



## 証明請求書

平成29年 8月31日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

特願平7-346518号

2. 請求人

郵便番号 100-6620  
住所又は居所 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号  
 Grantウキョウサウスタワー  
 特許業務法人志賀国際特許事務所

氏名又は名称 村山 靖彦

3. 証明に係る書類名

公開特許公報 (特開平9-157153)

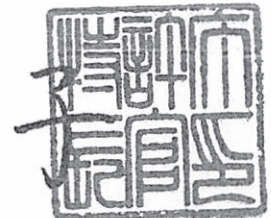
証明に係る書類名に記載した事項について相違ないことを証明してください。

証明に係る書類名について相違ないことを証明します。

平成29年 9月 8日

特許庁長官

宗像直



平成29年出証第600340号

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-157153

(43) 公開日 平成9年(1997)6月17日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K	7/48		A 6 1 K	7/48
	7/00			7/00
				F
				K
				W
	31/70	A E D	31/70	A E D
審査請求 未請求 請求項の数 6 F D (全 8 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平7-346518

(71) 出願人 000135324

株式会社ノエビア

兵庫県神戸市中央区港島中町6丁目13番地の1

(22) 出願日 平成7年(1995)12月11日

(72) 発明者 竹井 増美

滋賀県八日市市岡田町字野上112-1 株式会社ノエビア滋賀中央研究所内

(74) 代理人 竹井 増美

(54) 【発明の名称】 皮膚外用剤

(57) 【要約】

【課題】 相乗的に増強された活性酸素種消去作用を有し、生体内外の酸化ストレスに起因する皮膚の老化や損傷を防止し得る皮膚外用剤を提供する。

【解決手段】 ヒドロキシラジカル消去作用を有するアデノシン及びその誘導体より選んだ1種又は2種以上と、ハマメリタンニン、ハマメリス、ナラ、オオナラ、マロニエ、ワレモコウ、ボタンの抽出物、チオレドキシリン、チオレドキシリンリダクターゼ及びこれらの複合体、胎盤抽出物より選んだ活性酸素種消去剤とを併用して外用剤基剤に配合する。アデノシン誘導体としては、アデノシンーリン酸、アデノシンニリン酸、アデノシン三リン酸、環状アデノシンーリン酸が挙げられる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 アデノシン及びその誘導体より選んだ1種又は2種以上と、ハマメリタンニンとを含有して成る皮膚外用剤。

【請求項2】 アデノシン及びその誘導体より選んだ1種又は2種以上と、ハマメリス (*Hamamelis japonica* Sieb.et Zucc., *Hamamelis obtusata* Makino, *Hamamelis virginiana* L.), ナラ (*Quercus serata* Thunb.), オオナラ (*Quercus crispula* Blume), マロニエ (*Aesculus hippocastanum* L.), ワレモコウ (*Sanguisorba officinalis* L.) 及びボタン (*Paeonia suffruticosa* Andr.) より選ばれる1種又は2種以上の植物の抽出物を含有して成る、皮膚外用剤。

【請求項3】 アデノシン及びその誘導体より選んだ1種又は2種以上と、チオレドキシリン、チオレドキシリンリダクターゼ及びこれらの複合体の1種又は2種以上を含有して成る皮膚外用剤。

【請求項4】 アデノシン及びその誘導体より選んだ1種又は2種以上と、チオレドキシリン、チオレドキシリンリダクターゼ及びこれらの複合体の1種又は2種以上と、還元型ニコチン酸アミドアデニンジヌクレオチドリ

ン酸とを含有して成る皮膚外用剤。

【請求項5】 アデノシン及びその誘導体より選んだ1種又は2種以上と、胎盤抽出物とを含有して成る皮膚外用剤。

【請求項6】 アデノシンの誘導体が、アデノシンーリン酸、アデノシンニリン酸、アデノシン三リン酸及び環状アデノシンーリン酸であることを特徴とする、請求項1～請求項5に記載の皮膚外用剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】  
【発明の属する技術分野】本発明は、相乗的に増強された活性酸素種消去作用を有し、生体内外の酸化ストレスに起因する皮膚の老化や損傷を防止し得る皮膚外用剤に関する。さらに詳しくは、アデノシン及びその誘導体と、活性酸素種消去作用を有する成分とを併用して成る皮膚外用剤に関する。

