

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2006年2月23日 (23.02.2006)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2006/019114 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 8/97 (2006.01) A61K 31/375 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01) A61K 36/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) A61K 51/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2005/015009
- (22) 国際出願日: 2005年8月17日 (17.08.2005)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2004-238702 2004年8月18日 (18.08.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社ニチレイフーズ (NICHIREI FOODS INC.) [JP/JP]; 〒1048402 東京都中央区築地六丁目19番20号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 内田 絵理子 (UCHIDA, Eriko) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港9番地 株式会社ニチレイフーズ 研究開発部内 Chiba (JP). 花村 高行 (HANAMURA, Takayuki) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港9番地 株式会社ニチレイフーズ 研究開発部内 Chiba (JP). 間山 千郷 (MAYAMA, Chisato) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港9番地 株式会社ニチレイフーズ 研究開発部内 Chiba (JP). 青木 仁史 (AOKI, Hitoshi) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港9番地 株式会社ニチレイフーズ 研究開発部内 Chiba (JP).
- (74) 代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI, Yusuke et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門4丁目3番20号 神谷町MTビル19階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 規則4.17に規定する申立て:
— すべての指定国のための不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て (規則4.17(v))
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。
— 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: SKIN-LIGHTENING AGENT CONTAINING POLYPHENOL COMPOUND

(54) 発明の名称: ポリフェノール化合物を含有する美白剤

(57) Abstract: A skin-lightening agent sufficiently effective in lightening the skin. Also provided is a melanin generation inhibitor which contains as an active ingredient a polyphenol compound derived from acerola, an acerola polyphenol fraction, or another polyphenol compound, and which may optionally further contain ascorbic acid or an ascorbic acid derivative as an active ingredient. The skin-lightening agent contains the inhibitor. A cosmetic composition, food or beverage composition, or medicinal composition is further provided which contains the inhibitor.

(57) 要約: 本発明は十分な皮膚美白効果を有する美白剤を提供することを目的とする。本発明は、アセロラ由来ポリフェノール化合物若しくはアセロラポリフェノール画分又はその他のポリフェノール化合物を有効成分として含有するメラニン生成抑制剤、アスコルビン酸若しくはアスコルビン酸誘導体を有効成分として更に含有するメラニン生成抑制剤に関する。本発明はまた、これらを含む美白剤、化粧品組成物、飲食品組成物又は医薬組成物に関する。

WO 2006/019114 A1

明 細 書

ポリフェノール化合物を含有する美白剤

技術分野

[0001] 本発明は、メラニン生成抑制剤、美白剤及び化粧品用、飲食品用又は医薬品用の組成物に関する。

背景技術

[0002] アセロラはキントラノオ科ヒイラギトラノオ属の熱帯果実で、カリブ海諸島を原産としている。アセロラ果実は、約1, 500mg/100gあるいはそれ以上のビタミンCが含まれ、豊富なビタミンCを含む植物として近年知られるようになっていく。ビタミンCには、組織や毛細血管の強化、メラニン生成抑制活性、あるいはコラーゲンの形成など、数々の生理・薬理作用が知られており、化粧品の分野でも頻りに利用されている。そして、天然のビタミンCを豊富に含むアセロラの果実も、その抽出物に含まれるビタミンCによるチロシナーゼ阻害作用等を期待して化粧料等に用いられるようになっていく(特許第2814094号公報)。また、特開平10-316533号公報はビタミンCを含まないアセロラの発酵体が白色化効果をもつことを教示している。これらは有機酸又はカルボン酸の寄与によるものとしているが、活性の本体は不明である。

[0003] 最近では、アセロラに含まれるポリフェノール成分の生理作用もまた注目されている。例えば、本発明者らは、アセロラにはアントシアニン色素やケルセチン配糖体をはじめとするポリフェノールが約100~300mg/100g程度含まれており、これらのアセロラポリフェノールが活性酸素消去作用(特願2003-375913)、グルコース吸収阻害作用(特願2003-375323)、マルターゼ阻害作用およびAGE生成阻害活性(特願2003-314207)を有することで、血糖上昇や糖尿病合併症などの生活習慣病に対する予防に有効であることを見出している。

[0004] 一方、人の皮膚の色は、表皮中のメラニン量、毛細血管の血流量、角質層の厚さなどが影響している。特にメラニン量は最も重要な因子と報告されている。メラニン色素の生成過程は、色素細胞(メラノサイト)内でチロシンにチロシナーゼが作用することで、チロシンが酸化されて、ドーパ、ドーパキノンになり、さらに自動酸化しドーパクロ

ム、5, 6-ジヒドロキシインドールを経て重合し、最終的にメラニン色素になる。シミやソバカスなどの色素沈着はメラノサイトの活性化によりメラニン色素の生成が著しく亢進したものであり、中高年齢層や女性にとっては大きな悩みの1つとなっている。そこで、最近、皮膚中のメラニン量を少なくして、皮膚を白く保つための化粧品組成物が開発されている。これらの開発努力は、上記のようにメラニンの生成過程で中心的な役割をもつチロシナーゼの活性を抑制する白色化剤に集中している。例えば、ビタミンCまたはビタミンC誘導体、アルブチン、コウジ酸、システイン、グルタチオンなどのチロシナーゼ活性抑制剤を化粧品に配合することが提案されている。また、胎盤抽出物、海藻抽出物(コンブ、ワカメなど)や植物抽出物(茶、アロエ、カンゾウなど)を利用した美白剤も知られている。

[0005] 非特許文献1にはデルフィニジン、シアニジン及びマルビジンがチロシナーゼ活性阻害作用を有していないことを示すデータが記載されている。

特許文献1:特許第2814094号公報

特許文献2:特開平10-316533号公報

非特許文献1:F.A. Badria and M.A. ElGayyar, Boll. Chim. Farmac. - Anno 140 - n. 4, p267-271 (2001)

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0006] しかしながら、上記の美白成分又は美白剤では、皮膚に対する美白効果が十分に発揮されなかったり、製剤中での安定性や溶解性が悪く、また安全性の面で問題があるなど、実使用において満足すべきものではない。

[0007] そこで本発明は十分な皮膚美白効果を有する美白剤を提供することを目的とする。
課題を解決するための手段

[0008] 本発明は以下の発明を包含する。

[0009] (1)アセロラ由来ポリフェノール化合物を有効成分として含有するメラニン生成抑制剤。

[0010] (2)アセロラ果汁又はアセロラ抽出物から得られたアセロラポリフェノール画分を有効成分として含有するメラニン生成抑制剤。

- [0011] (3)アントシアニン類化合物又はその配糖体(ただしシアニン-3-グルコシドを除く)或いはそれらの生理的に許容される塩を有効成分として含有するメラニン生成抑制剤。
- [0012] (4)前記アントシアニン類化合物がシアニン、ペラルゴニン、デルフィニン、マルビジン及びペオニンからなる群から選択される少なくとも1種である(3)に記載のメラニン生成抑制剤。
- [0013] (5)前記配糖体が、ラムノース、グルコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、リボース、アラビノース及びグルクロン酸からなる群から選択される単糖又は同一の若しくは異なる複数の前記単糖により構成されるオリゴ糖が前記アントシアニン類化合物にグリコシド結合を介して結合したものである(3)又は(4)に記載のメラニン生成抑制剤。
- [0014] (6)アスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体を有効成分として更に含有する(1)～(5)のいずれかに記載のメラニン生成抑制剤。
- [0015] (7) (1)～(6)のいずれかに記載のメラニン生成抑制剤を有効成分として含有する美白剤。
- [0016] (8) (7)に記載の美白剤が配合されていることを特徴とする化粧品組成物。
- [0017] (9) (7)に記載の美白剤が配合されていることを特徴とする飲食品組成物。
- [0018] (10) (7)に記載の美白剤が配合されていることを特徴とする医薬組成物。
- [0019] (11)アセロラ由来ポリフェノール化合物を飲食品組成物100gあたり0.1～30g、好ましくは0.5～10g含有する飲食品組成物。
- [0020] (12)アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体とを含有し、アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体との重量比が5:1～1:10、好ましくは3:1～1:2である飲食品組成物。

発明の効果

- [0021] 本発明により、皮膚の黒色化を抑え、かつ、副作用などの心配のない美白剤が提供される。本美白剤は食品分野、化粧品分野、医薬分野など幅広い分野において有用である。
- [0022] 本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2004-238702号の明細書

および／または図面に記載される内容を包含する。

図面の簡単な説明

- [0023] [図1]アセロラ果汁C18吸着画分のチロシナーゼ阻害活性を示した図である。
[図2]C18吸着画分のマウスメラノーマB16細胞を用いたメラニン生成抑制作用確認実験の結果を示した図である。
[図3]シアニジン-3-ラムノシド(C3R)のチロシナーゼ阻害活性を示した図である。
[図4]ペラルゴニジン-3-ラムノシド(P3R)のチロシナーゼ阻害活性を示した図である。

発明を実施するための最良の形態

- [0024] 以下、本発明をより詳細に説明する。
- [0025] 本発明者らはアセロラ由来ポリフェノール化合物がメラニン生成抑制作用(より具体的にはチロシナーゼ活性阻害作用)を有することを見出し、本発明を完成するに至った。
- [0026] アセロラ由来のポリフェノール化合物としては具体的には、シアニジン-3-ラムノシドとペラルゴニジン-3-ラムノシド等のアントシアニン系色素、クエルシトリン(ケルセチン-3-ラムノシド)等のケルセチン配糖体が挙げられ、なかでもアントシアニン系色素が好ましい。これらのポリフェノール類は複数のポリフェノール化合物からなる混合物としても優れたメラニン生成抑制作用を有するのであるが、個々のポリフェノール化合物が単離された形態で存在する場合、特にペラルゴニジン-3-ラムノシドが単離された形態で存在する場合にはより強力なメラニン生成抑制作用を有するため好ましい。
- [0027] ポリフェノール化合物の起源となるアセロラの部位に特に制限はなく、例えばアセロラの果実、根、茎、葉が挙げられる。なかでも果実から採取することが好ましい。ここで果実とは可食部と種部を含んだ果実全体を指す。
- [0028] アセロラからポリフェノール化合物を採取する方法は常法により行うことができる。例えばアセロラ果実を搾汁したアセロラ果汁や、アセロラの上記部位の抽出物から適宜精製して採取することができる。
- [0029] 上記アセロラ抽出物を得る方法としては、例えば、水または有機溶媒で抽出する方

法、アルコール等の親水性有機溶媒を含む水で抽出する方法、有機溶媒を用いて抽出された粗抽出液に、合成吸着剤を作用させて吸着させ、フラボノイドを有する抽出物を得る方法、超臨界流体を用いて抽出する方法等がある。抽出溶媒として用いられ得る水の種類には特に限定がなく、純水、精製水等であつてよい。抽出溶媒として有機溶媒が用いられる場合、親水性有機溶媒、疎水性有機溶媒のいずれでもよい。親水性有機溶媒としては、例えば、メチルアルコール、エチルアルコール、グリセリン、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール等のアルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、1,4-ジオキサン、ピリジン、ジメチルスルホキシド、N, N-ジメチルホルムアミド、酢酸等の公知の有機溶媒が挙げられる。上記の親水性有機溶媒は水との混合物として用いられてもよい。疎水性有機溶媒としては、例えば、ヘキサン、シクロヘキサン、四塩化炭素、クロロホルム、ジクロロメタン、1, 2-ジクロロエタン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、ベンゼン、トルエン等の公知の有機溶媒が挙げられる。上記の親水性有機溶媒および疎水性有機溶媒はそれぞれ単独で用いることもでき、2種以上を組み合わせて用いることもできる。

- [0030] 抽出条件は特に限定されないが、好ましい温度範囲は5～90℃、特に20～40℃である。ここで、高温で抽出を行った場合に、特に配糖体を形成しているポリフェノール等において加水分解を起こすことがある。このため低温抽出により得られるポリフェノールと高温抽出により得られるポリフェノールとが異なる可能性があるが、ポリフェノールの機能性の活性強度には何ら影響しない。抽出時間は1時間～10時間程度、特に1～2時間程度が好ましく、また抽出に使用する溶媒量は原料に対して質量比で1倍量～20倍量が好ましい。
- [0031] 抽出後、ろ過あるいは遠心分離により抽出残渣を除き抽出液を得る。この抽出液は必要により濃縮処理を行うこともできる。また抽出残渣に対して更に同様の抽出処理を行つてもよい。
- [0032] 得られた抽出液には糖分や有機酸が非常に多く含まれることがあるため、それらを除く精製工程を行うことも好ましい。精製処理の方法として、順相又は逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過等が挙げられる。これらの方法を組み合わせて用いることもできる。

- [0033] 上記のアセロラ果汁又はアセロラ抽出物からポリフェノール化合物を単離精製する方法は特に限定されないが、例えばHPLC、合成吸着剤クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過等があり、特に合成吸着剤クロマトグラフィーが好ましい。この場合、溶出条件としては、例えば10～50%エタノール溶液を用いて溶出することが好ましい。またさらに、アントシアニン色素は酸性条件下で安定化するため、この溶出液に塩酸又は酢酸などを加え酸性にすることが特に好ましい。
- [0034] アセロラ果汁又はアセロラ抽出物から得られたアセロラポリフェノール画分もまたメラニン生成抑制作用を有する。ここでアセロラポリフェノール画分とは、アセロラ果汁又はアセロラ抽出物から上述の各種クロマトグラフィーにより上述の溶出条件で溶出された、ポリフェノール化合物を含有する画分を指す。アセロラポリフェノール画分には、溶出液、その濃縮物及びその乾燥物が包含される。
- [0035] 本発明者らは更にまた、アセロラに由来するものに限らず、種々のアントシアニン類化合物又はその配糖体(ただしシアニン-3-グルコシドを除く)或いはそれらの生理的に許容される塩がメラニン生成抑制作用(より具体的にはチロシナーゼ活性阻害作用)を有することを見出した。本発明はまたこれらの成分を有効成分とするメラニン生成抑制剤に関する。
- [0036] 前記アントシアニン類化合物としては具体的にはシアニン、ペラルゴニン、デルフィニン、マルビジン、ペオニン及びペチュニンが包含され、なかでも、シアニン、ペラルゴニン、デルフィニン、マルビジン及びペオニンが好ましい。
- [0037] 本発明において「アントシアニン類化合物」という用語は、アントシアニン類化合物に加えて、アントシアニン類化合物の誘導体であってメラニン生成抑制作用が実質的に同等なものをも包含する。このような誘導体としてはアントシアニン類化合物のアシル化体、デオキシ体等が挙げられる。
- [0038] 前記配糖体としては、ラムノース、グルコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、リボース、アラビノース及びグルクロン酸からなる群から選択される単糖(より好ましくはラムノース)又は同一の若しくは異なる複数の前記単糖により構成されるオリゴ糖(例えば二糖又は三糖)が前記アントシアニン類化合物にグリコシド結合(通常はO-グリコシド結合)を介して結合したものが好ましい。グリコシド結合は、通常は、前記

アントシアニン類化合物の3位、3'位、5位又は7位の水酸基と糖との結合により形成される。

- [0039] 前記配糖体は、1分子のアントシアニン類化合物に1分子の糖が結合したものには限定されず、1分子のアントシアニン類化合物に、同種又は異種の複数の糖分子が結合したものであってもよい。
- [0040] 前記アントシアニン類化合物及びその配糖体のうち、シアニン-3-ラムノシド、ペラルゴニン-3-ラムノシド、シアニン、ペラルゴニン、デルフィニン、ペオニン及びマルビジンが特に好ましい。本発明は非特許文献1に記載された、デルフィニン、シアニン及びマルビジンがチロシナーゼ活性阻害作用を有さないとの知見とは正反対の知見に基づくものであり、当業者が容易に想到できるものではない。
- [0041] 前記生理的に許容される塩としては有機酸又は無機酸との酸付加塩が挙げられ、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、安息香酸塩、クエン酸塩、グルコン酸塩、糖酸塩、シクロヘキシルスルファミン酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、ナウタレンスルホン酸塩などが挙げられる。
- [0042] 本発明のメラニン生成抑制剤中の、アセロラ由来ポリフェノール化合物の量は、メラニン生成抑制作用を奏することができる有効量であれば特に限定されないが、一例を挙げれば、製剤100gあたり0.1~30g、好ましくは0.5~10gである。
- [0043] 本発明者らは更に驚くべきことに、アセロラ由来ポリフェノール化合物又はアセロラポリフェノール画分或いは上記の各種ポリフェノール化合物とアスコルビン酸とが組み合わされたときより優れたメラニン生成抑制作用が奏されることを見出し、本発明を完成するに至った。従来より、アスコルビン酸(ビタミンC)が主にその還元作用によりチロシナーゼによるメラニンの生成を抑制する効果があることは知られていた。今回新たに、アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸とを組み合わせたときに両者によるメラニン生成抑制作用が相乗的に高まり、各々を単独で用いた場合と比較して少量の使用量で同等の効果が得られることが確認された。アスコルビン酸はその誘導体として提供されてもよく、アスコルビン酸誘導体としては例えばアスコルビン

酸のカリウム、ナトリウム、マグネシウム、カルシウム等の金属塩、リン酸エステルカリウム、リン酸エステルマグネシウム、リン酸エステルカルシウム等のリン酸エステル塩、硫酸エステルナトリウム、硫酸エステルカリウム等の硫酸エステル塩が挙げられる。本発明のメラニン生成抑制剤中にアセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体とが含有される場合、アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体との重量比は4:1~1:8であることが好ましいがこの範囲には限定されない。

[0044] 本発明のメラニン生成抑制剤は実施例に示す通り皮膚美白作用を有している。すなわち本発明はまた、上記のメラニン生成抑制剤を有効成分として含有する美白剤に関する。

[0045] 本発明の美白剤は典型的には化粧品組成物、飲食品組成物又は医薬組成物の成分として配合され皮膚美白に資することができるだけでなく、皮膚老化防止、皮膚癌の予防又は治療などの効果を奏するものと期待される。

[0046] 化粧品組成物としては通常の状態、例えば化粧用クリーム、乳液、化粧水、美容エッセンス、パック剤、パウダー、リップクリーム、口紅、アンダーメイクアップ、ファンデーション、サンケア、浴用剤、ボディシャンプー、ボディローション、石けん、クレンジングフォーム、軟膏、ゼリー剤、エアゾール剤等の形態で用いることができる。化粧品組成物には本発明の美白剤のほかに、本発明の所望の効果が損なわれない範囲で、油分、界面活性剤、アルコール、保湿剤、抗酸化剤、美白剤、紫外線吸収剤、防菌防かび剤、顔料、色素、香料などを適宜添加することができる。本発明の化粧品組成物中のアセロラ由来ポリフェノール化合物の量は、化粧品としての使用によりメラニン生成抑制作用を奏することができる有効量であれば特に限定されないが、一例を挙げれば、0.001~4重量%、好ましくは0.04~0.8重量%である。本発明の化粧品組成物中にアセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体とが含有される場合、アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体との重量比は好ましくは5:1~1:10、より好ましくは3:1~1:2であるがこの範囲には限定されない。

[0047] 飲食品組成物の形態としては、飲料、固形食品、半固形食品等が挙げられ、特定

保健用食品にもなり得る。飲料としては、具体的には、果汁飲料、清涼飲料、アルコール飲料等が挙げられる。また、摂取時に水等を用いて希釈して摂取される形態であってもよい。固形食品としては、例えば、飴、トローチ等を含む錠剤(タブレット)や糖衣錠の形態、顆粒の形態、粉末飲料、粉末スープ等の粉末の形態、ビスケット等のブロック菓子類の形態、カプセル、ゼリー等の形態等、種々の形態の食品が挙げられる。半固形食品としては、例えばジャムのようなペーストの形態、チューイングガムのようなガムの形態が挙げられる。これらの飲食品組成物には本発明の美白剤のほか、本発明の所望の効果が損なわれない範囲で、通常、食品原料として用いられる種々の成分を配合することができる。他の成分としては例えば水、アルコール類、甘味料、酸味料、着色料、保存剤、香料、賦形剤等が挙げられる。これらの成分は単独で、または組み合わされて使用され得る。本発明の飲食品組成物中のアセロラ由来ポリフェノール化合物の量は、摂食によりメラニン生成抑制作用を奏することができる有効量であれば特に限定されないが、一例を挙げれば、飲食品組成物100gあたり0.1~30g、好ましくは0.5~10gである。本発明の飲食品組成物中にアセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体とが含有される場合、アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体との重量比は好ましくは5:1~1:10、より好ましくは3:1~1:2であるがこの範囲には限定されない。

[0048] 医薬組成物の形態には特に制限はなく必要に応じ適宜選択され、経口投与用製剤または非経口投与用製剤の形態が可能である。経口投与用製剤としては例えば散剤、錠剤、顆粒剤、細粒剤、液剤、カプセル剤、丸剤、トローチ、内用液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、エリキシル剤等の形態とすることができる。非経口投与用製剤としては例えば経鼻、経腸、経皮投与用製剤が挙げられ、注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、経粘膜吸収剤、貼付剤、軟膏剤等の形態とすることができる。またこれらの製剤形態が症状に応じて単独で、または組み合わされて使用され得る。各種製剤形態への調製は、常法により行われる。その際使用される担体、賦形剤、結合剤、防腐剤、酸化安定剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味剤、希釈剤等も慣用されているものから適宜選択される。本発明の医薬組成物中のアセロラ由来ポリフェノール化

化合物の量は、投与によりメラニン生成抑制作用を奏することができる有効量であれば特に限定されないが、一例を挙げれば、医薬組成物100gあたり0.1~30g、好ましくは0.5~10gである。本発明の医薬組成物中にアセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体とが含有される場合、アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体との重量比は好ましくは5:1~1:10、より好ましくは3:1~1:2であるがこの範囲には限定されない。

[0049] 以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例

[0050] [実施例1]

C18吸着画分の調製

アセロラ果実1kgから種子を除去した後、等倍量の精製水を添加し、ホモジナイズした。得られた懸濁液を遠心・ろ過後、C18カートリッジカラム(Waters Sep-Pak Vac 35cc C18カートリッジカラム)に供し、蒸留水で洗浄し、0.2%TFA/メタノール溶液で溶出した。溶出液を凍結乾燥し、1.2gの粉末を得た。この粉末をアセロラポリフェノール画分(C18吸着画分)とした。C18吸着画分の成分分析を行った結果、グルコース、フルクトース及びビタミンCは含まれていなかった。次に、ポリフェノール含量をFolin-Denis法により測定した。検量線はカテキンを標準物質として作成した。その結果、ここで得られたC18吸着画分の総ポリフェノール含量は40.7%であった。なお、同画分の総ポリフェノール含量ははじめ22%と算出されたが、この値は測定又は検量線作成操作における誤りが原因で導かれた正しくない値であり、同一試料について再度正確に測定及び検量線作成を行なったところ上記の如く40.7%が適切な値であることが判明した。

[0051] [実施例2]

アセロラ由来ポリフェノールの調製

アセロラ果実から種子を取り除き、残りの可食部をホモジナイズし3倍量のメタノールを添加して27°Cにて1時間抽出した。この操作を2回行い、遠心・ろ過後、凍結乾燥し、再度蒸留水に溶解した。この液をC18カートリッジカラム(Waters Sep-Pak

Vac 35cc C18カートリッジカラム)に供し、10%メタノールで充分洗浄した後、0.1%TFAを含む20%メタノール溶液で溶出される画分および0.1%TFAを含む30%メタノール溶液で溶出される画分を採取した。逆層カラムを用いたHPLCにより、さらに精製し、20%メタノール溶出画分からシアニジン-3-ラムノシド(以下C3Rと略記)とペラルゴニジン-3-ラムノシド(以下P3Rと略記)を得た。

[0052] [実施例3]

C18吸着画分のチロシナーゼ活性阻害

1/15Mリン酸緩衝液(pH6.8)70 μ L、実施例1で得られたC18吸着画分をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解させた各種濃度の試料溶液2 μ L、マッシュルーム由来チロシナーゼ(CALZYME Laboratories)の同緩衝液溶液70 μ L(10U)を加えて混合した後、25 $^{\circ}$ Cで10分間インキュベートした。その後10mM L-DOPA 70 μ Lを加えて反応を開始し、波長475nmの吸光度を20秒ごとに2分間まで測定し、次式を用いてチロシナーゼ活性阻害率を算出した。その結果を図1に示した。

[0053]
$$\text{チロシナーゼ活性阻害率(\%)} = (1 - a/b) \times 100$$

a: 試料溶液を添加した反応溶液の単位時間当たりの吸光度変化

b: 試料溶液の代わりにDMSOを添加した反応溶液の単位時間当たりの吸光度変化

図1から明らかなように、C18吸着画分にチロシナーゼ活性阻害効果が認められた。

[0054] 次に、ポリフェノールを吸着する性質を持つ樹脂であるPoly-vinylpolypyrrolidone(PVPP)を、実施例1で得られたC18吸着画分の0.132%水溶液に5%となるように添加し、1.5時間攪拌の後、遠心分離(1,800g、15分)して上清を得た。さらに、この上清に1%となるようにPVPP樹脂を添加し、同様に1.5時間攪拌した後遠心分離し、その上清を得た。これを凍結乾燥させPVPP非吸着画分として、37 $^{\circ}$ Cで上記と同様にチロシナーゼ活性阻害を調べた。なお、ここでは試料をDMSOではなく、1/15Mリン酸緩衝液(pH6.8)に溶解した。また、ポリフェノール含量の測定は実施例1と同様に行った。それらの結果を表1に示す。表1から明らかなように、C18吸着画分のチロシナーゼ活性阻害にはポリフェノール成分が強く関与していると考えら

れる。

[表1]

	ポリフェノール含量 (%)	チロシナーゼ活性阻害率 (%)
C18吸着画分	40.7	87.8
PVPP非吸着画分	3.8	27.1

[0055] [実施例4]

マウスメラノーマB16細胞を用いたC18吸着画分のメラニン生成抑制作用確認実験
実施例1で調製したC18吸着画分を用いて、マウス由来B16メラノーマ細胞を使用し、細胞レベルでの美白効果の確認試験を行った。この試験法によれば、動物細胞を使用することにより、生体内により近い環境下でメラニン色素の生成抑制作用及び細胞増殖に与える影響を確認することができる。

[0056] シャーレにマウス由来B16メラノーマ細胞を 1×10^5 cells/mL播き込み、 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 条件下で2日間培養した。培養液を除去後、C18吸着画分を10、50、75又は $100 \mu\text{g/mL}$ の各濃度で添加した試験培地を 10mL/dish 加え、更に 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 条件下で3日間培養した。培養液を除去後、トリプシン溶液で細胞を剥がして遠心分離を行い、PBSに懸濁後、再度遠心分離を行った。上清を除いた細胞ペレットに 1N 水酸化ナトリウム溶液を加え、加熱処理を行い、メラニン色素を溶解し、更に細胞由来の線維状物質をフィルター除去した。吸光度計にて溶解したメラニン色素の測定とBIO-RAD社DC-Protein Assay KITを用いた蛋白量の測定を行った。

[0057] ブランク試験群としてC18吸着画分添加培地に代えて $10\% \text{FBS/DME}$ 培地を用いて上記と同様の試験を行なった。またポジティブコントロール群としてC18吸着画分添加培地に代えてアスコルビン酸を $20 \mu\text{g/mL}$ 添加した培地を用いて上記と同様の試験を行なった。

[0058] ブランク試験群における蛋白質 1mg 当たりのメラニン生成量を 100% とした時の、各C18吸着画分添加群のメラニン生成率を以下の式で算出した。結果を図2に示す。

[0059] メラニン生成率(%) = ([C18吸着画分添加群における総蛋白1mg当たりのメラニン量の平均値] / [ブランク試験群における総蛋白1mg当たりのメラニン量の平均値]) x100

図2より、C18吸着画分がアスコルビン酸と同程度のメラニン生成抑制作用をもつことが確認された。また、本試験で用いた濃度域においては総蛋白質量に変化がみられなかったことから、C18吸着画分の添加が細胞増殖に与える影響はないと考えられた。

[0060] [実施例5]

アセロラ由来ポリフェノール成分のチロシナーゼ活性阻害

実施例2で得られた2種類のアセロラ由来ポリフェノールC3R、P3Rを用いて、チロシナーゼ活性阻害試験を実施例3の手順に準じて行った。それらの結果を図3および図4に示した。図3および図4より、C3RおよびP3Rにおいてチロシナーゼの活性阻害効果が認められた。C3R、P3Rおよびコウジ酸についてチロシナーゼの活性を50%阻害するときの濃度を算出し、表2に示した。ポジティブコントロールとして用いたのはチロシナーゼ活性阻害剤としてよく知られているコウジ酸である。コウジ酸はチロシナーゼ活性を阻害し、メラニンの生成を抑えるため、化粧品に添加されていたが、動物実験で肝がんを引き起こす可能性があることがわかり、平成13年3月に厚生労働省の通達により現在化粧品への使用は中止されている。表2より、C3Rのチロシナーゼ阻害効果はコウジ酸と同程度であり、さらにP3Rにおいてはコウジ酸の約6倍の強いチロシナーゼ阻害効果をもつことがわかった。この結果はC3RおよびP3Rが天然物由来の美白剤として利用できる可能性を示すものである。

[表2]

	チロシナーゼ活性を50%阻害するときの濃度 (μM)
C3R	3.3
P3R	5.7
コウジ酸	3.8

[0061] [実施例6]

アスコルビン酸との相乗効果

アスコルビン酸(ビタミンC)は、主にその還元作用により、チロシナーゼによるメラニ

ンの生成を抑制する効果があることが知られている。そこで、アスコルビン酸とC18吸着画分のチロシナーゼ阻害活性の相乗効果について検討した。アスコルビン酸による還元作用によるメラニン生成抑制もまた、実施例3に示す「チロシナーゼ活性阻害率」を用いて評価することが可能である。その結果を表3に示した。表3から少量のアスコルビン酸を添加することで、C18吸着画分とアスコルビン酸が相乗的に作用し、少量のC18吸着画分で十分なメラニン生成抑制効果が得られることが明らかになった。

[表3]

	チロシナーゼ活性阻害率 (%)
アスコルビン酸 (33.3 μ M)	5.49
アスコルビン酸 (16.7 μ M) + C18吸着画分 (0.15 mg/ml)	57.14
C18吸着画分 (0.3 mg/ml)	64.94

[0062] [実施例7]

アセロラポリフェノール画分の大量調製1

種子を除去したアセロラ果実80kgを搾汁し、果汁と残渣を得た。残渣は蒸留水で洗浄し、この洗浄液と果汁を混ぜ合わせ凍結乾燥した。得られたサンプルを再度蒸留水に溶解し、この液を合成吸着樹脂 (Amberlite XAD 16HPカラム) に供し、蒸留水で洗浄後、0.2% TFA/メタノール溶液で溶出した。その後、凍結乾燥を行いアセロラポリフェノール画分96gを得た。この画分を成分分析した結果、グルコース、フルクトース及びビタミンCは含まれておらず、総ポリフェノール含量 (Folin-Denis法による) は約40%であった。

[0063] [実施例8]

アセロラポリフェノール画分の大量調製2

種子を除去したアセロラ果実を搾汁し、果汁と残渣を得た。得られた果汁8tを等量の蒸留水と混合し、よく攪拌した後、この液を合成吸着樹脂 (Amberlite XAD 7HPカラム) に供し、蒸留水で洗浄後、リンゴ酸を添加した70%エタノール溶液で溶出した。その後、凍結乾燥を行いアセロラポリフェノール画分の粉末5.9kgを得た。この画分の総ポリフェノール含量 (Folin-Denis法による) は約40%であった。得られた

アセロラポリフェノール画分の粉末中には、溶出液に添加されたリンゴ酸が1%含まれていた。

[0064] [実施例9]

アセロラポリフェノールを配合したドリンク剤

実施例3～6の結果からアセロラポリフェノールを配合したドリンク剤は肌のくすみやシミを防止又は改善することができるものと期待される。このようなドリンク剤の調製方法は特に限定されない。例えば実施例8で作製したアセロラポリフェノール画分250mgを用いてドリンク剤200mlを常法により調製することができる。

[0065] 肌のくすみやシミが目立たなくなる効果を得るためのドリンク剤の摂取量及び摂取期間は適宜決定できるが、一例を挙げれば、1日当たり200mlの上記ドリンク剤を12週間にわたって飲み続けることが好ましい。

[0066] [実施例10]

アセロラポリフェノール含有化粧水のヒトに対する美白作用

表4の処方に従ってアセロラポリフェノール含有化粧水を得た。なお調製は湯浴中で行なった。試験品Aは対照品と同一組成である。下記試験1においてプラセボサンプルとして被験者に与えた。

[表4]

評価用試験品配合組成 (単位=重量%)

成分	対照品	試験品			
		A	B	C	D
C18吸着画分(実施例8)	0	0	0.01	0.1	0.5
エタノール	9	9	9	9	9
グリセリン	6	6	6	6	6
1,3-ブチレングリコール	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
ポリオキシエチレンカルビタンモノラウレート	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
ポリオキシエチレンカルビルエーテル	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
マンニトール	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
精製水	残量	残量	残量	残量	残量

[0067] 試験1:使用感

10名の被験者に対して、各自の手の甲に対照品及び試験品A～D計5種類を塗布させ、使用感についてアンケートを行なった。

[0068] アンケートでは5項目(色、香り、さらさら感、しっとり感、透明感)について対照品を

0点とし各試験品について-3点から3点まで1点刻みで、好ましいものほど高得点になるように点数をつけるよう依頼し、その平均点を算出して評価した。結果を表5に示す。

[表5]

評価項目	試験品			
	A	B	C	D
色	0.6	0.8	0.7	-0.2
香り	0.2	0.7	1.1	1.3
さらさら感	0.0	0.0	0.4	0.8
しっとり感	0.6	0.6	1.3	1.7
透明感	0.1	0.4	1.1	1.2

[0069] 表5から明らかな通り、C18吸着画分を配合した試験品、特に試験品C及びDでは、しっとり感、透明感、さらさら感という化粧水の使用感に重要な項目について肯定的な評価が得られた。色についてはC18吸着画分を0.5%配合した試験品Dでは化粧水として濃すぎるという意見が一部の被験者から寄せられた。

[0070] 試験2:美白効果

被験者9名を3人ずつ3組に分け、対照品と試験品Bを塗布する組、対照品と試験品Cを塗布する組、及び対照品と試験品Dを塗布する組とした。

[0071] 各被験者は一方の腕に対照品を塗布し、他方の腕に所定の試験品を塗布した。1日1回適当量を塗布し、2週間継続した。

[0072] 試験開始2週間後に各被験者に対してアンケートを行なった。アンケートでは美白効果について対照品を0点とし試験品について-3点から3点まで1点刻みで、美白効果が高いほど高得点になるように点数をつけるよう依頼し、その合計点を算出して評価した。結果を表6に示す。

[表6]

美白効果アンケート結果

	試験品B 塗布群	試験品C 塗布群	試験品D 塗布群
被験者1	0	2	2
被験者2	1	2	0
被験者3	0	0	1
合計点	1	4	3

[0073] 表6に示される通り、C18吸着画分を配合した化粧水、特に試験品C及びDは美白作用を奏することが確認された。

[0074] C18吸着画分配合量が0.1%の試験品Cと同0.5%の試験品Dとは美白効果に差は認められなかった。試験1において試験品Dは化粧水として色が濃すぎるという指摘があったことも鑑みれば、化粧水におけるC18吸着画分の添加量は0.1%程度が適当であるといえる。

[0075] [実施例11]

アントシアニン類化合物等のチロシナーゼ活性阻害試験

実施例5では、アセロラに含まれるアントシアニン類化合物の配糖体(シアニン-3-ラムノシド及びペラルゴニン-3-ラムノシド)がチロシナーゼ活性阻害作用を有することが示された。本実施例では表7に示す各種化合物についてチロシナーゼ活性阻害作用を確認した。

[表7]

サンプル	入手経路
シアニジン-3-ラムノシド	アセロラから精製
ペラルゴニジン-3-ラムノシド	アセロラから精製
ケルセチン-3-ラムノシド	アセロラから精製
イソクエルシトリン	アセロラから精製
アスチルビン	アセロラから精製
ヒペロシド	アセロラから精製
シアニンガラクトシド	ALEXIS CORPORATION 製
シアニン-3-グルコシド	紫田薬品株式会社 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社製) から精製
ペラルゴニンガラクトシド	EXTRASYNTHESIS 製
デルフイニンガラクトシド	EXTRASYNTHESIS 製
ペオニンガラクトシド	EXTRASYNTHESIS 製
マルビジンガラクトシド	EXTRASYNTHESIS 製
ケルセチン	和光純薬株式会社製
コリン酸	和光純薬株式会社製

[0076] 表7に示す化合物のうち、シアニジン-3-ラムノシド、ペラルゴニジン-3-ラムノシド、ケルセチン-3-ラムノシド、イソクエルシトリン、アスチルビン、及びヒペロシドはアセロラに由来するポリフェノールである。またシアニジン、ペラルゴニジン、デルフイニン、ペオニン、及びマルビジンはアントシアニン類化合物である。なおイソクエルシトリンはケルセチン-3-グルコシドの別名であり、アスチルビンはデヒドロクエルシトリンの別名であり、ヒペロシドはケルセチン-3-ガラクトシドの別名である。

[0077] 各サンプル化合物をDMSOに溶解し、適当な濃度にDMSOで希釈した。

[0078] 96穴プレートの各wellに1/15Mリン酸緩衝液70 μ l、1U/ μ lに緩衝液で調製したマッシュルーム由来チロシナーゼ溶液70 μ l、DMSOに溶解した各濃度のサンプル2 μ lを入れ、よく混合した後、25°Cで10分間インキュベートした。

[0079] 10mM L-DOPA溶液70 μ lを素早く添加し、混合した後、475nmの吸光度の変化を20秒ごとに2分間測定した。反応は25°Cで行った。

[0080] 吸光度の単位時間あたりの変化量(傾き)を初速度とし、以下の式でチロシナーゼ活性阻害率を算出した。

$$[0081] \text{阻害率}(\%) = \left\{ 1 - \left(\frac{\text{初速度}_{\text{サンプル}}}{\text{初速度}_{\text{コントロール}}} \right) \right\} \times 100$$

チロシナーゼ活性を50%阻害するときの濃度を求め、それをIC₅₀とした。各々のサンプルのIC₅₀を表8に示す。

[表8]

	IC ₅₀ (μM)
シアニジン-3-ラムノシド*	33
ペラルゴニジン-3-ラムノシド*	5.7
ケルセチン-3-ラムノシド*	n. d. ^a
イソケルシトリン	> 2.0x10 ³
アスチルビン	> 2.0x10 ³
ヒペロシド*	> 2.0x10 ³
シアニンククロライド*	11
シアニジン-3-グルコシド*	84
ペラルゴニジンククロライド*	20
デルフィニジンククロライド*	16.4
ペオニジンククロライド*	0.6
マルビジンククロライド*	0.4
ケルセチン	3.0
コウジ酸	38

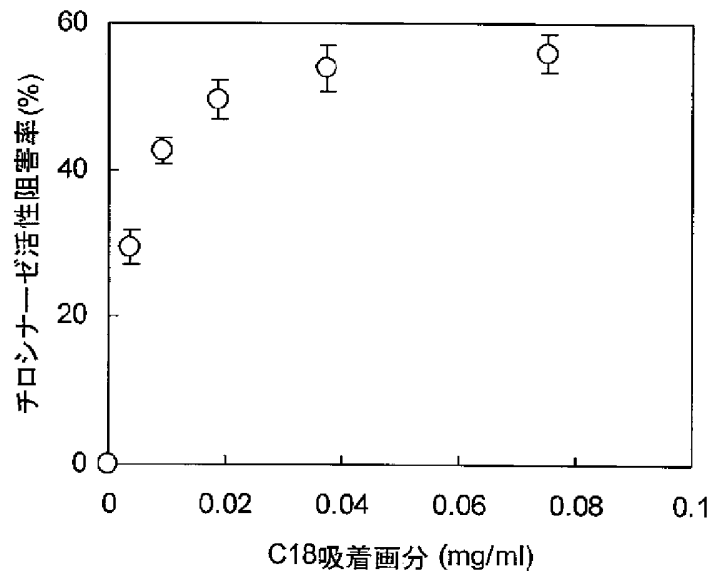
^a n. d., 検出されなかった

- [0082] アントシアニン類化合物であるシアニン及びペラルゴニンについては、配糖体としても遊離体(塩化物塩)としてもチロシナーゼ活性阻害作用が確認された。また他のアントシアニン類化合物であるデルフィニン、ペオニン及びマルビジンについても遊離体(塩化物塩)としてチロシナーゼ活性阻害作用が確認され、特にペオニン及びマルビジンについてはその作用が強力であることが示された。
- [0083] またシアニン配糖体のうち、アセロラに由来するシアニン-3-ラムノシド(同33 μM)は、黒豆等に含まれることが知られているシアニン-3-グルコシド(IC₅₀ = 84 μM)と比較してより強力なチロシナーゼ活性阻害剤であることも明らかとなった。
- [0084] ケルセチンは遊離体として強力なチロシナーゼ活性阻害作用(IC₅₀ = 3.0 μM)が認められたものの、配糖体としてはチロシナーゼ活性阻害作用が認められなかった。この点でアントシアニン類化合物とは対照的であった。
- [0085] 本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

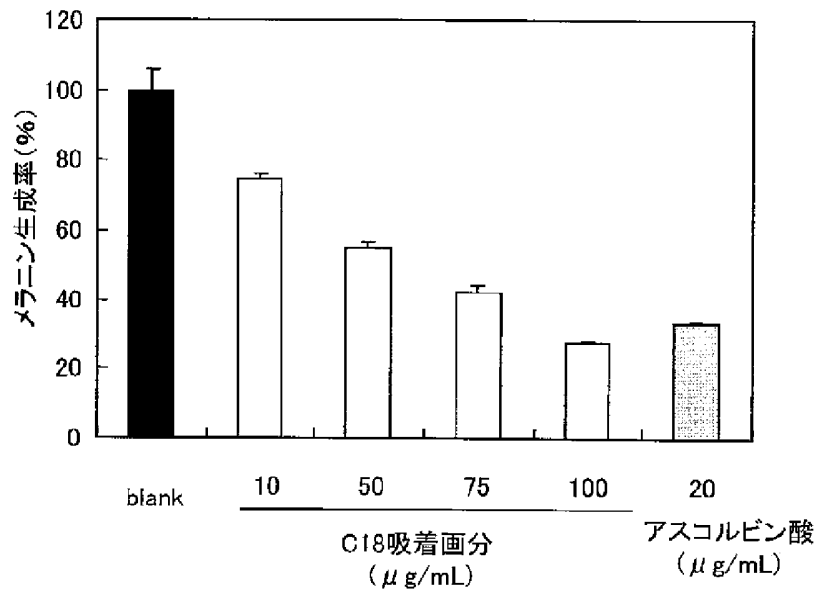
請求の範囲

- [1] アセロラ由来ポリフェノール化合物を有効成分として含有するメラニン生成抑制剤。
- [2] アセロラ果汁又はアセロラ抽出物から得られたアセロラポリフェノール画分を有効成分として含有するメラニン生成抑制剤。
- [3] アントシアニン類化合物又はその配糖体(ただしシアニン-3-グルコシドを除く)或いはそれらの生理的に許容される塩を有効成分として含有するメラニン生成抑制剤。
- [4] 前記アントシアニン類化合物がシアニン、ペラルゴニン、デルフィニン、マルビジン及びペオニンからなる群から選択される少なくとも1種である請求項3に記載のメラニン生成抑制剤。
- [5] 前記配糖体が、ラムノース、グルコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、リボース、アラビノース及びグルクロン酸からなる群から選択される単糖又は同一の若しくは異なる複数の前記単糖により構成されるオリゴ糖が前記アントシアニン類化合物にグリコシド結合を介して結合したものである請求項3又は4に記載のメラニン生成抑制剤。
- [6] アスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体を有効成分として更に含有する請求項1～5のいずれか1項に記載のメラニン生成抑制剤。
- [7] 請求項1～6のいずれか1項に記載のメラニン生成抑制剤を有効成分として含有する美白剤。
- [8] 請求項7に記載の美白剤が配合されていることを特徴とする化粧品組成物。
- [9] 請求項7に記載の美白剤が配合されていることを特徴とする飲食品組成物。
- [10] 請求項7に記載の美白剤が配合されていることを特徴とする医薬組成物。
- [11] アセロラ由来ポリフェノール化合物を飲食品組成物100gあたり0.1～30g含有する飲食品組成物。
- [12] アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体とを含有し、アセロラ由来ポリフェノール化合物とアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体との重量比が5:1～1:10である飲食品組成物。

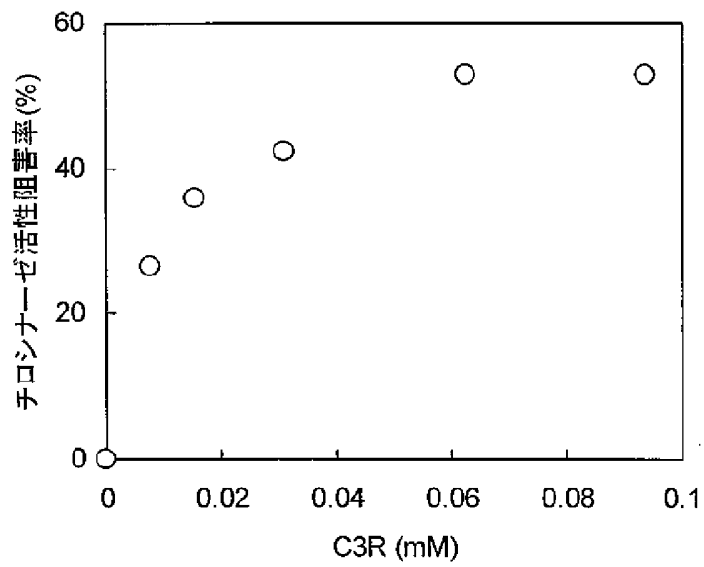
[図1]



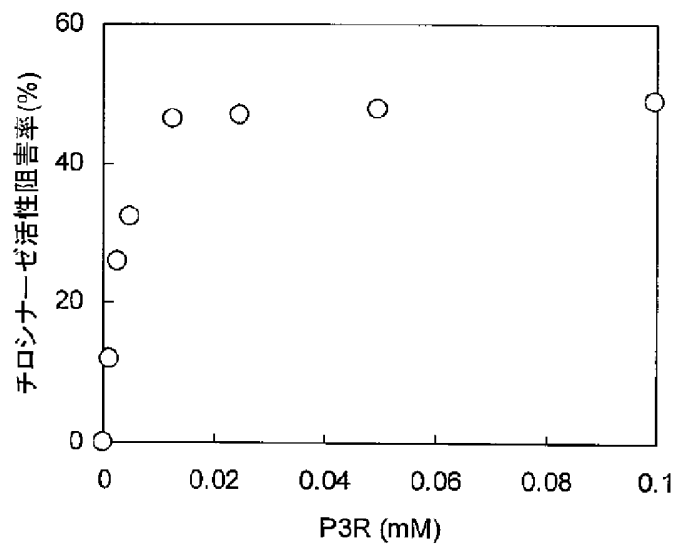
[図2]



[図3]



[図4]



PCT

紙面による写し(注意 提出用では有りません)

VIII-5-1	不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て(規則4.17(v)及び51の2.1(a)(v)) 氏名(姓名)	本国際出願 に関し、 株式会社ニチレイフーズ NICHIREI FOODS INC. は、本国際出願の請求項に記載された対象が以下のよう に開示されたことを申し立てる。
VIII-5-1(i)	開示の種類:	刊行物
VIII-5-1(ii)	開示の日付:	2005年 03月 05日 (05.03.2005)
VIII-5-1(iii)	開示の名称:	日本農芸化学会2005年度(平成17年度)大会講演要旨集103頁
VIII-5-1(iv)	開示の場所:	
VIII-5-1(i)	開示の種類:	刊行物
VIII-5-1(ii)	開示の日付:	2005年 04月 11日 (11.04.2005)
VIII-5-1(iii)	開示の名称:	日経バイオテク2005. 4-11 P17-18
VIII-5-1(iv)	開示の場所:	
VIII-5-1(v)	本申立ては、次の指定国のためになされたものである。:	すべての指定国

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/015009

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K8/97 (2006.01), **A61K8/49** (2006.01), **A61Q19/00** (2006.01), **A23L1/30** (2006.01), **A61K31/375** (2006.01), **A61K36/00** (2006.01), **A61P17/00** (2006.01), **A61K51/00** (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K8/97 (2006.01), **A61K8/49** (2006.01), **A61Q19/00** (2006.01), **A23L1/30** (2006.01), **A61K31/375** (2006.01), **A61K36/00** (2006.01), **A61P17/00** (2006.01), **A61K51/00** (2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JAPICDOC(JOIS), JCATALOG(JOIS), JCHEM(JOIS), JMEDPlus(JOIS), JST7580(JOIS), JSTPlus(JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2000-212032 A (Kose Corp.), 02 August, 2000 (02.08.00), Claims; Par. No. [0006]; tables 1, 2 (Family: none)	1-8
X	JP 2004-238345 A (Suzuko UECHI), 26 August, 2004 (26.08.04), Claims; Par. Nos. [0029], [0064] (Family: none)	1-8
X Y	JP 2-200610 A (Nichirei Corp.), 08 August, 1990 (08.08.90), Claims (Family: none)	8 1-12

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
29 November, 2005 (29.11.05)

Date of mailing of the international search report
13 December, 2005 (13.12.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/015009

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TSUDA T et al., Inhibition of Tyrosinase activity by antocyanin pigments isolated from Phaseolus vulgaris L., Food Sci Technol Int Tokyo, Vol.3, No.1, 1997, pages 82 to 83, particularly, tables 1, 2	1-12
Y	HANAMURA T et al., "Acerola (Maloighia glabra L) Kajitsu ni Fukumareru Polyphenol Seibun no Kozo Kaiseki", Annual Meeting of JSBBA Koen Yoshishu, Vol.2004, page 82, 05 March, 2004 (05.03.04), page 82, 2A21p26	1-12
X	JP 3-099090 A (INVERNI DELLA BEFFA SPA), 24 April, 1991 (24.04.91), Claims; particularly, Claims 2, 12, 13; examples 1 to 4 & EP 412300 A2 & US 5200186 A & CA 2022962 A & IT 1231725 B	8-10 1-12
X	JP 2004-099578 A (Oriza Yuka Kabushiki Kaisha), 02 April, 2004 (02.04.04), Claims; Par. Nos. [0002], [0004] (Family: none)	3-10 1-12
X	JP 2003-508415 A (UNIV MICHIGAN STATE), 04 March, 2003 (04.03.03), Claims; particularly, Claims 2, 12, 13; examples 1 to 4 & WO 200115553 A1 & US 6818234 B1 & KR 2002042652 A & CN 1384713 A	9
X	JP 2001-046030 A (Tama Biochemical Co., Ltd.), 20 February, 2001 (20.02.01), Claims; Par. Nos. [0002], [0003], [0021] (Family: none)	9-10
X	JP 2003-108979 A (Rohto Pharmaceutical Co., Ltd.), 21 January, 2003 (21.01.03), Claims; examples 2 to 4 (Family: none)	9-10
X	JP 2001-328941 A (Yoshiaki TANIGUCHI), 27 November, 2001 (27.11.01), Claims; Par. No. [0028] (Family: none)	9-10
X	WO 2003/033005 A1 (RUDOLF WILD GMBH & CO KG), 24 April, 2003 (24.04.03), Claims; particularly, Claims 6, 9 to 10; table 1, No.9 & DE 10150824 A1 & EP 1435983 A1 & US 2005/002961 A1 & JP 2005-506353 A	9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/015009

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 62-153211 A (Shiseido Co., Ltd.), 08 July, 1987 (08.07.87), Claims (Family: none)	8
X	JP 62-048611 A (Shiseido Co., Ltd.), 03 March, 1987 (03.03.87), Claims (Family: none)	8,10
P,X	JP 2005-154432 A (Nichirei Corp.), 16 June, 2005 (16.06.05), Claims (Family: none)	9-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. **A61K8/97** (2006.01), **A61K8/49** (2006.01), **A61Q19/00** (2006.01), **A23L1/30** (2006.01), **A61K31/375** (2006.01), **A61K36/00** (2006.01), **A61P17/00** (2006.01), **A61K51/00** (2006.01)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. **A61K8/97** (2006.01), **A61K8/49** (2006.01), **A61Q19/00** (2006.01), **A23L1/30** (2006.01), **A61K31/375** (2006.01), **A61K36/00** (2006.01), **A61P17/00** (2006.01), **A61K51/00** (2006.01)

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JAPICDOC (JOIS), JCATALOG (JOIS), JCHEM (JOIS), JMEDPlus (JOIS), JST7580 (JOIS), JSTPlus (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2000-212032 A (株式会社コーセイ) 2000.08.02, 特許請求の範囲, [0006], 表1, 表2 (ファミリーなし)	1-8
X	JP 2004-238345 A (上地 鈴子) 2004.08.26, 特許請求の範囲, [0029], [0064] (ファミリーなし)	1-8
X Y	JP 2-200610 A (株式会社ニチレイ) 1990.08.08, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	8 1-12

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

29. 11. 2005

国際調査報告の発送日

13. 12. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

福井 美穂

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

4C 9166

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	TSUDA T et al, Inhibition of Tyrosinase activity by antocyanin pigments isolated from Phaseolus vulgaris L. , Food Sci Technol Int Tokyo, Vol.3 No.1, 1997, p82-83、特に Table1,2	1-12
Y	HANAMURA T et al, アセロラ (Maloighia glabra L) 果実に含まれるポリフェノール成分の構造解析, 日本農芸化学大会講演要旨集, Vol. 2004, p82, 2004.03.05, p82, 2A21p26	1-12
X	JP 3-099090 A (INVERNI DELLA BEFFA SPA) 1991.04.24, 特許請求の範囲、特に請求項 2、1 2、1 3、実施例 1-4	8-10 1-12
Y	& EP 412300 A2 & US 5200186 A & CA 2022962 A & IT 1231725 B	
X	JP 2004-099578 A (オリザ油化株式会社) 2004.04.02, 特許請求の範囲、[0002], [0004] (ファミリーなし)	3-10 1-12
Y		
X	JP 2003-508415 A (UNIV MICHIGAN STATE) 2003.03.04, 特許請求の範囲、特に請求項 2、1 2、1 3、実施例 1-4 & WO 200115553 A1 & US 6818234 B1 & KR 2002042652 A & CN 1384713 A	9
X	JP 2001-046030 A (タマ生化学株式会社) 2001.02.20, 特許請求の範囲、[0002], [0003], [0021] (ファミリーなし)	9-10
X	JP 2003-108979 A (ロート製薬株式会社) 2003.01.21, 特許請求の範囲、実施例 2-4 (ファミリーなし)	9-10
X	JP 2001-328941 A (谷口 良秋) 2001.11.27, 特許請求の範囲、[0028] (ファミリーなし)	9-10
X	WO 2003/033005 A1 (RUDOLF WILD GMBH & CO KG) 2003.04.24, 特許請求の範囲、特に請求項 6、9-10, 表 1 No. 9 & DE 10150824 A1 & EP 1435983 A1 & US 2005/002961 A1 & JP 2005-506353 A	9
X	JP 62-153211 A (株式会社資生堂) 1987.07.08, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	8
X	JP 62-048611 A (株式会社資生堂) 1987.03.03, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	8, 10
PX	JP 2005-154432 A (株式会社ニチレイ) 2005.06.16, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	9-10