(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101707906 A
(43)申请公布日 2010.05.12

(21)申请号 200880017515.5

(22)申请日 2008.05.22

(30)优先权数据
138522/2007 2007.05.25 JP

(85)PCT申请进入国家阶段日
2009.11.25

(86)PCT申请的申请数据
PCT/JP2008/059462 2008.05.22

(87)PCT申请的公布数据
WO2008/146710 JA 2008.12.04

(71)申请人 雪印乳业株式会社
地址 日本北海道

(72)发明人 渡边达也 加藤健 上野宏
春田裕子 上田典子 吉冈俊满

(74)专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事务所 11277
代理人 刘新宇 李茂家

(51)Int.Cl.
A61K 8/64(2006.01)
A23K 1/16(2006.01)
A61K 1/175(2006.01)
A23L 1/30(2006.01)
A23L 1/305(2006.01)
A23L 2/52(2006.01)
A61K 8/19(2006.01)
A61K 8/26(2006.01)
A61K 8/27(2006.01)
A61K 9/08(2006.01)
A61K 33/06(2006.01)
A61K 33/10(2006.01)
A61K 33/24(2006.01)
A61K 33/26(2006.01)
A61K 33/30(2006.01)
A61K 33/32(2006.01)
A61K 33/34(2006.01)
A61K 38/16(2006.01)
A61P 17/00(2006.01)
A61Q 19/02(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 14 页

(54)发明名称

美白剂

(57)摘要

公开以下：一种皮肤美白剂，其包括碳酸根离子和/或碳酸氢根离子-金属离子-LF类的复合体、该复合体的降解产物或碳酸根离子和/或碳酸氢根离子-金属离子-LF类降解产物的复合体作为有效成分；和包括所述皮肤美白剂的食品、饮料、饲料或化妆品。所述皮肤美白剂可日常安全地摄取，并显示优良的皮肤美白效果。

CN 101707906 A

1. 一种美白剂，其包括乳铁蛋白类或其降解产物、金属离子以及碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子的复合体作为有效成分。

2. 根据权利要求 1 所述的美白剂，其中所述复合体通过混合以下溶液获得 ：包含碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子的溶液、包含一种或多种金属离子的溶液，以及包含乳铁蛋白类或其降解产物的溶液。

3. 一种美白剂，其包括通过水解乳铁蛋白类、金属离子以及碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子的复合体获得的降解产物作为有效成分。

4. 根据权利要求 1 或 3 所述的美白剂，其中，所述复合体包括 ：每 1 分子乳铁蛋白类或其降解产物，3 至 1,000 分子的一种或多种金属离子以及 15 分子以上的碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子。

5. 根据权利要求 1 至 4 任一项所述的美白剂，其中所述金属离子包括一种或两种以上选自铁、铜、锌、锰、钴、镍和铝的离子的金属离子。

6. 一种食品、饮料、饲料、化妆品和药物，其包括根据权利要求 1 至 5 任一项所述的美白剂。

美白剂

技术领域

[0001] 本发明涉及美白剂，其具有优良的皮肤美白效果，并可用于预防和治疗斑点(spots)和雀斑等。此外，本发明涉及各自包含所述美白剂的食品、饮料、饲料、化妆品和药物。

背景技术

[0002] 皮肤的颜色主要依赖于在表皮和真皮中着色组分如黑色素、血色素或类胡罗卜素等的类型和量来决定。它们受各种外因或内因控制。黑色素颜料主要通过皮肤中的黑素细胞来合成，并通过紫外线刺激、荷尔蒙分泌，以及从周围角质形成细胞(keratinocyte)释放的刺激因子来活化。虽然黑色素颜料的主要功能是减轻由紫外线照射引起的皮肤问题，但代谢异常如黑色素等的过度合成引起局部色素沉着、所谓斑点、雀斑等，这些是严重的美容问题。作为改进皮肤上色素沉着的方法，给出以下方法：通过选择性地控制黑素细胞的毒性和黑素细胞中黑素生成途径来抑制黑色素形成本身的方法，和促进已形成的黑色素的减少或排出的方法。通常，具有还原作用的L-抗坏血酸及其衍生物广泛用作具有美白作用的物质，但是没有获得足够高的美白效果。虽然将为酪氨酸酶、黑色素合成酶抑制剂的氢醌、熊果苷(albutin)、曲酸、甘草提取物和胎盘提取物用于获得美白效果，但这些物质具有稳定性和安全问题。在这些情况下，期望开发安全的、能够日常摄取或涂布，并具有优良美白效果的美白剂。

[0003] 报导了以下：乳铁蛋白(下文中称为LF(s))类为从分泌液如哺乳类乳液等分离的铁结合蛋白，并具有各种生理机能如铁吸收促进作用、抗炎症作用、过氧化脂质形成抑制作用和免疫系统控制作用。已通过利用LF类的生理机能开发各种食品、饮料、饲料和化妆品。同时，已研究LF类不仅与铁而且与各种金属之间的结合性，并已开发将多种金属结合至LF类的方法，以及使用该方法的矿物补给用的药物、食品和饮料。

