

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2016 年 9 月 29 日 (29.09.2016)



(10) 国际公布号
WO 2016/150309 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2016/076204
- (22) 国际申请日: 2016 年 3 月 14 日 (14.03.2016)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201510128115.3 2015 年 3 月 23 日 (23.03.2015) CN
- (71) 申请人: 捷通国际有限公司 (ACCESS BUSINESS GROUP INTERNATIONAL LLC) [US/US]; 美国密执安州埃达富尔顿东街 7575 号, Michigan 49355 (US)。
- (72) 发明人: 及
- (71) 申请人 (仅对伯利兹): 韩强 (HAN, Qiang) [CN/CN]; 中国上海市张江高科技园区蔡伦路 720 弄 6 号, Shanghai 201203 (CN)。
- (72) 发明人: 张翌 (ZHANG, Yi); 中国上海市张江高科技园区蔡伦路 720 弄 6 号, Shanghai 201203 (CN)。李廷钊 (LI, Tingzhao); 中国上海市张江高科技园区蔡伦路 720 弄 6 号, Shanghai 201203 (CN)。杜军 (DU, Jun); 中国上海市张江高科技园区蔡伦路 720 弄 6 号, Shanghai 201203 (CN)。李波 (LI, Bo); 中国上海市张江高科技园区蔡伦路 720 弄 6 号, Shanghai 201203 (CN)。申晓娟 (SHEN, Xiaojuan); 中国上海市张江高科技园区蔡伦路 720 弄 6 号, Shanghai 201203 (CN)。

(74) 代理人: 中国专利代理 (香港) 有限公司 (CHINA PATENT AGENT (HK)LTD.); 中国香港特别行政区香港湾仔港湾道 23 号鹰君中心 22 字楼, Hong Kong (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第 21 条(3))。
- 包括经修改的权利要求 (条约第 19 条(1))。

(54) Title: COMPOSITION CONTAINING THALICTRUM PETALOIDEUM AND USE FOR BRIGHTENING SKIN

(54) 发明名称: 包含瓣蕊唐松草的组合物及其用于皮肤增亮的用途

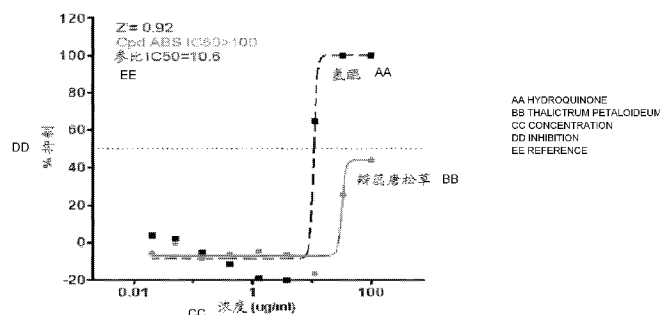


图 1

(57) Abstract: Disclosed is a composition for brightening skin, comprising a plant material (e.g. an extract) from Thalicttrum petaloideum seeds. Also disclosed is the use of the composition for brightening skin.

(57) 摘要: 一种皮肤增亮组合物, 包含来自瓣蕊唐松草的植物材料, 例如提取物。所述组合物用于增亮皮肤的用途。

WO 2016/150309 A1

包含瓣蕊唐松草的组合物及其用于皮肤增亮的用途

发明领域

本发明大体涉及用于增亮受试者皮肤的包含唐松草(*Thalictrum*)的组合物,并且更具体涉及包含瓣蕊唐松草(*Thalictrum petaloideum*)的组合物以及使用所述组合物增亮受试者皮肤的方法。

相关技术描述

人类皮肤着色由皮肤表面黑色素的量和位置决定。黑色素通过存在于真皮-表皮交界处的、通常称为黑素细胞的细胞中氨基酸酪氨酸氧化至 L-3,4-二羟基苯丙氨酸(L-DOPA)而合成。所述另一种方式,黑色素由存在于真皮-表皮交界处的黑色素细胞产生,化学本质为黑素细胞中的酪氨酸经酪氨酸酶催化氧化生成 L-DOPA,之后经一系列酶促反应生成黑色素。这一系列细胞过程通常称为黑素生成。所述氧化过程由称为酪氨酸酶的酶催化。由黑素细胞进行的一系列细胞过程通常称为黑素生成。

皮肤着色通过黑素细胞合成的黑色素的量和类型来调控。环境因素也可影响皮肤颜色。皮肤中健康量的黑色素有效吸收紫外线(“UV”)射线。所述另一种方式,健康皮肤中,一定量的黑色素可有效吸收外界环境中的紫外线辐射。皮肤对 UV 射线增加的暴露一般增加黑色素生成的量和速率(随着皮肤暴露在 UV 射线下的时间和强度的增加,皮肤黑色素生成的量和速率也相应增加),并且可以导致更黑的皮肤(肤色加深),或者“棕褐色”。局部或总体的色素沉着疾患,例如色素沉着过度或色素沉着不足,可以源自许多因素,包括体内激素水平、饮食、遗传疾患和药物治疗。常见的色素沉着疾患包括黄褐

斑(melisma)、雀斑和白斑。

各种组合物已被配制以解决色素沉着疾患，并且例如已经预期用于治疗色素沉着过度和/或色素沉着不足。此类治疗通常被称为“皮肤增亮”、“皮肤美白”或“皮肤亮白”。存在皮肤美白剂的几种用途。例如，增亮老年斑（雀斑或衰老性色斑），淡化，或者预防高加索人和亚洲人皮肤的黑化（即，维持亮/白肤色）。这些制剂中的一些已包括酪氨酸酶抑制剂例如氢醌、维生素 C、曲酸、熊果苷、谷胱甘肽、半胱氨酸、乳酸、阿魏酸、烟酰胺，以及植物提取物例如熊果和桑树提取物等。然而，这些化合物的一些，例如氢醌和曲酸，具有副作用，包括皮肤刺激、急性皮炎和皮肤细胞的细胞毒性。

鉴于上文，依然存在提供其他皮肤增亮剂、特别是高效皮肤增亮剂的机会。最具体地，依然存在提供有效皮肤增亮剂并且将天然材料加入组合物以解决与常规化合物例如氢醌相关的问题的机会。

发明概述

公开了一种组合物。所述组合物可局部使用以增亮（或美白）皮肤。所述组合物包含瓣蕊唐松草。在某些实施方案中，所述组合物的活性成分由瓣蕊唐松草组成。在具体实施方案中，所述组合物由瓣蕊唐松草组成。

还公开了一种增亮受试者皮肤的美容方法。该方法包括应用瓣蕊唐松草至受试者皮肤的步骤。所述组合物一般以足以增亮皮肤的量和/或时间应用。

附图简述

本公开的其他优点将容易理解，因为通过参考以下详述并结合考虑附图而变得更好理解，附图中：

图 1 是示例说明细胞毒性数据（“数据 1”）的线图；

图 2 是示例说明酪氨酸酶抑制率数据（“数据 2”）的线图；

图 3 是示例说明黑色素合成抑制数据（“数据 3”）的线图；和

图 4 是示例说明黑色素消除率数据（“数据 4”）的线图。

发明详述

公开了一种组合物。所述组合物通常是局部组合物。所述组合物用于皮肤增亮（或美白）。更具体地，所述组合物可用于增亮受试者的皮肤。受试者通常是人，并且可以包括各年龄的男人和女人。所述组合物不限于特定受试者或受试者的皮肤位置。例如，一个人可以将所述组合物应用至其脸、颈、臂、手、胸、躯干、腿、脚等或其任意组合。此类皮肤区域可以是色素沉着过度或色素沉着不足的。使用所述组合物的方法在下文进一步描述。

