリン  
からなる群から選ばれる 1 種又は 2 種以上の溶媒を用いて抽出した抽出物を有効成分とす  
ることを特徴とする表皮角化細胞における線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤(化粧料を  
除く)。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【 0 0 0 1 】

本発明は、天然由来成分を有効成分とする線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤に関する

。

【背景技術】

【 0 0 0 2 】

従来、皮膚科学などの分野では、天然由来成分を用いたさまざまな皮膚細胞における真  
皮および表皮の強化に関する研究がすすめられてきた。しかしながら、その効果は充分満  
足されるものではなく、さらに有効な成分の開発が求められていた。今回着目した線維芽  
細胞増殖因子 - 1 ( F G F - 1 ) は、細胞の増殖・分化に大きな影響を与える物質であり  
、組織の維持・損傷の修復などにおいて極めて重要な役割を果たすことが知られている皮  
膚細胞内の物質である。本発明は、この因子の産生を促進させることによって、真皮およ

び表皮を強化することにある。

【 0 0 0 3 】

線維芽細胞増殖因子（以下 F G F ）は、細胞の増殖および分化を制御する重要な生理活性タンパク質で、現在ヒトで 2 2 種類が同定されている。最近はこちらの F G F の機能解析が進んでおり、様々な細胞に対する細胞増殖、分化活性を有する形態形成因子、組織障害のときに働く組織修復因子、生体の恒常性を維持するための代謝調節因子として働いていることが明らかになっている。このうち F G F - 1 は、酸性線維芽細胞増殖因子として知られており、表皮および真皮の両方に直接働きかける強力な増殖因子である。

【 0 0 0 4 】

天然由来成分による皮膚真皮の線維芽細胞増殖促進効果に関しては、特開平 1 0 - 3 6 2 8 3 号、特開 2 0 0 2 - 6 8 9 3 3 号、特開 2 0 0 5 - 1 0 4 8 8 6 号などで開示されているように多くの研究がなされている。しかしながら、細胞からの線維芽細胞増殖因子自体の産生促進効果に関する研究は少なく、文献もあまり開示されていない。その中で、分子量 5 7 キロダルトンのタンパク質を含有するローヤルゼリーが、線維芽細胞増殖因子（ F G F ）産生促進活性を有することにより、その作用メカニズムによって育毛を促進すること（特許文献 1 参照）が開示されている。

【 0 0 0 5 】

これまで天然由来成分であるイネ科オガルカヤ属植物レモングラスに関して、その利用については、いくつか研究されており、文献も開示されている。レモングラスの葉又は茎、若しくはそれらの混合物の水蒸気蒸留水、又は / 及び、水溶性溶媒を用いて抽出された抽出物に関して、過酸化脂質生成抑制作用、保湿作用、抗菌作用を有し、しかも安全性が高いことが知られており（特許文献 2 参照）、活性酸素消去（ S O D ）作用がある有用な植物として、レモングラスが確認されたこと（特許文献 3 参照）、またレモングラス抽出物において抗炎症剤としての効果を見出したもの（特許文献 4 参照）などが知られている。しかしながら、レモングラス由来の有効成分に関して、細胞からの線維芽細胞増殖因子自体の産生促進効果に関する研究は実施されておらず、レモングラスに F G F - 1 産生促進効果があることについても、これまで知られていなかった。

【 0 0 0 6 】

【特許文献 1】特開 2 0 0 3 - 1 9 2 5 4 1 公報

【特許文献 2】特開平 0 7 - 2 7 7 9 2 0 公報

【特許文献 3】特開 2 0 0 3 - 1 8 3 1 2 0 公報

【特許文献 4】特開 2 0 0 3 - 2 6 1 4 5 4 公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 7 】

本発明は、天然由来成分を有効成分とする優れた線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤を提供することを課題とする。具体的には、イネ科オガルカヤ属植物レモングラスより得られる成分を利用し、上記課題を解消したものである。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 8 】

本発明者らは、天然由来の種々の成分について検討を行った結果、イネ科オガルカヤ属植物レモングラス（C y m b o p o g o n c i t r a t u s）の抽出物に特に優れた線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進作用が存在することを見出し、さらに検討を重ねて本発明を完成させるに至った。すなわち、本発明は、イネ科オガルカヤ属植物レモングラス（C y m b o p o g o n c i t r a t u s）の抽出物を有効成分とする線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤に関する。