发明内容

[0004] 发明要解决的问题

[0005] 本发明的目的是提供美白剂，其具有高安全性和优良的对皮肤的美白效果。

[0006] 用于解决问题的方案

[0007] 本发明的发明人已对寻找安全的、能够日常摄取和涂布，并具有优良美白效果的材料进行深入研究，并发现：碳酸根离子和/或碳酸氢根离子-金属离子-LF类复合体、该复合体的降解产物，以及碳酸根离子和/或碳酸氢根离子-金属离子-LF类降解产物复合体具有优良的美白效果。因而，该发现使得完成本发明。

[0008] 为本发明美白剂有效成分的碳酸根离子和/或碳酸氢根离子-金属离子-LF类复合体可通过日本专利2884045或日本专利3223958等中描述的方法来制备。例如，该复合体可通过如下制备：将包含碳酸根离子、碳酸氢根离子，或者碳酸根离子和碳酸氢根离子的溶液，以及包含LF类的溶液，添加至包含一种或多种选自铁、铜、锌、锰、钴、镍和铝的离子

的金属离子的溶液中，并将它们混合在一起。

[0009] 在本发明中的 LF 类为通常称为“转铁蛋白家族”的铁结合蛋白，可使用例如从分泌液如哺乳动物如人或牛等的乳液分离的 LF、从血液或内脏等分离的转铁蛋白等，或从卵分离的卵转铁蛋白。已知许多大量地制备这些 LF 类的方法，可使用通过任何方法制备的 LF 类。LF 类不需要完全隔离，可包含其它组分。此外，也可使用通过基因操作从微生物、动物细胞或转基因动物生产的 LF 类。

[0010] 为本发明美白剂有效成分的碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类降解产物复合体可通过混合以下溶液制备 :包含碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子的溶液、包含一种或多种金属离子的溶液，以及包含 LF 类降解产物的溶液。LF 类降解产物通过用蛋白质降解酶如胰岛素、胃蛋白酶或胰凝乳蛋白酶等，或用酸或碱分解 LF 类而获得。优选具有约 1,000Da 以上至约 70,000Da 以下的分子量的降解产物。此外，碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体的降解产物可通过用蛋白质降解酶如胰岛素、胃蛋白酶或胰凝乳蛋白酶等，或用酸或碱分解碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体来制备，所述碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体通过如下制备 :将包含 LF 类的溶液添加至包含碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子的溶液以及包含一种或多种金属离子的溶液中，并将它们混合。

[0011] 作为能够用于本发明的金属盐，可使用氯化铁、葡糖酸铜、葡糖酸锌、氯化锰 (II)、氯化钴、氯化镍和氯化铝等，或也可使用各种金属的硫酸盐和磷酸盐。也可将有机化合物如血红素铁用作这些金属化合物。各金属盐的添加量以各金属离子计优选 3M 以上，基于 1M 的 LF 类。当添加的一种金属离子的量大于 1,000M 时，在生产或贮存期间可能发生沉淀，或金属离子不完全结合。

[0012] 能够用于本发明的包含碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子的溶液的实例包括碳酸溶液、碳酸氢铵溶液、碳酸氢钠溶液、碳酸氢钾溶液、碳酸钠溶液和碳酸钙溶液等。这些溶液也可以混合使用。这些溶液可包含其他组分如醣类、蛋白质或脂肪等。

[0013] 发明的效果

[0014] 本发明的美白剂通过经皮或经口摄取该试剂显示优良的美白效果。此外，所述美白剂的摄取是安全的。

具体实施方式

[0015] 本发明的美白剂可根据常规方法配制为片剂、胶囊、颗粒剂、悬浮剂、散剂、粉剂、浆剂、饮料或外用剂等来使用。美白剂可通过与营养剂，食品和饮料 (drink) 如酸乳酪、乳制饮品、饼干、面包、小吃、蛋糕、布丁、饮品 (beverage)、发酵牛奶、面条、香肠、各种奶粉和幼儿食品，饲料，化妆品和药物混合来使用。本发明的美白剂可作为美白剂单独使用，也可与通常包含于其它食品、饲料、化妆品和药物的原料，如醣类、脂质、香料、维生素、矿物、类黄酮或多酚等组合使用。

[0016] 期望以每个成人每天 2mg 以上的量摄取本发明的美白剂，以获得其优良的美白效果。为此目的，依赖于它们的形态，期望在食品、饮料、饲料、化妆品或药物中以 0.001 至 30％ (重量 / 重量)，优选 0.1 至 10％ (重量 / 重量) 的量包含美白剂。