令人惊讶地发现唐松草属（genus *Thalictrum*）可用于皮肤增亮。具体地，不受束缚或受限于任何特定理论，认为唐松草属的提取物减少和/或抑制黑色素生成。对于减少/抑制替代或附加地，认为唐松草属的提取物消除黑色素。本公开的组合物一般包含来自唐松草属的植物、更通常来自瓣蕊唐松草种的植物的提取物。如本文使用的，对唐松草的提及可与瓣蕊唐松草可互换地使用，并且反之亦然。基于本文发现，本公开的实施方案一般涉及局部组合物，其包含足以减少/抑制有相应需要的受试者黑色素生成的量和/或足以消除有相应需要的受试者中黑色素的量的唐松草属植物的提取物，例如瓣蕊唐松草种植物的提取物。

在各个实施方案中，所述组合物包含唐松草，或者瓣蕊唐松草。在进一步实施方案中，所述组合物的活性成分由唐松草组成，或者由瓣蕊唐松草组成。在这些实施方案中，所述组合物可以进一步由一种或多种附加组分和/或非活性组分组成。在某些实施方案中，所述组合物由唐松草组成，或者由瓣蕊唐松草组成。在所有这些实施方案中，

所述组合物可以包括来自唐松草属的植物材料，包括来自一个或多个种例如瓣蕊唐松草（还称为花唐松草（*Thalictrum petaloideum* L.））的植物材料。

唐松草是主要生在温带地区的毛茛科（*Ranunculaceae*）（毛茛属植物（*buttercup*））的 120 至 200 种多年生草本植物开花植物的属。尽管其常用名称是“草地芸香”，但唐松草种一般与真实芸香（芸香科）无关，但类似于其成员而具有二分或三分的叶柄。草地芸香常见于阴凉或潮湿的地方，遍布大部分北半球并且南至南部非洲和热带南美洲的子世界范围，但是一般不存在于澳大拉西亚。唐松草最常见于世界温带地区，至少 22 种存在于北美洲。叶子是交替回羽状复叶，染色通常为海蓝绿色。花小且无瓣（没有花瓣），但是具有许多长雄蕊，通常是亮白色、黄色、粉色或浅紫色，并且以突出浓密花序生成。在一些种中，萼片是大的、亮色且花瓣状的，但是大多数情况下当花开时或不久之后它们是小且下垂的。唐松草属存在的典型天然产物是苕基异喹啉生物碱，例如木兰花碱和结构相关的生物碱小檗碱。

所述组合物的该组分的科学分类一般如下——目：毛茛目（*Ranunculales*）；科：毛茛科（*Ranunculaceae*）；和属：唐松草。唐松草（*T.*）的示例性种包括但不限于：高山唐松草（*T. alpinum*）、*T. aquilegifolium*、*T. calabricum*、珠芽唐松草（*T. chelidonii*）、*T. clavatum*、*T. cooley*、偏翅唐松草（*T. delavayi*）、堇花唐松草（*T. diffusiflorum*）、异株唐松草（*T. dioicum*）、云南唐松草（*T. dipterocarpum*）、*T. fendleri*、黄唐松草（*T. flavum*）、丝叶唐松草（*T. foeniculaceum*）、腺毛唐松草（*T. foetidum*）、多叶唐松草（*T. foliolosum*）、*T. glaucum*、*T. heliophilum*、盾叶唐松草（*T. ichangense*）、爪哇唐松草（*T. javanicum*）、*T. kiusianum*、*T. lucidum*、*T. macrostylum*、亚欧唐松草（*T. minus*）、*T. morrisonii*、*T. occidentale*、*T. orientale*、美丽唐松草（*T. reniforme*）、瓣蕊唐松草（*T. petaloideum*）、*T. polygamum*、*T. revolutum*、*T. rochebrunianum*、箭头唐松草（*T. simplex*）、散花唐松草（*T. sparsiflorum*）、*T. thalictroides*、毛发唐松草（*T. trichopus*）、*T. tuberosum* 和 *T. venulosum*。唐松草的两

个或多个种之间的杂种也是可能的。在各个实施方案中，唐松草可以选自前述种的一个或多个。在许多实施方案中，唐松草包括或者是瓣蕊唐松草。

唐松草植物的任何部分可用于产生组合物中使用的材料，包括但不限于根、茎、根茎、叶、花、果实和/或这些部分的提取物。唐松草可以原始形式、悬浮形式、脱水形式、浓缩形式或提取物形式使用。通常，唐松草是干燥或液体形式。组合物的该组分和/或其他组分的提取物可以通过本领域已知的常规提取方法获得，例如通过水（例如蒸汽）提取或通过溶剂（例如醇）提取。本公开的组合物不限于特定的提取方法。示例性提取方法在下文描述。

在许多实施方案中，组合物包含来自瓣蕊唐松草种的提取物。如本文使用的，对“唐松草提取物”的提及一般指含有来自唐松草属的提取物，所述唐松草属包括来自单独（即“瓣蕊唐松草提取物”）或与唐松草属的一种或多种其他种组合的瓣蕊唐松草种。唐松草提取物可商业获自各种来源。此外，适当的唐松草提取物可以通过使用任何常规提取技术获得。

有许多可用于产生适合所述组合物的提取物的提取方法。这些方法包括但不限于 Rana 等人的美国专利号 7,897,184 中公开的提取方法，其在此通过引用整体并入本文，并且在下文参考一些提取方法而部分地复制。虽然描述的提取溶剂具体指乙醇，但是应该理解，其他醇，例如但不限于异丙醇、乙基醇和/或甲基醇可以补充或替代乙醇而使用。示例性醇溶剂包括但不限于 C₁ 至 C₄ 醇，例如甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇和丁醇；水-醇或醇与水的混合物，包括水-乙醇 (hydro-ethanol)；多羟基醇，例如丙二醇和丁二醇；和脂肪醇。可以使用这些醇溶剂的任何一个。其他溶剂，例如但不限于丙酮也可以作为提取溶剂使用。还可以使用任何比率的溶剂-水掺和物，例如醇-水和/或丙酮-水掺和物。

在一个实例中，可以使用有机溶剂提取技术获得唐松草提取物。在另一实例中，可以使用溶剂连续分级分离来获得唐松草提取物。还可以使用总的水-乙醇提取技术来获得唐松草提取物。一般而言，其称为一次性提取。在该过程中产生的提取物会含有宽范围的提取材料中存在的植物化学物，包括脂溶性和水溶性植物化学成分。在收集提取溶液之后，蒸发溶剂，得到提取物。

还可以使用总的乙醇提取。该技术使用乙醇作为溶剂。该提取技术产生的提取物除了水溶性化合物以外还可以包括脂溶性和/或亲脂化合物。也可以相似方式使用总甲醇提取，具有相似的结果。在各个实施方案中，通过醇提取瓣蕊唐松草种的植物材料而获得唐松草提取物。