【0002】

【従来の技術】紫外線や生体内代謝により、体内には過酸化水素をはじめとしてヒドロキシラジカル、一重項酸素、スーパーオキシドといった活性酸素種が生じ、これらが生体に種々の悪影響を及ぼすことはよく知られている。特に皮膚組織に関しては、かかる活性酸素種が皮膚脂質の過酸化だけでなく、しわ形成、真皮構成成分の変性等、皮膚の老化現象に深く関与することが示唆されてきた。

【0003】このような活性酸素種に起因する皮膚の老化、損傷を防止或いは改善するため、これらを消去する物質の検索が古くから行われており、ビタミンE群化合物や、茶タンニン等の植物由来タンニン類、カロテノイ

ド、又は他の動植物の抽出成分などが使用されている。

【0004】しかしながら、従来用いられてきた活性酸素種消去剤は、安定性が悪かったり、消去作用が弱く不十分であったりして、特に複雑な処方系の皮膚外用剤に配合した場合、十分な効果の得られないものが多かった。また、生体内において生じる活性酸素種は複雑な連鎖反応に参与しており、単に1種類の活性酸素種を消去したからといって、十分な皮膚の老化、損傷の防止或いは改善作用を得ることができるとは限らない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明は活性酸素種の消去作用を相乗的に高め、複雑な生体内における過酸化反応を有効に防止し、皮膚の老化及び損傷を効果的に防止又は改善し得る皮膚外用剤を得ることを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するべく種々検討したところ、本発明者はアデノシン及びその誘導体より選んだ1種又は2種以上と、一定の活性酸素種消去作用を有する物質或いは成分とを併用することにより、種々の皮膚外用剤基剤に配合しても安定で、さらに活性酸素種消去活性が低下しないばかりか、相乗的に高められることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0007】すなわち本発明においては、アデノシン及びその誘導体の1種又は2種以上と、ハマメリタンニン、ハマメリス (*Hamamelis japonica* Sieb.et Zucc., *Hamamelis obtusata* Makino, *Hamamelis virginiana* L.), ナラ (*Quercus serata* Thunb.), オオナラ (*Quercus crispula* Blume), マロニエ (*Aesculus hippocastanum* L.), ワレモコウ (*Sanguisorba officinalis* L.) 及びボタン (*Paeonia suffruticosa* Andr.) より選ばれる1種又は2種以上の植物の抽出物、チオレドキシリン、チオレドキシリンリダクターゼ及びこれらの複合体の1種又は2種以上、或いはさらに還元型ニコチン酸アミドアデニンジヌクレオチドリ

ン酸と、又は胎盤抽出物とを併用する。  
【0008】アデノシンがヒドロキシラジカル消去作用を有し、外傷性後発性てんかんの抑制に有効であることが報告されている (*Free Rad. Biol. & Med.* 19(4) 473-479(1995))。今回、上記した活性酸素種消去作用を有する物質又は成分を併用することにより、生体組織、特に皮膚組織における活性酸素種消去作用が相乗的に高められることが見い出された。かかる相乗作用の得られる機序は明らかではないが、それぞれの活性酸素種消去作用の安定化、生体内の連鎖的な酸化反応における消去作用の増強等が考えられる。

【0009】アデノシン及びその誘導体の1種又は2種以上と、上記の活性酸素種消去剤とを併用した場合の、紫外線照射による細胞傷害に対する防御効果を次に示す。



【0010】マウスケラチノサイトを喜多野らによる修正MCDB153培地にて37℃で24時間培養した後、リン酸緩衝塩類溶液にて2回洗浄後、ハンクス緩衝液に交換して、表1に示す各試料をそれぞれ添加し、FL-20S・Eランプを光源として300mJ/cm<sup>2</sup>の中波長紫外線(UVB)を照射した。照射後、ケラチノ\*

\*サイトをMCDB153培地中で37℃で24時間インキュベートし、ニュートラルレッド法により細胞生存率を求め、UVBを照射しない対照培養系の生存率を100%として、各試料を添加した場合の生存率を表し、表2に示した。

【表1】

試料	活性酸素種 消去剤	最終濃度 (μg/ml)	試料	活性酸素種 消去剤	最終濃度 (μg/ml)
1	アデノシン	250.0	10	アデノシン	250.0
	ハマメリタンニン	1.0	11	アデノシンーリン酸	250.0
2	アデノシン	250.0	12	アデノシンニリン酸	250.0
	ハマメリス抽出物	5.0	13	アデノシン三リン酸	250.0
3	アデノシンーリン酸	250.0	14	環状アデノシンーリン酸	250.0
	マロニエ抽出物	5.0	15	ハマメリタンニン	1.0
4	アデノシンーリン酸	250.0	16	ハマメリス抽出物	5.0
	ナラ抽出物	5.0	17	マロニエ抽出物	5.0
5	アデノシンニリン酸	250.0	18	ナラ抽出物	5.0
	オオナラ抽出物	5.0	19	オオナラ抽出物	5.0
6	アデノシンニリン酸	250.0	20	ワレモコウ抽出物	5.0
	ワレモコウ抽出物	5.0	21	ボタン抽出物	2.0
7	アデノシン三リン酸	250.0	22	チオレドキシシ ン・チオレドキシ ンリダクターゼ複 合体	10.0
	ボタン抽出物	2.0	23	胎盤抽出物	50.0
8	アデノシン三リン酸	250.0	24	ハンクス緩衝液	-
	チオレドキシシ ン・チオレドキシ ンリダクターゼ複 合体	10.0			
9	環状アデノシン ーリン酸	250.0			
	胎盤抽出物	50.0			

\*表中、植物の抽出物は50重量%エタノールによる抽出物であり、胎盤抽出物は水による抽出物である。

【表2】

試料	細胞生存率(%)	試料	細胞生存率(%)
1	95.1	13	52.5
2	91.7	14	58.7
3	88.0	15	66.4
4	81.5	16	65.8
5	82.2	17	64.0
6	83.4	18	57.3
7	92.2	19	55.6
8	74.8	20	62.1
9	70.3	21	67.5
10	58.5	22	54.9
11	54.1	23	51.2
12	53.9	24	47.2

【0011】表2より、ハンクス緩衝液に交換した後、活性酸素種消去剤を添加しないでUVBを照射した場合(試料24)は対照培養系の47.2%まで細胞生存率が落ち込むことが認められる。これに、アデノシン又はその誘導体、或いはハマメリタンニン等の活性酸素種消去剤を表1に示す最終濃度となるように添加した系(試

料10~試料23)においては、細胞生存率の上昇は認められるものの、十分な回復は得られていない。一方、アデノシン又はその誘導体と、ハマメリタンニン等の活性酸素種消去剤の双方を添加した系(試料1~試料9)においては、細胞生存率の大幅な回復が認められていた。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明に係る皮膚外用剤は、ローション、乳剤、クリーム、軟膏等の形態で提供することができる。また、化粧水、美容液、乳液等の皮膚化粧料の形態としても提供することができる。外用剤又は化粧料基剤中におけるアデノシン又はその誘導体、及びハマメリタンニン等の配合量は、基剤の影響や皮膚への有効作用量等を考慮すると、それぞれ0.01~10重量%及び0.0001~10重量%程度が適当である。さらに、保湿剤、抗酸化剤、防腐剤、香料、紫外線防止剤等の添加剤を配合することもできる。

【0013】

【実施例】さらに本発明の特徴について、実施例により詳細に説明する。

【0014】表3に本発明に係る皮膚用クリームの方  
を示す。表3における「活性酸素種消去剤」につい  
ては、表4に示した。この皮膚クリームは、表3中(1)～  
(5)を混合後加熱溶解して75℃とし、これに混合、加\*

\*熱溶解して75℃とした(6)～(9)及び(12)を添加して乳  
化し、攪拌冷却後40℃にて(10)及び(11)を添加、混合  
して調製する。

【表3】

成 分	配合量(重量%)
1 ステアリン酸	1.00
2 セタノール	0.50
3 グリセリルモノステアリン酸エステル	0.50
4 スクワラン	20.00
5 ソルビタンモノステアリン酸エステル	2.00
6 ポリオキシエチレン(20E.O.)ソルビタン モノステアリン酸エステル	2.00
7 水酸化ナトリウム	0.05
8 カルボキシビニルポリマー	0.10
9 パラオキシ安息香酸メチル	0.10
10 活性酸素種消去剤	0.20
11 香料	0.20
12 精製水	73.35
全 量	100.00

【表4】

実施例	活性酸素種消去剤	配合量(重量%)
1	アデノシン ハマメリタンニン	0.10 0.10
2	アデノシンーリン酸 ハマメリス・50重量%エタノール 抽出物	0.10 0.10
3	アデノシンニリン酸 マロニエ・50重量%エタノール 抽出物	0.10 0.10
4	アデノシン三リン酸 ナラ・エタノール抽出物 ワレモコウ・エタノール抽出物	0.10 0.05 0.05
5	環状アデノシンーリン酸 ポタン・1,3-ブチレングリコール 抽出物	0.10 0.10
6	アデノシン チオレドキシン・チオレドキシン リダクターゼ複合体 還元型ニコチン酸アミドアデニン ジヌクレオチドリン酸	0.05 0.10 0.05
7	アデノシンーリン酸 鈴葉・水抽出物	0.10 0.10

【0015】本発明の上記実施例について、皮膚の老化  
防止効果を皮膚のしわ発生防止の評価により検討した。  
ヘアレスマウスに長波長紫外線(UVA)を照射すると  
しわの発生が促進されるが、このUVAによるしわ発生  
に対する防止効果を評価した。ヘアレスマウス5匹を1  
群とし、各群について本発明の実施例及び比較例をそれ  
ぞれ1日1回背部に塗布し、1J/cm<sup>2</sup>/週のUVAを  
50週間照射し、この時のしわの発生状況を肉眼観察に  
より評価した。なお比較例としては、表3中、活性酸素

種消去剤を表5に示す活性酸素種消去剤に代替したもの  
を用いた。しわの発生状況は、「しわの発生を認めな  
い；0点」、「微小なしわの発生をわずかに認める；1  
点」、「軽微なしわの発生を明確に認める；2点」、  
「中程度のしわの発生を認める；3点」、「深いしわの  
発生を認める；4点」として点数化し、各群の平均点を  
算出して、UVA照射日数との関係を表6に示した。  
【表5】

# Explore Litigation Insights

Docket Alarm provides insights to develop a more informed litigation strategy and the peace of mind of knowing you're on top of things.

## Real-Time Litigation Alerts



Keep your litigation team up-to-date with **real-time alerts** and advanced team management tools built for the enterprise, all while greatly reducing PACER spend.

Our comprehensive service means we can handle Federal, State, and Administrative courts across the country.

## Advanced Docket Research



With over 230 million records, Docket Alarm's cloud-native docket research platform finds what other services can't. Coverage includes Federal, State, plus PTAB, TTAB, ITC and NLRB decisions, all in one place.

Identify arguments that have been successful in the past with full text, pinpoint searching. Link to case law cited within any court document via Fastcase.

## Analytics At Your Fingertips



Learn what happened the last time a particular judge, opposing counsel or company faced cases similar to yours.

Advanced out-of-the-box PTAB and TTAB analytics are always at your fingertips.

## API

Docket Alarm offers a powerful API (application programming interface) to developers that want to integrate case filings into their apps.

## LAW FIRMS

Build custom dashboards for your attorneys and clients with live data direct from the court.

Automate many repetitive legal tasks like conflict checks, document management, and marketing.

## FINANCIAL INSTITUTIONS

Litigation and bankruptcy checks for companies and debtors.

## E-DISCOVERY AND LEGAL VENDORS

Sync your system to PACER to automate legal marketing.