[0017] 本发明的美白剂可用于通常的化妆品如乳液、霜、化妆水 (lotion) 和面膜 (face

pack) 等。这些化妆品可通过常规使用的方法生产，并且在这些化妆品的生产过程期间，可适当地混合本发明的美白剂。此外，也可从这些作为起始材料的这些化妆品生产化妆品。包含于各化妆品中的本发明美白剂的量不特别限定，但通常为 0.001 至 30％（重量 / 重量），优选 0.1 至 10％（重量 / 重量），基于总质量。

[0018] 下文中通过实施例和试验例更详细地描述本发明，但这些实施例和试验例仅为了示例，本发明绝不限于这些。

[0019] 实施例 1

[0020] （碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体的制备）

[0021] 在制备以下溶液之后，将它们混合以制备碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体。

[0022] （溶液 A）1 升包含 1M 碳酸氢钠的溶液

[0023] （溶液 B1）0.2 升以各浓度包含各金属盐的溶液

[0024] 必须注意以下。在包含一种金属离子的溶液的情况下，制备包含 100mM 金属盐的溶液。在包含两种金属离子的溶液的情况下，将等量的金属盐混合在一起以制备包含 200mM 金属盐的溶液。在包含三种金属离子的溶液的情况下，将等量的金属盐混合在一起以制备包含 300mM 金属盐的溶液。

[0025] （溶液 B2）0.8 升包含 1mM 的 LF 类的溶液

[0026] 将通过混合溶液 B1 和溶液 B2 获得的溶液 B 首先添加至溶液 A 中，并搅拌所得混合物以制备包含各金属离子结合至其上的 LF 类的溶液。将 300ml 该溶液借助于具有 10kDa 分子量的透析膜对超纯水透析，完全脱盐以除去未结合金属离子，其后，将所得物冷冻干燥，并通过电感耦合等离子体发射光谱 (ICP) 测量结合至 LF 类的金属离子的量。结果示于表 1 中。结果，碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体可以以基于 LF 的 90％以上的产率获得。可将获得的碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体用作本发明的美白剂。

[0027] [表 1]

		浓度	金属离子 /LF 类
	金属盐		
		(mM)	（摩尔比）
1.	铁	3	3
2.		70	70
3.		200	200
4.	铜	10	4
5.		100	32
6.		500	160
7.	锌	50	8
8.		100	15
9.		500	80
10.	锰	100	9
11.		1,000	47
12.		2,000	178
13.	钴	100	7

[0044]	14.		1,000	70
[0045]	15.		2,000	142
[0046]	16.	镍	100	8
[0047]	17.		1,000	80
[0048]	18.		2,000	161
[0049]	19.	铝	300	3
[0050]	20.		1,000	10
[0051]	21.		5,000	50
[0052]	22.	铁 + 铜	100+100	98+62
[0053]	23.	铁 + 锰	100+100	92+31
[0054]	24.	铁 + 镍	100+100	94+24
[0055]	25.	铁 + 铝	100+100	81+8
[0056]	26.	铁 + 钴	100+100	87+12
[0057]	27.	铜 + 锌	100+100	67+31
[0058]	28.	铜 + 锰	100+100	62+11
[0059]	29.	铁 + 铜 + 锌	100+100	96+60+29

[0060] 在该表中，当使用两种金属盐时，以金属盐的顺序给出它们的摩尔比。例如，在“铁 + 铜”栏中的" 98+62" 是指 98mM 的铁盐和 62mM 的铜盐。以下表格相同。注意，关于用于该试验的金属盐，氯化铁用作铁盐，葡糖酸铜用作铜盐，葡糖酸锌用作锌盐，氯化锰 (II) 用作锰盐，氯化钴用作钴盐，氯化镍用作镍盐，氯化铝用作铝盐。

[0061] 实施例 2

[0062] （碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体的降解产物的制备）

[0063] 在制备以下溶液之后，将它们混合在一起以制备碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体的降解产物。将胰岛素（型号 III，由 Sigma Co.，Ltd. 制造）添加至实施例 1 中获得的碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体中，以在该复合体中变为 1wt％的胰岛素浓度，将获得的混合物在 37℃下水解 24 小时。其后，进一步添加相同量 (1wt％) 的胰岛素，并在 37℃下进行水解 24 小时，以将碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体完全水解。注意，为了进行该水解反应，将该反应溶液通过灭菌过滤器灭菌，以抑制细菌增殖，然后，在添加一滴甲苯后进行反应。然后，将该反应溶液借助于具有 1kDa 分子量的透析膜透析并冷冻干燥，以获得碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体的降解产物，所述降解产物具有主要为 55kDa、30kDa 和 10kDa 的分子量并包括具有 1kDa 以上分子量的肽作为另一组分。结合至碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体降解产物的金属的量通过 ICP 测量。结果示于表 2 中。获得的碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体降解产物可用作本发明的美白剂。