可用于获得唐松草提取物的提取技术的另一实例是超临界流体二氧化碳超临界提取（“SFE”）。在该提取程序中，待提取的材料不暴露于任何有机溶剂。而是，提取溶剂是超临界状态（例如 $>31.3^{\circ}\text{C}$ 和 >73.8 巴）下的二氧化碳（ CO_2 ），含有或没有调节剂。本领域技术人员会理解，温度和压力条件可以变化以获得最佳的提取物产率。该技术产生脂溶性和/或亲脂化合物的提取物，类似于总己烷和乙酸乙酯提取技术，其也可以使用。

唐松草提取物可以任何量加入组合物。通常，唐松草提取物以有效减少（或抑制）受试者皮肤黑色素生成和/或消除黑色素的量存在。在各个实施方案中，唐松草提取物以约 10 至约 300 $\mu\text{g/mL}$ 组合物的量存在。在具体实施方案中，唐松草提取物以约 10、约 20、约 25、约 50、约 75 或约 100 $\mu\text{g/mL}$ 组合物的量存在。还考虑约 10 至约 300 $\mu\text{g/mL}$ 组合物的各个子范围和量，以及小于或大于这些量的量。

组合物中存在的唐松草提取物的量可取决于几个因素，包括希望的黑色素抑制水平、特定提取物或组合物中的黑色素抑制水平、以及其他因素。在某些实施方案中，基于 100 重量份（“pbw”）组合物，

唐松草提取物以约 0.01 至约 20 pbw 的量存在。在进一步实施方案中，基于 100 pbw 组合物，唐松草提取物以约 0.05 至约 10 pbw 的量存在。还考虑约 0.01 至约 20 pbw 的各个子范围和量，以及小于或大于这些量的量。任选用于组合物的其他提取物或成分描述于 Dornoff 等人的美国专利号 5,747,006，以及 Leverett 等人的美国专利号 5,980,904、6,994,874、7,060,304、7,247,321 和 7,364,759，其公开内容通过引用整体并入本文。

在某些实施方案中，除了瓣蕊唐松草，组合物还包含补充活性成分。补充活性成分通常选自以下组：北枳椇 (*Hovenia dulcis*)、地骨皮或枸杞 (*Lycii Cortex* or *Lycium chinense*)、原拉拉藤 (*Galium aparine*) 及其组合。在这些实施方案中，补充活性成分可以是来自北枳椇种、枸杞种和原拉拉藤种的提取物。此类提取物可以商业途径获得，或者通过上述提取技术之一获得。虽然是任选的，但是认为这些补充活性成分的任何一个或组合可与唐松草提取物组合使用以进一步帮助皮肤增亮。如果使用，补充活性成分可以如针对唐松草提取所述的量使用，例如以约 10 至约 300 $\mu\text{g/mL}$ 组合物或者约 0.01 至约 20 pbw 组合物的量。

在某些实施方案中，组合物不含其他活性物质。这里的“其他活性物质”一般表示组合物不含不同于唐松草的其他类型的传统中药 (“TCM”; 或“中药”)。其他类型的 TCM 是本领域所理解的。其他类型的 TCM 的实例一般在国际公开号 WO 01/22934 A2 中描述为“生物活性物质”，其内容通过引用整体并入本文。在某些实施方案中，组合物可以包含下述无活性物质。如果使用，无活性物质不同于其他类型的 TCM。

可以配制组合物以包含美容上可接受的载体 (或媒介物) 并制备和/或包装并标示为增加皮肤增亮或美白，抑制、降低或减少黑色素生成或色素沉着。组合物可以局部施用。美容上可接受的载体的实例包括但不限于水、甘油、蜡、各种醇例如乙醇、丙醇、植物油、矿物

油、硅酮例如硅油、脂肪酯、脂肪醇、二醇、聚二醇或其任意组合。此类组分一般被认为是非活性组分。最终组合物可以是适合局部应用于皮肤的任何形式，例如但不限于气溶胶喷雾剂、凝胶、乳霜、分散液、乳液、泡沫、液体、洗液、摩丝、贴片、香膏剂、粉剂、泵式喷雾剂、固体、溶液、粘棒或小巾。乳液可以包括水包油乳液、油包水乳液和硅酮包水乳液。

可以使用本领域已知的各种方法制备本公开的组合物。在制备组合物的一个实例中，制备方法包括提取瓣蕊唐松草种的植物材料以获得瓣蕊唐松草提取物的步骤。制备方法还包括组合瓣蕊唐松草提取物与美容上可接受的载体例如上述载体的一种或多种的步骤。可以使用常规生产方法和装置例如混合器、掺和器等来组合组分。

组合物可以各种方式用于皮肤增亮。作为例子，用于增亮受试者皮肤的美容方法包括将瓣蕊唐松草应用于受试者皮肤的步骤。瓣蕊唐松草可以各种方式应用，包括将组合物应用于受试者皮肤。可以将组合物直接或间接应用于皮肤，例如通过手、涂布器、贴片等。

可以按需要、每天、一天几次或者任何适当方案施用组合物，以便实现所需结果。在美容方法中，局部应用频率可以取决于几个因素，包括所需的黑色素生成抑制水平。一般而言，方案包括每天一次或两次应用组合物于皮肤以包括早上应用和/或晚上应用。每次应用中应用于皮肤的组合物的量可以取决于几个因素，包括希望结果的水平和具体组合物。

示例说明本公开组合物和方法的以下实施例预期示例说明而非限制本发明。

实施例

下文描述了示例性的提取方法。该提取方法用于获得本公开组合物的瓣蕊唐松草提取物。该提取方法可以称为甲醇分级分离或甲醇提

取。本领域技术人员会理解，其他提取方法也可以用于获得想要的提取物，包括上述那些。与确定皮肤增亮效力相关的其他提取方法和分析方法（例如测定方法）描述于 Rana 等人的国际公布号 WO 2011/019468 A2、WO 2011/109139 A2 和 WO 2013/169634 A2，其公开内容通过引用并入本文。

示例性提取方法

使用的任何材料或提取物应该是粉末形式。根据下表称取并记录（至最接近的 0.1 g）样品进入烧瓶：

	进料	提取物
植物/植物性药材重量（g）	50	10
烧瓶体积（mL）	500	150
甲醇体积（mL）	300	60

添加搅拌棒并将表中所示量的甲醇倒入烧瓶。使用铝箔封盖烧瓶开口。将烧瓶放在磁力搅拌板上并使用缓慢/中等搅拌速率搅拌至少 12 小时。保持样品避免直射光。从搅拌板取出烧瓶并在室温下超声处理一小时，偶尔涡旋。

通过 GF/A 滤纸过滤样品溶液，直接进入 500 mL 圆底长颈烧瓶。使用旋转蒸发器蒸发圆底长颈烧瓶中剩余的溶剂。减少溶剂体积至小于 10 mL。使用玻璃移液管将浓缩提取物（依然是液体形式）转移至预先称重的闪烁管（无盖称重）。根据需要为转移目的使用甲醇进一步稀释。