【発明の効果】

【 0 0 0 9 】

本発明によれば、イネ科オガルカヤ属植物レモングラス（C y m b o p o g o n c i t r a t u s）の抽出物を有効成分とすることにより、F G F - 1 の産生を促進させるこ

10

20

30

40

50

とによって、真皮および表皮を強化する線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 1 0 】

イネ科オガルカヤ属植物レモングラスは、インド亜大陸原産とされる多年草で、全草にレモンのような芳香を発する精油を含んでおり、レモングラス油として利用されている。また、葉をスープやカレーの芳香付けにも用いる。

【 0 0 1 1 】

本発明では、このレモングラスの全草、主に葉や茎から得られる抽出物を利用するものである。

10

【 0 0 1 2 】

レモングラス抽出物の調製には、レモングラスを生そのまま用いてもよいが、抽出効率を考えると、細切、乾燥、粉碎等の処理を行った後に抽出を行うことが好ましい。抽出は、後述する任意の溶媒を用いて行うことができ、異なる溶媒を用いて抽出された抽出物を2種以上混合して用いてもよい。

【 0 0 1 3 】

抽出方法としては、室温、冷却または加温した状態で、任意の抽出溶媒に所定時間浸漬させて抽出する方法、生の全草を圧搾して抽出物を得る圧搾法等が例示できる。これらの任意の方法を単独で、または2種以上を組み合わせ、抽出を行うことができる。あるいは、超臨界流体や亜臨界流体を用いた抽出方法でも行うことができる。抽出効率を上げるため、攪拌したり抽出溶媒中でホモジナイズしたりしてもよい。

20

【 0 0 1 4 】

なかでも、レモングラス中の生理活性成分を効率よく抽出するためには、溶媒抽出法による抽出が好ましい。溶媒抽出法は、抽出時間や抽出温度の調節が容易であり、たとえば熱変性しやすい成分が含まれている場合でも、適宜対応のできる方法である。

【 0 0 1 5 】

抽出温度としては、5 程度から抽出溶媒の沸点以下の温度とするのが適切である。抽出時間は、抽出溶媒の種類や抽出温度によっても異なるが、1時間～14日間程度とするのが適切である。抽出の際の溶媒との比率は特に限定されるものではないが、全草（乾燥品）1に対し、溶媒0.5～1000質量倍が好ましく、特に抽出操作、効率の点で0.5～100質量倍が好ましい。

30

【 0 0 1 6 】

抽出溶媒としては、水その他、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール等の低級（炭素数1～3）アルコール；1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、グリセリン等の多価（2～3価）アルコール；エチルエーテル、プロピルエーテル等のエーテル類、酢酸ブチル、酢酸エチル等のエステル類；アセトン、エチルメチルケトン等のケトン類などの溶媒を用いることができる。これらは、単独で用いられるほか、任意の2種以上を組み合わせ用いてもよい。生理食塩水、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等を用いてもよい。さらに、水や二酸化炭素、エチレン、プロピレン、エタノール、メタノール、アンモニアなどの1種又は2種以上の超臨界液体や亜臨界液体を用いてもよい。なかでも、レモングラス中の生理活性成分を効率よく抽出するためには、水、低級アルコール、または多価アルコールを用いた抽出が好ましく、特に、水、エタノール、1,3-ブチレングリコール、ジプロピレングリコール、およびグリセリンからなる群から選ばれる1種以上を用いることが好ましい。

40

【 0 0 1 7 】

レモングラス抽出物は、そのままでも使用することができるが、一定期間静置して熟成させて用いてもよいし、濃縮、乾固した物を水や極性溶媒に再度溶解して使用することもできる。あるいは、これらの生理作用を損なわない範囲で、脱色、脱臭、脱塩等の精製処理や、カラムクロマトグラフィー等による分画処理を行った後に用いてもよい。得られた抽出物やその処理物および分画物は、各処理および分画後に凍結乾燥し、用時に溶媒に溶