[0064] [表 2]

[0065]		碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类	金属离子 /LF 类
[0066]		复合体的降解产物	（摩尔比）
[0067]	1.	铁 LF(3)	3
[0068]	2.	铁 LF(70)	68
[0069]	3.	铁 LF(200)	198

[0070] 4. 铜 LF(4) 3

[0071] 5. 铜 LF(32) 29

[0072] 6. 铜 LF(160) 157

[0073] 7. 铁 + 铜 LF(98+62) 96+59

[0074] 8. 铁 + 锰 LF(92+31) 89+28

[0075] 实施例 3

[0076] (碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类降解产物复合体的制备)

[0077] 在制备以下溶液之后,将它们混合以制备碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类降解产物复合体。

[0078] (溶液 A)1 升包含 1M 碳酸氢钠的溶液

[0079] (溶液 B1)0.2 升以各浓度包含各金属盐的溶液

[0080] 必须注意以下。在包含一种金属离子的溶液的情况下,制备包含 100mM 金属盐的溶液。在包含两种金属离子的溶液的情况下,将等量的金属盐混合在一起以制备包含 200mM 金属盐的溶液。在包含三种金属离子的溶液的情况下,将等量的金属盐混合在一起以制备包含 300mM 金属盐的溶液。

[0081] (溶液 B2)0.8 升通过将 LF 类降解产物溶解于水中制备的溶液,以使以 LF 类当量计的 LF 类的浓度为 13.2μM/L。

[0082] 注意,使用根据在日本专利 3223958 中参考例 1 的方法获得的 LF 类降解产物。将通过混合溶液 B1 和溶液 B2 获得的溶液 B 首先添加至溶液 A 中,并搅拌所得混合物以制备包含金属离子结合至其上的 LF 类降解产物的溶液。将该溶液借助于透析膜 (MWCO[截留分子量]:1kDa) 在 4℃下对超纯水透析 90 小时以完全脱盐。将阻留物冷冻干燥之后,通过 ICP 测量结合至 LF 类降解产物的金属离子的量。结果示于表 3 中。可将获得的碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类降解产物用作本发明的美白剂。

[0083] [表 3]

		浓度	金属离子 /LF 类
	金属盐		
		(mM)	(摩尔比)
1.	铁	3	3
2.		70	70
3.		200	201
4.	铜	10	4
5.		100	33
6.		500	162
7.	铁 + 铜	100+100	93+75
8.	铜 + 锌	100+100	66+35
9.	铁 + 铜 + 锌	100+100+100	94+55+27

[0096] 注意,关于用于该试验的金属盐,氯化铁用作铁盐,葡糖酸铜用作铜盐,葡糖酸锌用作锌盐,氯化锰 (II) 用作锰盐,氯化钴用作钴盐,氯化镍用作镍盐,氯化铝用作铝盐。

[0097] [试验例 1]

[0098] （黑色素形成抑制效果的分析）

[0099] 将小鼠的恶性黑素瘤 B16-F0 细胞 (Dainippon SumitomoPharmaceutical Co., Ltd.) 用于该实验。使用包含 10％胎牛血清的 Eagle'sMEM 培养基 (Sigama-Aldrich Co., Ltd.)，并将细胞在 CO_2 培养箱 (5％ CO_2，37℃) 中培养。制备具有细胞浓度 3×10^5B16 细胞 /ml 的悬浮液，并将 1ml 该悬浮液各自分配到包含 9ml 培养基的 100ml 盘中。第二天，将该培养基用另一培养基替换，所述另一培养基包含 0.01 至 1％的 LF、在实施例 1 中获得的碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 复合体 (FeLF(70)、FeLF(200)，CuLF(32)、CuLF(160)、Fe+CuLF(98+62))、金属盐和 LF 或 LF 降解产物，将该细胞培养 4 天。在培养完成后，取出该细胞，将各组细胞的数量设定为 5×10^6，并进行离心。将 500ml 的 1M NaOH 加入并溶解，通过分光光度计测量所得溶液在 405nm 处的吸光度。假定将不添加 1M NaOH 获得的一组细胞的抑制率定义为 100％，计算各组的黑色素形成抑制率，结果示于以下表 4 中。

[0100] [表 4]

[0101] 样品	浓度（质量％）	抑制率（％）
[0102] LF	0.01	12.3
[0103]	0.1	16.1
[0104]	1	18.4
[0105] FeLF(70)（实施例 1）	0.01	21.3
[0106]	0.1	29.4
[0107]	1	40.1
[0108] FeLF(200)（实施例 1）	0.01	21.1
[0109]	0.1	31.8
[0110]	1	38.0
[0111] LF+ 氯化铁 (70)	0.01	14.0
[0112]	0.1	17.9
[0113]	1	21.3
[0114] LF+ 氯化铁 (200)	0.01	13.8
[0115]	0.1	18.7
[0116]	1	21.8
[0117] CuLF(32)（实施例 1）	0.01	15.2
[0118]	0.1	21.5
[0119]	1	32.9
[0120] CuLF(160)（实施例 1）	0.01	16.5
[0121]	0.1	22.0
[0122]	1	36.1
[0123] LF+ 氯化铜 (II)(32)	0.01	13.0
[0124]	0.1	18.3
[0125]	1	20.0
[0126] LF+ 氯化铜 (II)(160)	0.01	12.9
[0127]	0.1	19.0

[0128] | | 1 | 20.6 |

[0129] | Fe+CuLF(98+62) | 0.01 | 18.8 |

[0130] | | 0.1 | 24.6 |

[0131] | | 1 | 39.0 |

[0132] | LF+ 氯化铁 (98) | 0.01 | 13.7 |

[0133] | + 氯化铜 (II)(62) | 0.1 | 19.0 |

[0134] | | 1 | 21.6 |

[0135] 结果，在 0.01％至 1％的浓度下以浓度依赖方式观察 LF 的黑色素形成抑制效果。另一方面，与单独添加 LF 的溶液相比，在通过同时添加 LF、氯化铁和氯化铜 (II) 制备的溶液中，几乎没有观察到黑色素形成抑制效果的增强。然而，在 FeLF(70)、FeLF(200)、CuLF(32)、CuLF(160) 和 Fe+CuLF(98+62) 的情况下，在 0.01％至 1％的浓度下以浓度依赖方式抑制黑色素的形成，认为它们的黑色素形成抑制效果比仅 LF 的效果强。这表明本发明的美白剂比单独使用 LF、氯化铁和氯化铜 (II)，或同时使用的情况具有更高的美白效果。

[0136] [试验例 2]

[0137] (酪氨酸酶活性抑制效果的分析)

[0138] 酪氨酸酶为涉及用于从酪氨酸合成黑色素并将酪氨酸转化为多巴，然后将多巴转化为多巴醌的途径的酶。然后，为检测本发明美白剂的黑色素合成途径的抑制效果，测试酪氨酸酶活性抑制效果。

[0139] 在该实验中，使用酪氨酸酶 (源自蘑菇 ;Sigama-AldrichCorp.)，并添加 LF、在实施例 1 中获得的碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体、在实施例 2 中获得的碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体的降解产物、在实施例 3 中获得的碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类降解产物复合体或金属盐，以在 37℃下进行预处理 15 分钟。添加多巴 (Sigama-Aldrich Co.，Ltd.) 作为基质，并使该混合物进一步在 37℃下反应 5 分钟，其后测量反应产物在 476nm 处的吸光度。假定将没有任何添加剂获得的产物的抑制率定义为 100％，计算抑制率。当使用碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体时获得的结果示于表 5 中，当使用碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体的降解产物时获得的结果示于表 6 中，当使用碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类降解产物复合体时获得的结果示于表 7 中。

[0140] [表 5]

[0141] 碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 复合体

[0142]

	抑制率		
样品(摩尔比)	0.001%	0.01%	0.1%
LF	10.5%	11.1%	12.4%
铁LF (3)	11.3%	15.9%	20.0%
铁LF (70)	25.3%	30.4%	35.2%
铁LF (200)	27.3%	29.1%	30.4%
氯化铁	4.9%	5.5%	10.1%
铜LF (4)	11.5%	12.0%	15.0%
铜LF (32)	18.0%	20.8%	26.1%
铜LF (160)	22.3%	28.4%	30.1%
氯化铜(II)	0.5%	0.3%	0.3%
锌LF (8)	12.1%	16.1%	19.2%
锌LF (15)	15.8%	19.5%	20.4%
锌LF (80)	17.9%	19.2%	18.0%
氯化锌(II)	2.3%	3.0%	6.1%
锰LF (9)	13.7%	17.2%	18.9%
锰LF (47)	14.5%	18.0%	20.5%
锰LF (178)	20.1%	23.5%	27.0%
氯化锰(II)	3.8%	3.9%	5.1%
钴LF (7)	16.2%	16.8%	16.6%
钴LF (70)	19.0%	18.7%	20.3%
钴LF (142)	21.0%	26.7%	28.6%
氯化钴	5.2%	5.8%	7.9%
镍LF (8)	18.0%	20.0%	21.8%
镍LF (80)	22.6%	25.9%	28.8%
镍LF (161)	20.4%	23.8%	25.9%
氯化镍	4.3%	5.9%	7.5%
铝LF (3)	14.2%	18.7%	19.0%
铝LF (10)	18.1%	19.6%	20.0%
铝LF (50)	22.1%	25.8%	28.1%
氯化铝	0.7%	1.1%	2.9%
铁+铜LF (98+62)	23.3%	25.6%	30.1%
铁+锰LF (92+31)	20.7%	24.6%	28.0%
铁+镍LF (94+24)	20.6%	23.8%	26.7%
铁+铝LF (81+8)	22.7%	24.9%	29.6%
铁+钴LF (87+12)	21.0%	23.7%	27.5%
铜+锌LF (67+31)	19.5%	23.8%	25.9%
铜+锰LF (62+11)	19.1%	22.1%	25.8%
铁+铜+锌LF (96+60+29)	23.7%	25.4%	29.9%
LF+氯化铁(3)	10.8%	12.5%	13.8%
LF+氯化铁(70)	11.7%	14.3%	16.1%
LF+氯化铁(200)	11.3%	13.9%	17.2%
LF+氯化铜(II) (4)	10.8%	11.9%	12.4%
LF+氯化铜(II) (30)	11.2%	13.7%	13.9%
LF+氯化铜(II) (160)	11.1%	13.5%	14.3%

[0143] [表 6]

[0144] (碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 复合体的降解产物)

[0145]

	抑制率		
样品(摩尔比)	0.001%	0.01%	0.1%
LF的降解产物	10.2%	12.0%	13.1%
铁LF (3)复合体的降解产物	10.6%	14.9%	19.2%
铁LF (70)复合体的降解产物	23.3%	28.2%	33.1%
铁LF (200)复合体的降解产物	25.1%	27.8%	28.0%
铜LF (4)复合体的降解产物	10.6%	12.2%	14.2%
铜LF (32)复合体的降解产物	17.2%	18.9%	24.1%
铜LF (160)复合体的降解产物	21.0%	26.7%	28.6%
铁+铜LF(98+62)复合体的降解产物	21.5%	23.8%	28.6%
铁+锰LF(92+31)复合体的降解产物	19.3%	23.3%	26.1%

[0146] [表 7]

[0147] (碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 降解产物的复合体)

[0148]

	抑制率		
样品(摩尔比)	0.001%	0.01%	0.1%
LF	10.5%	11.1%	12.4%
LF降解产物	10.2%	12.0%	13.1%
铁LF降解产物(3)	12.6%	16.6%	21.5%
铁LF降解产物(70)	25.9%	29.7%	33.9%
铁LF降解产物(201)	27.8%	30.1%	31.2%
铜LF降解产物(4)	12.1%	13.8%	16.2%
铜LF降解产物(33)	17.8%	21.3%	26.9%
铜LF降解产物(162)	23.0%	28.2%	29.3%
铁+铜LF降解产物(93+75)	22.3%	26.2%	28.2%
铜+锌LF降解产物(66+35)	20.5%	24.6%	27.2%
铁+铜+锌LF降解产物(94+55+27)	22.9%	24.8%	29.0%
LF降解产物+氯化铁(3)	10.8%	12.3%	13.5%
LF降解产物+氯化铁(70)	11.2%	12.5%	13.9%
LF降解产物+氯化铁(200)	11.9%	13.0%	13.2%
LF降解产物+氯化铜(II) (4)	10.5%	11.9%	12.3%
LF降解产物+氯化铜(II) (30)	10.5%	12.0%	13.1%
LF降解产物+氯化铜(II) (160)	11.0%	12.8%	13.9%

[0149] 上述结果表明在0.01%至1%的浓度下以浓度依赖方式在黑色素合成途径中LF显著抑制酶的活性。发现:碳酸氢根离子-金属离子-LF复合体在0.01%至1%的浓度下以浓度依赖方式抑制酶的活性,该抑制通过形成复合体增强,而与金属离子的种类和数量无关。碳酸氢根离子-金属离子-LF复合体的降解产物和碳酸氢根离子-金属离子-LF降解产物复合体也显示类似的效果。碳酸氢根离子-金属离子-LF复合体、其降解产物和碳酸氢根离子-金属离子-LF降解产物复合体的抑制效果,比单独LF或单独其降解产物,或者LF和金属离子或LF降解产物和金属离子的共存组合物的抑制效果强。发现通过用作复合体获得更高的美白效果。

[0150] [试验例3]

[0151] (通过口服给药,黑色素降解/排出促进效果的分析)

[0152] 将毛从具有约 400g 重量的 A-1- 系雌豚鼠的背部去除，并使紫外线 (30.3kj/m2 的 UVA(max.360nm)，4.8kJ/m2 的 UVB(max.312nm)) 照射该背部，每天一次，4 天。其后，将豚鼠划分为以下四个测试组 (每组具有 10 只豚鼠)。将生理盐水以每千克重量 5ml 的量给药至豚鼠 (组 A)，将 FeLF(70)(实施例 1) 以每千克重量 2mg/5ml 的量给药至豚鼠 (组 B)，将 FeLF(70) 以每千克重量 5mg/5ml 的量给药至豚鼠 (组 C)，将 FeLF(70) 以每千克重量 10mg/5ml 的量给药至豚鼠 (组 D)。使用供给针 (feeding needle) 将这四组经口给药，每天一次，饲养 4 周。通过比色计 (ChromaMeter CR-200 ;Minolta Corporation) 测量给药期间开始和结束时对豚鼠背部皮肤的色素沉着的影响。假定将暴露前的亮度定义为 100％，从暴露于紫外线照射前后的亮度差计算恢复率。结果示于表 8 中。

[0153] [表 8]

[0154]

组	FeLF(70) 剂量 (mg/kg)	亮度恢复率 (％)
A 组	0	20.0
B 组	2	31.8
C 组	5	43.9
D 组	10	63.2

[0162] 表 8 表明 :与对照组相比，FeLF(70) 显示显著的亮度改进效果，并且该效果依赖于浓度。从该结果以下变得明显 :本发明的美白剂通过口服给药显示显著地抑制和改进色素沉着的效果。

[0163] (试验例 4)

[0164] (通过涂布，黑色素降解 / 排出促进效果的分析)

[0165] 将毛从具有约 400g 重量的 A-1- 系雌豚鼠的背部去除，并使 UV(30.3kJ/m2 的 UVA(max.360nm)，4.8kJ/m2 的 UVB(max.312nm)) 照射该背部，每天一次，4 天。其后，将样品连续涂布至要测试的部位，每天两次，4 周。将要测试的样品溶解于比例为 2 ： 2 ： 1 的水、乙醇和丙二醇的混合物中并涂布。将豚鼠划分为以下四个测试组 (每组具有 10 只豚鼠) : 对照组 (组 A)、0.01％ FeLF(70)(实施例 1)(组 B)、0.1％ FeLF(70)(组 C) 和 1％ FeLF(70)(组 D)。通过比色计 (Chroma Meter CR-200 ;MinoltaCorporation) 测量给药期间开始和结束时对豚鼠背部皮肤的色素沉着的影响。假定将暴露前的亮度定义为 100％，从暴露于紫外线照射前后的亮度差计算恢复率。结果示于表 9 中。

[0166] [表 9]

[0167]

组	FeLF(70) 浓度 (mg/kg)	亮度恢复率 (％)
A 组	0	19.9
B 组	0.01	38.1
C 组	0.1	64.3

[0174] D 组 1 79.6

[0175] 表 9 表明：与对照组相比，观察到 FeLF(70) 在 0.01 至 1％浓度范围内以浓度依赖方式的黑色素降解 / 排出促进效果。该结果表明：通过直接涂布至皮肤，本发明的美白剂具有显著的色素沉着抑制和改进效果。

[0176] 从以上结果以下变得明显：本发明的美白剂具有抑制黑色素合成途径和促进黑色素降解或排除的作用。以下也变得明显：无论经皮给药或口服给药，均获得美白效果。可认为本发明的美白剂显示较高的美白效果，这是因为其在涉及黑色素的多个体系上起作用。

[0177] 实施例 4

[0178] （美白霜的生产）

[0179] 使用实施例 1 的美白剂，通过以示于表 10 的比例混合材料来生产美白霜。

[0180] [表 10]

[0181] 甘油单硬脂酸酯

[0182] 10.0

[0183] （自乳化型）

[0184] 纯化羊毛脂 6.0

[0185] 液体石蜡 5.0

[0186] 霍霍巴油 (Jojoba oil) 5.0

[0187] 对羟基苯甲酸酯 0.3

[0188] FeLF(200)（实施例 1） 0.3

[0189] 香料 适量

[0190] 灭菌离子交换水 总量 100.0

[0191] 实施例 5

[0192] （美白洗剂的生产）

[0193] 使用实施例 1 的美白剂，通过以示于表 11 的比例混合材料来生产美白洗剂。

[0194] [表 11]

[0195] 山梨醇 3.0

[0196] DL- 吡咯烷酮羧酸钠 2.0

[0197] 羧甲基纤维素 0.3

[0198] 对羟基苯甲酸酯 0.1

[0199] ZnLF(15)（实施例 1） 0.1

[0200] 香料 适量

[0201] 灭菌离子交换水 总量 100.0

[0202] 实施例 6

[0203] （美白片剂的生产）

[0204] 使用实施例 1 的美白剂，通过以示于表 12 的比例混合原料并根据常规方法将所得混合物成形并压片为 1g 的片剂来生产本发明的美白片剂。

[0205] [表 12]

[0206] 葡萄糖的水合晶体 83.5(wt％)

[0207] FeLF(70)（实施例 1） 10.0

[0208] 矿物混合物 5.0

[0209] 糖酯 1.0

[0210] 香料 0.5

[0211] 注意，在 1g 该美白片剂中包含 100mg 的 FeLF(70)。

[0212] 实施例 7

[0213] （美白液体营养组合物的制备）

[0214] 美白液体营养组合物根据以下方法使用实施例 1 的美白剂来制备。将 50g 实施例 1 的 CuLF(32) 和 1,000g 酪蛋白溶解于 3,950g 去离子水中，将所得溶液加热至 50℃，并借助于 TK 均化器 (TK ROBO MICS ;由 Tokushu Kika Kogyo Co., Ltd. 制造）在 6,000rpm 下混合和搅拌 30 分钟以获得具有 50g/5kg CuLF 含量的 CuLF 溶液。将 4.0kg 酪蛋白、5.0kg 大豆蛋白质、1.0kg 鱼油、3.0kg 紫苏油、18.0kg 糊精、6.0kg 矿物混合物、1.95kg 维他命混合物、2.0kg 乳化剂、4.0kg 稳定剂和 0.05kg 香料与 5.0kg CuLF 溶液混合，将所得混合物装入 200ml 灭菌袋 (retort pouch) 中，并通过甑式 (retort) 灭菌设备（第 1 种压力容器，型号 : RCS-4CRTGN，由 Hisaka Works, Ltd. 制造）在 121℃下灭菌 20 分钟以生产 50kg 本发明的美白液体营养组合物。注意，每 100g 该美白液体营养组合物以 100mg 的量包含 CuLF(32)。

[0215] 实施例 8

[0216] （美白凝胶状食品的制备）

[0217] 美白凝胶状食品根据以下方法使用实施例 2 的美白剂来制备。将 2g 实施例 2 的 CuLF(32) 降解产物、10g 胶质和 10g 乳清蛋白质浓缩物溶解于 978g 去离子水中，将所得溶液用超分散机 (ultradisperser)(ULTRA-TURRAX T-25 ;KA Japan Co., Ltd.) 在 9,500rpm 下混合和搅拌 3 分钟。其后，将 80g 山梨醇、4g 酸化剂、4g 香料、2g 乳酸钙和 910g 水添加至上述溶液中，将所得溶液混合并搅拌以制备本发明的美白凝胶状食品。将该食品装入 200ml 铝箔包装 (cheer pack) 中，在 85℃下灭菌 20 分钟，并将该包装紧密密封以制备 10 包本发明的美白凝胶状食品。注意，每 100g 该美白凝胶状食品以 100mg 的量包含 CuLF(32) 降解产物。

[0218] 实施例 9

[0219] （美白饮料的制备）

[0220] 使用实施例 3 的美白剂根据以下方法制备美白饮料。在将 300g 脱脂奶粉溶解于 409g 去离子水中后，将 1g 实施例 3 的 FeLF 降解产物 (201) 溶解于所得溶液中并加热至 50℃，将所得溶液通过超分散机 (ULTRA-TURRAX T-25 ;由 IKA Japan Co., Ltd. 制造）在 9,500rpm 下混合和搅拌 30 分钟。将 100g 麦芽糖醇、2g 酸化剂、20g 还原淀粉浆、2g 香料和 166g 去离子水添加至该溶液中，将所得溶液装入 100ml 玻璃瓶中并在 90℃下灭菌 15 分钟，将该瓶紧密地密封。由此，制备 10 瓶（每瓶包含 100ml）本发明的美白饮料。注意，每 100ml 该美白饮料以 100mg 的量包含 FeLF 降解产物 (201)。

[0221] 实施例 10

[0222] （狗用美白饲料的制备）

[0223] 狗用美白饲料使用实施例 1 的美白剂根据以下方法来制备。

[0224] 将 0.2kg 实施例 1 的 FeLF(70) 溶解于 99.8kg 去离子水中，将所得溶液加热至 50℃，然后通过 TK 均化器 (MARK II TYPE 160 ;由 Tokushu Kika Kogyo Ltd. 制造）在

3,600rpm 下混合和搅拌 40 分钟，以获得具有 2g/100g FeLF 含量的 FeLF 溶液。将 12kg 豆粉、14kg 脱脂奶粉、4kg 大豆油、2kg 玉米油、23.2kg 棕榈油、14kg 玉米淀粉、9kg 面粉、2kg 糠、5kg 维他命混合物、2.8kg 纤维素和 2kg 矿物混合物与 10kg FeLF 溶液混合，并将所得混合物在 120℃下灭菌 4 分钟，从而生产 100kg 本发明的狗用美白饲料。注意，每 100g 该狗用美白饲料以 20mg 的量包含 FeLF(70)。

[0225] 工业实用性

[0226] 包括碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类复合体、该复合体的降解产物和碳酸根离子和 / 或碳酸氢根离子 - 金属离子 -LF 类降解产物复合体作为有效成分的本发明的美白剂，具有优良的皮肤美白效果并可用于预防和治疗斑点和雀斑等。此外，本发明的产品具有高的安全性和对皮肤的优良美白效果。本发明能够进一步用作包括该美白剂的美白食品、饮料、饲料、化妆品和药物。