将管置于氮蒸发器下并使用缓慢氮流减少体积至最小可能。推荐的水浴温度是 40℃。从氮蒸发器取出管并将其无盖放入干燥器直至干燥（大约 12 小时）。记录闪烁管中级分的最终干重（无盖）（通过差异计算）。给管加帽并储存于冷藏器供进一步使用。

使用前述提取方法获得瓣蕊唐松草提取物之后，进行各种测试并

产生相应的数据集以确定瓣蕊唐松草提取物在皮肤增亮方面的效力。在相关部分,使用本领域技术人员已知的效力测定和方法评价细胞毒性、酪氨酸酶抑制、黑色素合成抑制和黑色素消除。表格化数据提供于以下的数据 1、数据 2、数据 3 和数据 4 集以及各自相应的图 1、2、3 和 4。

数据 1

瓣蕊唐松草在 B16F10 中的细胞毒性-CTG (氢醌作为参比)

瓣蕊唐松草		氢醌	
最低	-6.905	最低	-8.323
最高	43.911	最高	99.999
Rel IC50	32.205	Rel IC50	10.466
Hill	16.852	Hill	12.232
ABS IC50	>100	ABS IC50	10.599
Chart 细胞	#Ok	Chart 细胞	#Ok

Promega Corporation 的 CellTiter-Glo® (CTG) 发光细胞活力测定是测定培养物中存活细胞数目的均一方法,基于作为代谢活性细胞指示而存在的 ATP 的定量。根据通过数据 1 和图 1 中示例说明的 CTG 的基于细胞的安全性评价,瓣蕊唐松草没有细胞毒性风险。

根据体外生物测定数据,发现瓣蕊唐松草的药草提取物具有皮肤增亮和去色素沉着的效力。通过模型细胞 B16F10 施用基于细胞的测定,监测酪氨酸酶活性抑制、黑色素合成抑制和存在的黑色素消除活性。该类型的基于模型细胞 B16F10 细胞的测定是本领域技术人员已知的。

熊果苷被视为酪氨酸酶活性抑制和黑色素合成抑制两者的阳性对照,而氢醌用作存在的黑色素消除活性的阳性对照。总结以下描述的结果,瓣蕊唐松草作为皮肤增亮或去色素沉着试剂在体外测试中具有突出活性而没有细胞毒性风险。

数据 2

瓣蕊唐松草在 B16F10 中的酪氨酸酶抑制率（熊果苷作为参比）

瓣蕊唐松草

浓度 (μg/ml)	信号		%抑制		平均	SD
100	0.11	0.1	92.8	93.6	93.2	0.6
50	0.20	0.2	83.8	86.5	85.1	1.9
10	0.82	0.8	20.2	25.6	22.9	3.8
0	0.80	1.2	22.8	-22.8	0.0	32.2

熊果苷

浓度 (μg/ml)	信号		%抑制		平均	SD
250	0.20	0.2	49.3	51.9	50.6	1.8
125	0.26	0.3	28.9	28.6	28.7	0.2
50	0.28	0.3	21.9	23.3	22.6	1.0
0	0.40	0.4	-16.1	-0.7	-8.4	10.9

瓣蕊唐松草提取物在 B16F10 细胞中发挥优良的酪氨酸酶抑制活性，相对于相同浓度的阳性对照熊果苷，在 100 μg/mL 浓度下具有 93.2% 的抑制率。具体地，如在数据 2 和图 2 中示例说明的，瓣蕊唐松草在 B16F10 细胞中酪氨酸酶抑制活性方面与熊果苷作用相当或好得多。该数据集一般通过下文即将列出的测定方法而获得。

酪氨酸酶抑制测定方法：

目的：该程序描述了 B16 细胞中酪氨酸酶活性抑制测定的标准方法。

细胞系：B16-F10 (ATCC#)

材料：

- 用于 B16 的 RPMI 1640 (GIBCO #22400-089 批号 1006397)

- 胎牛血清 (GIBCO#10099-141)
- 胰蛋白酶-EDTA (GIBCO # 25200-072)
- 24 孔板 (Costar)
- 96 孔板 (Costar)
- L-Dopa

程序:

第 1 天: 铺板细胞

1. 胰蛋白酶化盘并测定细胞密度。
2. 以 18,000 细胞/ml 的密度稀释细胞浆至所需体积。
3. 将 1 ml/孔细胞浆分配至 24 孔测定板上。
4. 在加湿条件下以 37°C、5% CO₂ 孵育测定板 24 小时。

第 2 天: 添加测试化合物

1. 根据板图制备参比和测试化合物溶液 (200×)。
2. 将 5 µl 化合物转移至测定板 (最终浓度: 1×)。
3. 在加湿条件下以 37°C、5% CO₂ 孵育板 72 小时。

第 5 天: 使板成像

1. 在培养基废物接收器上振摇倒置的板并用清洁纸巾吸干。
2. 添加 80 µl 0.05 mM PBS (0.1% Triton-X), -80°C 冷冻 4 小时。
3. 室温融化板。重复步骤 2 & 3 两次。

4. 将样品转移进入 96 孔 V 底板，3000 RPM 旋降 10 分钟。
5. 将 60 μ l 上清液样品转移至 UV 板。每个孔中添加 140 μ l 新鲜 0.1% L-DOPA 并在 37℃ 孵育 1 小时。
6. 读取 475 nm 下吸光度。
7. 将 5 μ l 上清液样品转移至另一 UV 板以用 BCA 测定蛋白浓度。

数据处理：

- 使用 GraphPad。
- $\%抑制 = (最大信号 - 化合物信号) / (最大信号 - 最小信号) \times 100$ 。
- 基础信号获自没有 L-DOPA 的细胞。
- 最大信号获自 L-DOPA 的作用。

数据 3

瓣蕊唐松草在 B16F10 中的黑色素合成抑制（熊果苷作为参比）

瓣蕊唐松草

浓度 (μ g/ml)	信号		%抑制		平均	SD
100	0.10	0.09	101.7	112.2	107.0	7.4
50	0.13	0.11	73.0	85.7	79.4	9.0
10	0.19	0.19	6.4	5.0	5.7	1.0
0	0.19	0.21	13.8	-13.8	0.0	19.5

熊果苷

浓度 (μ g/ml)	信号		%抑制		平均	SD
250	0.09	0.08	101.8	138.2	120.0	25.8
125	0.10	0.09	77.3	109.6	93.4	22.9
25	0.11	0.10	43.3	80.5	61.9	26.3
0	0.12	0.13	15.4	2.2	8.8	9.3

在 B16F10 细胞中黑色素合成抑制活性中，相对于阳性对照熊果苷，瓣蕊唐松草的抑制率在 100 $\mu\text{g/mL}$ 下是 107.0%。具体地，如数据 3 和图 3 示例说明的，瓣蕊唐松草在 B16F10 细胞中黑色素合成抑制活性方面与熊果苷作用相当。这意味着瓣蕊唐松草有能力强烈中断(阻断)或减少 B16F10 细胞中黑色素合成过程。该数据集一般通过下文即将列出的测定方法而获得。

黑色素合成抑制测定：

目的：该程序描述了 B16F10 细胞中黑色素合成抑制测定的标准方法。

细胞系：B16-F10 (ATCC #)

材料：

- 用于 B16 的 RPMI 1640 (GIBCO #22400-089 批号 1006397)
- 胎牛血清 (GIBCO#10099-141)
- 胰蛋白酶-EDTA (GIBCO # 25200-072)
- 1M NaOH
- 24 孔板 (Corning)

程序：

第 1 天：铺板细胞

1. 胰蛋白酶化盘并测定细胞密度。
2. 以 18,000 细胞/ml 的密度稀释细胞浆至所需体积。
3. 将 1 ml/孔细胞浆分配至测定板上。

4. 在加湿条件下以 37℃、5% CO₂ 孵育测定板 24 小时。

第 2 天：添加测试化合物

1. 根据板图制备参比和测试化合物溶液（200×）。

2. 将 5 μl 化合物转移至测定板（最终浓度：1×）。

3. 在加湿条件下以 37℃、5% CO₂ 孵育板 72 小时。

第 5 天：使板成像

1. 去除培养基。

2 将 150 μl 1M NaOH 添加至测定板。

3. 在 80℃ 下孵育板 30 分钟。

4. 将 140 μl 溶液转移至 UV 板。测试 400 nm 信号。

5. 将 5 μl 溶液转移至 UV 板。向每个孔添加 200 μl BCA 试剂并在 37℃ 孵育 20 分钟。测试 562 nm 信号。

数据处理：

- 使用 GraphPad。

- %抑制 = (最大信号 - 化合物信号) / (最大信号 - 最小信号) × 100。

- 最大信号获自 DMSO 的作用。

- 最小信号获自 200 μg/ml 熊果苷。

数据 4

瓣蕊唐松草在 B16F10 中的黑色素消除率（氢醌作为参比）

瓣蕊唐松草

浓度 (μg/ml)	信号		%抑制		平均	SD
100	0.53	0.5	14.8	13.2	14.0	1.1
50	0.55	0.5	11.7	15.1	13.4	2.4
10	0.58	0.6	4.5	5.4	5.0	0.7
0	0.64	0.6	-9.5	-4.3	-6.9	3.7

氢醌

浓度 (μg/ml)	信号		%抑制		平均	SD
100	0.34	0.3	59.7	58.8	59.3	0.6
50	0.32	0.3	63.3	56.3	59.8	4.9
10	0.47	0.5	35.0	30.9	32.9	2.9
0	0.70	0.5	-7.4	15.0	3.8	15.8

在存在的黑色素消除测定中，相对于阳性对照氢醌在 100 μg/mL 时 76.0%的消除率，发现 B16F10 培养细胞中 14.0%色素在添加 100 μg/mL 瓣蕊唐松草 72 小时之后消除。这意味着瓣蕊唐松草也用于黑色素消除。该数据集一般通过以下即将列出的测定方法而获得。

存在的黑色素消除测定：

目的：该程序描述了 B16 细胞中黑色素消除测定的标准方法。

细胞系：B16-F10 (ATCC #)

材料：

- 用于 B16 的 RPMI 1640 (GIBCO #22400-089 批号 1006397)
- 胎牛血清 (GIBCO#10099-141)
- 胰蛋白酶-EDTA (GIBCO # 25200-072)
- 1M NaOH

- 24 孔板 (Corning)

程序:

第 1 天: 铺板细胞

1. 胰蛋白酶化盘并测定细胞密度。
2. 以 18,000 细胞/ml 的密度稀释细胞浆至所需体积。
3. 将 1 ml/孔细胞浆分配至测定板上。
4. 在加湿条件下以 37°C、5% CO₂ 孵育测定板 24 小时。

第 2 天: 细胞处理

1. 每孔添加 10 μ M 毛喉素和 50 μ M 8-MOP。
2. 在加湿条件下以 37°C、5% CO₂ 孵育测定板 72 小时。

第 5 天: 添加测试化合物

1. 更换新鲜培养基, 每孔 1 ml。
2. 根据板图制备参比和测试化合物溶液 (200 $\times$)。
3. 将 5 μ l 化合物转移至测定板 (最终浓度: 1 $\times$)。
4. 在加湿条件下以 37°C、5% CO₂ 孵育板 72 小时。

第 8 天: 使板成像

1. 去除培养基。
2. 将 150 μ l 1M NaOH 添加至测定板。
3. 在 80°C 下孵育板 30 分钟。

4. 将 140 μ l 溶液转移至 UV 板。测试 400 nm 信号。

5. 将 5 μ l 溶液转移至 UV 板。向每个孔添加 200 μ l BCA 试剂并在 37°C 孵育 20 分钟。测试 562 nm 信号。

数据处理：

- 使用 GraphPad。
- $\%抑制 = (最大信号 - 化合物信号) / (最大信号 - 最小信号) \times 100$ 。
- 最大信号获自没有化合物作用细胞。
- 最小信号获自 10 μ M 毛喉素和 50 μ M 8-MOP。

要理解，所附权利要求不限于详述中描述的明确和特定的化合物、组合物或方法，其可以在落入所附权利要求范围内的特定实施方案之间变化。对于本文用于描述各个实施方案特定特征或方面所依据的任何马库什组而言，要理解，不同的、特殊的和/或未预料的结果可以获自各个马库什组的每个成员而独立于所有其他马库什成员。马库什组的每个成员可以被单独或组合地依据并提供对所附权利要求范围内具体实施方案的足够支持。

还要理解，描述本发明各个实施方案中所依据的任何范围和子范围独立且总体落入所附权利要求范围，并且被理解为描述和涵盖包括其中全部和/或部分值在内的所有范围，即使此类值没有在本文明确书写。本领域技术人员容易发现，列举的范围和子范围充分描述并实现了本发明的各个实施方案，并且此类范围和子范围可以进一步描绘成相关的二分之一、三分之一、四分之一、五分之一等。仅作为一个实例，“0.1 至 0.9”的范围可以进一步描绘成较小的三分之一，即 0.1 至 0.3，中间三分之一，即 0.4 至 0.6，和较大的三分之一，即 0.7 至 0.9，其个体且总体上在所附权利要求范围内，并且可以在个体和/或总体上被依据并提供对所附权利要求范围内具体实施方案的足够支

持。此外，关于限定或修饰范围的语言，例如“至少”、“大于”、“小于”、“不大于”等，要理解此类语言包括子范围和/或上限或下限。作为另一实例，“至少 10”的范围固有包括至少 10 至 35 的子范围，至少 10 至 25 的子范围，至少 25 至 35 的子范围等等，并且每个子范围可以在个体和/或总体上被依据并提供对所附权利要求范围内具体实施方案的足够支持。最后，所公开范围内个体数值可以被依据并提供对所附权利要求范围内具体实施方案的足够支持。例如，“1 至 9”的范围包括各个个体整数，例如 3，以及包括小数点（或分数）的个体数值，例如 4.1，其可以被依据并提供对所附权利要求范围内具体实施方案的足够支持。

本文已经以示例说明的方式描述了本发明，并且要理解，已经使用的术语预期在描述词语性质内而不是限制。鉴于以上教导，本发明的许多调整 and 变化是可能的。本发明可以在所附权利要求范围内以不同于具体描述的方式实施。在本文明确考虑独立权利要求和从属权利要求（单项和多项从属）的所有组合的主题。