50

解して用いることもできる。また、リポソーム等のベシクルやマイクロカプセル等に内包させて用いることもできる。

#### 【 0 0 1 8 】

本発明の線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤は、そのまま適用するか、外用剤等に配合して適用することもできる。その配合量は、外用剤等の種類や使用目的によって調整することができる。一般的な配合量としては、効果や安定性などの点から、全量に対して、固形分換算で 0 . 0 0 0 1 ~ 1 0 質量 % が好ましく、より好ましくは 0 . 0 0 1 ~ 5 質量 % である。

#### 【 実施例 】

#### 【 0 0 1 9 】

以下に、本発明の線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤として用いるレモングラス抽出物の調製例、各作用を評価するための試験についてさらに詳細に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらによりなんら限定されるものではない。

#### 【 0 0 2 0 】

< 抽出方法 1 : レモングラス 5 0 % 1 , 3 - ブチレングリコール抽出物 >

イネ科オガルカヤ属植物レモングラスの茎および / または葉を乾燥させて粉碎し、サンプル重量の 1 0 倍量の 5 0 % 1 , 3 - ブチレングリコール水溶液を加えて 5 0 にて 3 日間浸漬し、これをろ過し、植物抽出物を得る。

#### 【 0 0 2 1 】

< 抽出方法 2 : レモングラス熱水抽出物 >

イネ科オガルカヤ属植物レモングラスの茎および / または葉を乾燥させて粉碎し、サンプル 5 グラムに対して 1 0 0 グラム重量 ( 2 0 倍量 ) の精製水を加えてオートクレーブ ( 1 2 0 度、2 0 m i n ) を使って抽出し、温度の高い状態を保って吸引濾過後、凍結乾燥を行って抽出物を得た。

#### 【 0 0 2 2 】

##### 1 . 表皮角化細胞からの F G F - 1 産生促進作用の確認

ヒト表皮角化細胞 ( H a C a T ) を 1 ウェル当り  $2 . 0 \times 10^4$  個となるように 9 6 ウェルマイクロプレートに播種した。播種培地にはダルベッコ改変イーグル培地 ( D M E M ) に 5 重量 % のウシ胎児血清 ( F B S ) を添加したものをを用いた。2 4 時間後、5 % 重量 F B S 添加 D M E M 培地にて各濃度に調整したサンプル ( 抽出方法 1 : レモングラス 5 0 % 1 , 3 - ブチレングリコール抽出物 ) 培養液に交換し、さらに 4 8 時間培養した。K G F の産生量の定量には F G F a c i d i c ( F G F - 1 ) E L I S A , H u m a n ( R & D S y s t e m s 社製 ) キットを使用した。キットはサンドイッチ E L I S A の原理を用いている。最後に発色物質を反応させた後、マイクロプレートリーダーにて 4 5 0 n m の吸光度を測定した。評価ではサンプル培養液の他にネガティブコントロールとして 5 % F B S 添加 D M E M 培地を用いた。P I E R C E 社製 B C A P r o t e i n A s s a y K i t にてタンパク量を測定し単位タンパク量当りのコラーゲン産生量を求めた。評価はネガティブコントロールの単位当り F G F - 1 産生量を 1 0 0 とした時の相対値を求めて行った。結果を表 1 ( 別紙 ) に示す。なお、表中の \* および \*\* は、t 検定における有意確率 P 値に対し、有意確率 5 % 未満 (  $P < 0 . 0 5$  ) を \* 、有意確率 1 % 未満 (  $P < 0 . 0 1$  ) を \*\* で表したものである。

#### 【 0 0 2 3 】

【表 1】

| サンプル濃度<br>v/v% | 単位タンパクあたりのFGF-1<br>産生量相対値(%) | t検定 |
|----------------|------------------------------|-----|
| control        | 100                          | —   |
| 0.25           | 156                          | *   |
| 0.5            | 202                          | *   |
| 1              | 212                          | *   |

## 【 0 0 2 4 】

10

上記結果から、レモングラス抽出物は、低濃度で有意な線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進作用を有することが明らかとなった。これにより、本発明の線維芽細胞増殖因子 - 1 産生促進剤は、皮膚細胞の増殖・分化に大きな影響を与え、真皮および表皮を強化することが可能となる。

## フロントページの続き

(56)参考文献 特開2003-321385(JP,A)

特開平07-277920(JP,A)

Am. J. Pathol., 1996年, Vol.149 No.3, pp.945-952

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 36/899

A61K 8/97

A61P 17/00

A61P 43/00

A61Q 19/00

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamIII)