

# エイチ・ホルスタイン株式会社

## UV・近赤外・ブルーライトケア原料

- ・ **ZinClearシリーズ**：マイクロサイズの酸化亜鉛。酸化チタンとの組み合わせ無しでSPF50+、PA++++可
- ・ **HerbaProtect NOX**：エゴマ、ザクロ、カカドゥプラムのエキス混合物。日焼け前と日焼け後のUVダメージ緩和。DNAダメージも保護。
- ・ **InfraGuard/KeraGuard**：ヒマワリ芽エキスとタラ豆のエキス混合物。近赤外やブルーライト、汚染物質からの肌の保護。毛髪保護能もあり。
- ・ **Natura-Tec Abysoft**：被膜効果の高いクランベアビシニカ種子油へフィトステロールをつけて効果を高めたもの。毛髪保護能。
- ・ **PhytoCellTec Solar Vitis**：ブドウ幹細胞エキス。UVや酸化ストレスからの幹細胞保護。
- ・ **Carotolino**：ブルーライト吸収、ブルーライトによる酸化ストレス保護。健康的な肌の色を生み出す。
- ・ **SunActin**：ヒマワリ芽エキス。UVダメージの保護。SPFブースター。
- ・ **AKSOCAVIAR**：キャビアエキス（サケ卵エキス）。シミや肝斑改善。
- ・ **NEOCLAIR PRO**：抗酸化、アンチポリューション、ビタミンD前駆体発現向上。メラニン抑制。クリアな肌を生み出す。
- ・ **Detoxophane/SulforaWhite**：スルフォラファン含有のコショウソウ芽エキス。デトックスと美白効果。
- ・ **SENSOCELシリーズ**：生分解性セルロースシリーズ。サンケア品への配合で白浮き抑制。テクスチャー改善。

ANTARIA社  
新規酸化亜鉛 ZinClear XP & IM

エイチ・ホルスタイン株式会社  
事業部 井川恵介

## ZinClear XP™

# 高透明度とブロードスペクトラム保護

消費者は近年、太陽光線に当たることによる健康リスクや皮膚老化をますます意識するようになってきた。同時に、サンスクリーンや化粧品に含まれる化学物質の安全性に関する懸念も増している。消費者の期待に沿い、随時改定される規制要件を満たす高品質の製品を安価で提供することは、ブランドオーナーや製造業者の課題となっている。

ANTARIAの最新技術革新が生み出したZinClear XP™酸化亜鉛粉末は、サンスクリーン、日用保湿材、アンチエイジングクリームなど、広範なパーソナルケア製品においてそのような課題に応えます。

ZinClear XP™は、サンスクリーン・フォーミュレーションがブロードスペクトラム保護に関する下記の最新規制要件を満たすように開発されました。

- UVAPF  $\geq$  (1/3) SPF
- 臨界波長  $\geq$  370 nm

また、ZinClear XP™を用いたサンスクリーン・フォーミュレーションは、以下の特性を備えています。

- 軽くて快適な皮膚感触
- 究極の透明度

# ZinClear シリーズ製品構成

## 1. ZinClear XP

- ・粉末タイプ（酸化亜鉛のみで構成）
  - ・シリコン等によるコーティングなしでも分散性に優れている。
  - ・25%ほどで単独でSPF50を実現可能（白浮きしにくく、25%でもごわつきなし）
  - ・粒子は数 $\mu\text{m}$ サイズに凝集しており、多孔質
  - ・サンスクリーン・フォーミュレーションがブロードスペクトラム保護に関する下記の最新規制要件を満たすように開発。
    - UVAPF  $\geq$  (1/3) SPF
    - 臨界波長  $\geq$  370 nm
- ※XP65COCOという分散タイプもあり；（カプリル酸/カプリン酸）ヤシアルキル、ポリリシノレイン酸ポリグリセリル-3、イソステアリン酸

## 2. ZinClear IMシリーズ

50%濃度（55L7のみ55%）に分散済みの酸化亜鉛で4種あり

- ・ZinClear IM 50AB：C12-15 Alkyl Benzoateへ分散
- ・ZinClear IM 50CCT：カプリル酸/カプリン酸トリグリセリドへ分散
- ・ZinClear IM 50JJ：非精製ゴールデンホホバ油へ分散
- ・ZinClear IM 55L7：ジヘプタン酸ネオペンチルグリコールへ分散

IMは4種とも上記以外にポリヒドロキシステアリン酸、イソステアリン酸含有

# ZinClear XP

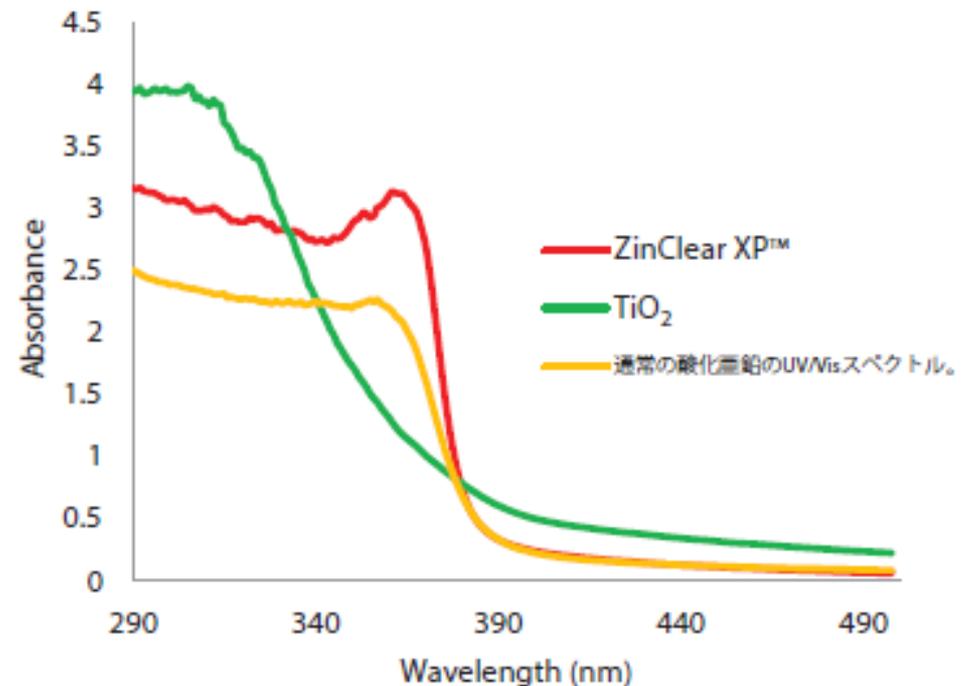
## ZinClear XP™は高レベルのUVA保護を提供

酸化亜鉛の吸光度スペクトルは、UVA、UVBの両方をカバー  
これは酸化亜鉛という物質固有の特性

ZinClear XP™は、酸化亜鉛が備えるUVA保護性能をさらに高めることを企図して開発された製品

そのため、ZinClear XP™を単独で使用した場合でも他のUV吸収剤と併用した場合でも、サンスクリーン・フォーミュレーションがブロードスペクトラム保護に関する下記の最新規制要件を満たすことが可能

- UVAPF  $\geq$  1/3 SPF
- 臨界波長  $\geq$  370 nm

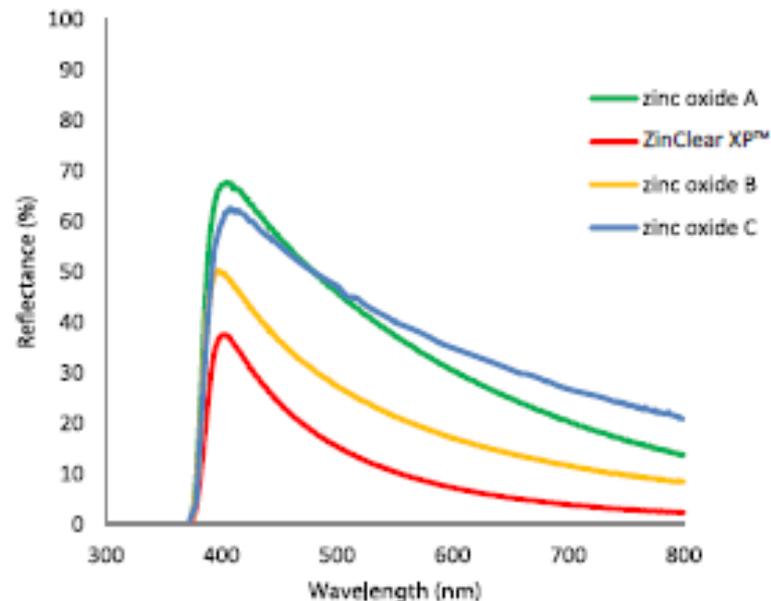


## ZinClear XP™は優れた皮膚感触と審美性をもたらす

ZinClear XP™は、フォーミュレーションに対する自由度が高く、紫外線保護のみならず、皮膚感触や審美性の面でも優れた特性を示す製品を容易に作製可能

- ZinClear XP™は粉末なので、分散液製品の場合のように多量のオイルを取り扱う必要がなく、軽くて快適な皮膚感触を持ったサンスクリーンを容易に作製可能（W/Oエマルション、O/Wエマルション、クリーム、ゲル、スティック、オイルなどいろいろな形態で使用可能）
- 単一のUVフィルターとして使用することも、酸化チタンや有機化学物質ベースの紫外線吸収剤と併用して、UVA保護能力やSPFを高めるのに使用することも可能
- ZinClear XP™は、透明度が非常に高いので、最大許容量を使用しても、皮膚に塗ったときに全く白浮きしない審美性の高い製品を創り出すことが可能

種類が異なる酸化亜鉛を30%含んだ薄膜の反射率スペクトル。



## ZinClear XP™で化学薬品ベースの紫外線吸収剤を代替可能

コストパフォーマンスが高いZinClear XP™を、化学薬品ベースの紫外線吸収剤の代替として用いることで、サンスクリーンに数多くの利点をもたらす

- オールミネラル、オールナチュラル紫外線保護（単独使用または酸化チタンと併用した場合）
- 化学薬品ベースの紫外線吸収剤を用いた場合と比べて遜色のない審美性
- 高い光安定性（安定化剤不要）
- シンプルなフォーミュレーション（ZinClear XP™単独でブロードスペクトラムUV保護達成可能）
- 敏感肌にも適応した紫外線保護（皮膚障害をもつ患者や化学物質ベースのサンスクリーンにより感作や炎症が起こる人は、酸化亜鉛を用いたサンスクリーンを使うよう、多くの皮膚科医が推奨しています。）

# ZinClear IM

# サンケアにおける技術革新

ZinClear IM<sup>®</sup>は、Antariaの革新的技術が生み出した高透光性酸化亜鉛（ZnO）分散液で、多種多様のサンケア製品、スキンケア製品、化粧品に使用可能。

## ZinClear IM<sup>®</sup>の特長

- 究極の透明度
- ミネラルベースで光劣化しない紫外線保護

## 製品の種類

ZinClear IM<sup>®</sup> 分散液は、パーソナルケア業界の多様なニーズに対応すべく開発された製品で、エモリエントが異なる4種類から選択可能

- **ZinClear IM 50AB** : C12-15 Alkyl Benzoate（大衆市場向けサンケア製品で広く使用）
- **ZinClear IM 50CCT** : カプリル酸/カプリン酸トリグリセリド（オールナチュラル、NPA ; Natural Product Association認可済）
- **ZinClear IM 50JJ** : 非精製ゴールデンホホバ油（オールナチュラル、NPA ; Natural Product Association認可済）
- **ZinClear IM 55L7** : ジヘプタン酸ネオペンチルグリコールへ分散（特注扱い。軽めで乾いた感触、抗酸化亜鉛含有率）

# 究極の透明度

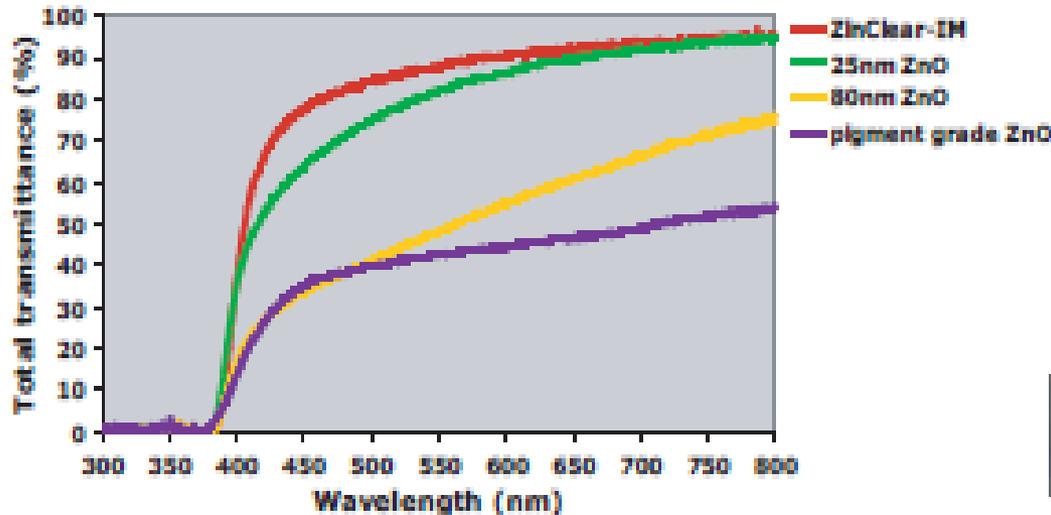
ZinClear IM<sup>®</sup>では、画期的なインデックスマッチ（Index-Match<sup>™</sup>）技術を用いて、皮膚に塗ったときの高透明度を達成。

ZinClear IM<sup>®</sup>中の酸化亜鉛粒子は、独特の多孔質構造をもち、粒子とエモリエントの屈折率のマッチングが良好なため、非常に高い透明度が得られる。

この革新的技術により、ZinClear IM<sup>®</sup>の透明度は、無機質ナノ材料をベースにした第一世代の製品を凌駕。

下のグラフは、ZinClear IM<sup>®</sup>と他社製酸化亜鉛製品の透明度を比較したものの

UV/Vis透過率曲線



また、下のドローダウンチャートは、ZinClear IM<sup>®</sup>と他社製品のパフォーマンスを比較したものでZinClear IM<sup>®</sup>分散液が業界随一の透明度を持つことを示している



## 真のブロードスペクトラムUVフィルター

ヨーロッパにおけるUVAPFに対する要件（UVAPF $\geq$ 1/3SPF）、アメリカ等の諸国における臨界波長に対する要件（臨界波長 $\geq$ 370nm）など、UVA保護に関する最低要件が規制機関によって定められている。

ZinClear IM<sup>®</sup>を単独のUVフィルターとして使用したフォーミュレーションでも、これらの要件をすべて満たすことが可能。

また、ZinClear IM<sup>®</sup>を他のUV吸収剤と併用すれば、高いUVA/UVB比を維持しながら、SPFをさらに高めることが可能。

## 高含有量で使用可能

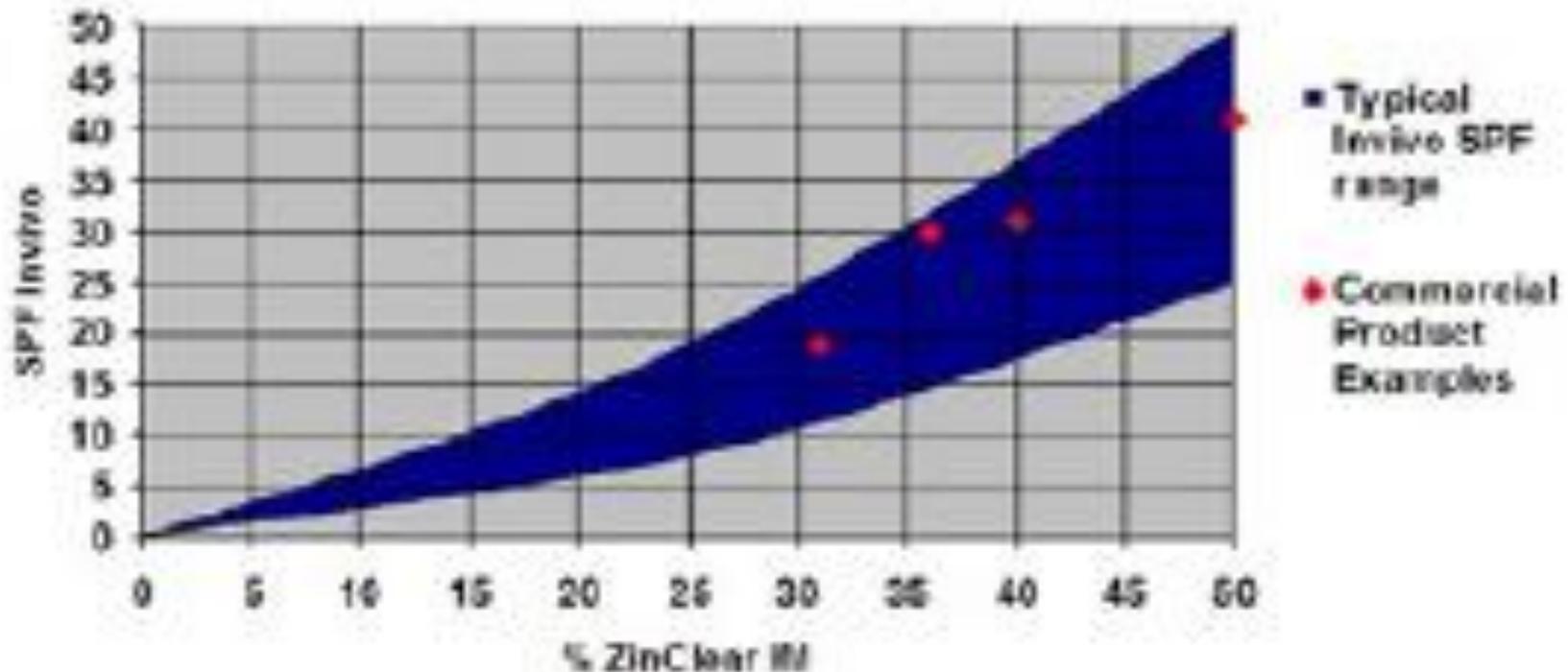
酸化亜鉛は本質的に安全性が高いため、フォーミュレーション中25%といった高濃度で使用可能。この濃度は、他の認可済化学物質ベース紫外線吸収剤の許容濃度よりはるかに高く、酸化亜鉛だけを活性成分として用いて非常に高いSPFを達成することができる。

さらに、ZinClear IM<sup>®</sup>は透明度が非常に高いため、高濃度で使用しても、皮膚に塗ったときの白浮きが問題になることはない。

# 酸化亜鉛だけで高SPF達成

フォーミュレーションに関するノウハウとSPFブースト技術の改良により、ZinClear IM<sup>®</sup>だけを用いて高SPFを達成することが可能になった。

ZinClear IM<sup>®</sup>を用いたフォーミュレーションのSPF



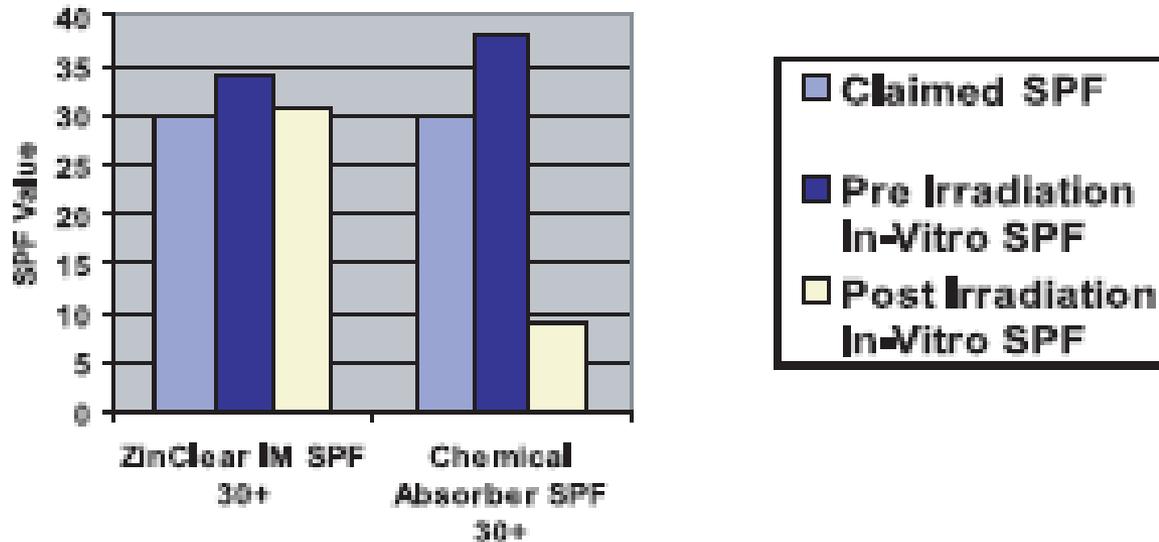
## 光安定性：持続する高レベル紫外線保護

規制機関が規定したSPF試験法では通常、試験に先立ってサンスクリーンのサンプルに対して予備的な紫外線照射を行わなければならない。これは、製品が太陽光にさらされても、紫外線保護効果を失わないことを確認するためである。

汎用の化学物質ベース紫外線吸収剤は、本質的に光安定性を欠いているものが多く、紫外線にさらされると保護効果が失われていく。

フォーミュレーション中のZinClear IM<sup>®</sup>は、光安定性が高く、信頼性の高い紫外線保護効果が持続する。

市販サンスクリーンの光安定性 (オーストラリアの太陽光3時間照射)



## ZinClear IMは多彩な用途に対応

- ・ 低刺激性サンスクリーン
- ・ 敏感肌用サンスクリーン
- ・ オールナチュラル・サンスクリーン、ミネラルオンリー・サンスクリーン
- ・ 乳児、幼児用サンケア製品
- ・ 他の紫外線吸収剤と組み合わせた大衆市場向けサンケア製品
- ・ 日用化粧品、ファンデーション
- ・ 紫外線保護機能を備えた日用保湿剤
- ・ リップクリーム

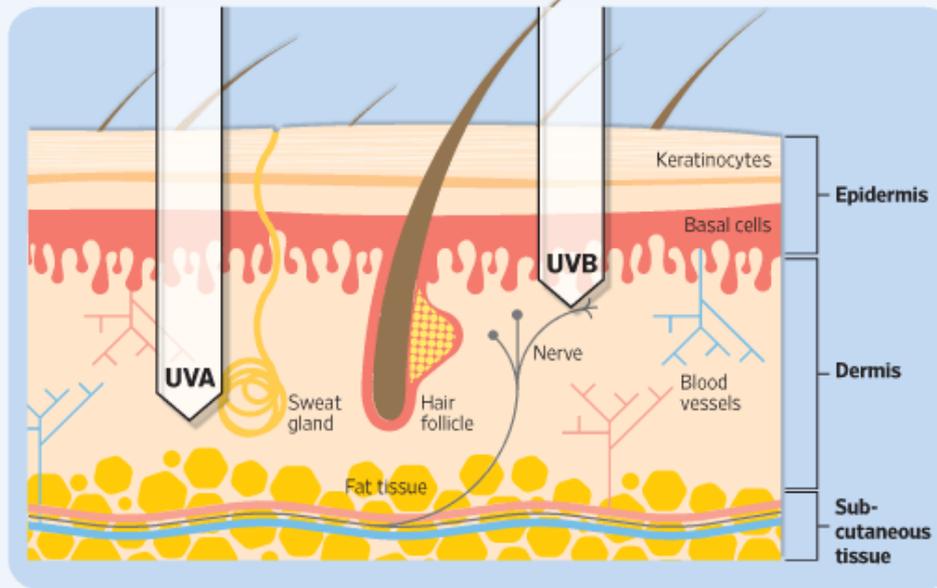
We make  
beauty natural.

HerbaProtect NOX – Sun and after Sun Protection

# UV-A は肌老化を加速させる

## What Happens to Your Skin

The sun's ultraviolet rays are classified in three categories, based on their wavelength from the sun to the earth. UVA and UVB rays have harmful effects on the skin, while UVC rays do not reach the earth's surface.



### UVA

- These rays penetrate the epidermis and are **dispersed into the dermis**.
- Prolonged exposure shrinks the collagen and elastin, causing the epidermis (top layer) to sag. The result is accelerated **skin aging and wrinkling**.
- Can penetrate **clouds and glass**.
- **Tanning booths** primarily use UVA rays.

### UVB

- These rays penetrate the **epidermis**.
- Stimulate the production of melanin, resulting in **freckles and a suntan**, as well as redness and sunburns.
- **Intensity varies** by season, time of day, altitude and environment.
- Help in production of **vitamin D**.

---

## UV Exposure Continues to Damage Skin —Even After You’ve Left the Beach (or the Slopes or the Tanning Bed)

---



A new study by Yale scientists indicates that damaging UV rays continue to wreak havoc on melanocytes, the skin cells that make melanin, for as much as three hours after sun exposure. Ironically, melanin, the pigment

# Scientific Background



## RESEARCH ARTICLE

# Chemiexcitation of melanin derivatives induces DNA photoproducts long after UV exposure

Sanjay Premi<sup>1</sup>, Silvia Wallisch<sup>1</sup>, Camila M. Mano<sup>1,2</sup>, Adam B. Weiner<sup>1,\*</sup>, Antonella Bacchiocchi<sup>3</sup>, Kazumasa Wakamatsu<sup>4</sup>, Etelvino J. H. Bechara<sup>2,5,†</sup>, Ruth Halaban<sup>3,6</sup>, Thierry Douki<sup>7,†</sup>, Douglas E. Brash<sup>1,6,‡</sup>

+ Author Affiliations

‡Corresponding author. E-mail: douglas.brash@yale.edu

† These authors contributed equally to this work.

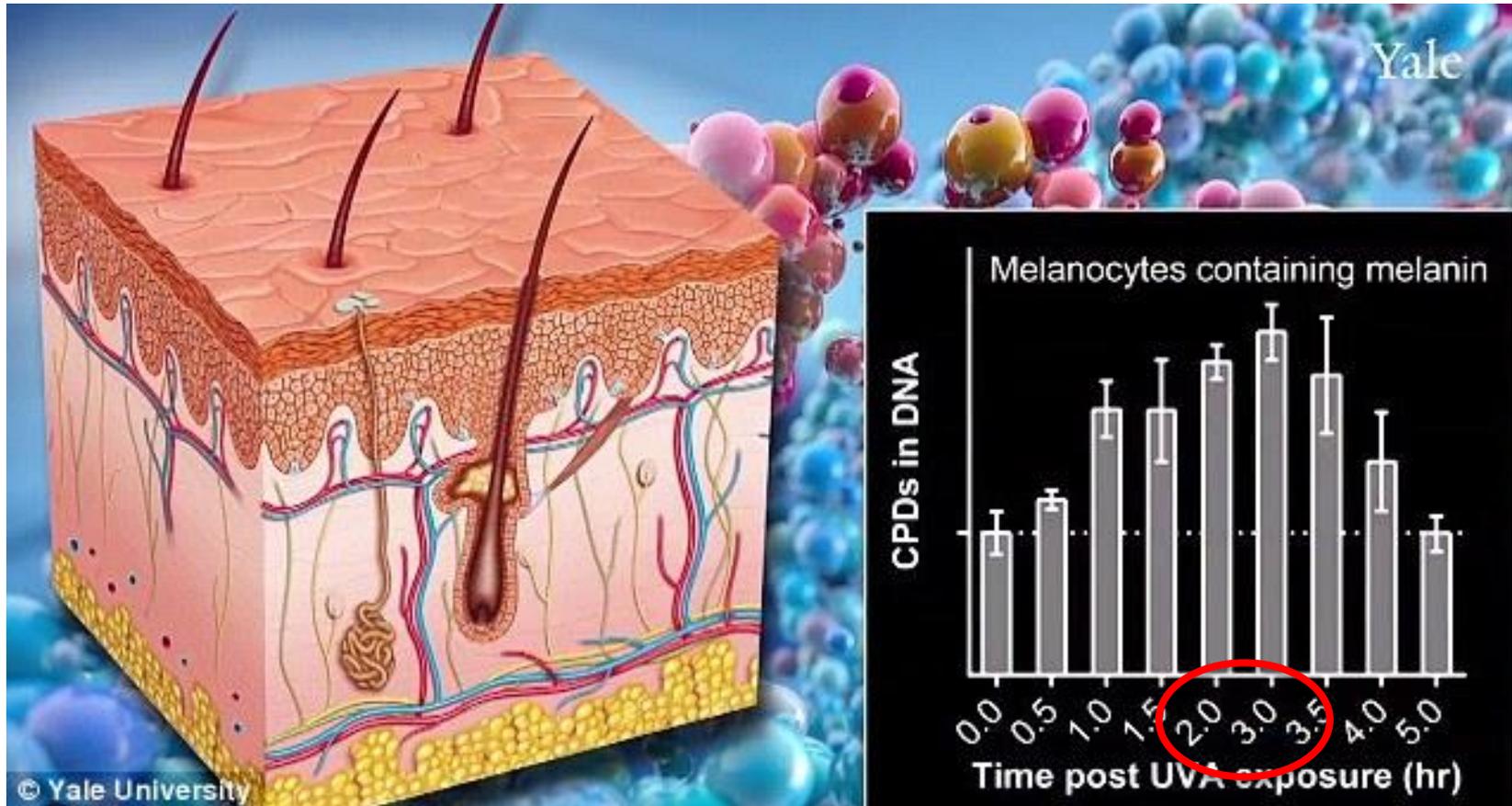
\* Present address: Pritzker School of Medicine, University of Chicago, Chicago, IL 60637, USA.

*Science* 20 Feb 2015:  
Vol. 347, Issue 6224, pp. 842-847  
DOI: 10.1126/science.1256022

Chemiexcitation:  
Generation of reactive molecules

DNA photoproducts:  
DNA damage

# Assessment of UV induced DNA damage in mice



<http://news.yale.edu/2015/02/19/sunlight-continues-damage-skin-dark>

**DNA Photoproducts:** CPD: Cyclobutane Pyrimidine Dimers

# International Resonance

## Schäden auch "im Finsternen"

Bis zur nun vorliegenden Studie ging man davon aus, dass die Schäden wenige Bruchteile einer Sekunde nach dem Eindringen von UV-Licht in die Haut entstehen. Der Dermatologe Douglas Brash von der Universität Yale und seine Kollegen zogen für ihre Studie Melanozyten von Mäusen und Menschen heran und bestrahlten sie im Labor eine knappe halbe Stunde lang mit einer UV-Lampe. Melanozyten sind jene Zellen, die das Melanin herstellen und der Haut damit zuhelfen, sich vor UV-Strahlung zu schützen. Es zeigte sich: Rund die Hälfte des Schadens war bereits nach ein bis zwei Stunden nach dem Ende der Bestrahlung zu beobachten.

Share: Save: Subs

## Auch im Dunkeln lauert der Hautkrebs

UV-Licht richtet nur direkt nach dem Eindringen in die Haut Schäden an – so dachte man. Doch laut einer neuen Studie droht auch danach noch Gefahr.



Friday February 20 2015  
UV Exposure Continues to Damage Skin  
—Even After You've Left the Beach  
the Slopes or the Tanning Beds



A new study by Yale scientists indicates that damaging UV rays continue to wreak havoc on melanocytes, the skin cells that make melanin, for as much as three hours after sun exposure. Ironically, melanin, the pigment

## MailOnline Science & Tech

## Could using sunscreen at NIGHT prevent skin cancer? Damage caused by UV light continues for hours after dark, finds study

- Dermatologists at Yale University want to develop a 'night-time' sunscreen
  - They found energy from UV light can damage DNA hours after sunbathing
- ... this energy from transferring to DNA ... acts our skin in the sun is responsible ... energy but later transfers it to DNA ... this energy transfer can be used to ... sunbathers would put on in the evening

## ... continues to

Source: iNews

... on to sunburn that continues to ... study.

## DNA in Skin Cells

## Long After Exposure

Certain damaging reactions that can lead to melanoma-causing mutations may take hours to evolve and mostly occur after you get out of the sun

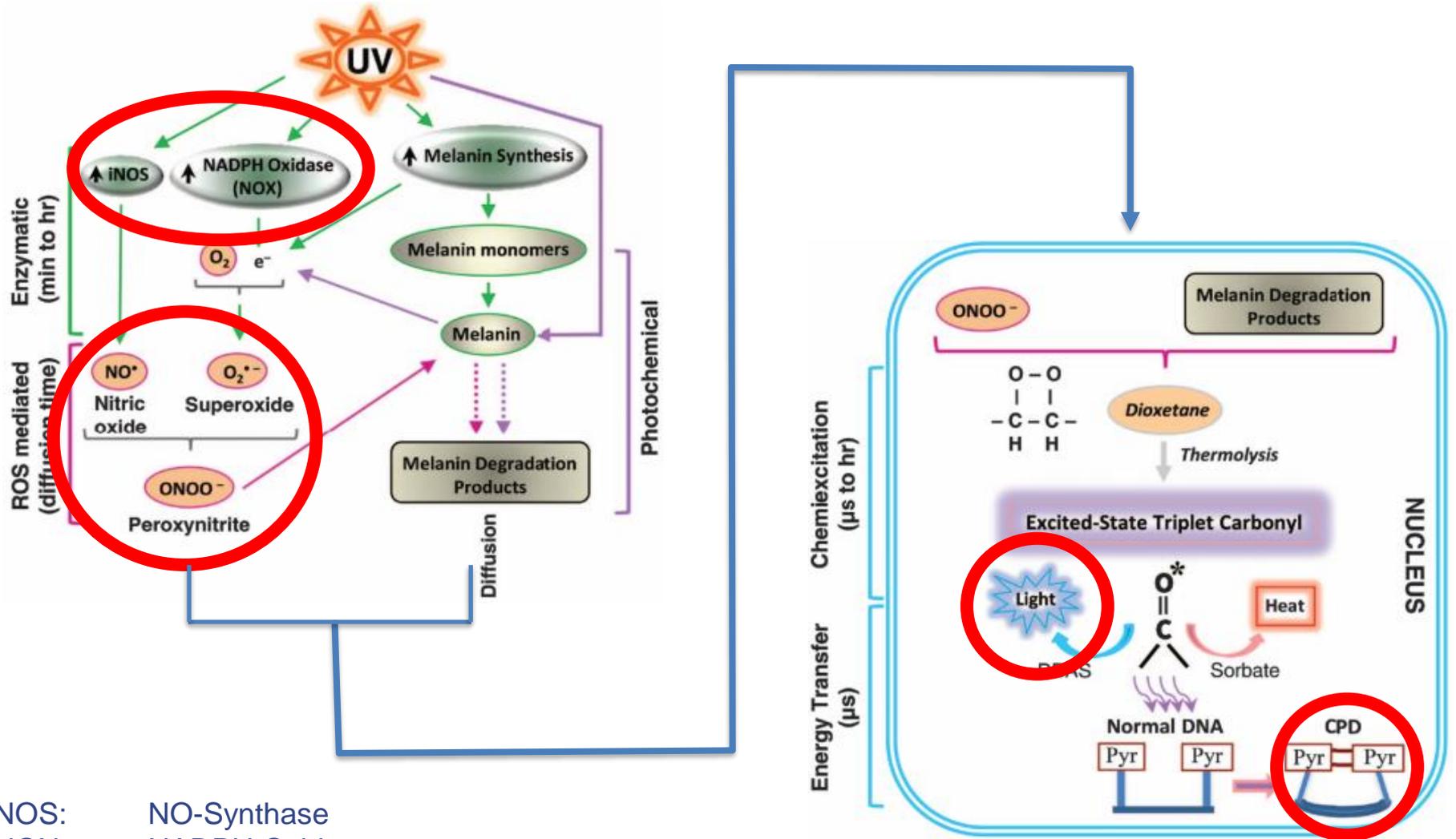
By Mail Desktop, Chemical & Engineering News on February 24, 2015

# Take Home Message

---

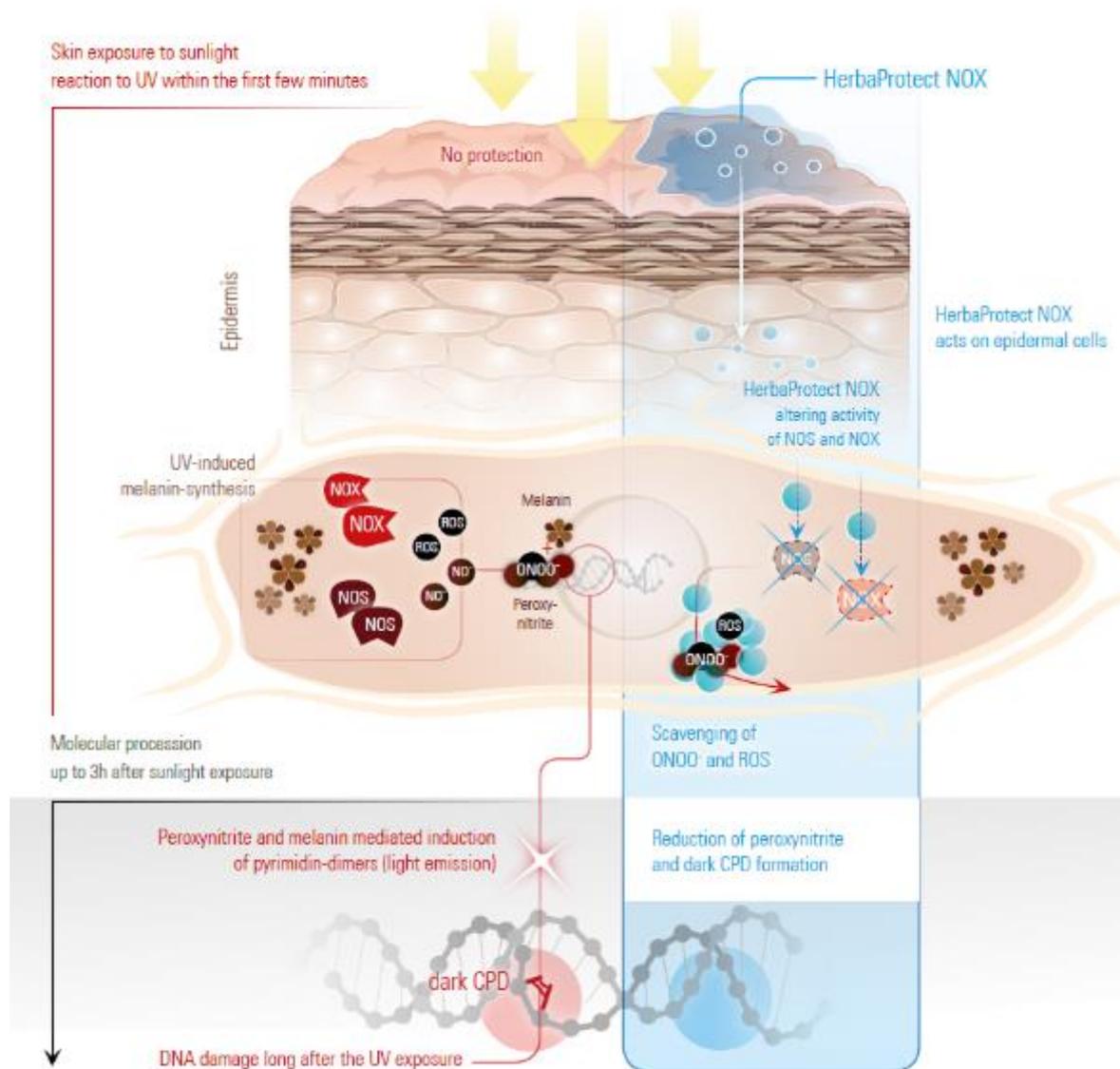
- UV による肌のダメージは日光に当たった数時間後でもまだ発生しうる

# Proposed mechanism of action by Premi et al.

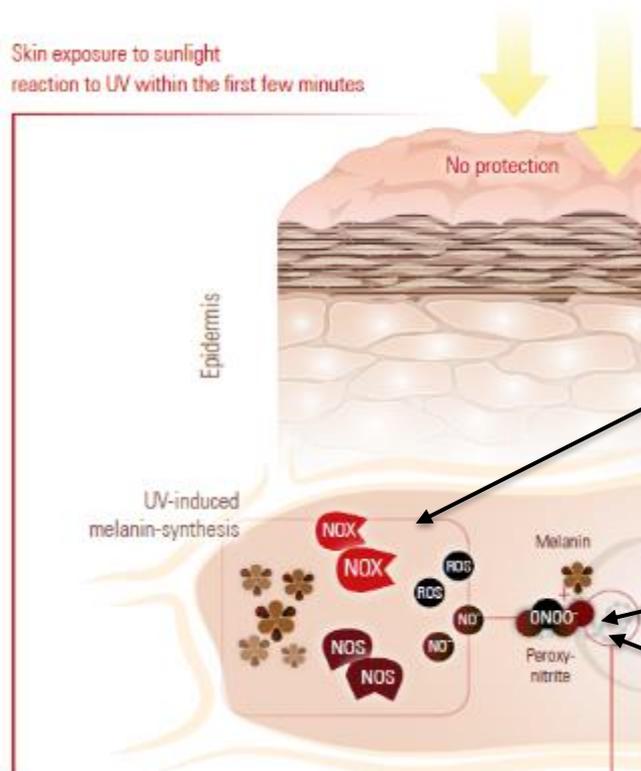


NOS: NO-Synthase  
 NOX: NADPH Oxidase

# HerbaProtect NOX: Mechanism of action



# Approach: Mechanisms of action



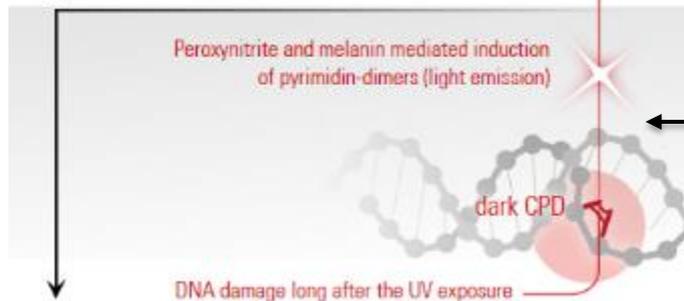
UV 照射

細胞内でのUV による酵素的ストレス反応  
→ NOX family (NADPH Oxidases) や  
NO Synthase (NOS) がROS や NOを産生

ROSとNOがペルオキシ亜硝酸 (ONOO<sup>-</sup>)を形成

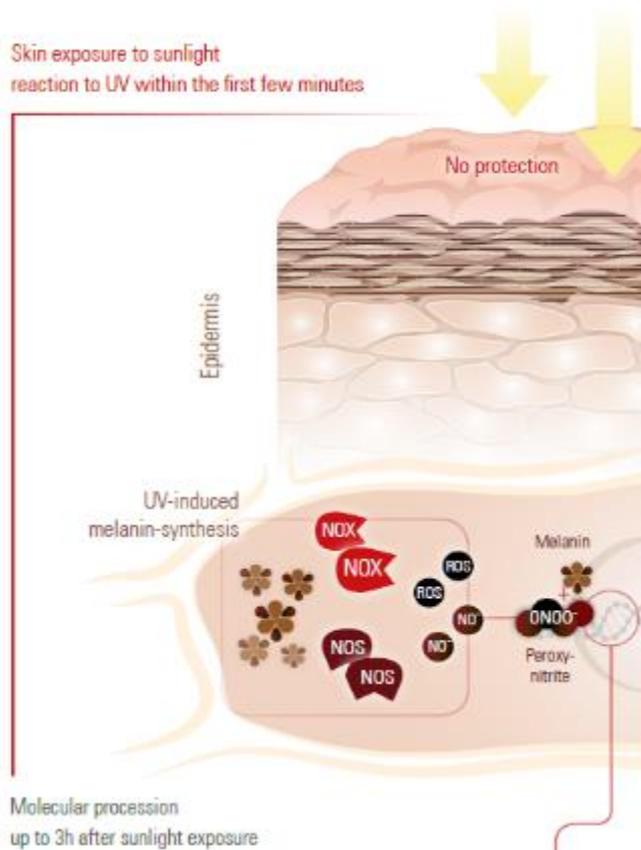
ペルオキシ亜硝酸, がメラニンを励起

Molecular procession  
up to 3h after sunlight exposure



メラニンが過剰なエネルギーをゆっくりとDNAへ放出  
→dark CPD (cyclobutanepyrimidine dimers)  
のような遅発性のダメージを招く

# Counteracting Delayed Sun-Induced Skin Damage



## 肌の抗酸化能を向上

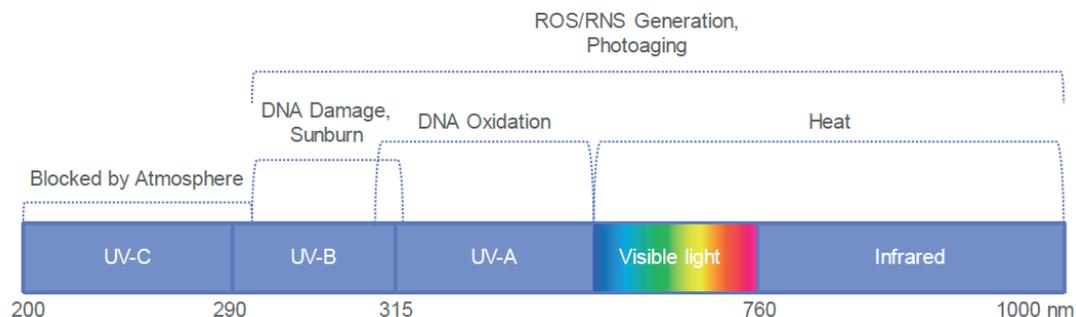
- Scavenging ROS, NO and ONOO<sup>-</sup> by providing antioxidative capacity:
  - Counteracts dark CPDs
  - Reduces premature aging
  - Protects against damage induced by the entire solar spectrum
- Universal photoprotection and anti-aging strategy

Content in Sunlight

5 %

50 %

45 %



Peroxynitrite and melanin mediated induction of pyrimidin-dimers (light emission)

dark CPD

DNA damage long after the UV exposure

# Take Home Message

---

- UVIによる肌のダメージは日光に当たった数時間後でもまだ発生しうる
- この現象のメカニズムは活性酸素種, 酸化窒素, ペルオキシ亜硝酸形成からなる

# HerbaProtect NOX: Properties

---

HerbaProtect NOX is a combination of three plant extracts in a glycerol based preservative free and self-preserving solvent system. This combination is made possible by a novel production method which allows to combine and concentrate hydrophilic and hydrophobic fractions of the extracts in a standardized, stable and easy to handle product.

- 3つの植物エキス
  - Perilla leaf (*Perilla Frutescens*) : エゴマ
  - Pomegranate flower (*Punica Granatum*) : ザクロ
  - Kakadu plum (*Terminalia Ferdinandiana*) : カカドゥプラム

NOX(lat.): Night, Darkness – protection continues in the dark

NOX (lat.): Noxa – damage, harm

NOX: (chem): NADPH Oxidase,  
Nitrogenoxides: NO<sub>x</sub> – Peroxynitrite NO<sub>x</sub>  
ONOO-



# Perilla leaf (エゴマ葉)

Perilla leaf extract components have been shown to reduce NOX and iNOS related release of reactive oxygen and nitrogen species and also have strong scavenging and anti-inflammatory activities<sup>[4,5,6,7]</sup>. These effects lead to a reduction of intracellular peroxynitrite concentration<sup>[1,8]</sup>.



- NOX (NADPH Oxidase)<sup>7</sup> と NOS (Nitric Oxide Synthase)<sup>6</sup> の効果
  - ペルオキシ亜硝酸形成の抑制
- 直接的抗酸化
  - ラジカルとONOO<sup>-</sup> の抑制
- 抗炎症
  - UVによる炎症を抑制



1) Premi et al., Chemiexcitation of melanin derivatives induces DNA photoproducts long after UV exposure, Science 347:842-847, 2015

4) Huang et al., Anti-inflammatory effects of Perilla frutescens leaf extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells, Molecular Medicine Reports 10: 1077-1083, 2014

5) Osakabe et al., Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: Anticarcinogenic effect of Perilla frutescens extract in the murine two-stage skin model, Carcinogenesis 25/4: 549-557, 2004

6) Psotova et al., Photoprotective properties of Prunella vulgaris and rosmarinic acid on human keratinocytes, J of Photochemistry and Photobiology B Biology 84(3):167-74, 2006

7) Takahashi et al., 1,2-Di-O-a-Linolenoyl-3-O-b-galactosyl-sn-glycerol as a superoxide generation inhibitor from Perilla frutescens var. crispa, Biosci. Biochem., 75(11): 2240-2242, 2011

8) Valencia et al., Nox1-based NADPH oxidase is the major source of UVA-induced reactive oxygen species in human keratinocytes, J of Investigative Dermatology, 128:214-222, 2007

# Pomegranate flower (ザクロ花)

Pomegranate flower extract is capable of reducing the perception of pain associated with an inflammatory state by downregulation of the nerve growth factor (NGF) gene<sup>[2]</sup>. Furthermore it has anti-inflammatory and wound healing effects and shows anti-collagenase, anti-elastase and antioxidant activities<sup>[3]</sup>.



- 抗酸化
  - SOD や HMOX (Vitagenes)の上方制御
  - ラジカルや ONOO-の抑制
- 抗炎症
  - UVによる炎症を抑制
- Nerve growth factor (NGF)の下方制御
  - 疼きや痛みの知覚を抑制 = Soothing
- MMP-1 (遺伝子とタンパク)の下方制御
  - 光老化作用に対抗

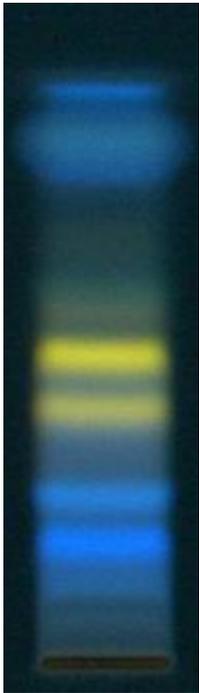


2) Klotzenburg et al., Neutralization of endogenous NGF prevents the sensitization of nociceptors supplying inflamed skin, European Journal of Neuroscience 11(5):1698-704, 1999

3) J.Smits et al., Effects of pomegranate flower complex on skin, Personal Care p. 45-50, March 2012

# Kakadu Plum (カカドゥプラム)

Kakadu plum extract exhibits extremely high levels of stable ascorbic acid<sup>[9]</sup>. It was shown to have iNOS and COX-2 expression inhibition and shows antioxidative and cytoprotective activities<sup>[10,11]</sup>.



Kakadu Plum

- 抗酸化  
→ ラジカルや ONOO<sup>-</sup>の抑制
- NOS (NO Synthase)の阻害  
→ ラジカル放出の抑制
- COX-2 発現の阻害  
→ 炎症反応の抑制



9) Cock, Therapeutic properties of Kakadu plum: An update, Conference Paper: 5th Queensland Bushfoods Association Conference, 2015  
10) Tan et al., Native Australian fruit polyphenols inhibit COX-2 and iNOS expression in LPS-activated murine macrophages, Food Research International 44:2362–2367, 2011  
11) Tan et al., Antioxidant and cytoprotective activities of native Australian fruit polyphenols, Food Research International 44:2034–2040, 2011



# Take Home Message

---

- UVIによる肌のダメージは日光に当たった数時間後でもまだ発生する
- この現象のメカニズムは活性酸素種, 酸化窒素, ペルオキシ亜硝酸形成からなる
- Herbaprotect NOX の原料は酵素やこれら活性分子の形成を阻害する

# HerbaProtect NOX: Properties

---

HerbaProtect NOX is a combination of three plant extracts in a glycerol based preservative free and self-preserving solvent system. This combination is made possible by a novel production method which allows to combine and concentrate hydrophilic and hydrophobic fractions of the extracts in a standardized, stable and easy to handle product.

- グリセロール ベース
- 防腐剤フリー
- 自己防腐
- 標準化
- 濃縮
- 使用が容易
- COSMOS 認証
  
- After Sun Care / Sun Care / Day Care
- アンチエイジング / 抗シワ
- 抗炎症 / 抗酸化 / Soothing-製品
- 推奨配合量: 1-3%



# HerbaProtect NOX: 効果試験

---

- ヒトケラチノサイトにおけるペルオキシ亜硝酸のスキャベンジャー活性 (*in vitro*)
- 20名の被験者で化学発光にて肌の抗酸化能を試験 (*in vivo*)



# HerbaProtect NOX: 効果試験

試験: Peroxynitrite scavenging activity (*in vitro*)

## Peroxynitrite Scavenging Activity

Two cell culture based experiments were carried out in order to assess the antioxidant and peroxynitrite scavenging activity of HerbaProtect NOX. Human keratinocytes were preconditioned with different concentrations of HerbaProtect NOX for 24 h and after a washing step, loaded with hydrophenylflourescin (HPF) which is a selective dye for the detection of highly reactive oxygen species. After this preconditioning, cells were treated with 0.35 mM hydrogenperoxide ( $H_2O_2$ ) or 41.4 mM peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) and the generated oxidative stress was quantified by fluorescence measurement.

- ケラチノサイト細胞培養
- 24時間  $HP_{NOX}$  で事前調製
- ROS 検出色素 (HPF) 添加
- 蛍光検出
- „Stress treatment“:
  - $H_2O_2$  – Hydrogenperoxide
  - $ONOO^-$  - Peroxynitrite



# HerbaProtect NOX: Peroxynitrite scavenging activity (*in vitro*)

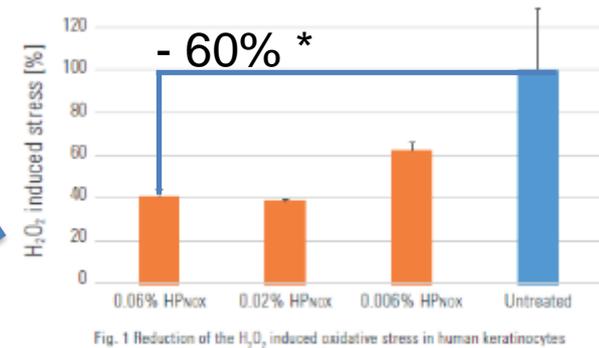
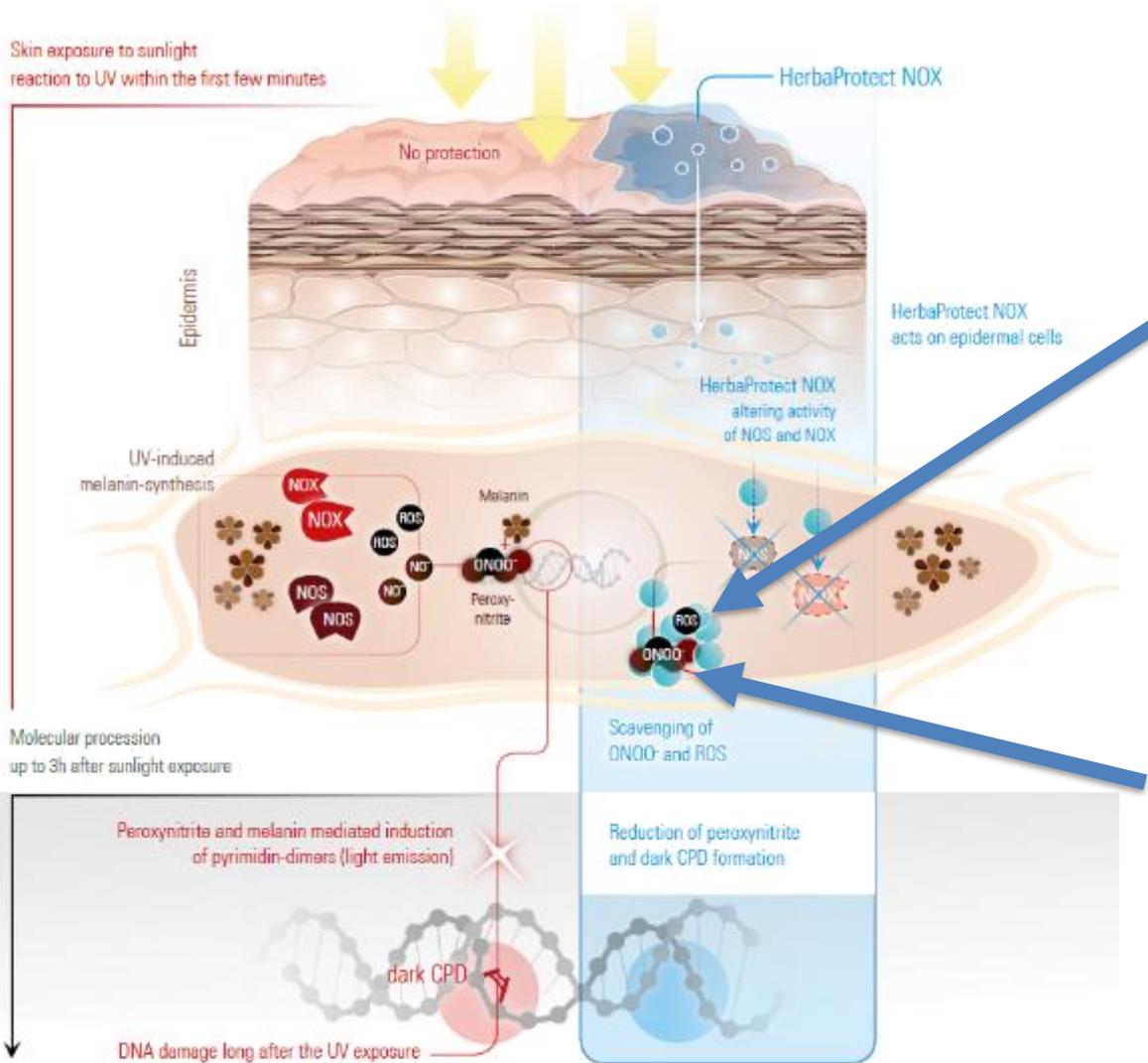


Fig. 1 Reduction of the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced oxidative stress in human keratinocytes

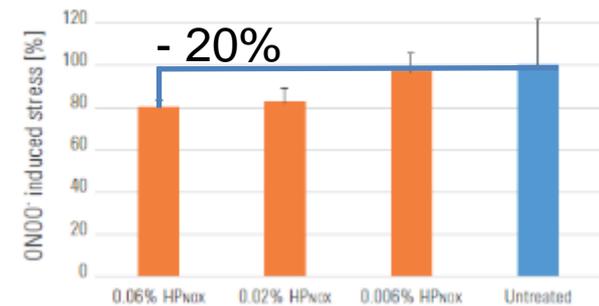


Fig. 2 Reduction of the ONOO<sup>-</sup> induced oxidative stress in human keratinocytes

# Take Home Message

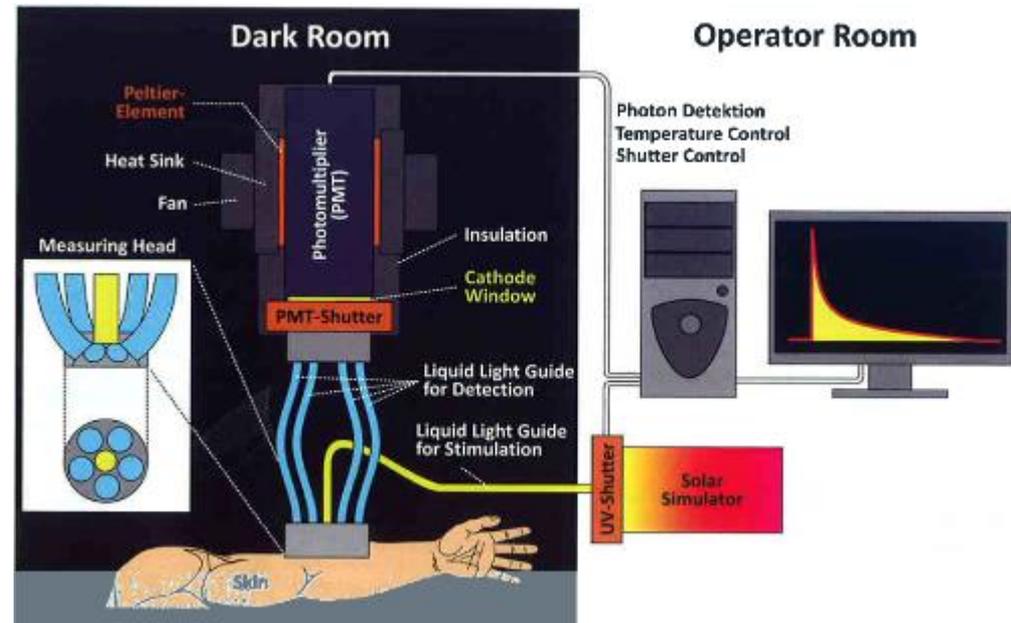
---

- UVIによる肌のダメージは日光に当たった数時間後でもまだ発生する
- この現象のメカニズムは活性酸素種, 酸化窒素, ペルオキシ亜硝酸形成からなる
- Herbaprotect NOX の原料は酵素やこれら活性分子の形成を阻害する
- Herbaprotect NOX を *in vitro* と *in vivo* にて試験した
- *In vitro*: Herbaprotect NOX は過酸化化物やペルオキシ亜硝酸による細胞内ストレスをそれぞれ60%と20% 抑制した

# HerbaProtect NOX: induced chemiluminescence (*in vivo*) (Ultraweak photon emission)

The ICL-S (induced chemiluminescence in skin) method allows an *in vivo* real time measurement of oxidative stress induced by environmental factors, such as irradiation, heat or mechanical stress. Free radicals damage cellular components and cause ultraweak photon emission, which is detectable as a chemiluminescence signal<sup>[12]</sup>.

- 光の発光を測定することによりラジカル反応を測定
- 誘導後: ICL シグナルは肌の „抗酸化ステータス“ に関する

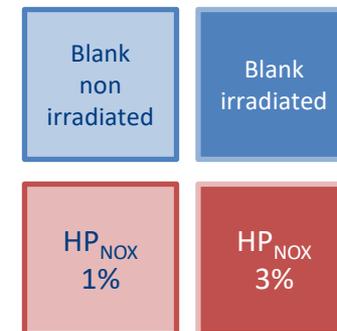
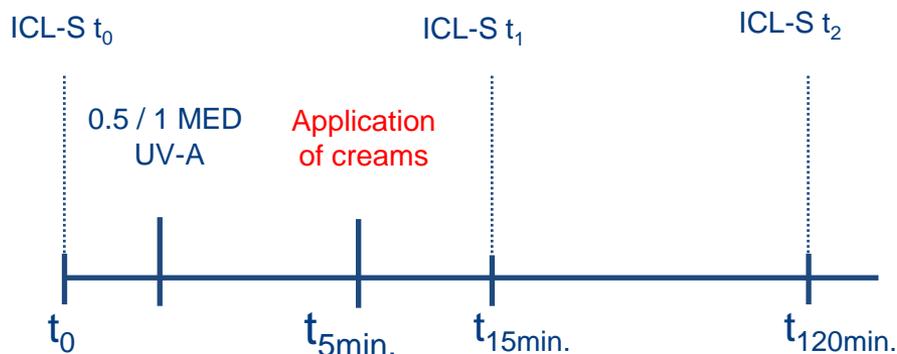


Jain et al., Non-invasive *in vivo* measurement of oxidative stress in human skin, SOFW-Journal 136:9, 2010

# HerbaProtect NOX: induced chemiluminescence (*in vivo*)

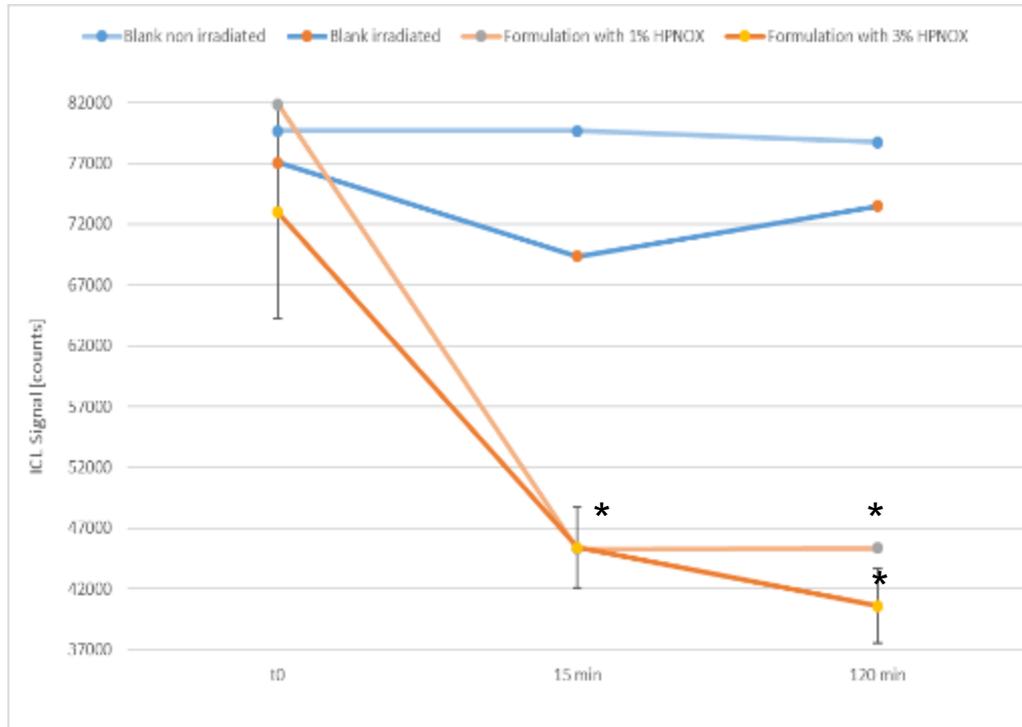
In an acclimatized light-tight darkroom, skin of the volar forearms of ten volunteers was stressed with half the minimal erythema dose (MED) of UV-A light and the resulting ultraweak light emission (ICL signal) was measured. Skin test areas of ten volunteers were divided into 4 test fields. Two blank sites with no product application of which one was irradiated with 0.5 MED of UV-A and two product test sites, which were treated with cream formulations containing 1% and 3% Herba- Protect NOX, 5 minutes after the irradiation. The ICL signals were measured prior to the irradiation ( $t_0$ ) as well as 15 min. and 120 min. after the irradiation. Results are shown in Fig. 3.

- 修正した UV-A ストレス ICL-S プロトコル
- 0.5 と 1 MED UVAによる肌ストレス  
MED: Minimal Erythema Dose(最小紅斑量)
- 20 名の被験者 (白人)
- 照射から5 分後:  
HP<sub>NOX</sub> 配合クリーム (1% と 3%) 使用
- $t_0$ , 15min 後と 120 min 後でICL-S 測定



# HerbaProtect NOX: Efficacy tests

試験: induced chemiluminescence (*in vivo*) (0.5MED)



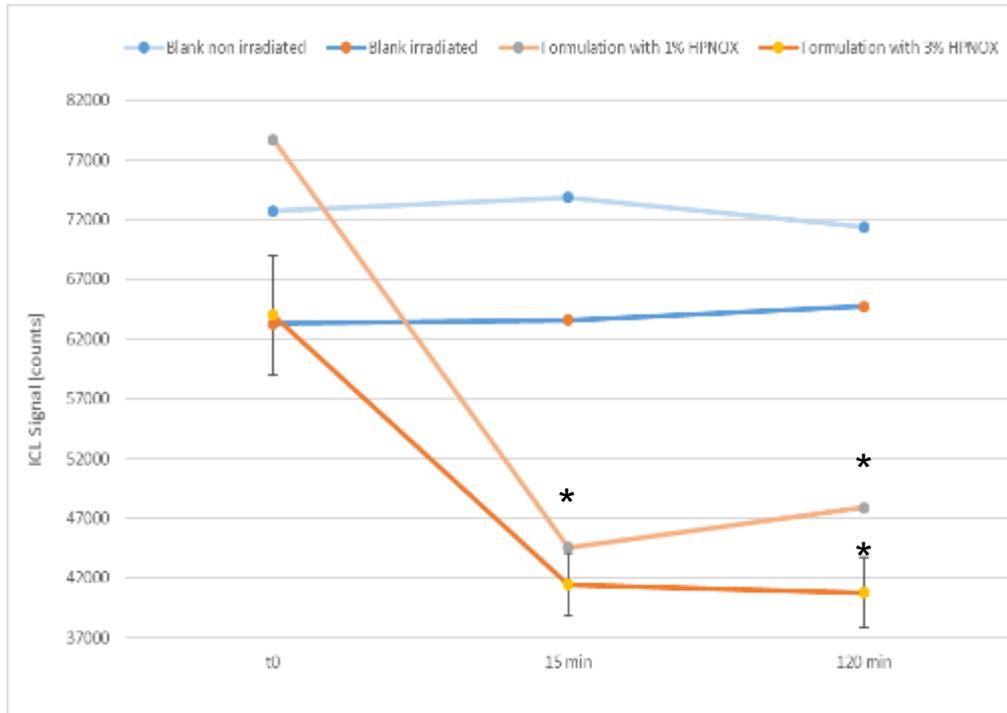
- 即効的かつ濃度依存的効果
- 15分後: 38% 減少
- 2時間後: 44% 減少 (3% HP<sub>NOX</sub>)  
45% 減少 (1% HP<sub>NOX</sub>)



ICL シグナルの減少は肌の高い抗酸化能とラジカル関連反応の少なさを示している

# HerbaProtect NOX: Efficacy tests

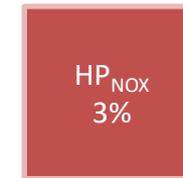
## Efficacy tests: induced chemiluminescence (*in vivo*) (1 MED)



即効的かつ濃度依存的効果

15分後: 39% 減少

2時間後: 39% 減少 (3% HP<sub>NOX</sub>)  
36% 減少 (1% HP<sub>NOX</sub>)



ICL シグナルの減少は肌の高い抗酸化能とラジカル関連反応の少なさを示している

# Take Home Message

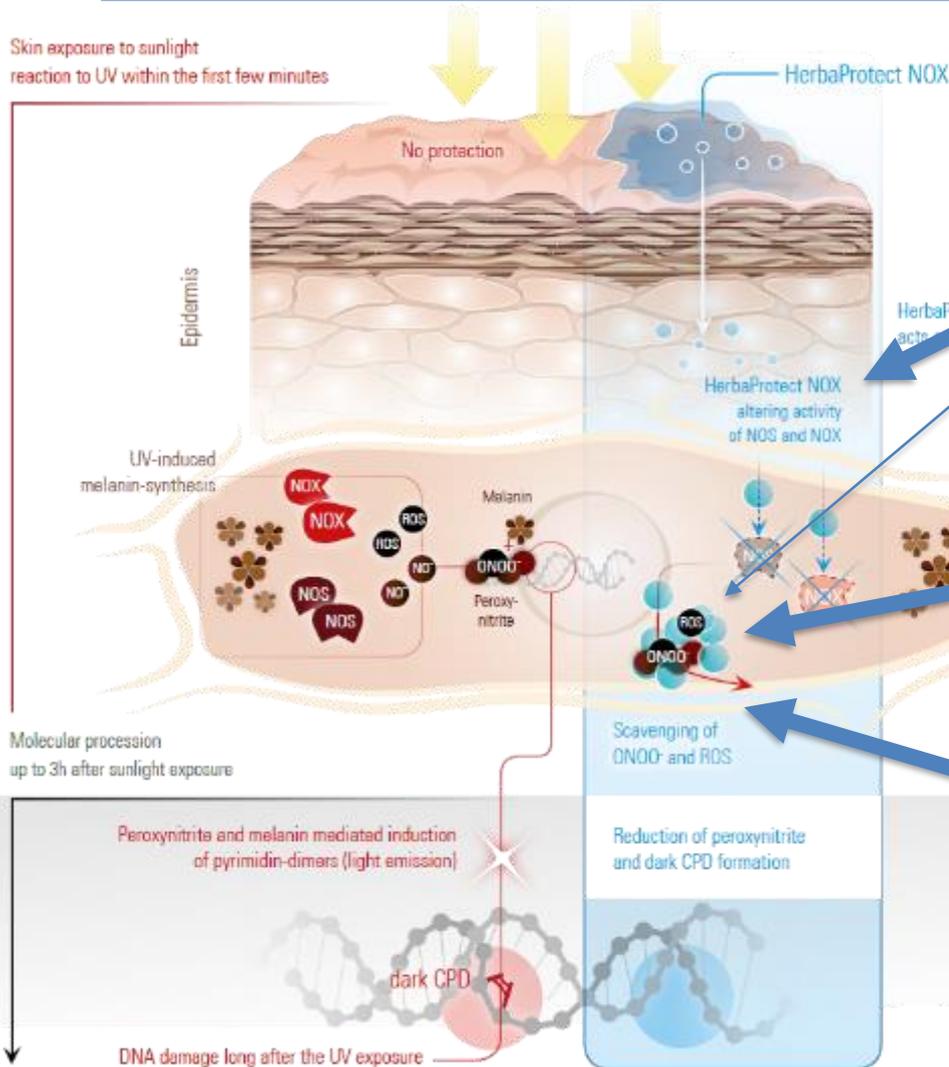
---

- UVIによる肌のダメージは日光に当たった数時間後でもまだ発生する
- この現象のメカニズムは活性酸素種, 酸化窒素, ペルオキシ亜硝酸形成からなる
- Herbaprotect NOX の原料は酵素やこれら活性分子の形成を阻害する
- Herbaprotect NOX を *in vitro* と *in vivo* にて試験した
- *In vitro*: Herbaprotect NOX は過酸化化物やペルオキシ亜硝酸による細胞内ストレスをそれぞれ60%と20%抑制した
- *In vivo*: Herbaprotect NOX は塗布から数時間後においても肌の抗酸化能を著しく向上させることができた

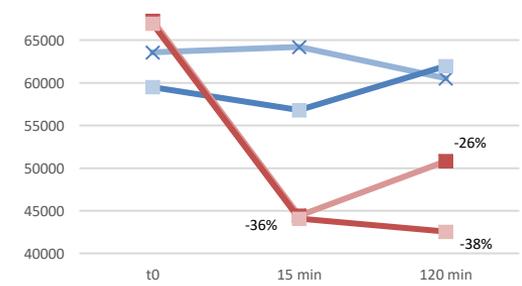
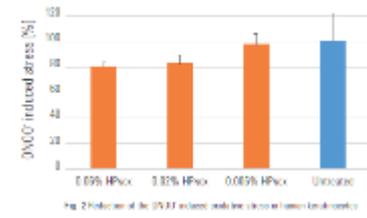
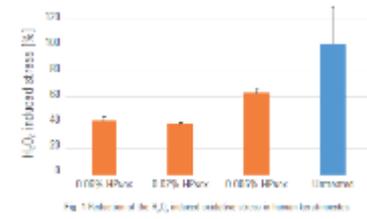
# HerbaProtect NOX: サマリー



ラジカル形成の阻害  
抗炎症効果



ラジカルの中和  
(in vitro)



抗酸化能の向上  
(in vivo)

# 製品情報

---

- UVによる肌ダメージを防ぐ
- サンバーンの抑制とスージング
- 光老化の減速

INCI: Glycerin, Water/Aqua, Punica Granatum Flower Extract, Perilla Frutescens Leaf Extract, Terminalia Ferdinandiana Fruit Extract

表示名称: グリセリン, 水, ザクロ花エキス, エゴマ葉エキス, テルミナリアフェルジナンジアナ果実エキス

## 安全性

- 光毒性なし (OECD 432)
- 皮膚刺激なし (5%でのSPT, single patch test)
- 変異原性なし (Ames test – OECD 471)
- アレルゲンなし (現在のEU Cosmetic Regulation)
- 眼刺激ややあり (2.5%でのHET CAM)



COSMOS  
APPROVED

China INCI  
China REACH

ABS  
Statement

Halal

# 有用な組み合わせ: UV フィルターと Herbaprotect NOX

**DOUBLE DEFENSE**  
AGAINST PREMATURE AGING

90% OF VISIBLE AGING IS CAUSED BY ENVIRONMENTAL DAMAGE.  
**SUNSCREENS ARE NOT ENOUGH.**

**ANTIOXIDANT INSIDE**  
PREVENTS AGE-INDUCING FREE RADICAL SKIN DAMAGE

**SUNSCREEN OUTSIDE**  
PROTECTS AGAINST HARMFUL UV DAMAGE

CONTACT YOUR SKINCEUTICALS ACCOUNT EXECUTIVE FOR MORE INFORMATION

# Take Home Message

---

- UVによる肌のダメージは日光に当たった数時間後でもまだ発生する
- この現象のメカニズムは活性酸素種, 酸化窒素, ペルオキシ亜硝酸形成からなる
- Herbaprotect NOX の原料は酵素やこれら活性分子の形成を阻害する
- Herbaprotect NOX を *in vitro* と *in vivo* にて試験した
- *In vitro*: Herbaprotect NOX は過酸化化物やペルオキシ亜硝酸による細胞内ストレスをそれぞれ60%と20%抑制した
- *In vivo*: Herbaprotect NOX は塗布から数時間後においても肌の抗酸化能を著しく向上させることができた
- HerbaProtect NOX はUVによる肌ダメージを防ぎ, サンバーンの効果を抑制し, 光老化も減速させることが可能
- Herbaprotect NOX はSun Care, After Sun Care とアンチエイジング製品への応用が可能

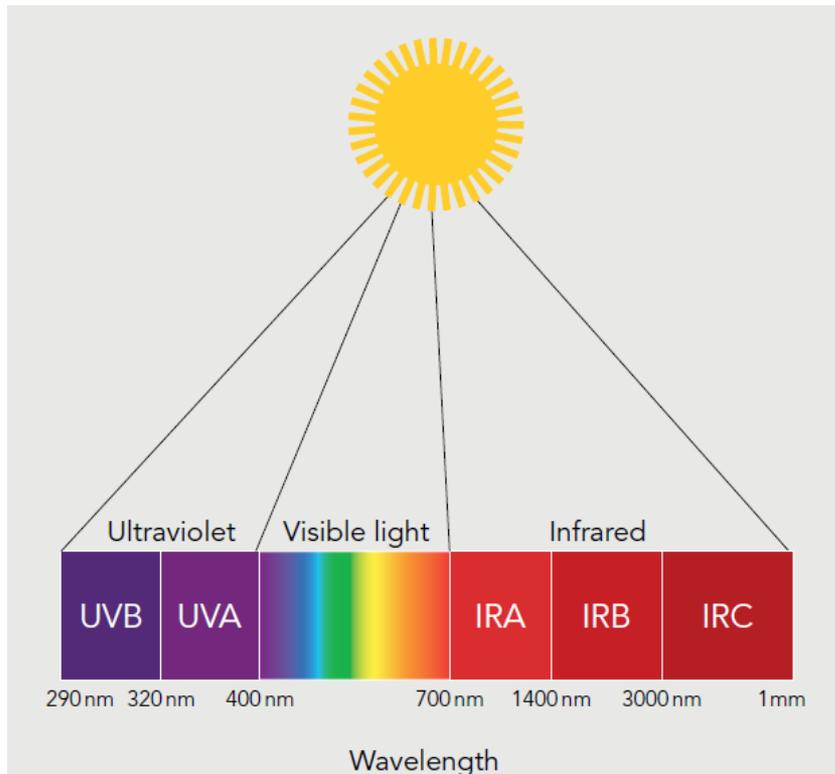


# InfraGuard

## Powerful protection against infrared and blue light



# Infrared (赤外) – サンスクリーン剤でブロックされないフリーラジカルの源



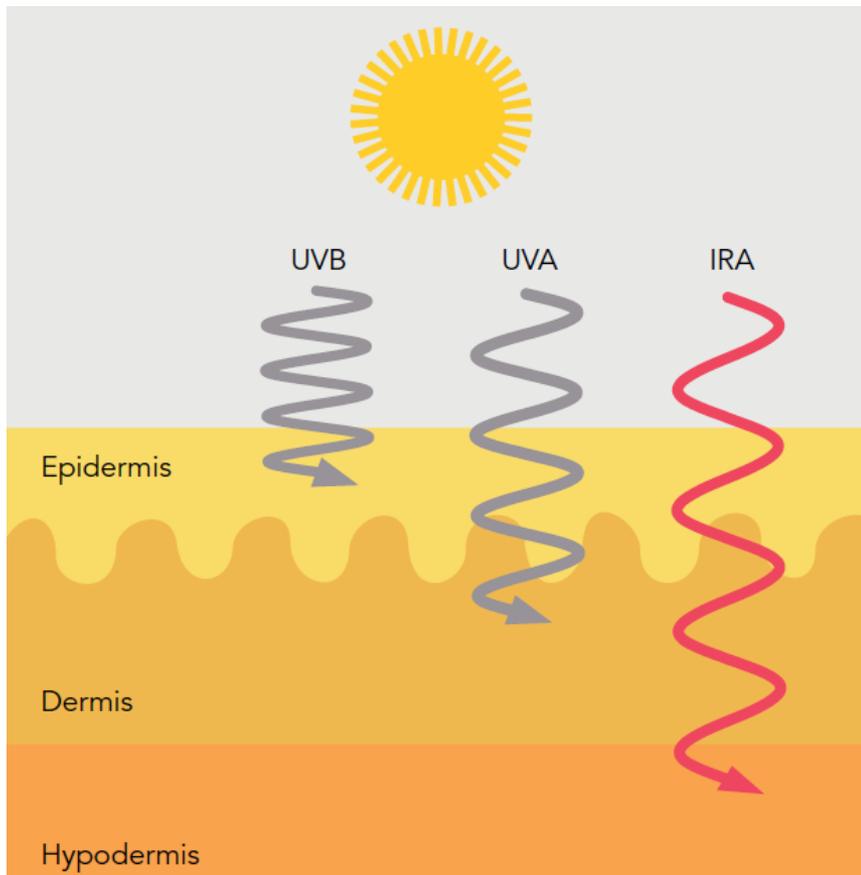
近年の研究では下記のことわかっている。

- IR, 特に近赤外 (near IR ; IRA)は真皮内でフリーラジカル産生を誘発し、肌の抗酸化能を低下させてしまう\*
- フィルターもIR反射剤も含まないサンスクリーン製品ではIRにより引き起こされるフリーラジカル形成を防ぐことは出来ない\*\*

\*Schroeder et al., Infrared A Radiation Effects on the Skin, 2011

\*\*Dupont et al., Beyond UV radiation: A skin under challenge, 2013

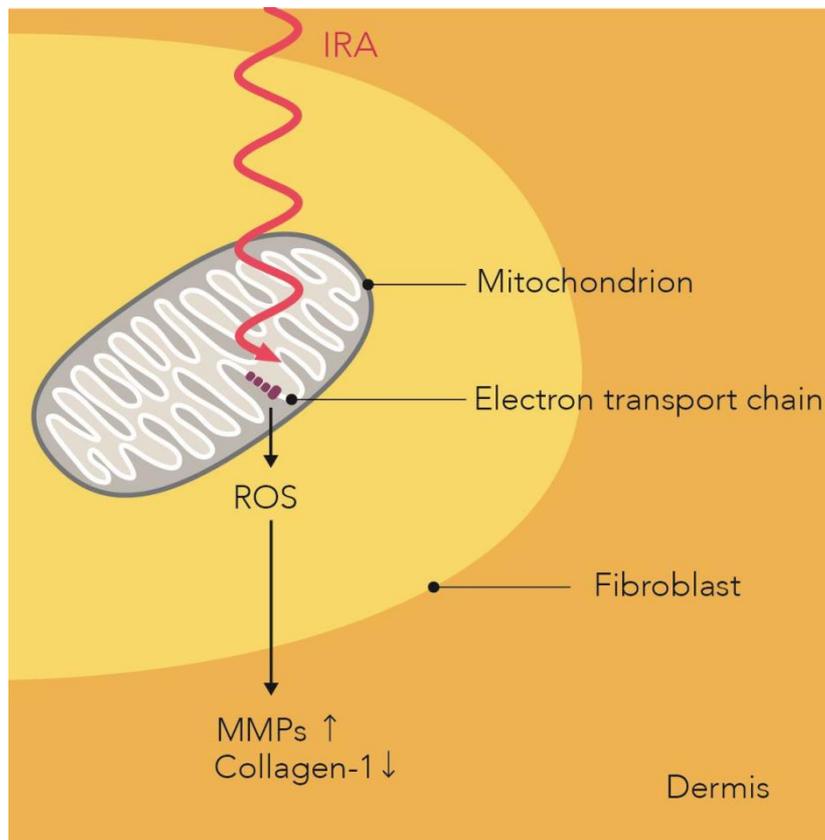
# Near Infrared (近赤外 ; IRA) は肌深くに透過する



- 肌に届く日光照射: UV 7%, 可視光 39%, IR 54%\*\*
- IR はヒトの目では見えないが熱として感じる事が可能
- IRA は肌深くまで浸透 (2/3は真皮に届く)

\*Schroeder et al., Infrared A Radiation Effects on the Skin, 2011 \*\*Dupont et al., Beyond UV radiation: A skin under challenge, 2013

# 肌細胞における IRA の影響



IRA はミトコンドリア中の **electron transport chain** (電子伝達鎖 ; ETC) によって吸収され, これらのオルガネラ内で主に活性酸素種 (Reactive Oxygen Species ; ROS) の形成を招く (UVとは異なり, 細胞膜内でROSを産生する)

→ MMP-1 発現の上昇 → Collagen-1 の破壊

→ Collagen-1 の下方制御

→ 光老化: 肌のハリ, 弾力や密度の減少

ETC がダメージを受けて細胞がエネルギー (ATP) を産生できなくなる

# ヒマワリ

## – エネルギー, 完全性, 長寿の象徴



- ヒマワリは太陽の方を向き, パワーや温かさや豊富な栄養, 太陽に起因する象徴である
- 中国ではヒマワリは長寿の象徴である
- インカ人はヒマワリの魔法は幾何学的な完全性に由来し、王家のエンブレムにも使用した

# ヒマワリ

## – エネルギー, 完全性, 長寿の象徴



- 芽は植物の成長に必要な全ての栄養分を含んでいる
  - 芽は木質化されない
- 非常に栄養価が高く脆弱で動物にとって魅力的
- 芽は高濃度の保護成分 (病気, ダメージ, 病原菌, 過度なUV, 汚染や草食動物に対するもの)をもつ
- 化粧品用植物エキスとして理想的

# ヒマワリの芽



Mibelle社のオーガニックヒマワリ芽エキスは次のことが分かっている

- 線維芽細胞における H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- による酸化ストレスからコラーゲンを保護 (gene array 分析, データは非公開)
- ミトコンドリアの一般的機能をサポート (主にストレスや老化に対抗するエネルギー産生) → 次のスライド

# Tara Tannins, 強力な抗酸化剤



- *Caesalpinia spinosa* (tara) から抽出したタンニンは高い効能と安定性を持ち合わせた抗酸化剤である
- Tara はペルーのアンデス地方に由来する小さなLeguminous (マメ科) の木
- TaraのPod (鞘) は主な構成成分としてGallic acid (没食子酸) をもつ加水分解タンニンが非常に豊富である
- 感染症治療や治癒向上のための伝統医薬として利用されていた
- タンニンは抗菌作用と収斂作用を持ち、効果的な抗酸化剤かつ金属イオンキレート剤である

# InfraGuard

## 組成

INCI (標準の液体タイプ)

Caesalpinia Spinosa Fruit Pod Extract / Caesalpinia Spinosa Fruit Extract	1.5%
Propylene Glycol	30%
Helianthus Annuus (Sunflower) Sprout Extract	0.39%
Sodium Benzoate	0.12%
Phenoxyethanol	1.0%
Water	ad 100%

表示名称 (標準の液体タイプ)

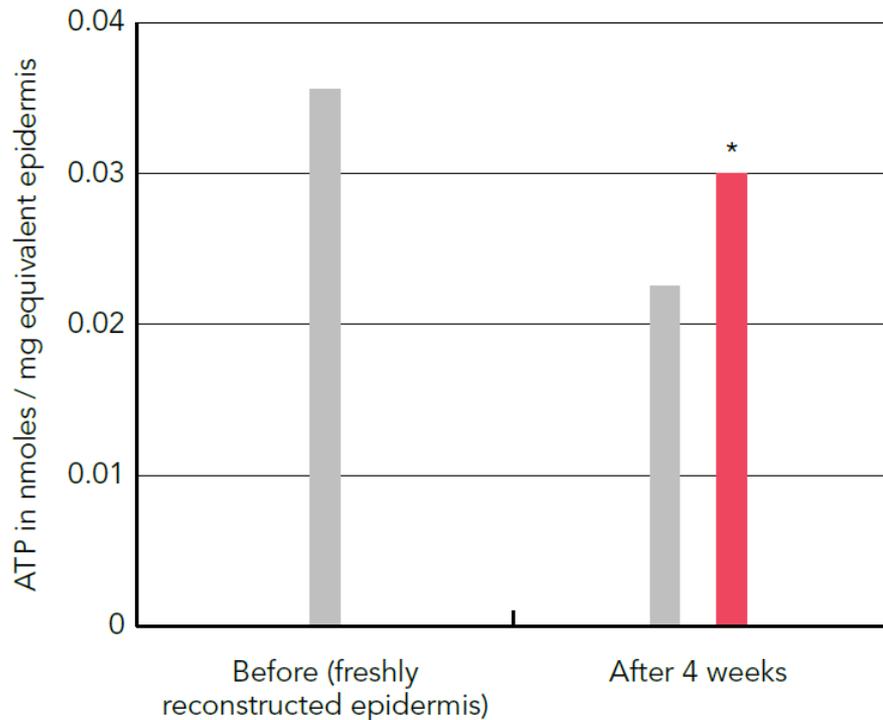
カエサルピニアスピノサ莢エキス, PG, ヒマワリ芽エキス, 安息香酸Na, フェノキシエタノール, 水

2倍濃縮の粉末タイプ (マルトデキストリン使用) もあり - InfraGuard pwd  
マルトデキストリン, 水, カエサルピニアスピノサ莢エキス, ヒマワリ芽エキス

# ヒマワリ芽エキスのミトコンドリア におけるエネルギー供給効果



■ Control ■ Sunflower sprout extract



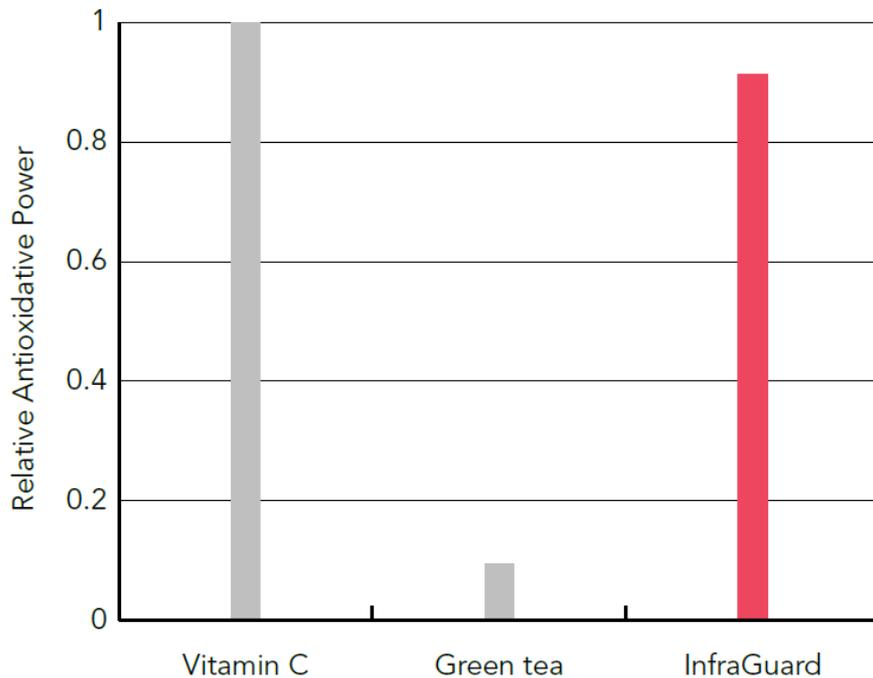
\*p<0.01 versus control 4 weeks

- 初代ヒトケラチノサイトを用いて表皮を再構築
- 表皮サンプルを+/- 2% ヒマワリ芽エキス含有の培地中で4週間培養
- ミトコンドリアによるATP産生測定: Biovision ® assay kit (比色定量)



ヒマワリ芽エキスは老化に対抗するためのエネルギー産生能を細胞が維持するのを助ける

# InfraGuard 高い抗酸化活性を示す



## InfraGuardの抗酸化力

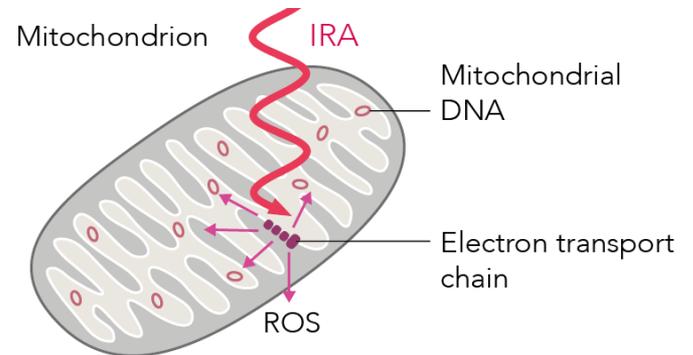
DPPH (diphenyl-picryl-hydrazyl, 安定なラジカル)を減少させる能力を測定するために電子スピン共鳴分光法を利用。InfraGuard (dry matters) をピュアなビタミンC と緑茶と比較した。



**InfraGuard** はビタミンCとほぼ同等の活性を示し（ただしビタミンCは不安定）、緑茶よりも非常に効果的であった。  
→ **InfraGuard** は効果的で安定な抗酸化剤

# IR 照射後のミトコンドリアの完全性の保護

IR 照射はミトコンドリア内で強い酸化ストレスを引き起こす



→ Electron transport chain (ETC) の機能障害

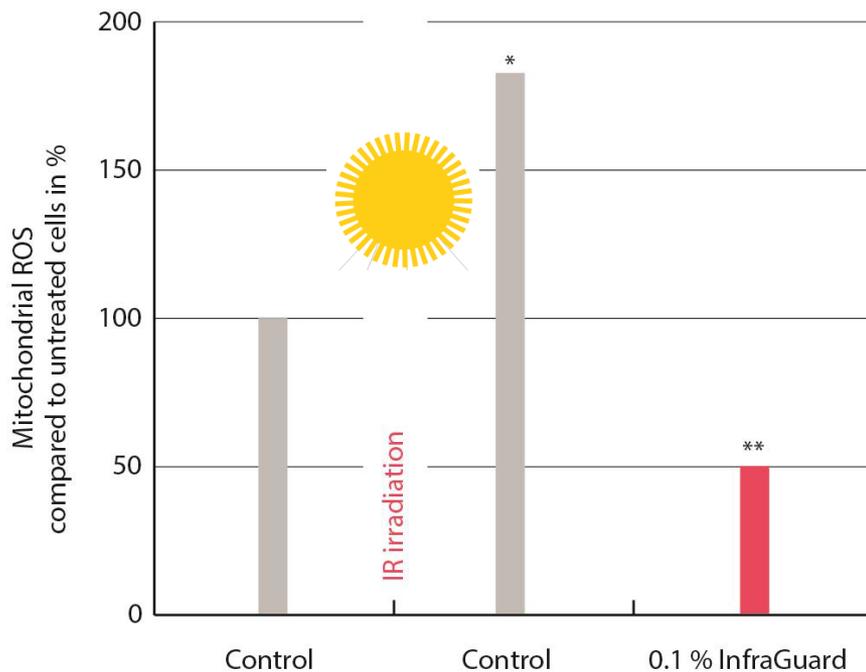
→ 細胞内 ROS が形成

→ 特にvulnerableなミトコンドリアDNA がダメージを受ける (ETCへの近接, ヒストンの欠如, 修復能が限定)

InfraGuardを用いた2つのin vitro試験では次の効果が確認された:

1. ミトコンドリア内のROS形成の阻害
2. ミトコンドリア内のDNA分解の防止

# 1. IRによるダメージ (ROS) からのミトコンドリアの保護



\*p<0.05 versus unirradiated control  
\*\*p<0.01 versus irradiated control

## 試験デザイン

ヒト初代線維芽細胞を +/- 0.1 % InfraGuard の条件下で1時間 IR照射 (140 W/cm<sup>2</sup>, 33 °C)

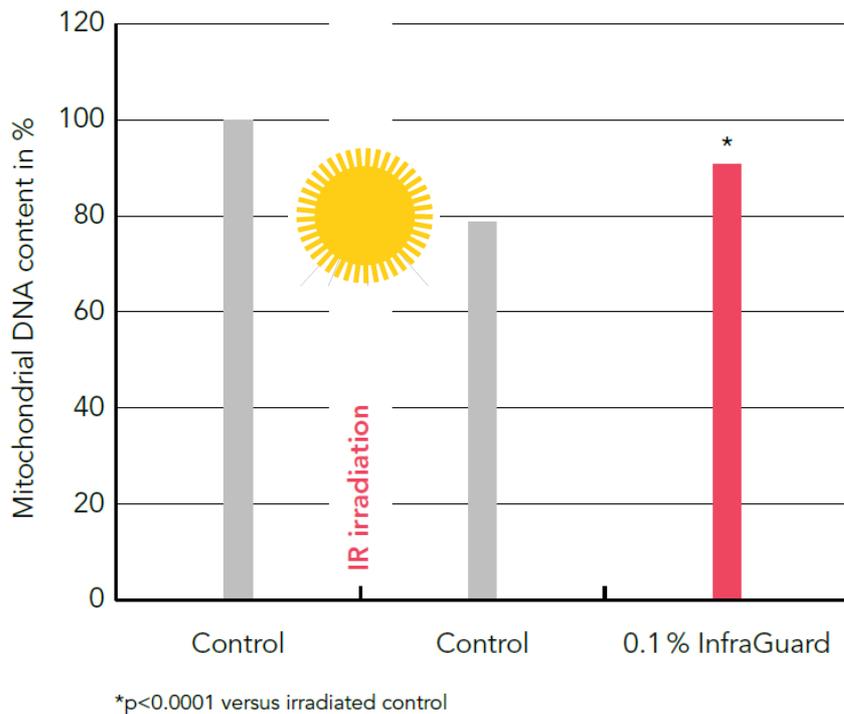
## パラメーター

蛍光色素を用いた生細胞中のミトコンドリア ROS 産生に対する Active 原料の抗酸化能



- IR照射後のミトコンドリア ROS 産生の明らかな上昇 (+82.1 %)
- **InfraGuard strongly**はミトコンドリア内でROSを強かに減少させた (IR未照射の細胞と比較しても -50 %)

## 2. IRによるミトコンドリア中のDNA含量減少の阻害



### 試験デザイン

ヒト初代線維芽細胞を +/- 0.1 % InfraGuard 条件下で24時間インキュベートした後, IRを1時間照射 (140 W/cm<sup>2</sup>, 33 °C)

### パラメーター

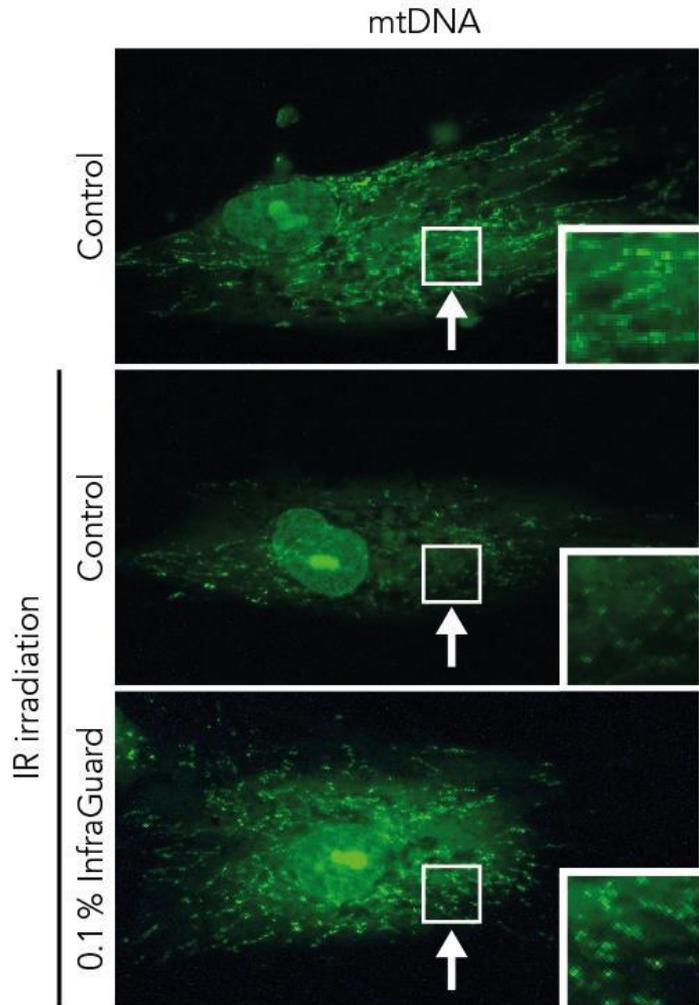
ミトコンドリアDNA含量 → ミトコンドリアDNAを蛍光色素で標識して画像測定 → 定量



IR照射はミトコンドリアDNA含量の減少を招く (-21 %)

**InfraGuard** はこれらダメージをほぼ 60% 削減した

# InfraGuard はミトコンドリアDNAを保護



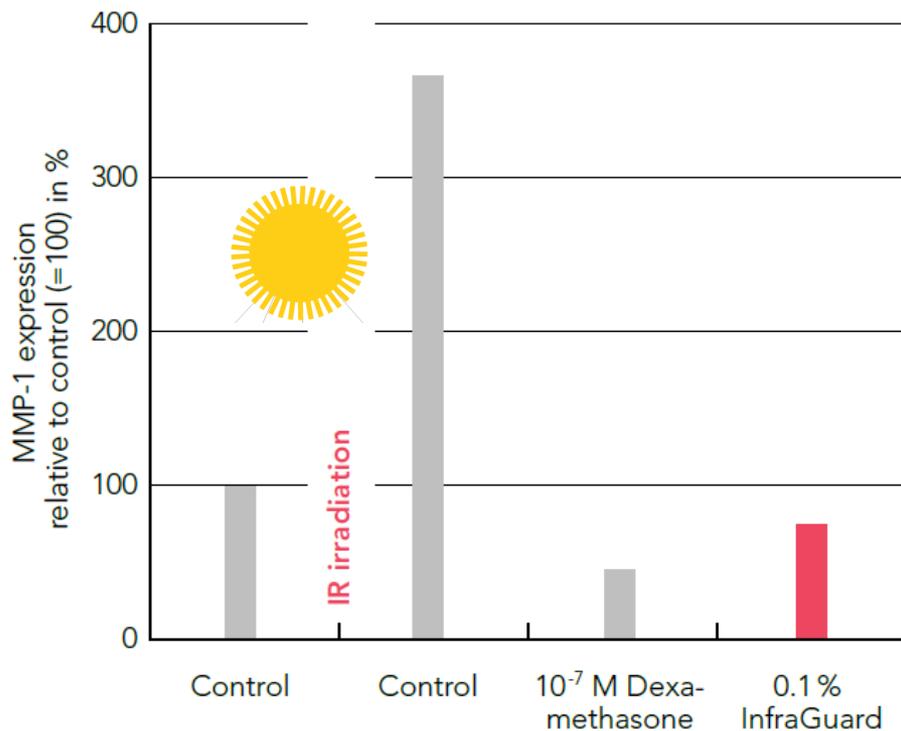
ミトコンドリア DNA 内の強力な減少



InfraGuard 存在下ではミトコンドリア DNA は保護される

Small green spots: Mitochondrial DNA labelled using a fluorescent dye.  
The oval structure in the middle is the cell nucleus with the chromosomes.

# InfraGuard はIR照射後にもMMP-1レベルを抑制



## 細胞培養:

ヒト真皮線維芽細胞

## 試験デザイン

IR 照射(654 J/cm<sup>3</sup>) +/- 0.1% InfraGuard

## パラメーター:

MMP-1 遺伝子発現 (RT-qPCR)



IR 照射はMMP-1 発現を強力に上昇させる

**InfraGuard** によって線維芽細胞は保護され、未照射の細胞よりも MMP-1 産生が少ない状態となった

# In Vivo 試験：IRによる光老化の防止

## 試料:

サンククリーム (SPF 30) + 2% InfraGuard, プラセボ

被験者: 32名 (白人, 女性26名, 男性6名; 36 – 61歳, 平均50.8歳), 日光に曝され暖かく天候の良い地域で2-6週間夏休みを取得した方

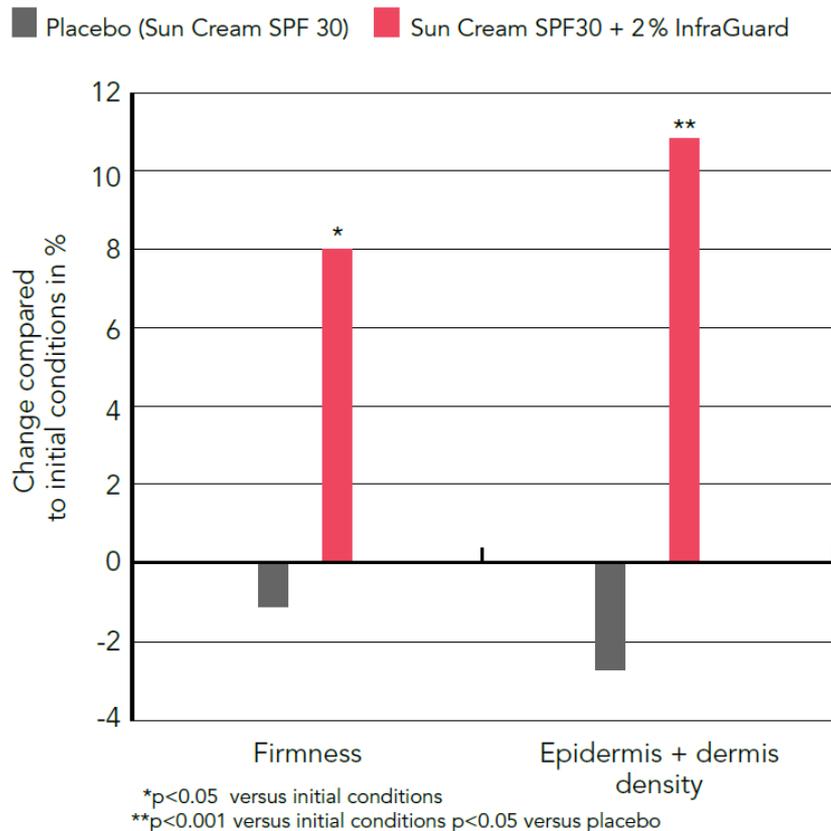
適用: 夏に海辺で休暇期間に少なくとも1日2度使用

地域: 前腕内側

## パラメーター:

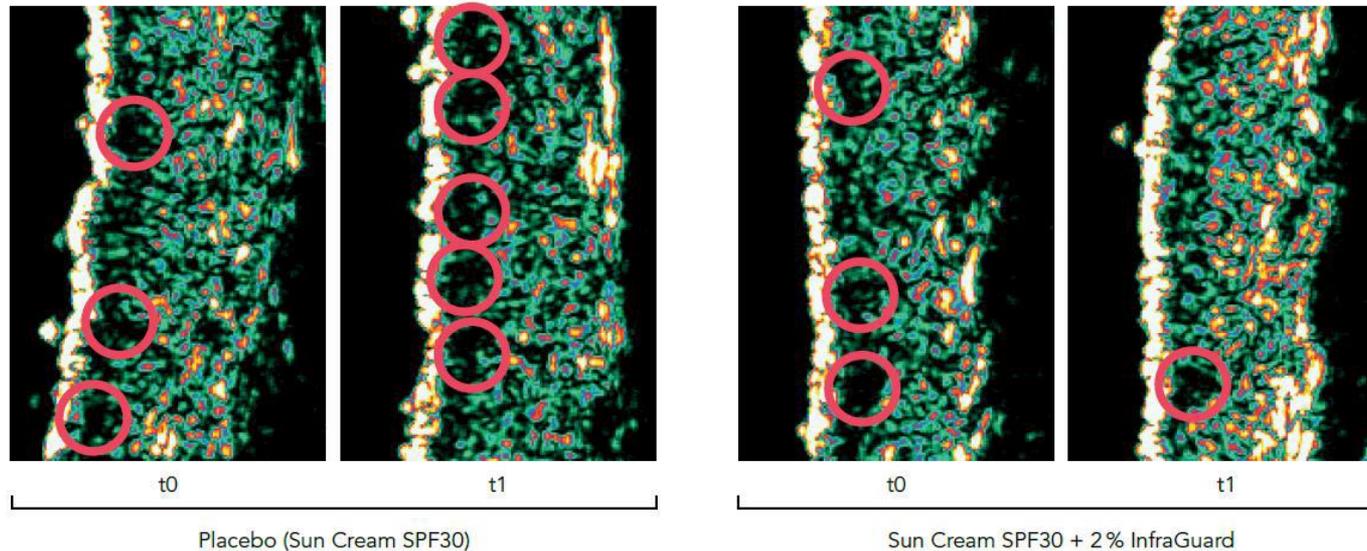
- 肌のハリ (reviscometer)
- 表皮 + 真皮密度 (ultrasonic measurements)

# 日光照射 (UV + IR) に対しての肌の質の向上



プラセボ (sun cream SPF30) を使用した前腕ではハリと密度の減少が見られた。  
SPF30 サンクリーム + 2% **InfraGuard** では肌のハリと密度の著しい上昇が見られた。

# 表皮 + 真皮 密度の向上



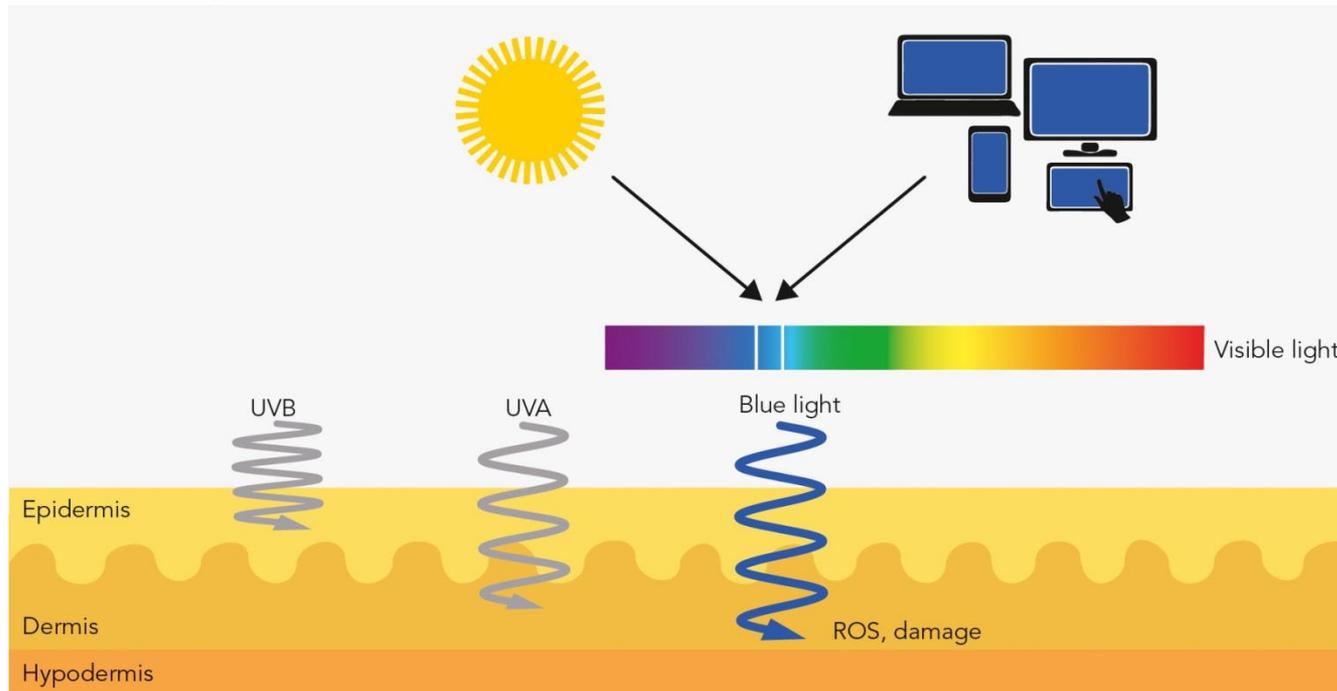
 = regions of low dermal density

S-416/© Mibelle Biochemistry

著音波イメージでは日光に曝された後に低密度を表す暗い部分が見られた (左側の写真, プラセボ, t1)。

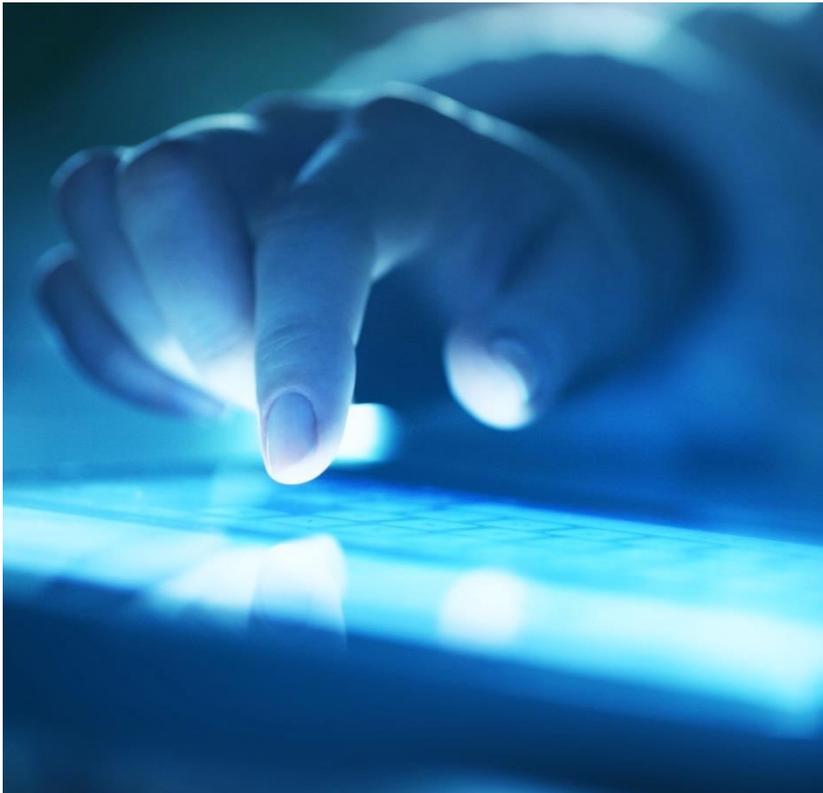
**InfraGuard** (右側の写真, t1) で処理した側では黒い部分がほとんど見られない。これはプラセボと比較して皮膚組織密度が向上したことを意味している。

# Blue Light (ブルーライト) からの保護



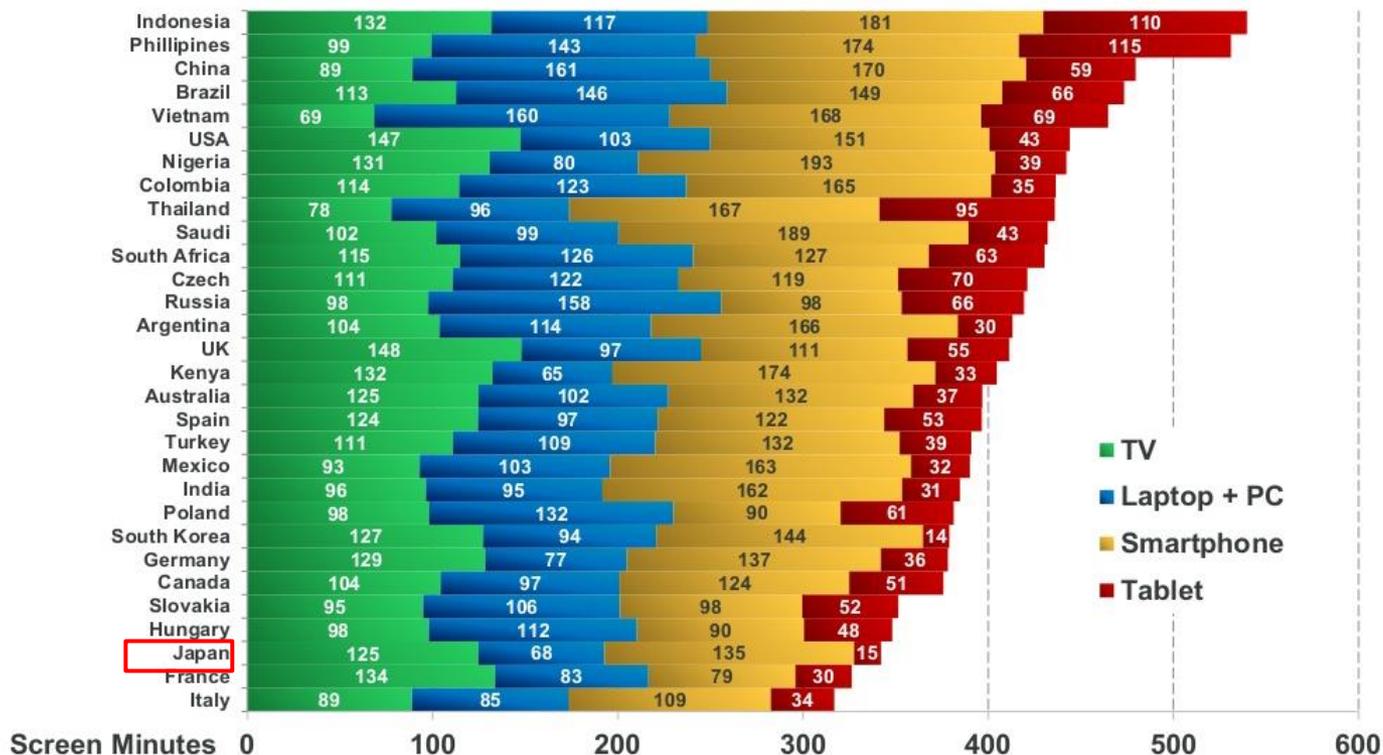
- ブルーライトはHigh-energy visible light (高エネルギー可視光線 : HEV) とも呼ばれる
- HEV = 390 nm - 500 nm の波長
- ブルーライトの光源: the sun digital screens (TV, コンピューター, ノートパソコン, スマートフォンやタブレット) といった電子デバイス, 蛍光LED, lighting。

# ブルーライトは睡眠に影響を与える



- 1960年代と比較すると人々の平均睡眠時間は2時間短くなった
  - 理由の1つはブルーライトを高濃度で発する電子スクリーンやLEDランプに曝されることが増えたこと
  - ブルーの波長はサーカディアンリズムを制御するホルモンであるメラトニンの阻害に最も効果的である
- ブルーライトによってサーカディアンリズムが崩壊
- 健康問題

# Daily Distribution of Screen Minutes Across Countries (2014)



# ブルーライトからの保護

ブルーライトから目を保護する製品やコンピュータースクリーン用の製品が出てきているが、肌のための化粧品としての解決策も必要

Screen



Functional food



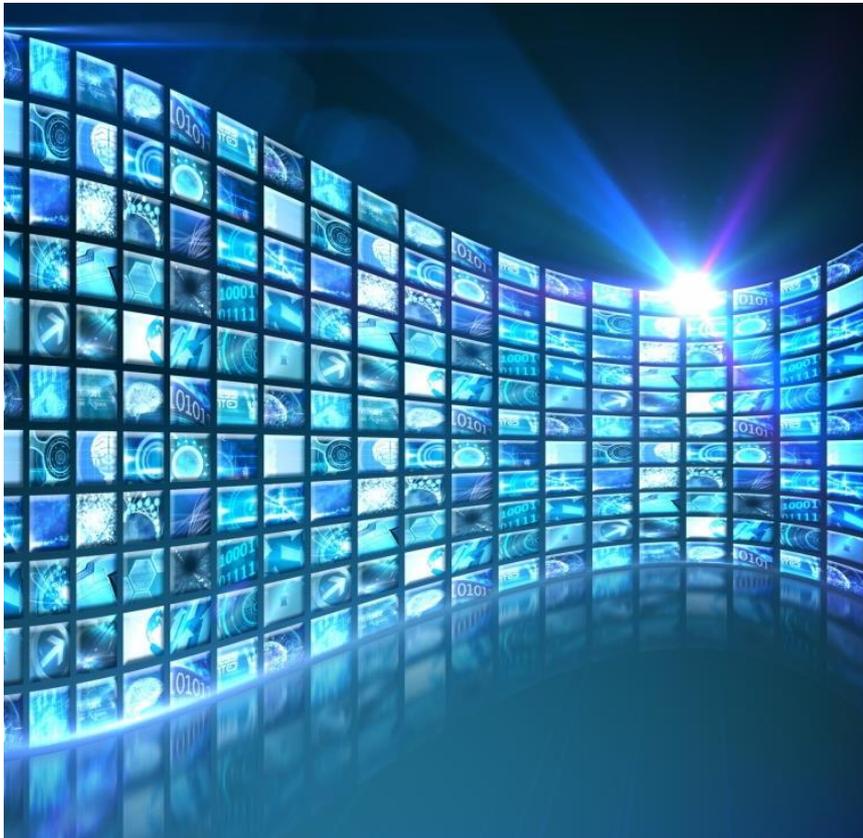
Lenses



Glasses

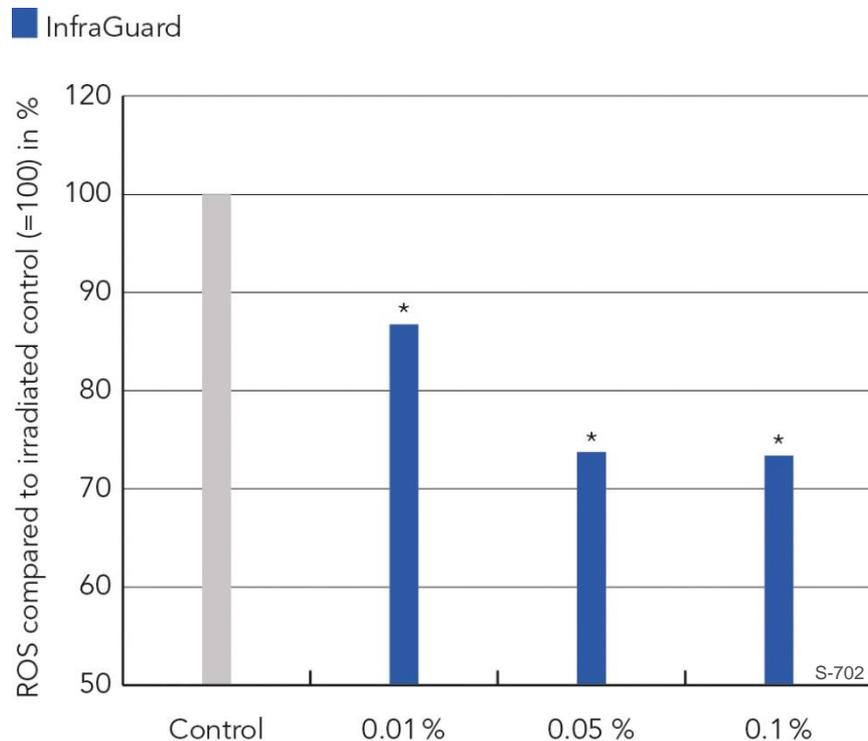


# ブルーライトは我々の肌にどのように影響するの？



- ブルーライトは肌内でReactive oxygen species (活性酸素種 : ROS) を生み出す
- ROS は肌の老化に関する酸化ダメージの要因である
- ブルーライト照射は肌バリアの修復を遅らせることが判明した (Denda & Fuziwara, 2008)

# InfraGuard はブルーライトから線維芽細胞を保護



\*p<0.0001 versus irradiated control

## 試験デザイン

正常ヒト真皮線維芽細胞へHEV光を2時間照射 (48.2 J/cm<sup>2</sup>, 420 – 500 nm)

+/- 0.1 % / 0.05 % / 0.01 % InfraGuard

## パラメーター

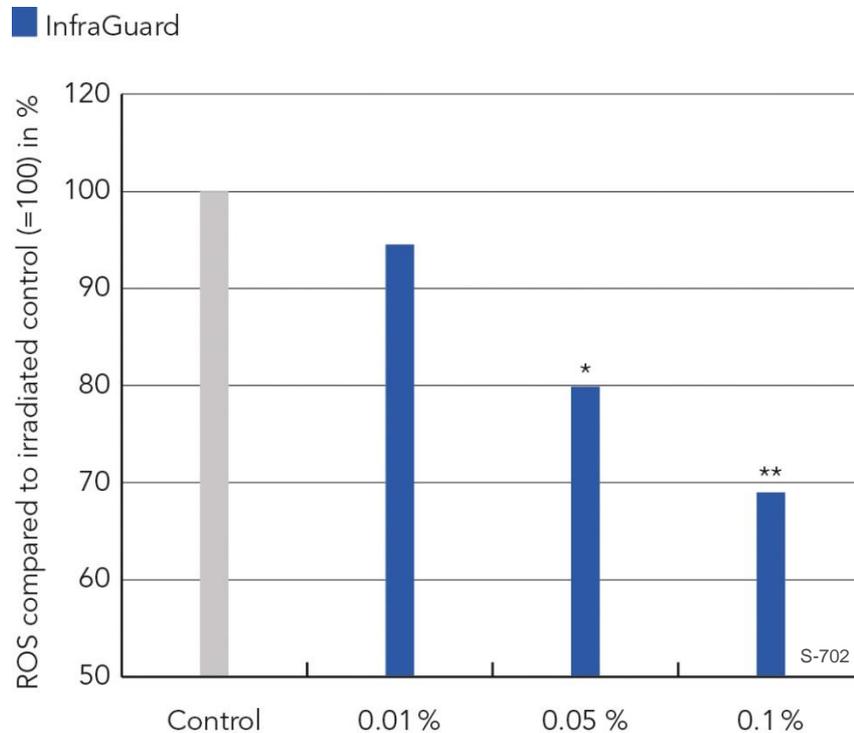
蛍光性センサーを利用して生細胞中の細胞活性酸素種(ROS) 産生に対するActive原料の抗酸化能を測定



→ HEV光照射 後にROS産生が明らかに増加 (43-fold)

→ **InfraGuard** は照射した細胞内のROS産生を著しく抑制した

# InfraGuard はブルーライトからケラチノサイトを保護



\*p<0.01 versus irradiated control  
 \*\*p<0.0001 versus irradiated control

## 試験デザイン

正常ヒト表皮ケラチノサイトにHEV光を2時間照射 (48.2 J/cm<sup>2</sup>, 420 – 500 nm)  
 +/- 0.1 % / 0.05 % / 0.01 % InfraGuard

## パラメーター

蛍光性センサーを利用して生細胞中の細胞活性酸素種(ROS) 産生に対するActive原料の抗酸化能を測定



→ 照射後にROS産生が明らかに増加 (62-fold)

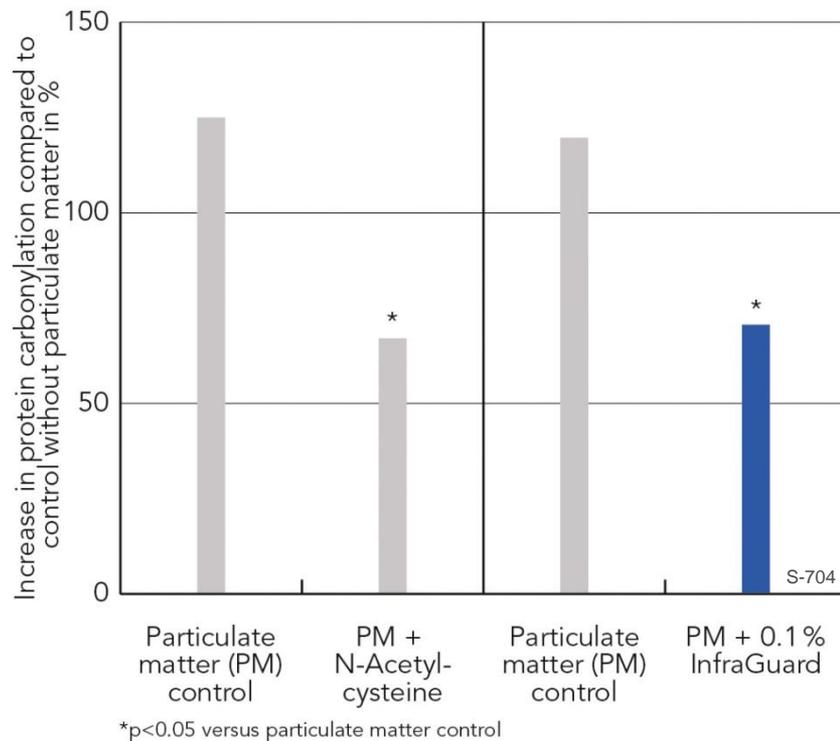
→ **InfraGuard** は0.05%と0.1%濃度で照射細胞内のROS産生を著しく抑制した

# 肌における大気汚染の有害性



- 環境汚染物質は肌の老化に影響を与える
- 大気汚染物質はガスや微粒子 (particulate matter, PM) からなる
- PM は肌に浸透し炎症や肌の老化を引き起こすROSの産生要因となりうる

# Anti-Pollution 効果: Particulate Matter (粒状物質) に対する保護



## 試験デザイン

正常ヒト真皮線維芽細胞をInfraGuardと粒状物質 (PM)で処理したものと未処理 (PM control) を用意。N-Acetylcysteine をポジティブコントロールとした。

## パラメーター

汚染物質による酸化ダメージのマーカーとしてタンパクのカルボニル化を測定



InfraGuardで処理した細胞ではカルボニル化タンパクが著しく抑制された

# InfraGuard の訴求点・応用・マーケティング 上の利点



## 応用

- サンケア
- ブルーライトプロテクト製品
- 先進的抗酸化処方
- エネルギー供給製品

## 訴求点

- ミトコンドリア DNAの保護
- IRとブルーライトによるフリーラジカル形成のブロック
- 光老化の阻害 – 深い肌の層においても
- 肌密度減少の防止



## マーケティング上の利点

- 3 in 1: 近赤外, ブルーライト, ポリユーション (汚染物質) 保護
- SPF処方へvalue/unique selling propositionを付加
- 都市汚染やデジタル汚染からの保護
- 臨床試験済み
- Innovation prize winner 2017



# InfraGuard/KeraGuard

## Powerful protection and repair for hair

# The Hair Paradox

- 正常なキューティクルは滑らか → 光反射
- キューティクル層が薄いほど毛髪をより壊れやすくする傾向にある
- 線維内部は親水性アミノ酸残基を含有するため、キューティクルの表面は疎水性であるにも関わらず毛髪は水分を吸収する → “hair paradox”



# Hair is Submitted to Regular Weathering

毛髪の変色は外的ストレス因子によるダメージである:

- 汚染物質 (煙, タバコの煙等々)
- 日光, 風, 海水 (コーミング, ドライヤーによるブロー, 過剰な加熱)
- 極端な化学的処置 (パーマやブリーチ)
- 物理的ストレス (コーミング, ドライヤーによるブロー, 過剰な加熱)
- シャンプーやコンディショナー

→ フリーラジカルとROS

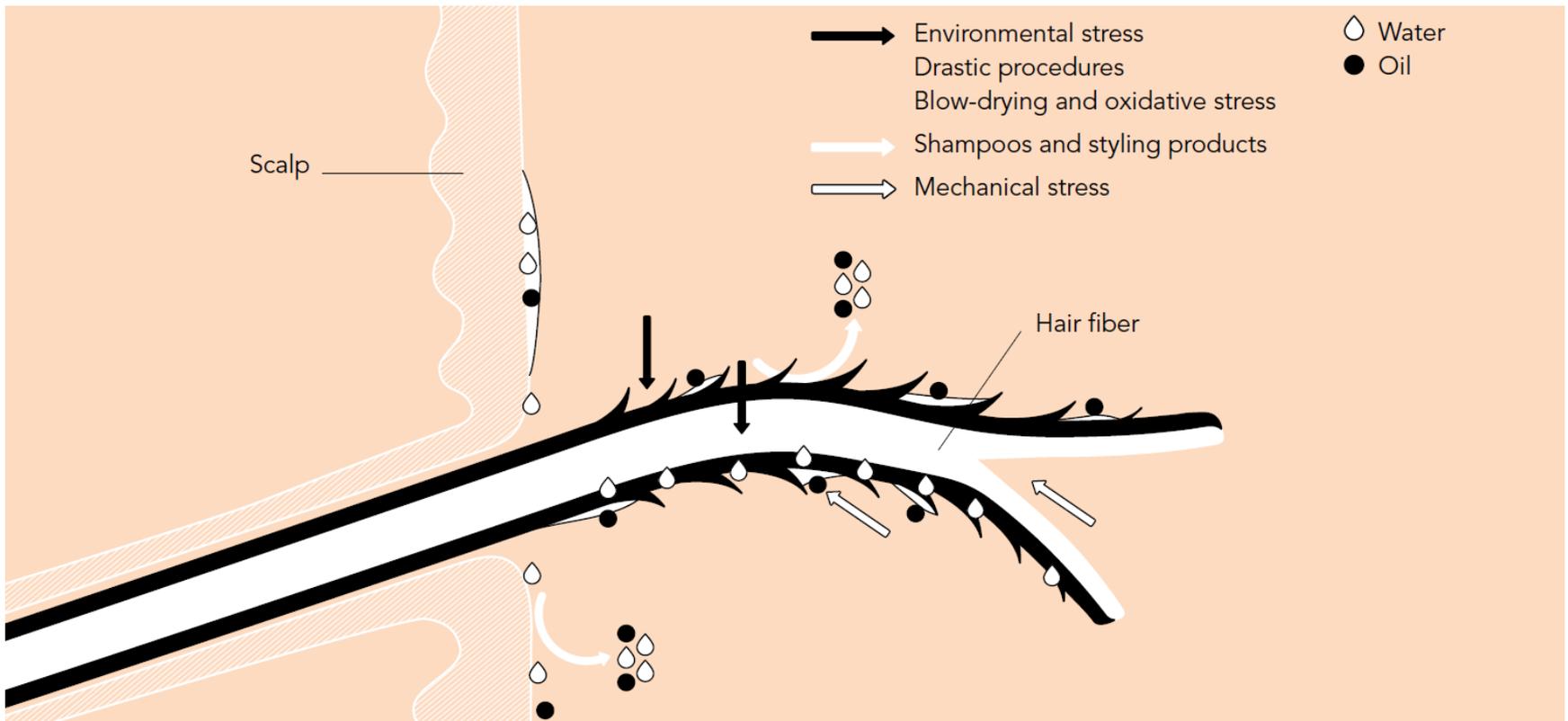
→ 毛髪表面のタンパク質と脂質が酸化されて分解される

→ 毛髪の脱水

→ 毛髪の構造成分であるジスルフィド結合を破壊

→ 毛髪の破壊と退色・脱色

# Hair Weathering: Stress Factors that Damage the Hair

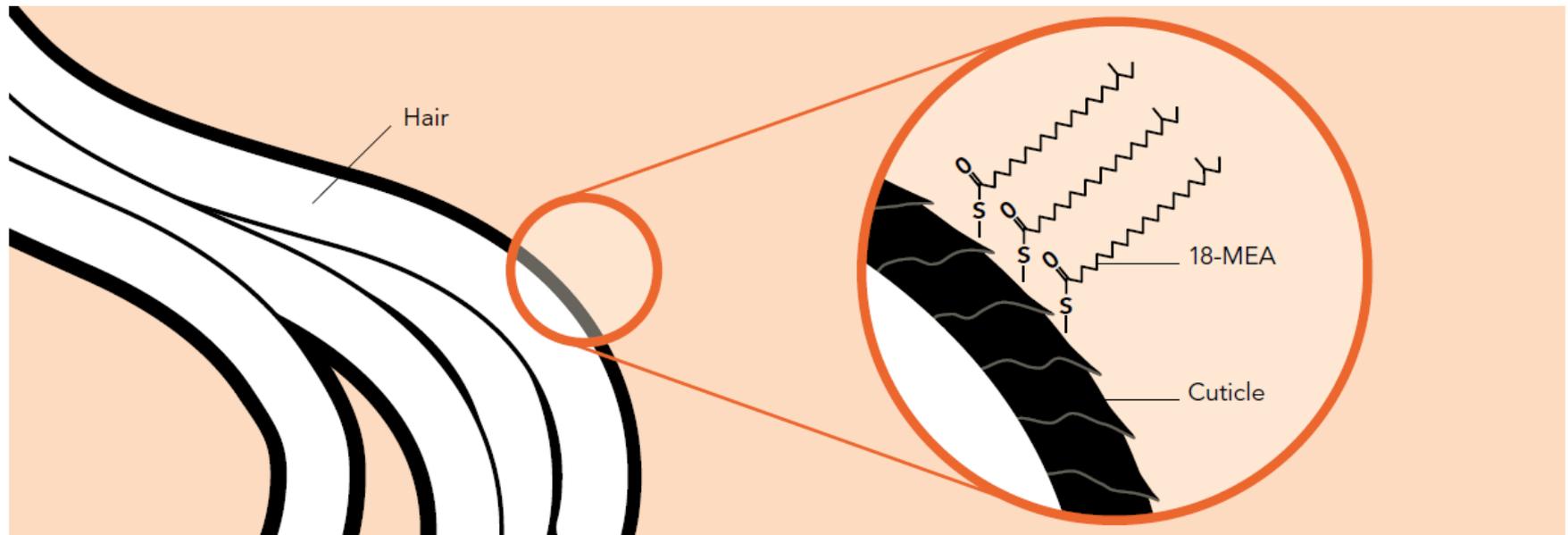


# The F-Layer (Fatty Layer)

- 天然コンディショナーとして機能する耐水性脂質膜
- 目に見えないようにキューティクルをカバー
- ヒトの髪に滑らかさとシルキー感を与える
- 主に18-methyleicosanoic acid (18-MEA) となる



**Weathering stress** は F-layer を取り除き毛髪表面の疎水性を抑制してしまう → 毛髪の脱水等



# Hair Aging

Hair aging =

- 毛髪タンパク質の分解と消失
  - 毛髪色素 (pigment) の分解
- 毛髪がより多孔質になる → よりもろく、荒い感触、光沢がない状態になる

老化した毛髪はますます下記に敏感になる

- 還元剤や酸化剤
- UV照射や汚染物質 (フリーラジカルの源)

→ 毛髪は日常的に強化され、修復され、保護される必要がある

# InfraGuard/KeraGuard 組成

INCI (標準の液体タイプ)

Caesalpinia Spinosa Fruit Pod Extract / Caesalpinia Spinosa Fruit Extract	1.5%
Propylene Glycol	30%
Helianthus Annuus (Sunflower) Sprout Extract	0.39%
Sodium Benzoate	0.12%
Phenoxyethanol	1.0%
Water	ad 100%

**表示名称 (標準の液体タイプ) - InfraGuard/KeraGuard**

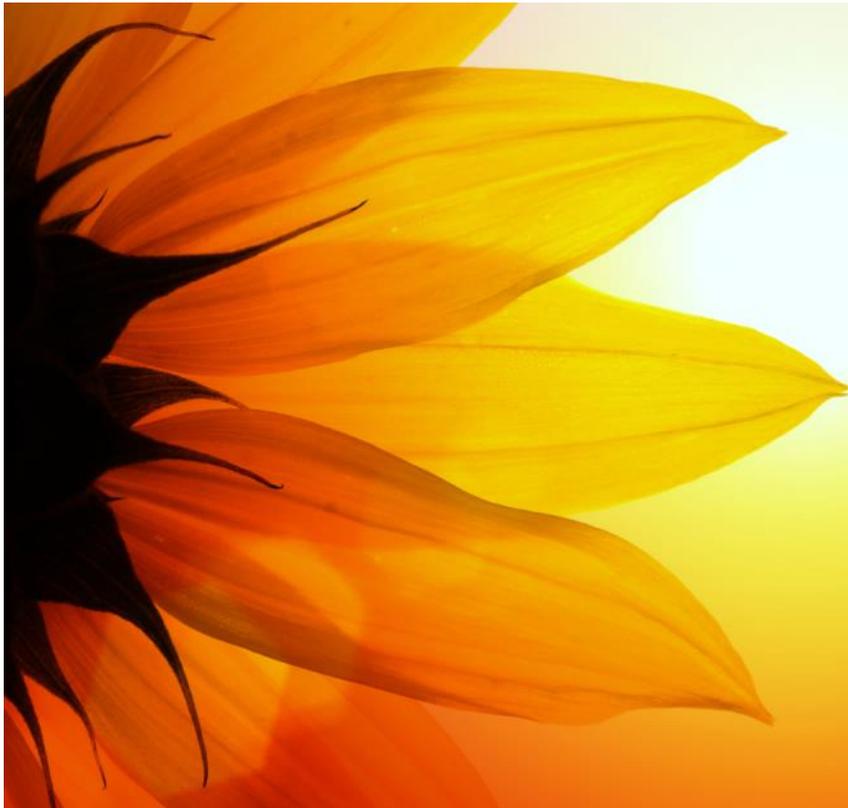
カエサルピニアスピノサ莢エキス, PG, ヒマワリ芽エキス, 安息香酸Na, フェノキシエタノール, 水

**2倍濃縮の粉末タイプ (マルトデキストリン使用) もあり - InfraGuard/ KeraGuard pwd**

マルトデキストリン, 水, カエサルピニアスピノサ莢エキス, ヒマワリ芽エキス

# ヒマワリ

## – エネルギー, 完全性, 長寿の象徴



- ヒマワリは太陽の方を向き, パワーや温かさや豊富な栄養, 太陽に起因する象徴である
- 中国ではヒマワリは長寿の象徴である
- インカ人はヒマワリの魔法は幾何学的な完全性に由来し、王家のエンブレムにも使用した

# Sunflower Sprouts



- 芽は植物の成長に必要な全ての栄養分を含んでいる
- 芽は木質化されない
  - 非常に栄養価が高く脆弱で動物にとって魅力的
  - 芽は高濃度の保護成分 (病気, ダメージ, 病原菌, 過度なUV, 汚染や草食動物に対するもの)をもつ
  - 化粧品用植物エキスとして理想的

# Tara Tannins, 毛髪におけるPro-Aging効果 に対する強力な抗酸化剤



- *Caesalpinia spinosa* (tara) はペルーのアンデス地方に由来する小さな Leguminous (マメ科) の木
- タラタンニンは高い効果を持つ抗酸化剤で強力なフリーラジカルスカベンジャーである
- タラタンニンはタンパク構造に結合して毛髪を保護することが可能

→ 毛髪の中和と修復作用

→ KeraGuard は健康で輝きのある毛髪を作り出す助けとなる

# ビタミンCに近い抗酸化力

## 相対的抗酸化力

相対的抗酸化力 = フリーラジカルを中和する力を測定

→ 高い抗酸化力は短い反応時間にもかかわらずフリーラジカルを中和する強い能力をもつ

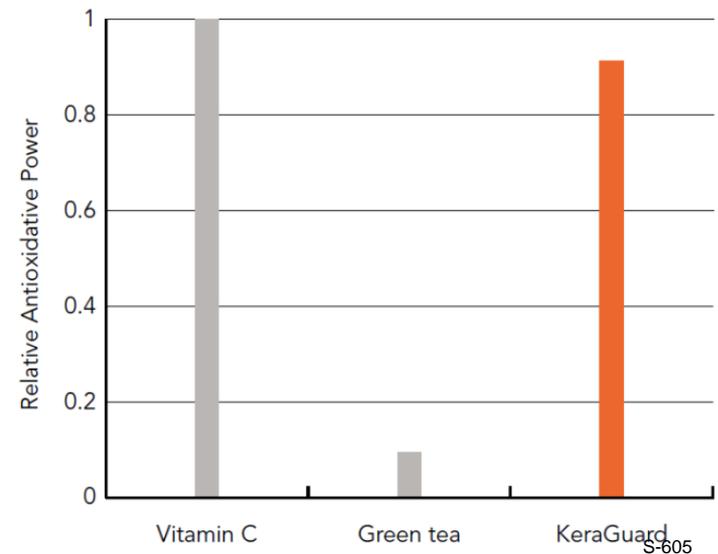
## 試験デザイン

KeraGuard (dry matter) が安定かつよく知られているラジカルであるDPPH (diphenyl-picryl-hydrazyl)を減少させる能力を測定

The anti-oxidant power of KeraGuardの抗酸化力はピュアビタミンCをベンチマークとし、緑茶の値と比較した

## Detection

Electron Spin Resonance (ESR) spectroscopy



KeraGuard強力かつ素早くフリーラジカルを中和する。それゆえKeraGuardは緑茶よりも強力でビタミンCとほぼ同等の活性をもつ

# UVストレスからの保護

## Hair

天然の茶-赤褐色の毛髪

## 試料

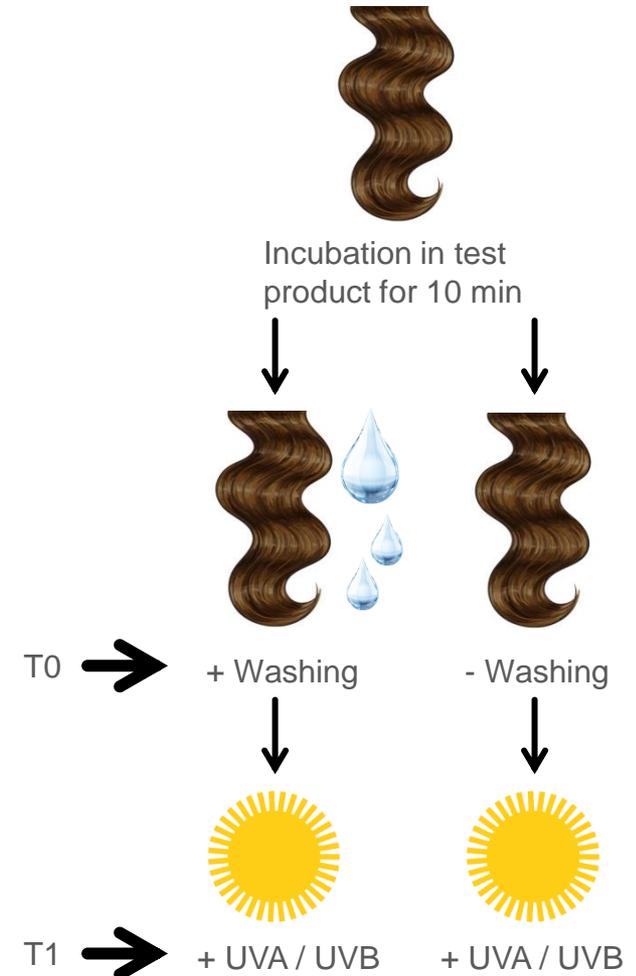
- KeraGuard (水で0.5%, 2%に希釈)
- Placebo (H<sub>2</sub>O)

## 試験セットアップ

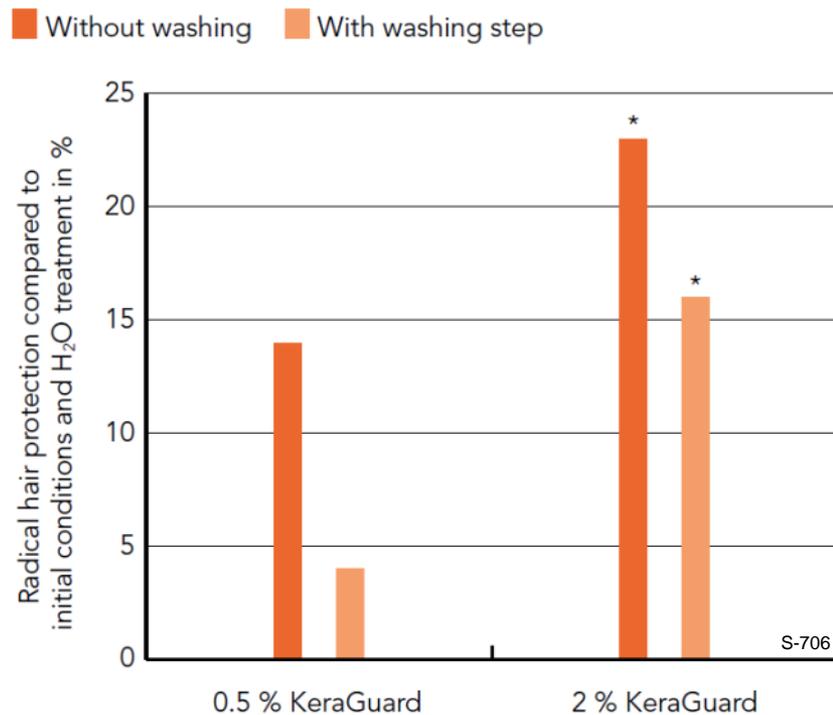
- 試料とともに10分間インキュベーション
- 一方は2回水で洗浄したものと、他方は洗浄なし
- UV (28,3 mW/cm<sup>2</sup> UVA and 9,6 mW/cm<sup>2</sup> UVB, 5 min) 照射

## 検出

照射前後のメラニンのElectron Spin Resonance (ESR) スペクトル → 2つのシグナルの差がダメージの測定値となる



# UVストレスからの保護



\*p<0.05 versus treatment with H<sub>2</sub>O



KeraGuardは濃度依存的にUVからの毛髪保護能力を著しく向上させた。また、KeraGuardは洗浄後でも抗酸化保護能力を発揮する。

# KeraGuard は毛髪の色を保護する

## 試験デザイン

毛髪の色を市販の赤色のヘアカラーで着色

## 試料

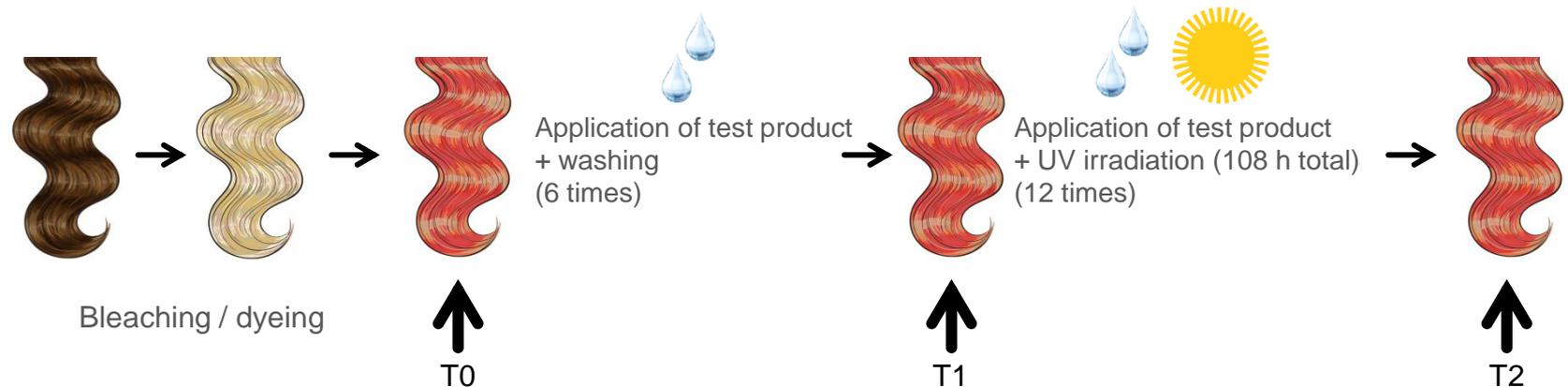
Hair serum + 0.5% KeraGuard, placebo

## 試験方法

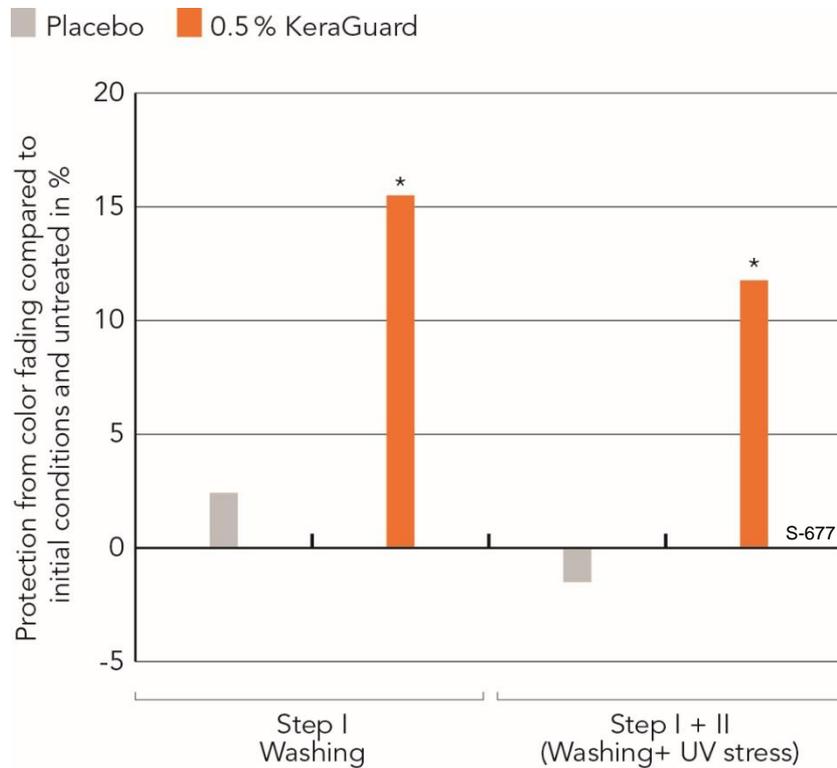
I. 製品使用と洗浄 (3 回/週) を2週間のシミュレーション

II. 12回の製品使用、洗浄と、間に108時間のUV照射ストレスを入れつつ15日間の強烈な日光照射をシミュレーション

パラメーター: 0日目 (day 0)、step I、IIそれぞれの明度 L\* (Chromameter)



# KeraGuard は毛髪の色を保護



\*p<0.001 versus placebo

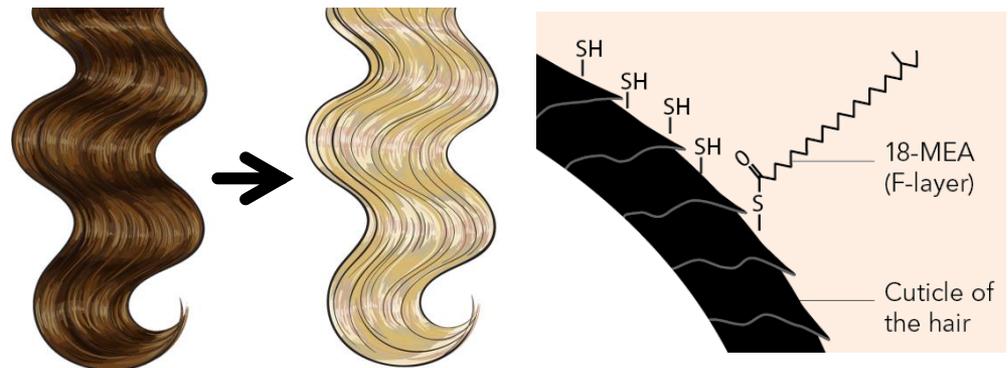


洗浄した場合と洗浄+UV照射のいずれの場合においてもプレセボと比較して0.5 % KeraGuardで著しいヘアカラー保護効果が確認できた

# ブリーチした毛髪の修復

ブリーチは毛髪のキューティクルの外側で、ブリーチ剤を浸透させて酸化によって色を除去させる。

そのような化学的処理の間にF-layerとケラチンシステム間の結合が切断される。ケラチン間のジスルフィド結合 (-S-S-) もまた破壊される。結果として二価イオンとの複合体形成のために -SH基が生じる。



## 毛髪ダメージの測定:

Cu(II)イオンがフリー-SH基と複合体を形成することができ、Electron Spin Resonance (ESR)を通じて測定が可能である。毛髪のF-layerのダメージが大きくなるほど銅との複合体を形成するためにフリー-SH基が発生する

# ブリーチした毛髪の修復

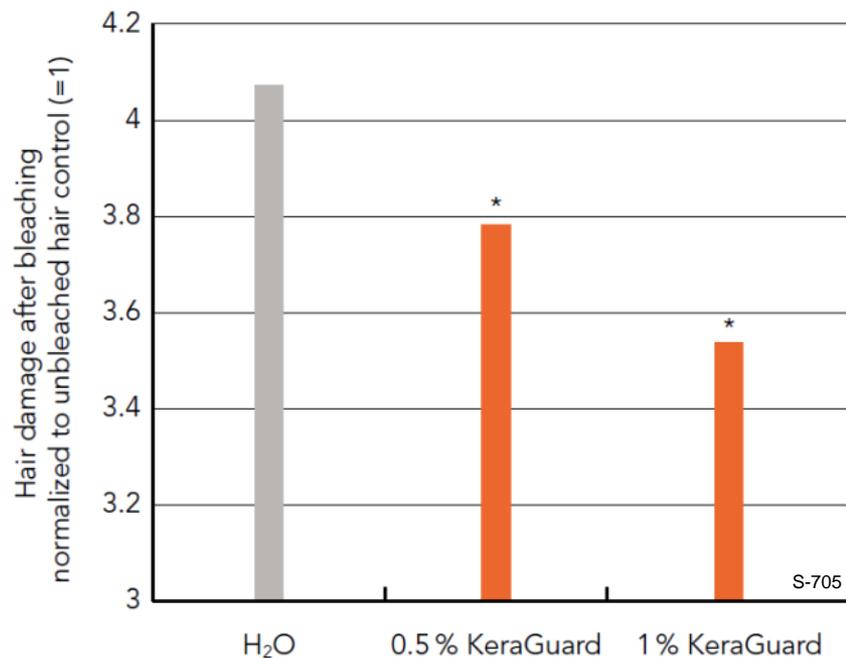
試料: 水で0.5%と1%へ希釈した KeraGuard, control

試験デザイン:

Natural brownにブリーチした毛髪を試料中で10分間インキュベートしてリンス

パラメーター

ヘアダメージ (銅の吸収, ESR)



\*p<0.05 versus H<sub>2</sub>O treatment



KeraGuardは毛髪のブリーチによるF-layerのダメージを著しく修復する効果を示した。

# 熱ダメージからの毛髪保護

## 毛髪

ヒトのナチュラルダークブラウンの毛束

## 試料

0.5 % KeraGuard含有Hair Serum, placebo

## 使用

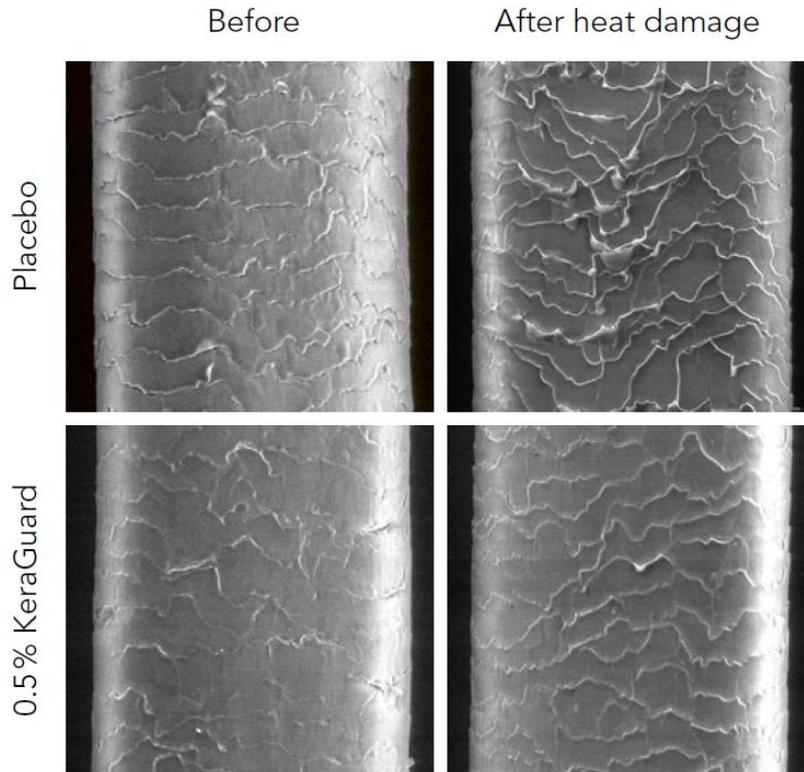
- 毛髪繊維を試料に5秒浸し、30秒間毛束を揉み、洗い流す  
→ 2 サイクル
- 8 cycles of heat damage induced with a flat iron アイロン (Rowenta® for Elite model Look)で200 °C、1分間、間に30秒試料使用と洗浄ステップで8サイクル熱ダメージを発生させた。

## パラメーター

- 毛髪ダメージの度合い (電子顕微鏡でスキャン)



# 熱ダメージからの毛髪保護



加熱後、プラセボで処理した毛髪のキューティクルの鱗がリフトアップされいくつかの部分では崩壊がみられた。毛髪は擦り切れ、ギザギザしたへりが出現し始める。



With 0.5% KeraGuardではキューティクルが保護され、加熱後もキューティクルの鱗はフラットな状態を保っていた。

S-721/©Mibelle Biochemistry

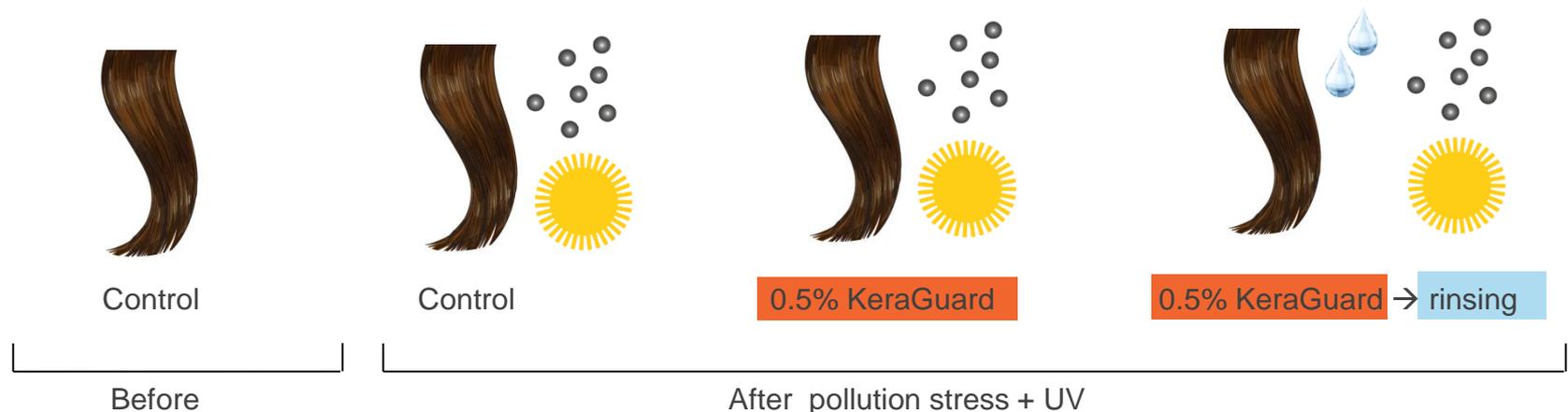
# Anti-Pollution 効果

**Hair :** 自然かつ化学処理されていない白人の髪

**試料:** 0.5 % KeraGuard 水溶液、コントロール (水)

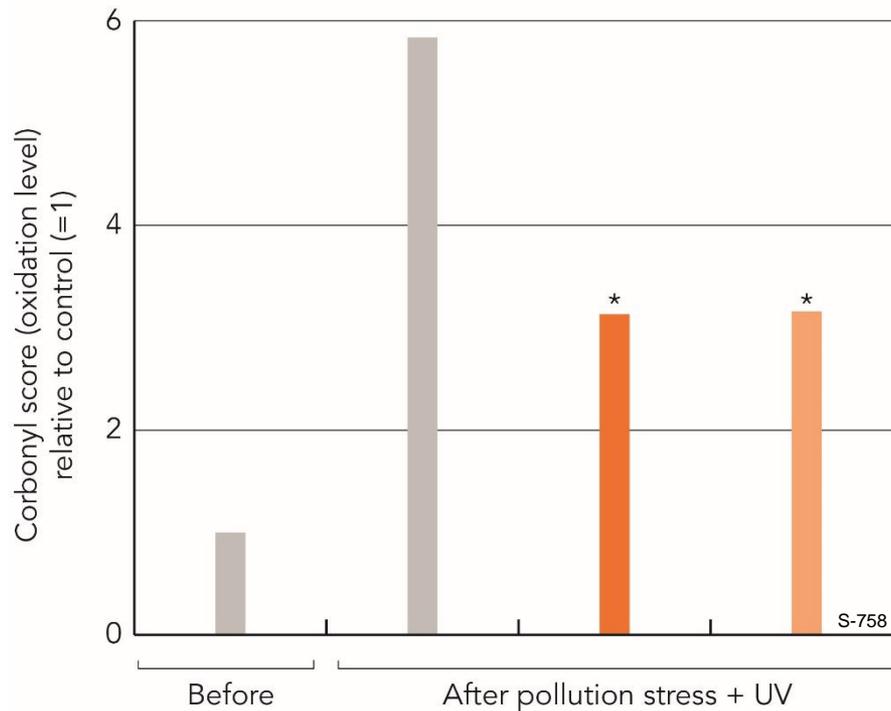
**Application:**

1. 0.5 % KeraGuard 液中で毛髪を1時間プレインキュベート(コントロール：水中でインキュベート)。このうち1房はこの前処理後に洗い流した
2. 15 分間汚染物質ストレスを与えた (粒子を含有した水溶液中でインキュベート)。
3. 6時間 UV-A 処理



# Anti-Pollution 効果: 酸化ダメージからの保護

■ Control ■ 0.5 % KeraGuard ■ 0.5 % KeraGuard + rinsing



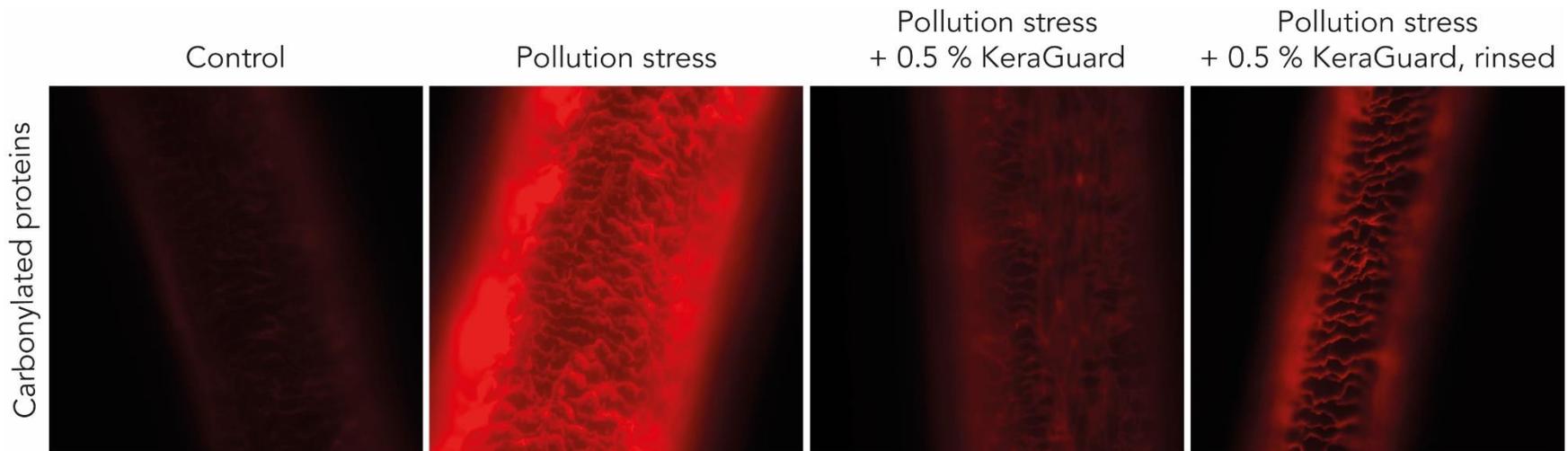
\*p<0.001 versus control after pollution stress + UV

酸化ダメージを測定するため毛髪からタンパク質を抽出してカルボニル化タンパクを検出した → 酸化ダメージの測定



0.5% KeraGuard での処理では都市公害により引き起こされる酸化ダメージからの著しい保護効果が観察できた。この効果は洗い流した後も観ることが出来た。

# Anti-Pollution 効果: 毛髪上のカルボニル化タンパクの可視化

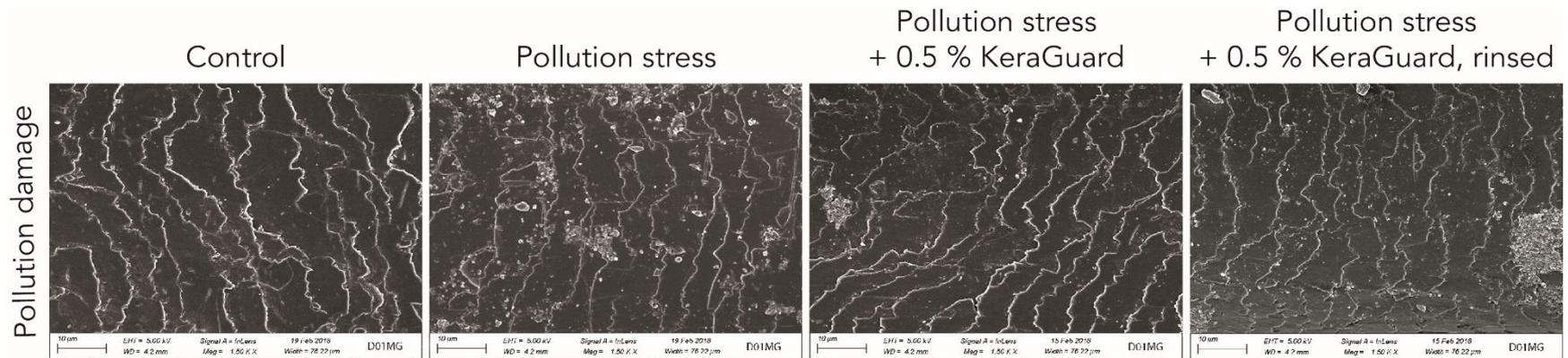


S-758 / © Mibelle Biochemistry



KeraGuardで処理した毛髪の房では毛髪上の赤色に標識されたカルボニル化タンパクが少ない → 都市公害からの保護

# Anti-Pollution 効果: 毛髪の電子顕微鏡写真



S-758 / © Mibelle Biochemistry



KeraGuard で処理した毛髪の房では粒子の沈着や毛髪表面ダメージが減少した → 都市公害からの保護

# KeraGuard

## 訴求 と 応用例

### マーケティング上の利点



#### 訴求

- 毛髪を熱やUVストレスから保護
- 化学的処理をした毛髪を修復
- 毛髪の退色を防止
- 毛髪の弾性を回復

#### 応用例

- シャンプー、コンディショナー、ヘアマスク
- スタイル剤
- カラー保護製品
- ヒートプロテクション処方

#### マーケティング上の利点

- 非常に強力な天然の抗酸化複合体
- Leave-on と rinse-offの処方の両方で効果的
- 防腐剤フリータイプ（粉末タイプ）もあり

# NATURA-TEC ABYSOFT

A SOLUTION FOR HEALTHIER HAIR



# Natura-Tec Abysoft

INCI名

Crambe Abyssinica  
Seed Oil Phytosterol  
Ester

表示名称

クランベアビシニカ種子  
油フィトステロールエステ  
ルズ

COSMOS 認証

**MPE** for skin,  
make up and  
Hair care  
applications



# Natura-Tec Abysoft

## “Multi tasking complex”

エルカ酸を豊富に含んだアブラナ科のクランベアビシニカ種子油由来のエステル

クランベアビシニカオイルにフィトステロールの生物活性を組み合わせることで能力を向上



## 由来:

Crambe abyssinica (クランベアビシニカ): 東アフリカの地中海地域に由来 (Abyssinia = Ethiopia)



## 毛髪への効果

- ・ **ツヤ向上** : 「neutral shampooで洗浄後に5% Abysoft使用を使用してリンス」を12回繰り返した後にツヤが50%向上
  - ・ **弾力向上** : 上記と同じ操作を12回繰り返した後にハリが191%向上
  - ・ **ボリュームアップ** : フィルム形成により髪のボリュームを即座に向上
  - ・ **くし通りの良さを向上** : 濡れた状態での毛髪の梳きを促進し、髪のスタイリング時の脱毛数を減少させる
  - ・ **Heat protection (熱からの保護)** :  
3% Abysoft 含有リーブオンコンディショナーはプラセボと比較して毛髪ダメージを46%減少させた
  - ・ **UV / Sea water protection (UV / 海水からの保護)** : 3% Abysoft 含有リーブオンコンディショナーではプラセボと比較して48%以上毛髪のダメージを軽減
  - ・ **Color fading protection (退色からの保護)** :  
 $\Delta L$  → Abysoft はより暗い色を維持する → Abysoft はピグメント消失を防ぐ  
 $\Delta E$  → Abysoft を利用した場合のカラー退色は製品未使用やプラセボと比較して小さい
- Abysoft は毛髪上のあらゆるFromulatinをsheathe (覆う)  
→ Abysoft は劇的なヘアダメージ保護効果を持つ

その他の効果: スキンケア → 保湿、メイク → 色素の分散性の向上



PhytoCellTec™ Solar Vitis

皮膚幹細胞をUVから保護するブドウエキス

# PhytoCellTec™ Solar Vitis

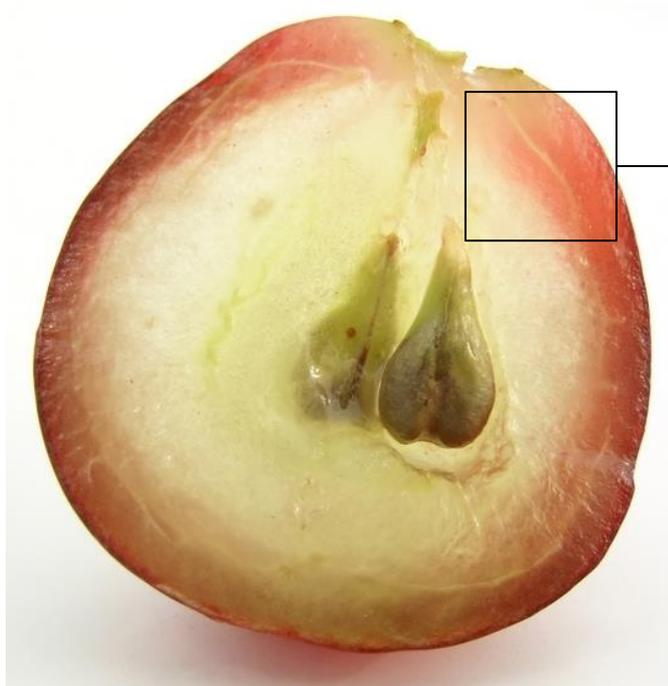
## ブドウのちから



- **ガメ・タンテュリエ Fréaux**
- フランスのバーガンディ地方に伝わるブドウの希少品種。
- UV保護に役立つ強力な抗酸化成分とラジカルスカベンジャーを含みます。

# PhytoCellTec™ –

フィット＝植物 セル＝細胞 テック＝工学  
植物幹細胞エキスを生産する新テクノロジー



ブドウ果実の幹細胞を採取



カルス生成



工業スケールで培養



エキス抽出

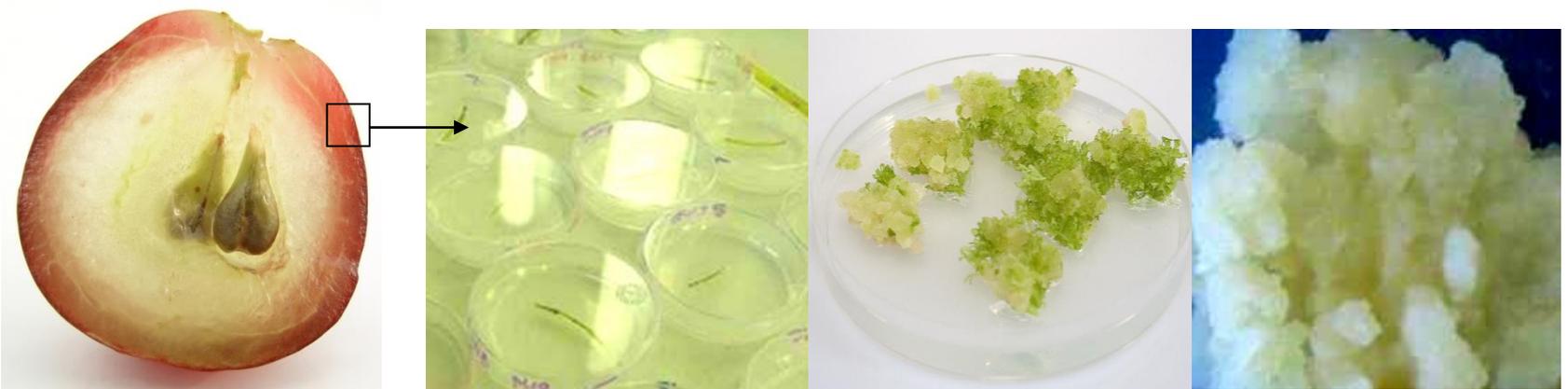


乾燥

# PhytoCellTec™ :

## 概要

- ブドウ果実を無菌的に採取する。
- In Vitroにてカルスを生成する。
- カルスから安定的に増えている幹細胞を分離する。
- 寒天培地の上で培養する。



# PhytoCellTec™

## 幹細胞の製造

- 脱分化を進め、均一な世代の細胞を入手したのち、液体培地に移す。
- 浮遊培養法にて継続的に細胞を増やす。(倍加時間:2から10日間)



# PhytoCellTec™ Solar Vitis 粉末の製造

植物細胞を収穫した後、リン脂質と一緒に1200気圧でホモジナイズ



細胞壁を粉砕して細胞成分をリポソーム化



マルトデキストリン乾燥



乾燥

# PhytoCellTec™ Solar Vitis

## 組成

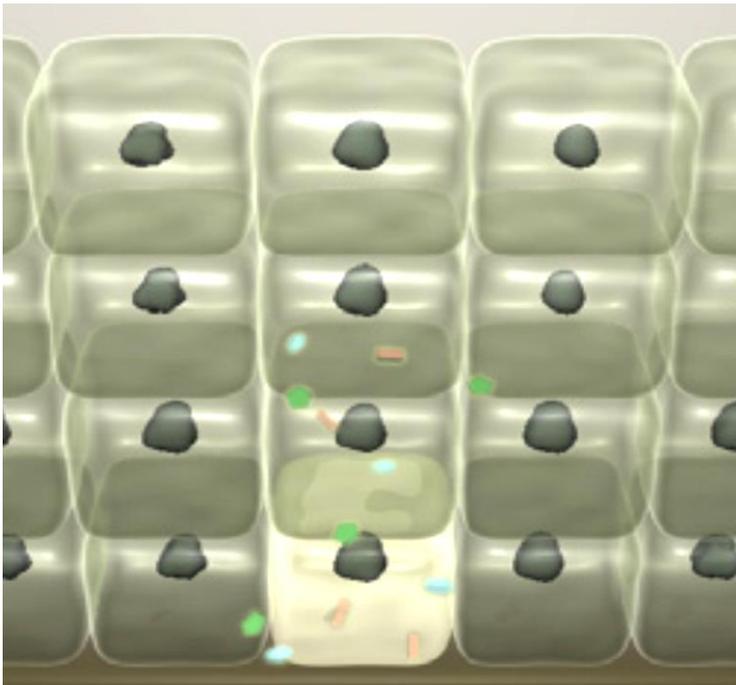
- |              |      |
|--------------|------|
| • ブドウ果実細胞エキス | 0.8% |
| • レシチン       | 0.8% |
| • イソマルト      | 93%  |
| • 安息香酸ナトリウム  | 0.3% |
| • 水          | ~6%  |

# 粉末の利点

- 安定性の確保
- フェノキシエタノールを必要としない。
- 高濃度の配合が可能（5倍濃縮粉末→使用量が5分の1）

# 幹細胞とは

## 皮膚幹細胞の機能



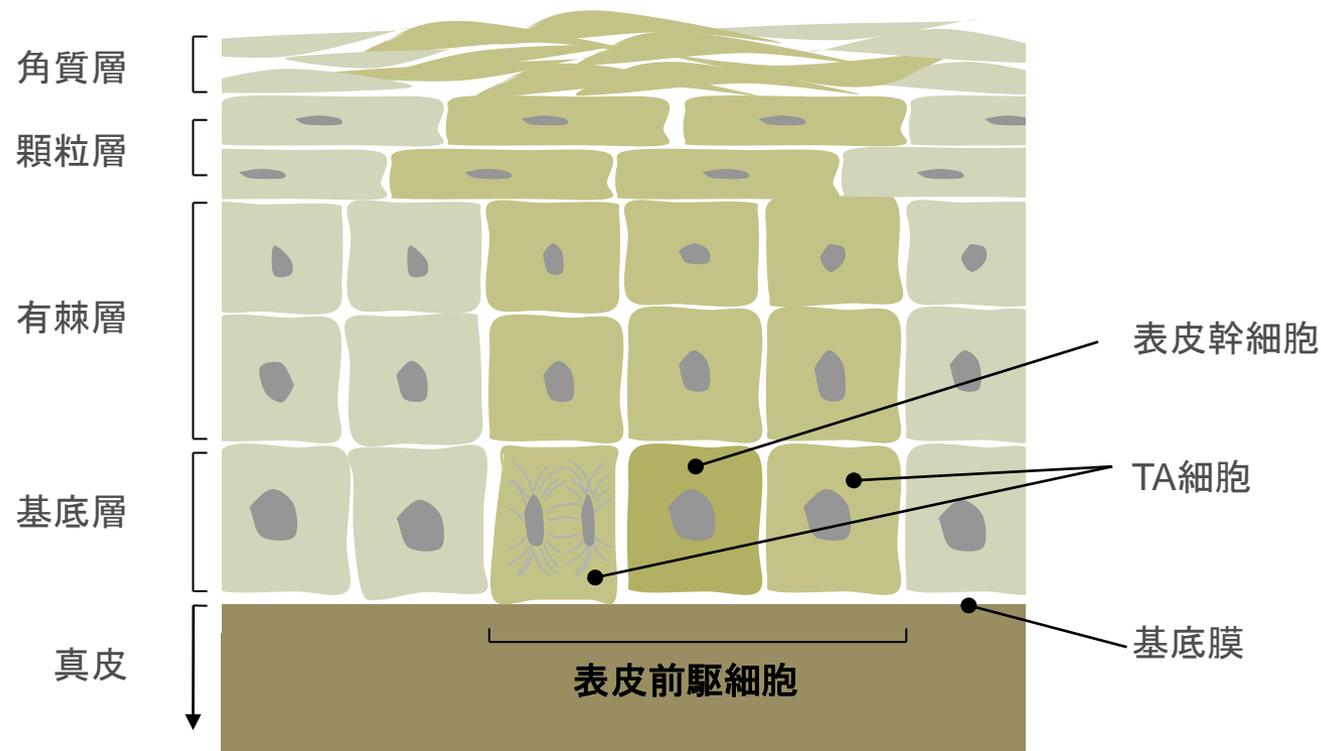
- **自己複製** – 未分化の状態 で 増殖 を 続ける 機能
- **分化能** – 様々な種類 の 細胞 に 分化 する 機能
- **基本的な役割** – 死んだ細胞 に 代わって、傷ついた組織 を 再生 する。

# 皮膚の中の成体幹細胞

皮膚の中には主に2種類の幹細胞が存在します。

タイプ	場所
表皮幹細胞	表皮基底層
毛包幹細胞	毛包

# 上皮幹細胞



基底層に位置する細胞の2-7%は幹細胞である。

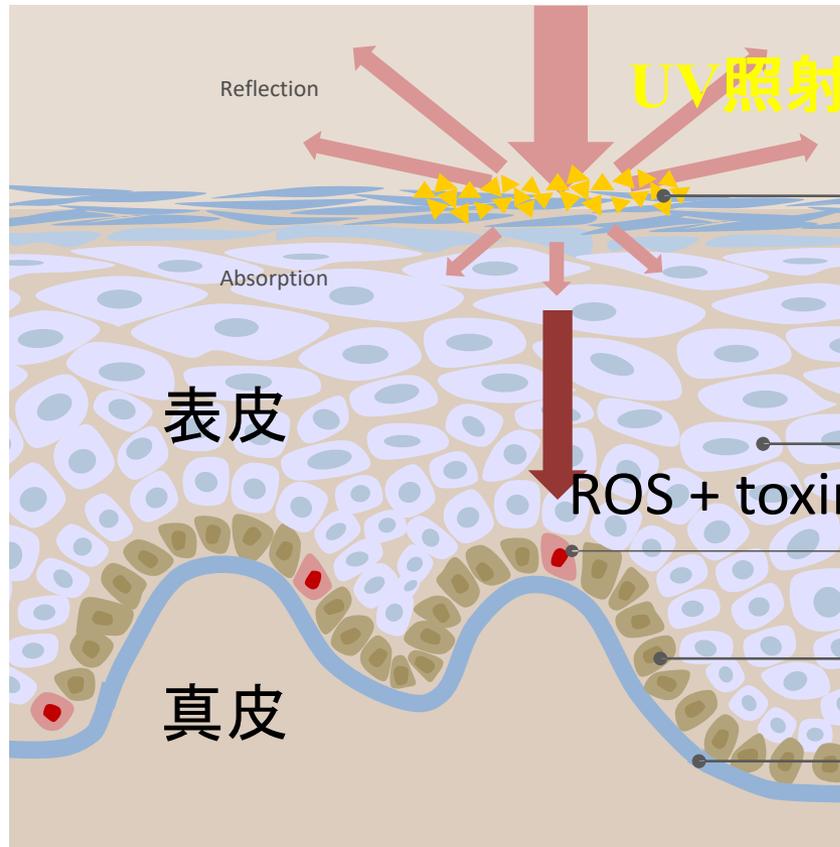
# 幹細胞と肌の老化について

- 皮膚幹細胞はダメージを受け、老化した細胞と入れ替わる。
- 紫外線照射やその他の環境的、内因的ストレスは幹細胞の機能や活性に負の影響がある。
- 老化、もしくは紫外線ストレスを受けた皮膚の幹細胞は細胞数と各細胞の活性が低下している。
- 若い内からの肌の老化が始まる前に、幹細胞を保護する必要がある。

# 植物幹細胞が皮膚幹細胞の与える影響

- 皮膚幹細胞と同様に植物幹細胞にも多くのエピジェネティックファクターが存在している。エピジェネティックファクターは遺伝子やタンパク、細胞の働きを調節する因子
- 植物幹細胞には以下のような特別な成分が入っている。
  - 皮膚幹細胞を活性化する。
  - 負の環境ストレスから保護する。

# UV Radiation and Skin Stem Cells



Sun cream with UV

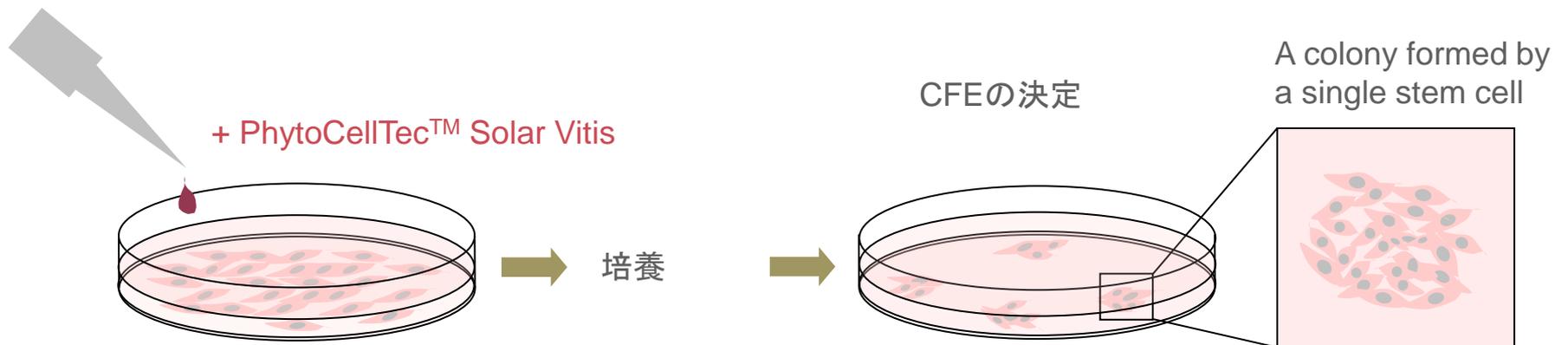
PhytoCellTec™ Solar Vitis

# PhytoCellTec™ Solar Vitis

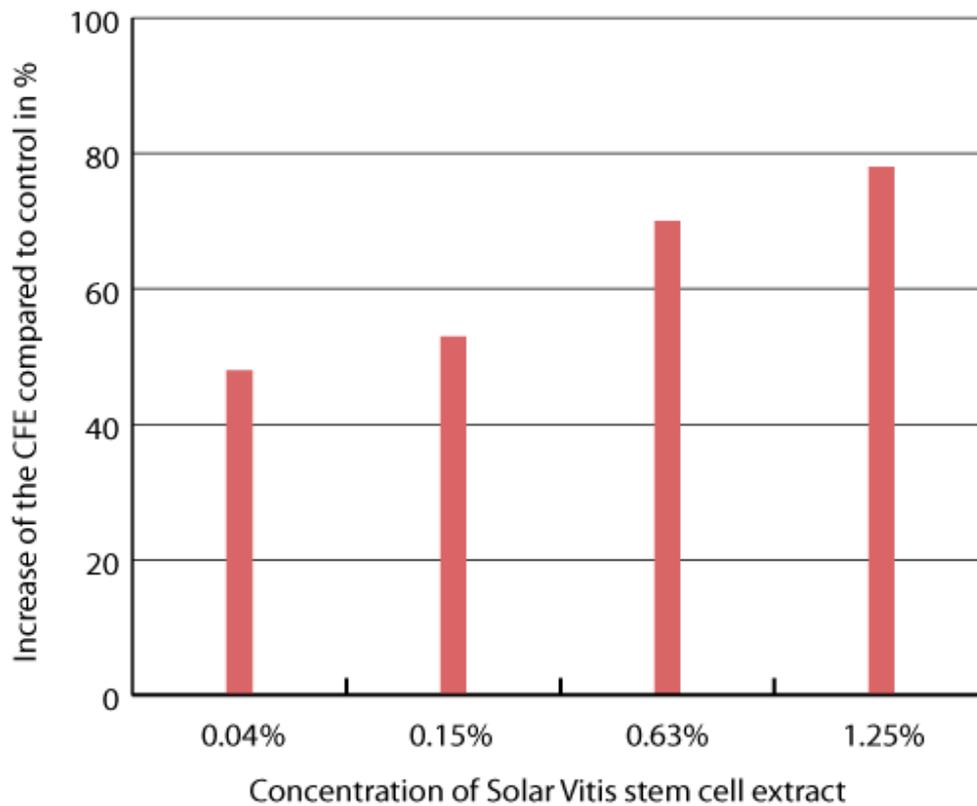
## 表皮幹細胞の活性測定

### → コロニー形成効率(CFE)

プロジェニターセルを低濃度で播種し、試験サンプル加えて一定期間後にコロニーの数をカウントする。

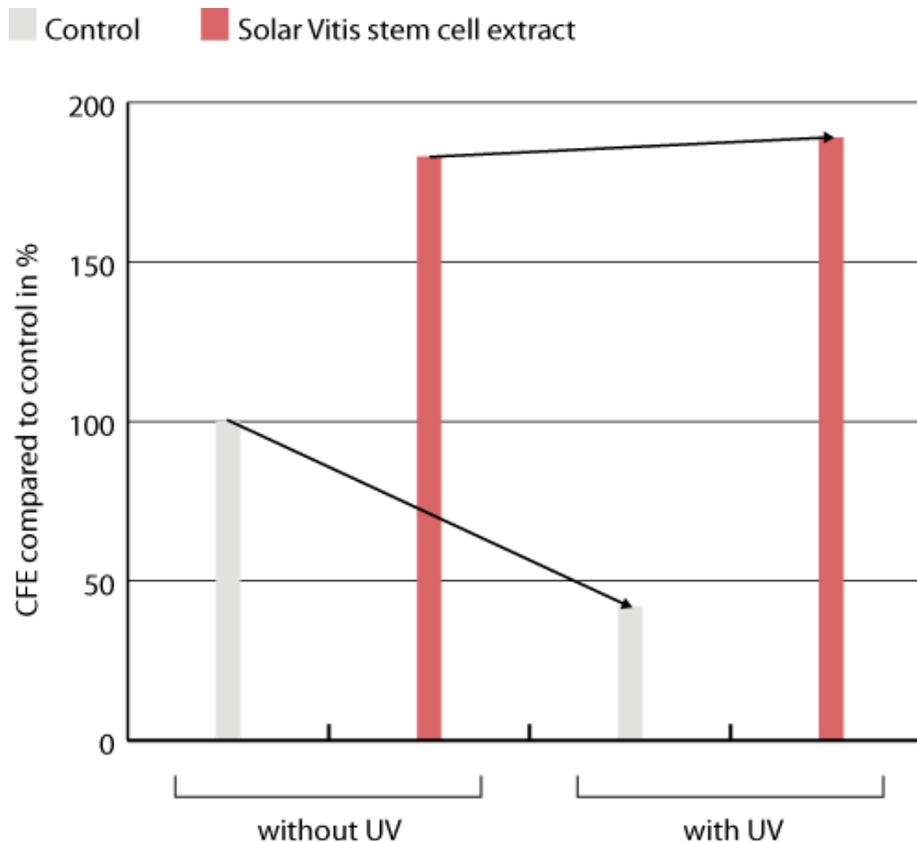


# コロニー形成効率の向上



S-261/©Mibelle Biochemistry 2009

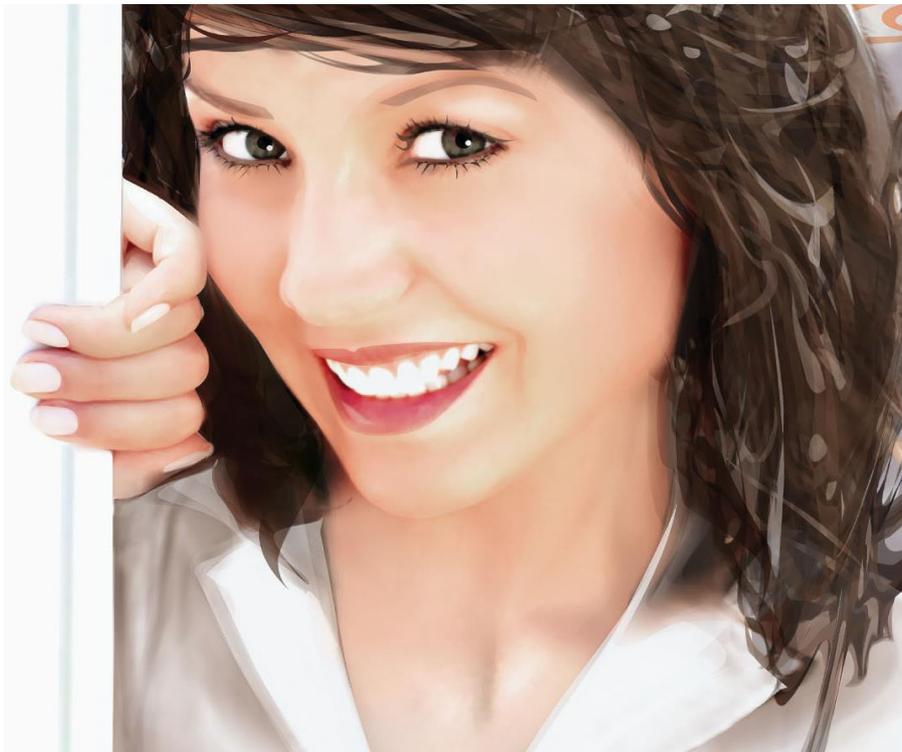
# UV照射に対する効果



- PCT Solar Vitis はコロニー形成効率を 86% 向上させた。
- UV照射によりコロニー形成効率は58%減少した。
- PCT Solar Vitis共存下でUV照射によるコロニー形成効率の減少を防ぐ効果があった。

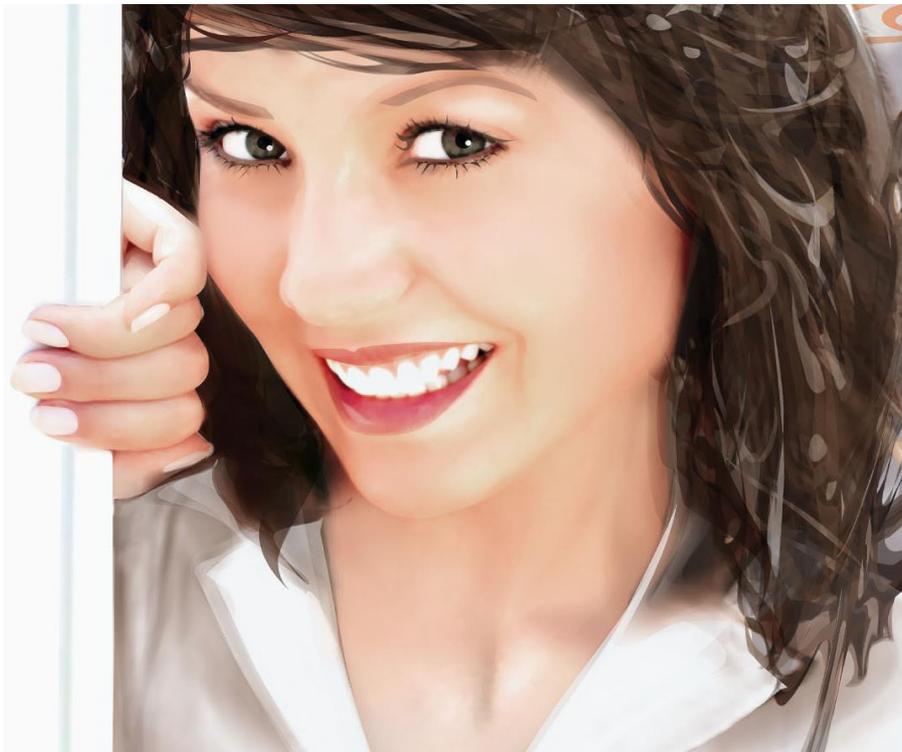
S-245/©Mibelle Biochemistry 2009

# PhytoCellTec™ Solar Vitis アイデア、ストーリー



- 強い抗酸化力を持つブドウをエキスがUVから幹細胞を守る。
- 細胞を光老化から守る。

# PhytoCellTec™ Solar Vitis アプリケーション



- 幹細胞化粧品
- スキンケア、ボディケア用原料として
- デイリーケアの基礎化粧品として

# Carotolino

## Blue Light Protection and a Vivid Look

We make beauty natural.



# At a Glance

## Carotolino – Blue Light Protection and a Vivid Look

- ブルーライトダメージ肌。ブルーライト保護に対応する天然成分はカロテノイドである。
  - ブルーライトからの保護の他にもカロテノイドの局所使用は肌の色を改善することが可能
  - **Carotolino** は完全に安定なカロテノイドを含有するアクティブ原料で、下記の効果をもつ
    - ブルーライトからのシールド（吸収）
    - ブルーライトによるROS産生を中和
    - 健康で明るい肌色をサポート
  - **Carotolino** は相乗的に肌を保護して生き生きとさせる
- ※ **Carotolino**のカラーコンセプトは主に白色人種にフォーカスしているが決して人種を差別するものではない。



# Blue Light Protection

## Two Sources of Blue Light Necessitate Novel Skin Care

- ブルーライトは太陽光の波長の一部で肌の奥深くまで透過し、早期の肌老化の引き金となる
- 今日われわれが浴びるブルーライトの多くは電子デバイスに由来するものである

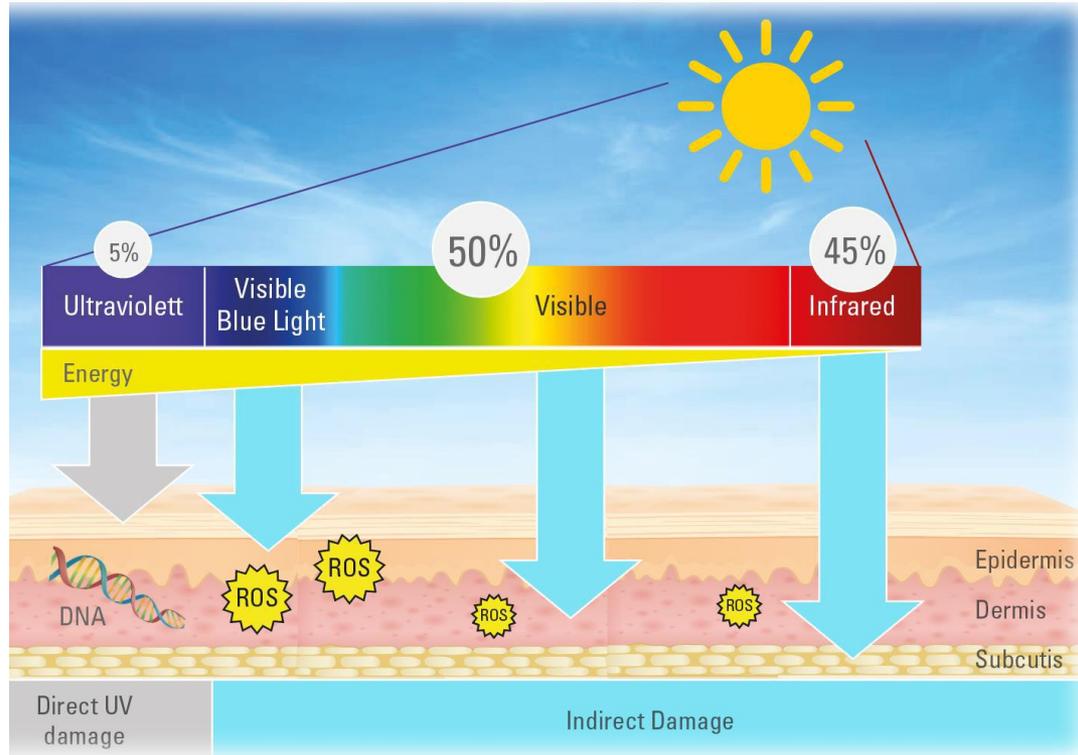


デジタル依存によって近代のスキンケアには天然または人工のブルーライトからの保護を必要である

# Blue Light Protection

## Blue Light-Induced Skin Damage

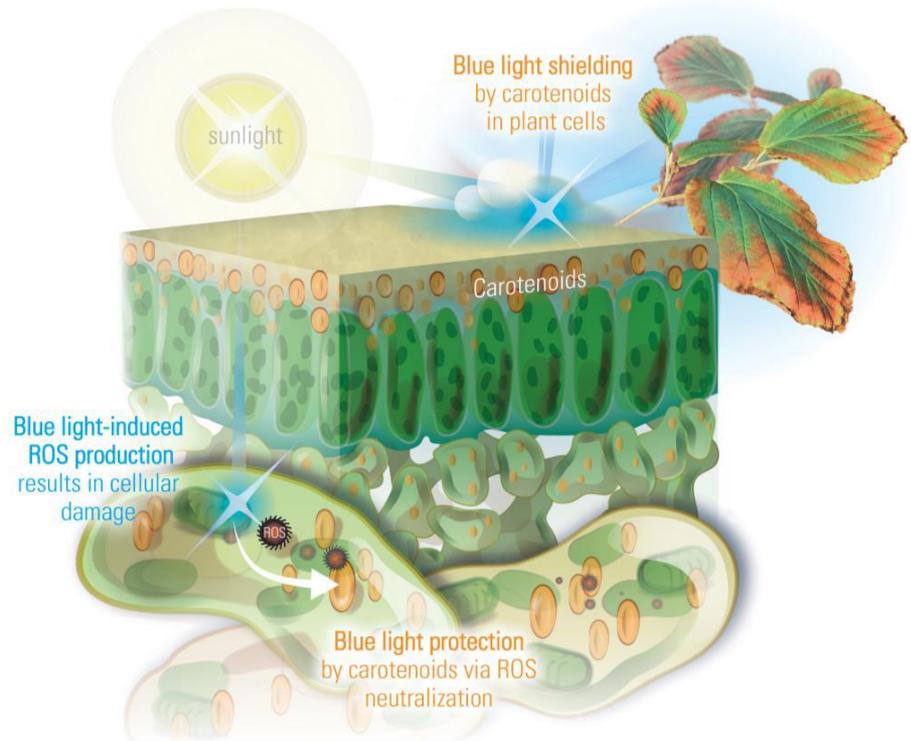
- 可視光は3つの波長範囲をもち、そのうちのブルーライト (High Energy Visible Blue Light = HEV) は最も大きなエネルギーをもたらす
- 日光により産生するROSの50%は赤外線と可視光（特にブルーライト）によるものである
- ROSは間接的なダメージをもたらし、早期の肌老化を招く



# Carotenoids

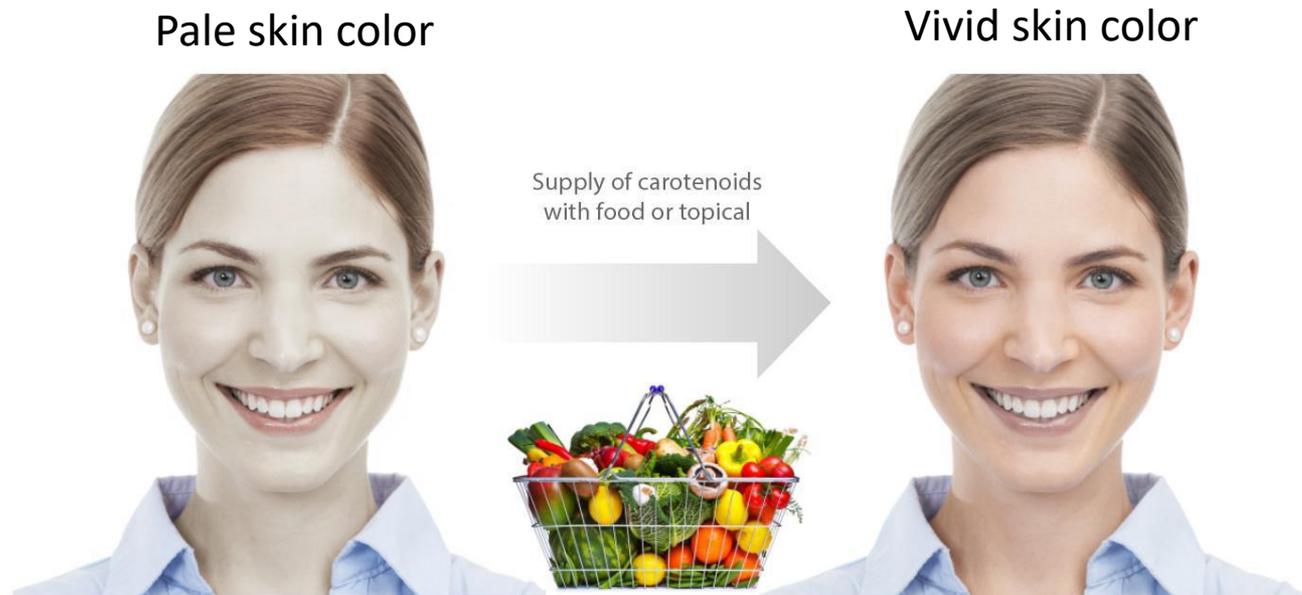
## (1) Blue Light Protection Invented by Nature

- カロテノイドを持たない緑葉植物は存在しない
- カロテノイドは植物を下記によって保護する
  - ブルーライトの吸収
  - ブルーライトにより産生するROSの中和
- カロテノイドはヒトにも組み入れることが可能であるため、この天然のメカニズムはヒトにも移行可能



# Carotenoids

## (2) Natural Skin Color Enhancer



- ヒトの肌の色は3種の色素から構成されている：ヘモグロビン、メラニン、カロテノイド
- 果物や野菜を多く摂取する人は魅力的な肌色を作るために必要な十分量のカロテノイドを摂取できるため、より健康的な肌トーンをもつ

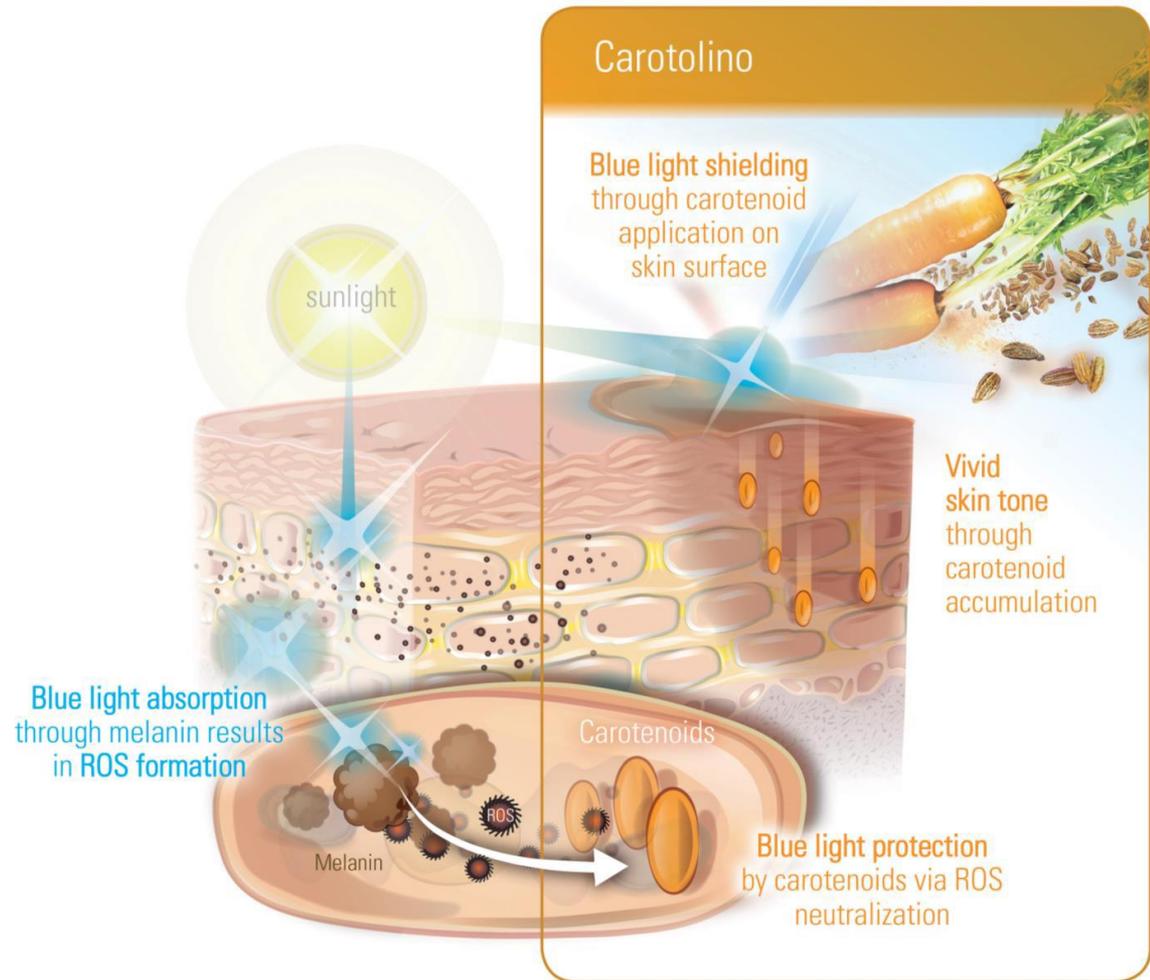
# Carotolino





# Mode of Action

- (1) 直接的ブルーライト  
プロテクション
- (2) 間接的ブルーライト  
プロテクション
- (3) 肌の色の改善



# 安定性分析

Carotolino は完璧に安定化したカロテノイドを提供

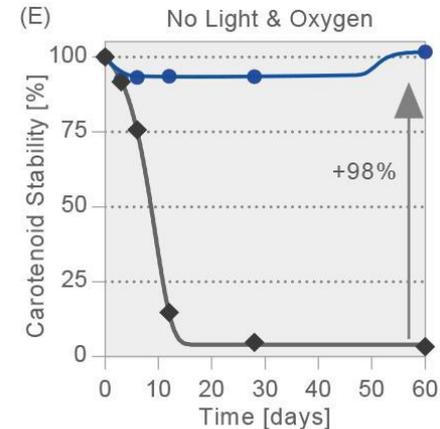
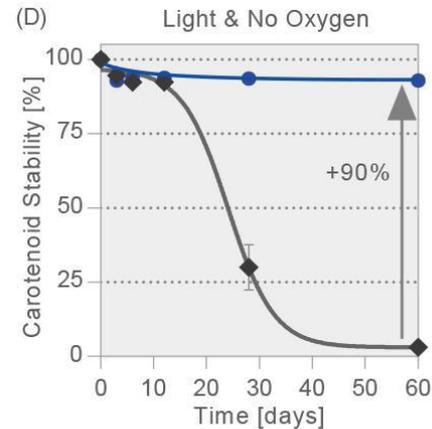
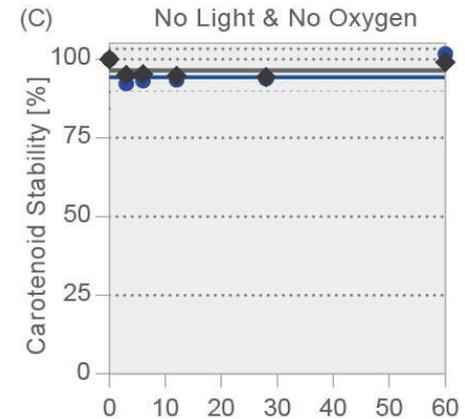
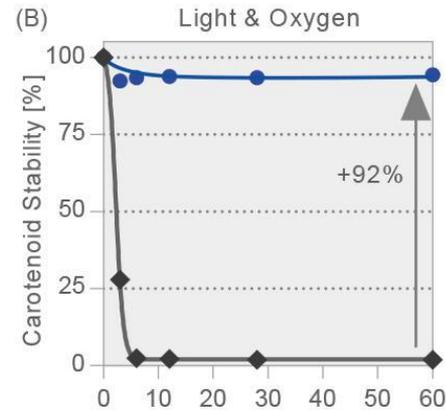
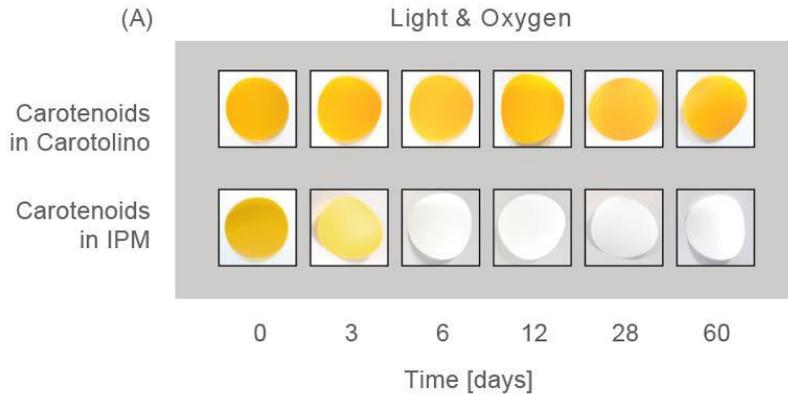
目的:

異なる保存条件の下に調製した他の化粧品用カロテノイドと Carotolino との安定性の比較評価

Design	Carotenoid degradation assays
Test Substances	<ul style="list-style-type: none"><li>• Carotolino</li><li>• <math>\beta</math>-carotene in IPM (isopropyl myristate)</li></ul>
Test Conditions	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Light and oxygen stability for 60 d:<ul style="list-style-type: none"><li>• exposure to both, oxygen and light</li><li>• exposure to neither oxygen nor light</li><li>• exposure to either oxygen or light</li></ul></li><li>2. Heat stability: emulsion with 2% Carotolino was heated to 80°C for 4 h</li></ol>
Endpoint	Coloration (ITA-value) as an indirect marker for $\beta$ -carotene content with colorimeter

# 安定性分析

Carotolino は完璧に安定化したカロテノイドを提供

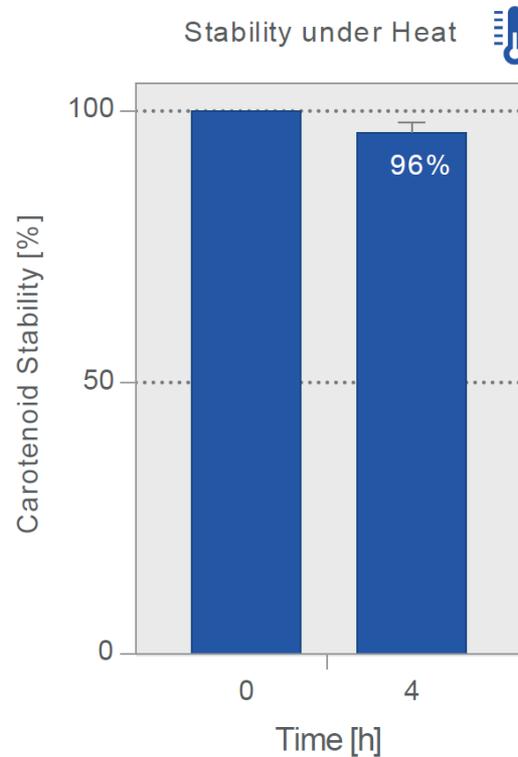


結果:

CarotolinoはIPM中のカロテノイドよりも優れた安定性を持つ

# 安定性分析

Carotolino は完璧に安定化したカロテノイドを提供



## 結果 & 結論:

- Carotolino は温度上昇にも安定なカロテノイドを提供する
- Carotolino は長期のブルーライト保護効果と長期の肌色改善効果を保証する

# *in vitro* Activity

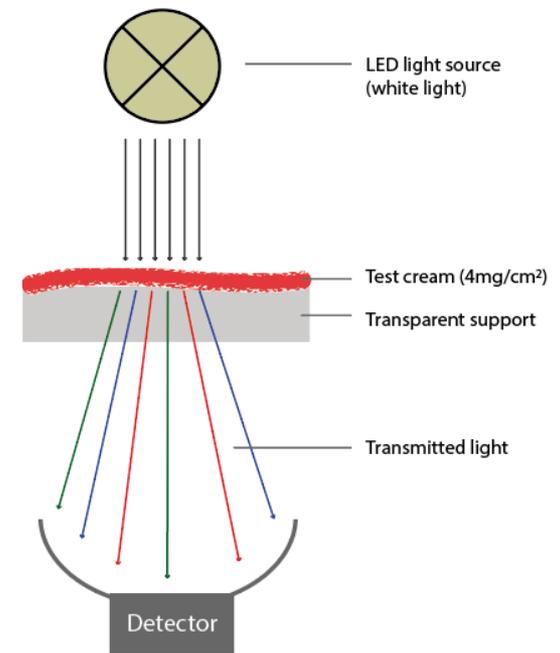
Carotolino は効率的にブルーライトをシールドする

目的:

Carotolino が選択的にブルーライトを吸収し、化粧品処方中でブルーライトから保護するかを示すこと

Design	<i>In vitro</i> blue light protection test
Test Substances	o/w emulsion containing 0% (control), 0.25%, 0.5%, 1% or 2% Carotolino
Application Frequency	Application of emulsion to a transparent slide: 4 mg/cm <sup>2</sup>
Endpoint	Blue light protection calculated as reduction of blue light intensity in visible light

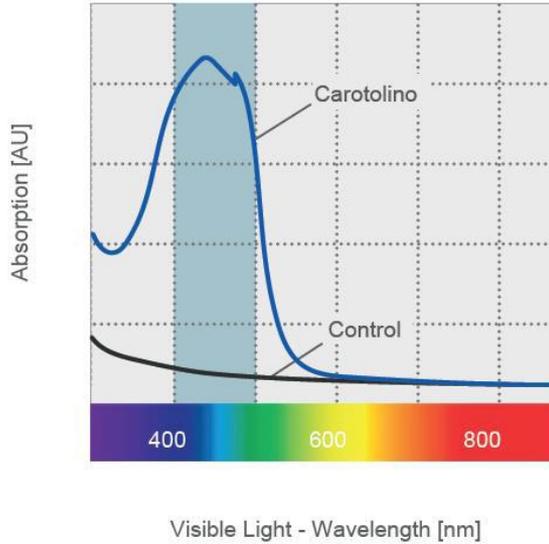
Experimental setup



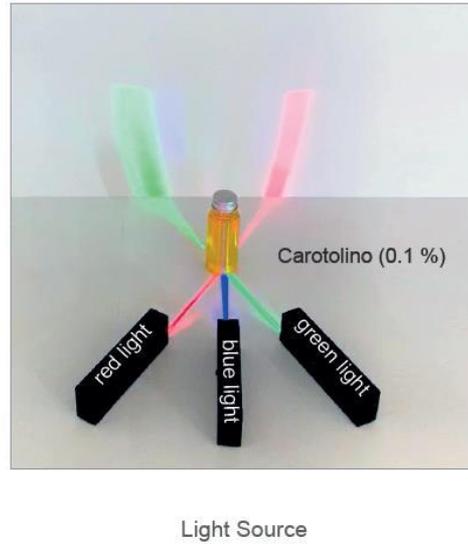
# *in vitro* Activity

Carotolino は効率的にブルーライトをシールドする

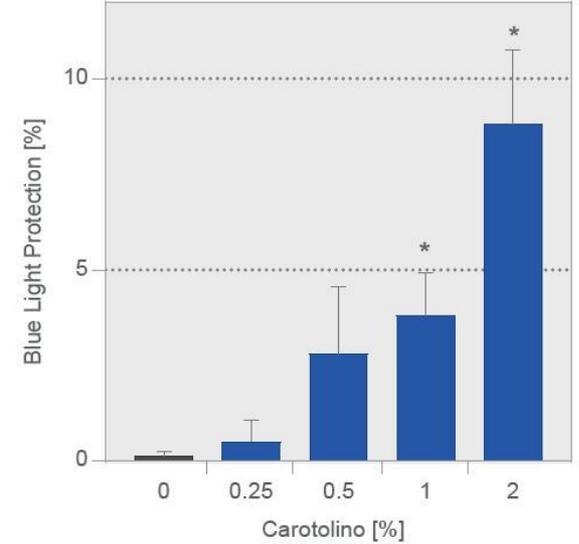
(A) Maximal Absorption in Blue Light Range



(B) Selective Absorption of Colored Light



(C) Blue Light Protection in a Cosmetic Formulation



結果:

- Carotolinoは原料として400-500nmの波長のブルーライトを効果的に吸収した (A)
- Carotolinoは希釈溶液にて選択的にブルーライトをフィルターにかけた (B)
- Carotolinoは化粧品処方中で著しくブルーライトをシールドした (C)

結論:

- CosmeticformulationswithCarotolinoを用いた化粧品処方では直接的にブルーライトをシールドすることで肌を保護する

# *in vitro* Activity

Carotolinoはブルーライトによる酸化ストレスを抑制する

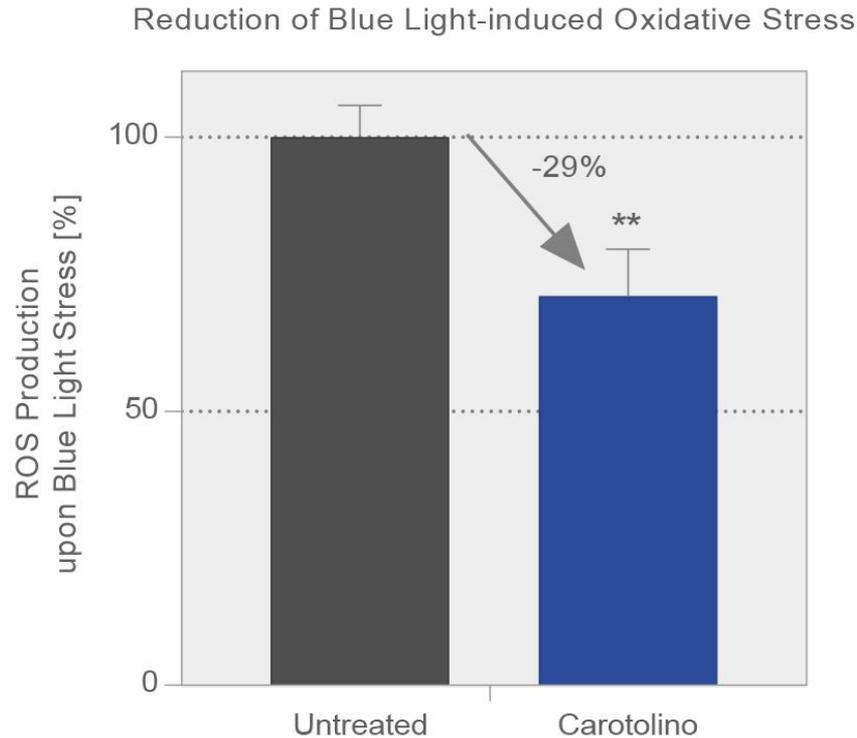
目的:

Carotolino の局所的塗布でブルーライトにより誘導される酸化ストレスを抑制されることを示すこと

Design	<i>In vitro</i> ROS fluometric quantification assay
Test Panel	3D tissue model
Test Substances	<ul style="list-style-type: none"><li>• Carotolino</li><li>• Untreated control</li></ul>
Application Frequency	Single application prior to blue light exposure
Endpoint	Reduction of oxidative stress generated by blue light

# *in vitro* Activity

Carotolinoはブルーライトによる酸化ストレスを抑制する



## 結果 & 結論:

- CarotolinoはブルーライトによるROS産生をおよそ30%抑制した
- Carotolinoの局所的塗布は酸化ストレスを通じた間接的なブルーライトダメージから肌を保護する

# *in vivo* Activity

Carotolino は肌を明るく生き生きとさせる

目的:

Carotolinoの局所的塗布による繊細な色最適化能力を確認すること

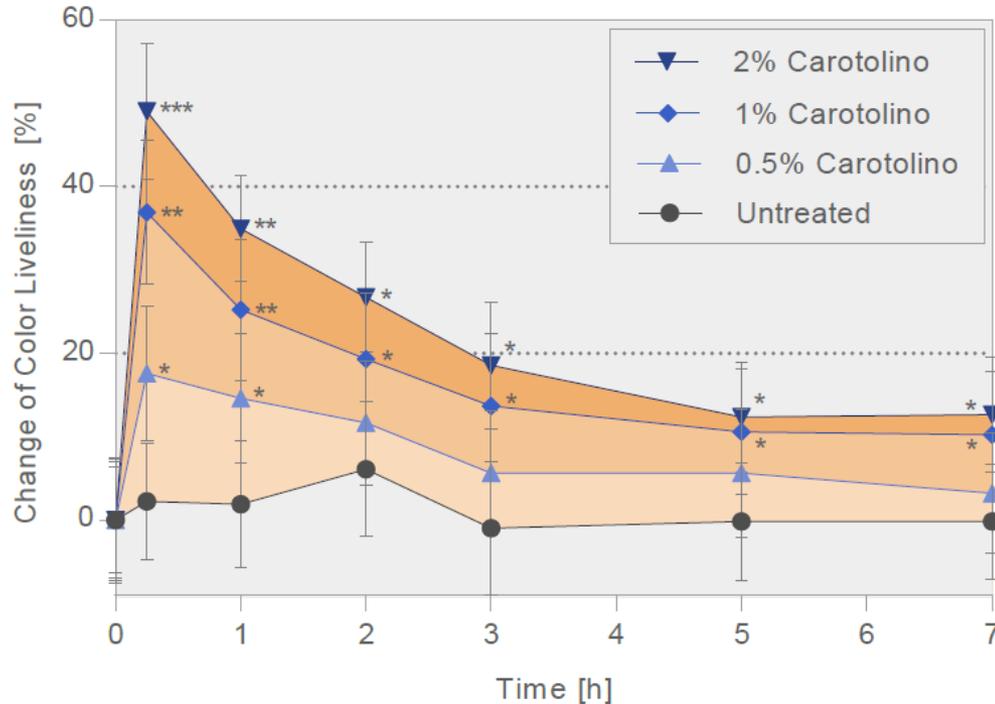
Design	<i>In vivo</i> study
Test Panel	9 volunteers
Test Substances	Emulsions with 0% (untreated control), 0.5%, 1% and 2% Carotolino
Application Frequency	Single application
Endpoint	Liveliness of skin color; colorimeter b*value (blue-yellow axis) of the CIE Lab system

# *in vivo* Activity

Carotolino は肌を明るく生き生きとさせる



Improvement of Skin Tone upon Carotolino Application



## 結果 & 結論:

- 0.5 - 1% Carotolinoは淡い肌トーンをより生き生きとした外観へ変化させた
- Carotolinoの局所的使用によって即効かつ長期の肌色改善効果を得られる

# Consumer Self-Assessment Test

Carotolino は化粧品処方を改善する

目的:

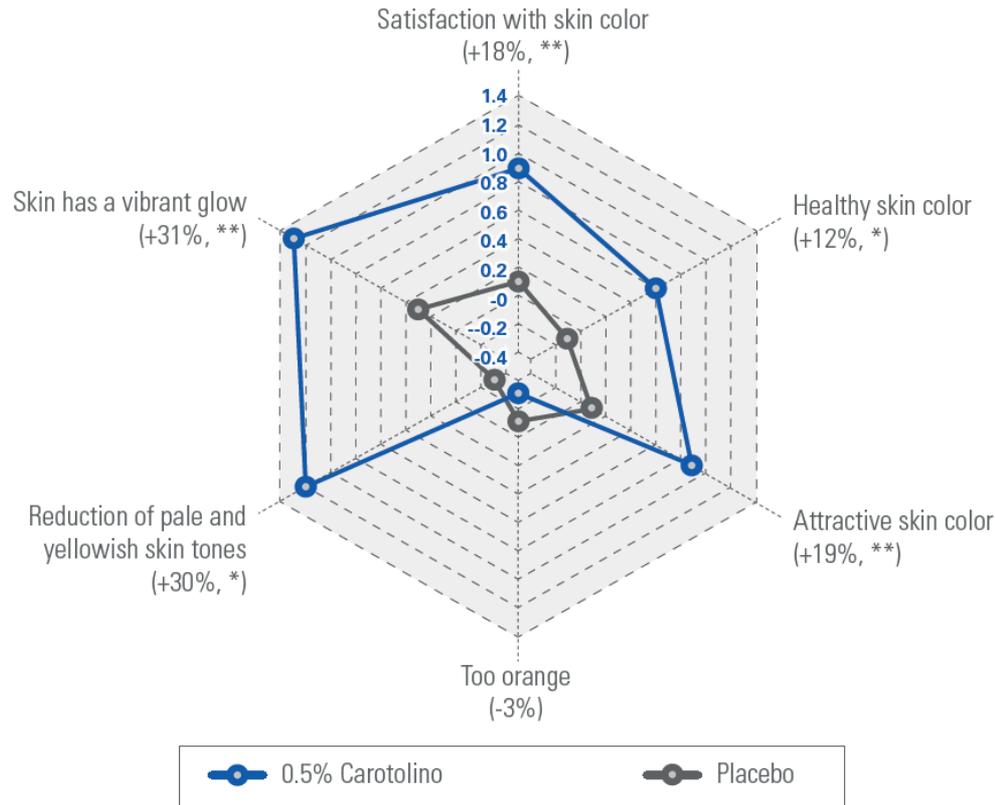
0.5 % Carotolino配合クリームに関して下記を確認すること:

- 肌を生き生きとさせることで**skin color**を見る見るうちに変化させる
- 普段の**肌の見た目**の改善（健康的、魅力的）
- 消費者へその製品をお勧めして処方へ価値を付加することを納得させる

<b>Design</b>	Placebo-controlled consumer test, self-evaluation questionnaire
<b>Test Panel</b>	2 groups of 20 volunteers each, Caucasian skin type, female, aged 25-50, skin phototype (Fitzpatrick): II, III and IV
<b>Test Substances</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>● A test cream containing 0.5% Carotolino</li><li>● A test cream containing 0% Carotolino (placebo)</li></ul>
<b>Application Frequency</b>	For 10 days, twice a day (morning and evening)
<b>Endpoints</b>	Self-evaluation questionnaire: rating parameters related to changes in skin color, general skin appearance, product recommendation and product value

# Consumer Self-Assessment Test

Carotolino は化粧品処方を改善する

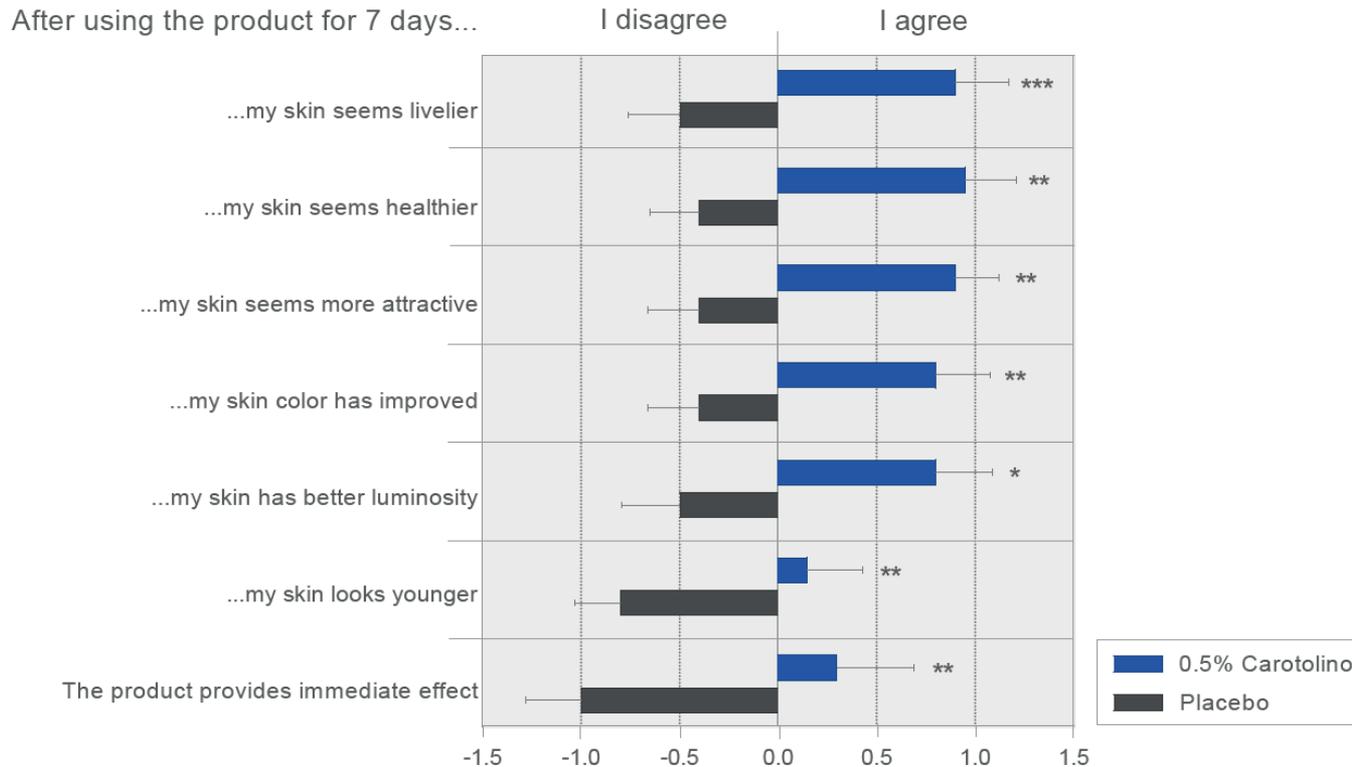


結果:

- 肌の色を最適化: 消費者はCarotolinoによる肌の色の変化に満足し、健康的で魅力的になったと認識した
- 色の変化は決してオレンジ色過ぎないと認識した

# Consumer Self-Assessment Test

Carotolino は化粧品処方を改善する

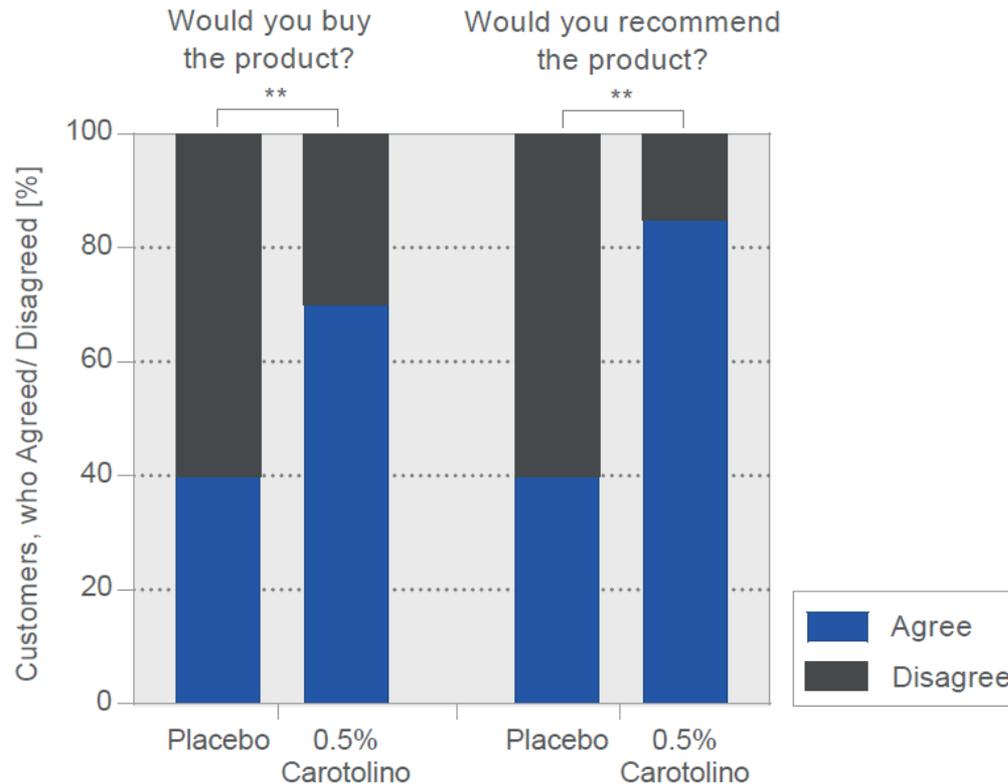


結果：

通常の肌外観の改善: 消費者はCarotolino使用後に肌が生き生きと、健康的で、若々しくかつより魅力的になったと判断した。

# Consumer Self-Assessment Test

Carotolino は化粧品処方を改善する

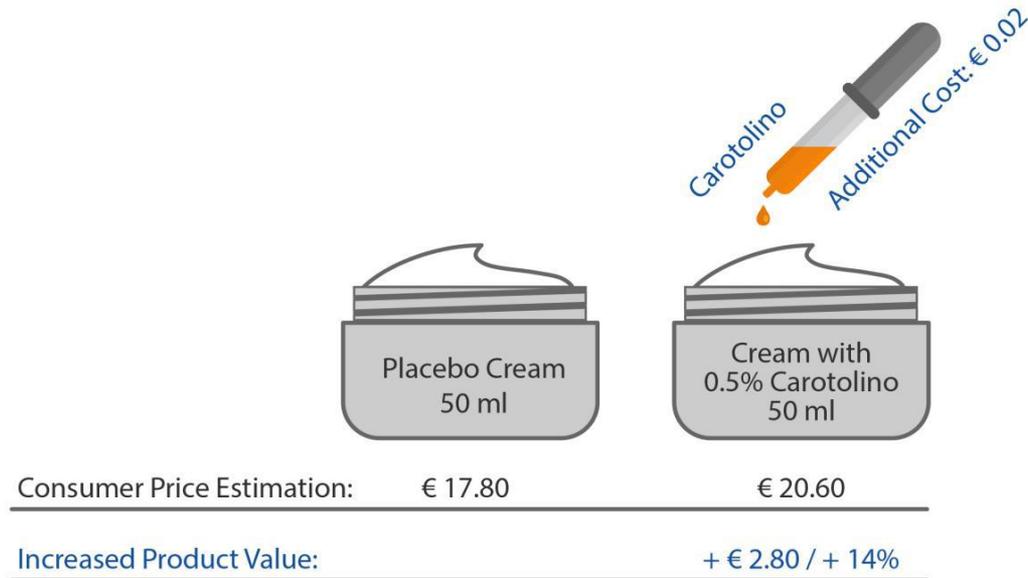


結果:

製品への革新と推奨度の向上: 消費者はCarotolinoを添加した製品を購入したいという気持ちになり(+30%)、製品を勧めたい気持ちになった(+45%)

# Consumer Self-Assessment Test

Carotolino は化粧品処方を改善する



結果:

製品価値の向上: Carotolinoを添加すると製品の推定価格は14% (2.80€)上昇する。(追加の製造コストはたった0.02€)

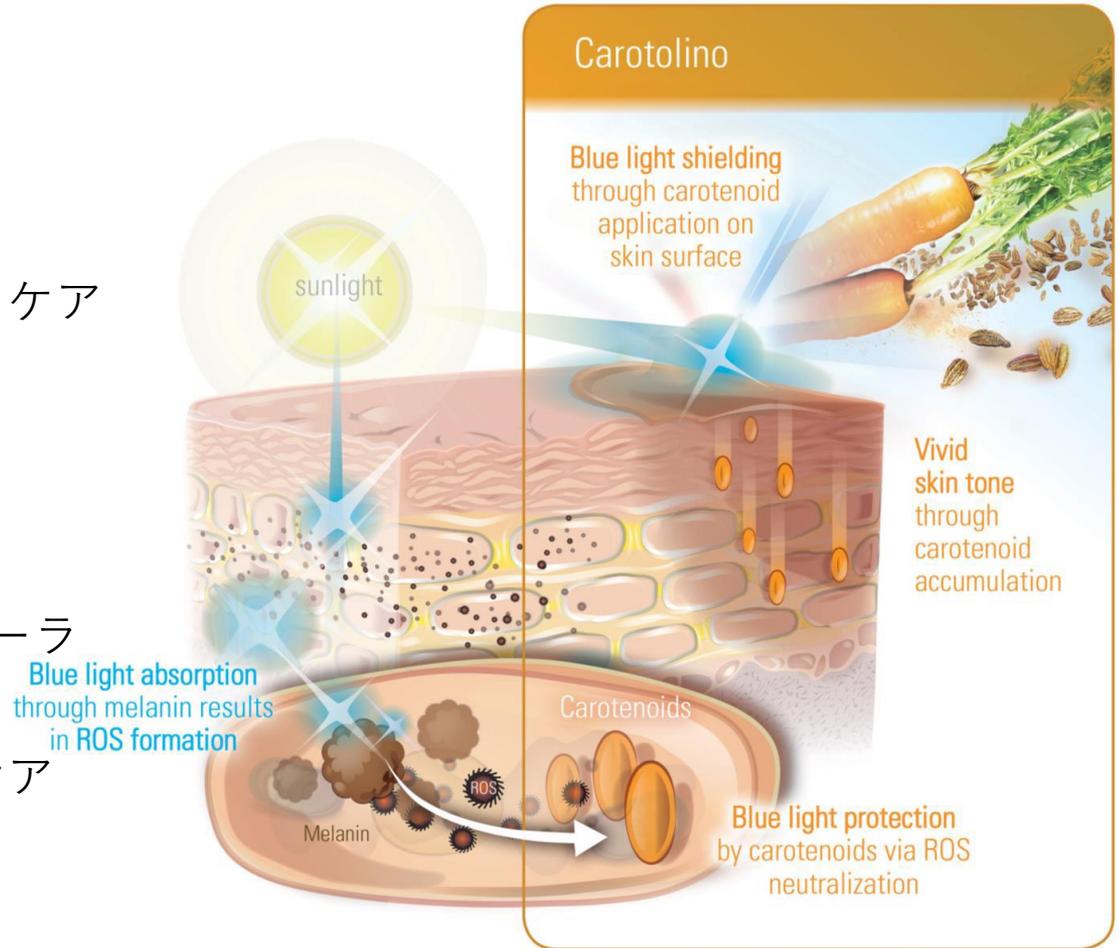
結論:

Carotolino は処方に価値を付加し、明らかな肌色の改善を実感できる

# Carotolino – Blue Light Protection and a Vivid Look

推奨用途:

- 日常の保護クリーム
- アンチエイジング
- 顔やボディのプロテクトケア
- アフターサンケア
- ナイトクリーム
- 目のクマのケア
- リップバーム (色とブルーライト保護)
- カラープロテクトヘアケア



# 原料情報

INCI: CanolaOil, Daucus Carota Sativa (Carrot) Seed Oil, Daucus Carota Sativa (Carrot) Root Extract, Helianthus Annuus (Sunflower) Seed Oil, Tocopheryl Acetate, Beta-Carotene

全成分表示名称：カノラ油、ニンジン種子油、ニンジン根エキス、ヒマワリ種子油、酢酸トコフェロール、カロチン

製品特性:

- 安定化されたニンジン根エキス、ニンジン種子油、 $\beta$ -カロテン成分
- 赤色-オレンジ色、オイル状の粘度のアル液体
- 防腐剤フリー/自己防腐作用

推奨配合量: 0.1 - 1% (オイル処方では3%まで)