权 利 要 求 书

1. 一种用于皮肤增亮的组合物，所述组合物包含瓣蕊唐松草。
2. 一种用于皮肤增亮的局部组合物，所述组合物的活性成分由瓣蕊唐松草组成。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的组合物，其中所述组合物包含来自瓣蕊唐松草种的提取物。
4. 如权利要求 3 所述的组合物，其中所述瓣蕊唐松草提取物以有效减少受试者中黑色素生成和/或消除黑色素的量存在。
5. 如权利要求 3 所述的组合物，其中所述瓣蕊唐松草提取物以约 10 至约 300 $\mu\text{g/mL}$ 所述组合物的量存在。
6. 如权利要求 3 所述的组合物，其中所述瓣蕊唐松草提取物通过醇提取所述瓣蕊唐松草种的植物材料而获得。
7. 如权利要求 1 或 2 所述的组合物，还包含美容上可接受的载体。
8. 如权利要求 7 所述的组合物，其中所述美容上可接受的载体选自由以下组成的组：水、甘油、蜡、醇、植物油、矿物油、硅酮、脂肪酯、脂肪醇、二醇、聚二醇及其组合。
9. 如权利要求 1 所述的组合物，还包含选自由以下组成的组的补充活性成分：枳椇子、地骨皮、原拉拉藤及其组合。
10. 如权利要求 9 所述的组合物，其中所述补充活性成分包含来自枳椇子种、地骨皮 和 原拉拉藤的提取物。
11. 如权利要求 10 所述的组合物，其中所述补充活性成分提取物以约 10 至约 300 $\mu\text{g/mL}$ 所述组合物的量存在。

12. 如权利要求 9 至 11 任一项所述的组合物, 还包含美容上可接受的载体。

13. 如权利要求 12 所述的组合物, 其中所述美容上可接受的载体选自由以下组成的组: 水、甘油、蜡、醇、植物油、矿物油、硅酮、脂肪酯、脂肪醇、二醇、聚二醇及其组合。

14. 一种用于皮肤增亮的局部组合物, 所述组合物由瓣蕊唐松草组成。

15. 权利要求 1、2 或 14 任一项所述的组合物用于增亮受试者皮肤的用途。

16. 一种制备权利要求 1、2 或 14 任一项所述的组合物的方法, 所述方法包括提取所述瓣蕊唐松草种的植物材料以获得瓣蕊唐松草提取物的步骤。

17. 如权利要求 16 所述的方法, 还包括组合所述瓣蕊唐松草提取物与美容上可接受的载体的步骤。

18. 一种用于增亮受试者皮肤的美容方法, 所述方法包括应用瓣蕊唐松草至受试者皮肤的步骤。

19. 如权利要求 18 所述的方法, 其中所述应用步骤进一步限定为应用组合物至受试者皮肤, 其中所述组合物包含来自所述瓣蕊唐松草种的提取物。

20. 如权利要求 19 所述的方法, 其中所述瓣蕊唐松草提取物以有效减少受试者皮肤中黑色素生成和/或消除黑色素的量存在。

经修改的权利要求

国际局收到日：2016年08月12日（12.08.2016）

1. 一种用于皮肤增亮的局部组合物，所述组合物包含瓣蕊唐松草。
2. 一种用于皮肤增亮的局部组合物，所述组合物的活性成分由瓣蕊唐松草组成。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的局部组合物，其中所述组合物包含来自瓣蕊唐松草种的提取物。
4. 如权利要求 3 所述的局部组合物，其中所述瓣蕊唐松草提取物以有效减少受试者中黑色素生成和/或消除黑色素的量存在。
5. 如权利要求 3 所述的局部组合物，其中所述瓣蕊唐松草提取物以约 10 至约 300 $\mu\text{g/mL}$ 所述组合物的量存在。
6. 如权利要求 3 所述的局部组合物，其中所述瓣蕊唐松草提取物通过醇提取所述瓣蕊唐松草种的植物材料而获得。
7. 如权利要求 1 或 2 所述的局部组合物，还包含美容上可接受的载体。
8. 如权利要求 7 所述的局部组合物，其中所述美容上可接受的载体选自由以下组成的组：水、甘油、蜡、醇、植物油、矿物油、硅酮、脂肪酯、脂肪醇、二醇、聚二醇及其组合。
9. 如权利要求 1 所述的局部组合物，还包含选自由以下组成的组的补充活性成分：枳椇子、地骨皮、原拉拉藤及其组合。
10. 如权利要求 9 所述的局部组合物，其中所述补充活性成分包含来自枳椇子种、地骨皮 和 原拉拉藤的提取物。
11. 如权利要求 10 所述的局部组合物，其中所述补充活性成分提取物以约 10 至约 300 $\mu\text{g/mL}$ 所述组合物的量存在。

12. 如权利要求 9 至 11 任一项所述的局部组合物，还包含美容上可接受的载体。

13. 如权利要求 12 所述的局部组合物，其中所述美容上可接受的载体选自由以下组成的组：水、甘油、蜡、醇、植物油、矿物油、硅酮、脂肪酯、脂肪醇、二醇、聚二醇及其组合。

14. 一种用于皮肤增亮的局部组合物，所述组合物由瓣蕊唐松草组成。

15. 权利要求 1、2 或 14 任一项所述的局部组合物用于增亮受试者皮肤的用途。

16. 一种制备权利要求 1、2 或 14 任一项所述的局部组合物的方法，所述方法包括提取所述瓣蕊唐松草种的植物材料以获得瓣蕊唐松草提取物的步骤。

17. 如权利要求 16 所述的方法，还包括组合所述瓣蕊唐松草提取物与美容上可接受的载体的步骤。

18. 一种用于增亮受试者皮肤的美容方法，所述方法包括应用瓣蕊唐松草至受试者皮肤的步骤。

19. 如权利要求 18 所述的方法，其中所述应用步骤进一步限定为应用组合物至受试者皮肤，其中所述组合物包含来自所述瓣蕊唐松草种的提取物。

20. 如权利要求 19 所述的方法，其中所述瓣蕊唐松草提取物以有效减少受试者皮肤中黑色素生成和/或消除黑色素的量存在。

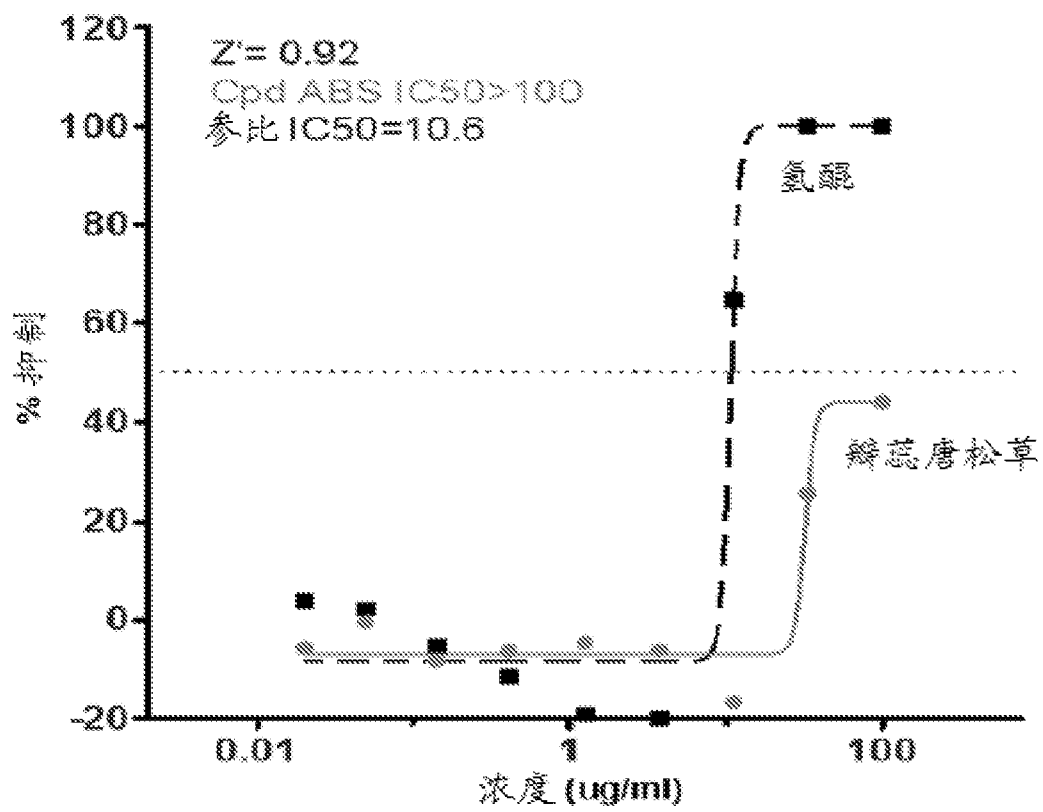


图 1

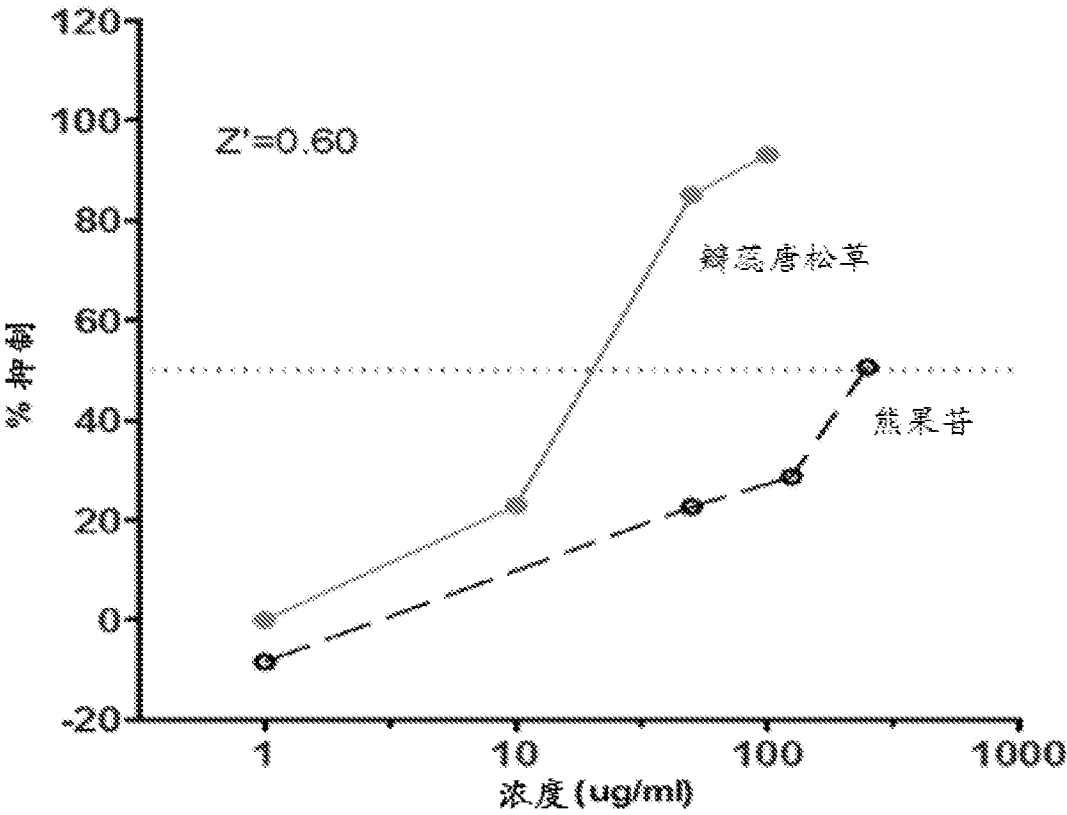


图 2

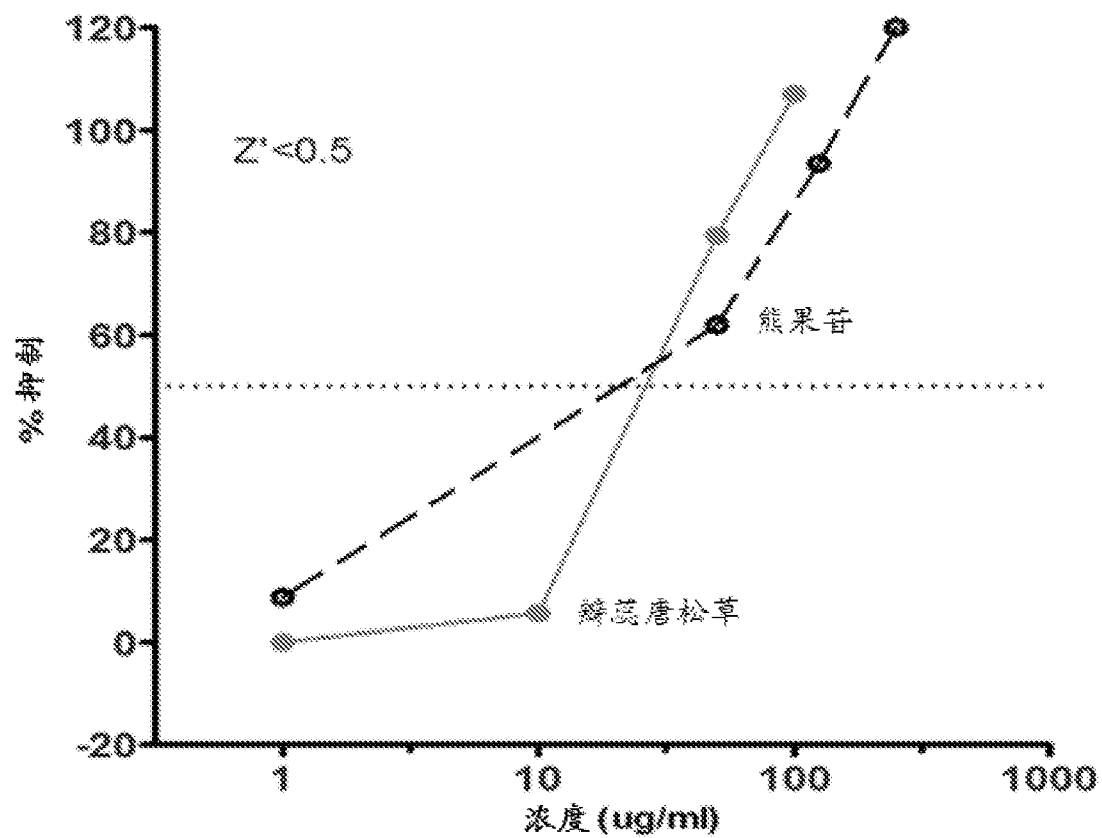


图 3

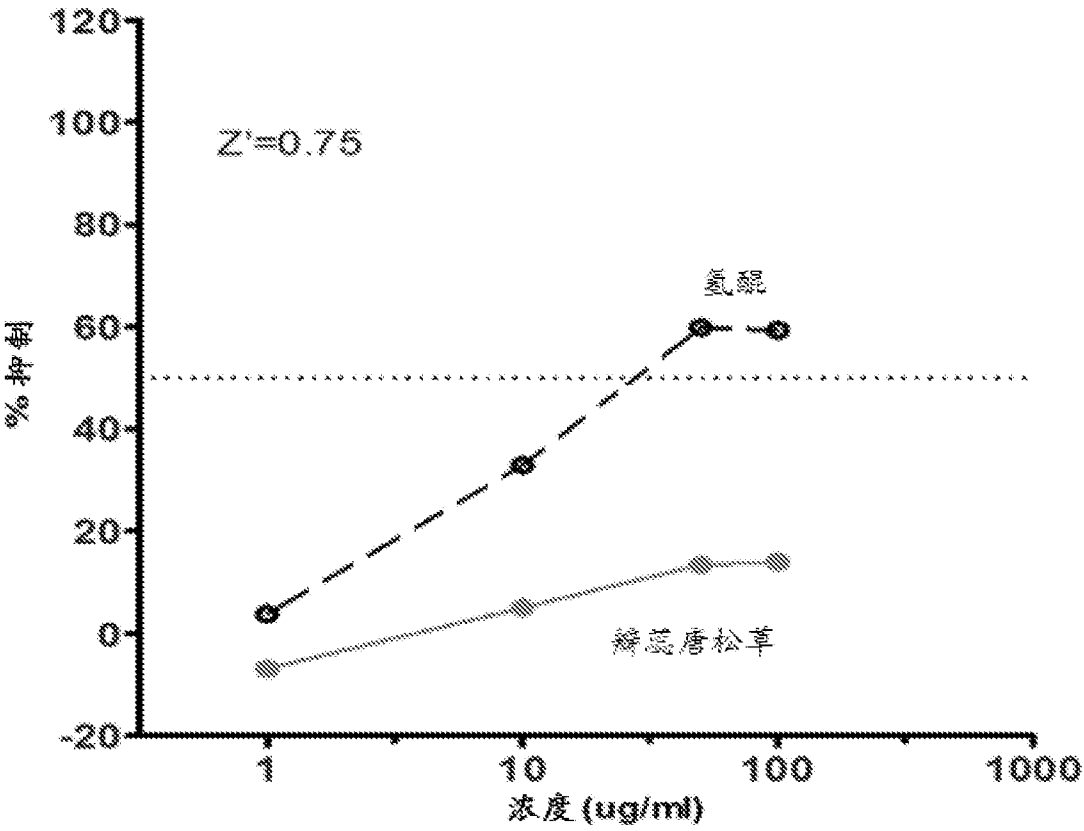


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/076204

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 8/97 (2006.01) i; A61Q 19/02 (2006.01) i

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)

A61K; A61Q

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

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

Data bases: WPI, EPODOC, CNPAT, CNABS, CPRSABS, MOABS, HKABS, TWABS, DWPI, SIPOABS, CPEA, JPABS, CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, CNKI, CA, EMBASE Google Scholar, WANFANG, SUPERSTAR, DUXIU

Key words: brighten, Thalictrum petaloideum, Thalictrum, melanin, melanochrome, melanochrome, tyrosinase, white+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 104324293 A (LU, Cuihua), 04 February 2015 (04.02.2015), embodiment 1	1, 3-4, 7-10, 12-13, 16-17
PX	KR 20150092606 A (JUNG COSMETIC CO., LTD. et al.), 13 August 2015 (13.08.2015), figure 1, and claims 1-4	1-8, 14-20
A	104306669 A. "Study on the Oxidation Resistance of Constituents Extracted from the Root of Thalictrum Petaloideum", LISHIZHEN MEDICINE AND MATERIA MEDICA RESEARCH, vol. 21, no. 4, 30 April 2010 (30.04.2010), page 872, 2.1, and figure 1	1-20

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 13 June 2016 (13.06.2016)	Date of mailing of the international search report 20 June 2016 (20.06.2016)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer LIU, Kaijian Telephone No.: (86-10) 62412198

A. 主题的分类 A61K 8/97 (2006.01) i; A61Q 19/02 (2006.01) i 按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类														
B. 检索领域 检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号) A61K; A61Q 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用)) 数据库: WPI, EPDOC, CNPAT, CNABS, CPRSABS, MOABS, HKABS, TWABS, DWPI, SIPOABS, CPEA, JPABS, CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, CNKI, CA, EMBASE Google Scholar, 万方, 超星, 读秀关键词: 瓣蕊唐松草、唐松草、黑色素、酪氨酸酶、增亮、美白、亮白、Thalictrum petaloideum, Thalictrum, melanin, melanochrome, melanochrome, tyrosinase, white+														
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 104324293 A (鲁翠花) 2015年 2月 4日 (2015 - 02 - 04)</td> <td>1、3-4、7-10、12-13、16-17</td> </tr> <tr> <td>PX</td> <td>KR 20150092606 A (JUNG COSMETIC CO LTD等) 2015年 8月 13日 (2015 - 08 - 13)</td> <td>1-8、14-20</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>104306669A. “瓣蕊唐松草根茎中抗氧化性物质的提取研究” 时珍国医国药, 第21卷, 第4期, 2010年 4月 30日 (2010 - 04 - 30), 第872页2.1和图1</td> <td>1-20</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 104324293 A (鲁翠花) 2015年 2月 4日 (2015 - 02 - 04)	1、3-4、7-10、12-13、16-17	PX	KR 20150092606 A (JUNG COSMETIC CO LTD等) 2015年 8月 13日 (2015 - 08 - 13)	1-8、14-20	A	104306669A. “瓣蕊唐松草根茎中抗氧化性物质的提取研究” 时珍国医国药, 第21卷, 第4期, 2010年 4月 30日 (2010 - 04 - 30), 第872页2.1和图1	1-20
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
X	CN 104324293 A (鲁翠花) 2015年 2月 4日 (2015 - 02 - 04)	1、3-4、7-10、12-13、16-17												
PX	KR 20150092606 A (JUNG COSMETIC CO LTD等) 2015年 8月 13日 (2015 - 08 - 13)	1-8、14-20												
A	104306669A. “瓣蕊唐松草根茎中抗氧化性物质的提取研究” 时珍国医国药, 第21卷, 第4期, 2010年 4月 30日 (2010 - 04 - 30), 第872页2.1和图1	1-20												
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☐ 见同族专利附件。														
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件														
国际检索实际完成的日期 2016年 6月 13日		国际检索报告邮寄日期 2016年 6月 20日												
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局 (ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10) 62019451		授权官员 刘开建 电话号码 (86-10) 62412198												