

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012 年 9 月 20 日(20.09.2012)



(10) 国際公開番号

WO 2012/124743 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 36/00 (2006.01) A61P 37/08 (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 17/04 (2006.01)
A61K 31/502 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) A61Q 19/10 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/056598
- (22) 国際出願日: 2012 年 3 月 14 日(14.03.2012)
- (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 2011-055942 2011 年 3 月 14 日(14.03.2011) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): サン
スター株式会社(SUNSTAR INC.) [JP/JP]; 〒5691195
大阪府高槻市朝日町 3 番 1 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 草刈 剛
(KUSAKARI, Takashi) [JP/JP]; 〒5691195 大阪府高
槻市朝日町 3 番 1 号 サンスター株式会社内
Osaka (JP). 山下 健太郎(YAMASHITA, Kentaro)
[JP/JP]; 〒5691195 大阪府高槻市朝日町 3 番 1 号
サンスター株式会社内 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所 (Sae-
gusa & Partners); 〒5410045 大阪府大阪市中央区
道修町 1-7-1 北浜 T N K ビル Osaka (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, AO, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BH, 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, IS,
JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, 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(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, LR, LS, MW,
MZ, NA, RW, 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 (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, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告(条約第 21 条(3))

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING *POLYGONUM TINCTORIUM* EXTRACT

(54) 発明の名称: 藍葉エキス製造方法

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a tryptanthrin-containing *Polygonum tinctorium* extract particularly suitable for dermal applications. The present invention provides a method for producing a tryptanthrin-containing *Polygonum tinctorium* extract, the method comprising a step for filtering a mixture comprising an ethanol-extracted concentrate of *Polygonum tinctorium* and a polyhydric alcohol, and recovering the filtrate. Also provided is the *Polygonum tinctorium* extract produced by this production method.

(57) 要約: 本発明は、特に皮膚適用のために好適なトリプタンスリン含有藍葉エキスを提供することを課題とする。本発明により、藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物を濾過して濾液を回収する工程を含むトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法、並びに、該製造方法で製造される藍葉エキスが提供される。



WO 2012/124743 A1

明 細 書

発明の名称： 藍葉エキス製造方法

技術分野

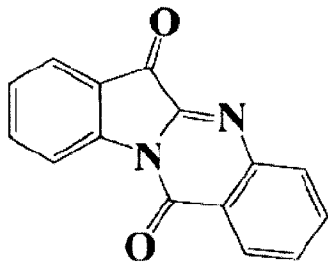
[0001] 本発明は、藍葉エキス製造方法に関する。より詳細には、本発明は、トリプタンスリン含有藍葉エキスの製造方法に関する。

背景技術

[0002] 藍の葉（藍葉）には、インディカン（インディゴの原料になる）が含まれており、このため世界各地で青色の染料の原料として重用されてきた。現在では、化学合成したインディゴ染料が工業的にはよく用いられようになったが、それでも染料として用いるための栽培は続けられている。

[0003] 特に、日本で主に栽培される藍であるタデ藍（Polygonum tinctorum）の葉には、インディカン以外にも、有用な成分が多種含まれていることが知られている。例えば、当該藍葉にはトリプタンスリン（以下に構造式を示す）が多く含まれていることが知られている。

[0004] [化1]



<トリプタンスリン>

トリプタンスリンは、マラセチア属真菌に対して抗菌作用を有し、このため当該真菌が関与するアトピー性皮膚炎に対して有効であるという報告がある（特許文献1）。また、トリプタンスリンが、I V型アレルギー反応の抑制効果を有するという報告もある（特許文献2）。

[0005] このように、トリプタンスリンは特に皮膚に適用する場合に有用な効果を有することが次第に明らかになりつつあり、その需要が高まってきている。

[0006] タデ藍からトリプタンスリンを抽出する方法としては、有機溶媒によりタデ藍から抽出する方法が知られている。例えば、抽出液として、ジクロロメタンを用いる抽出方法（特許文献1）や、1,3-ブチレングリコール等を用いる方法が知られている。（なお、水では、トリプタンスリンはほとんど抽出されない。）

[0007] しかしながら、有機溶媒を用いると刺激性が強い成分が抽出される可能性が高いため、用いる有機溶媒によっては抽出液を皮膚に適用するには不適であったり、抽出液に含まれるトリプタンスリンが不安定であるなど、皮膚適用のために好適な抽出法は開発されていないのが現状である。また、そもそもトリプタンスリンは光安定性がよくないという問題もある。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：特開2004-189732号公報

特許文献2：特開2006-241080号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明は、特に皮膚適用のために好適なトリプタンスリン含有藍葉エキスを提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明者らは、驚くべき事に、藍葉のエタノール抽出物及び多価アルコールを含む混合物を、濾過して濾液を回収することにより、皮膚への刺激が無い（特に皮膚感作性がない）トリプタンスリン含有藍葉エキスを製造し得ることを見出し、さらに改良を重ねて本発明を完成させるに至った。

[0011] すなわち、本発明は例えば以下の項に記載の方法、エキス、組成物等を含む。

項1.

藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物を、濾過して

濾液を回収する工程を含む、トリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。

項 2.

前記混合物が、さらに水を含む、項 1 に記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。

項 3.

多価アルコールが、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、イソプレングリコール、及びペンチレングリコールからなる群より選択される少なくとも1種のグリコールである、項 1 又は 2 に記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。

項 4.

藍葉のエタノール抽出濃縮物を含水多価アルコールと混合する工程、及び得られた藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物を、濾過して濾液を回収する工程を含む、項 1 ～ 3 のいずれかに記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。

項 5.

前記藍葉が、乾燥藍葉である、項 1 ～ 4 のいずれかに記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。

項 6.

前記藍葉が、天日乾燥藍葉である、項 5 に記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。

項 7.

項 1 ～ 6 のいずれかに記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法で製造されたトリプタンスリン含有藍葉エキス。

項 8.

項 7 に記載のトリプタンスリン含有藍葉エキスを含む皮膚外用組成物。

項 A.

藍葉エキスに含まれるトリプタンスリンの光安定性を向上させる方法であって、

当該藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物を、濾過して濾液を回収する工程を有することを特徴とする、藍葉エキに含まれるトリプタンスリンの光安定性向上方法。

項B.

藍葉エキに含まれるトリプタンスリン量を向上させる方法であって、天日乾燥藍葉から藍葉エキを抽出する工程を含むことを特徴とする、方法。

項C.

藍葉を天日で乾燥させる工程を含む、藍葉に含まれるトリプタンスリン量を向上させる方法。

項D.

2週間白色光照射後の含有トリプタンスリン量が照射前の8割以上である、溶液形態のトリプタンスリン含有藍葉エキ。

発明の効果

[0012] 本発明の藍葉エキ製造方法により製造された藍葉エキに含まれるトリプタンスリンは、温度安定性のみならず光安定性にも優れる。しかも、当該藍葉エキは、従来製造されていた藍葉エキに比べ、皮膚刺激性（特に皮膚感作性）が低減されている。さらには、当該藍葉エキは、非常に優れた抗菌活性を有する。このため、当該藍葉エキは皮膚外用組成物として用いるのに、また、皮膚概要組成物を製造するために、好適である。

[0013] また、本発明の藍葉エキ製造方法によれば、従来の方法に比べ、得られる藍葉エキに含まれるトリプタンスリンの量を向上させること、及び当該量を調整すること、も可能である。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]本発明のトリプタンスリン含有藍葉エキの製造方法の一例の概略を示す。

[図2]従来のトリプタンスリン含有藍葉エキの製造方法の一例の概略を示す。

[図3]図1の製造方法で得た藍E t - B Gエキスに含まれるトリプタンスリンの安定性を検討した結果を示す。

[図4]図2の製造方法で得た藍B Gエキスに含まれるトリプタンスリンの安定性を検討した結果を示す。

[図5]検討例1にて藍B Gエキスの皮膚感作性を検討した際の手順の概略を示す。

[図6]検討例にて各藍葉エキスの皮膚感作性を検討した際の判定基準の説明を示す。

[図7]検討例2にて藍E t エクス及び藍E t - B Gエキスの皮膚感作性を検討した際の手順の概略を示す。

[図8]藍葉の状態により、得られる藍葉エキスに含まれるトリプタンスリン量が増減するかを検討した結果を示す。

[図9]藍E t - B Gエキス、藍B Gエキス、藍水エキス、又は水を培地に加えて黄色ブドウ球菌を培養したときの、生菌数の割合を比べたグラフである。

発明を実施するための形態

[0015] 以下、本発明について、さらに詳細に説明する。

[0016] 本発明のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法は、藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物を、濾過して濾液を回収する工程を含む。また、本発明は、当該製造方法で製造されるトリプタンスリン含有藍葉エキスも包含する。

[0017] 藍葉のエタノール抽出濃縮物

藍葉のエタノール抽出濃縮物は、藍葉エタノール抽出物を、濃縮することにより得られる。

[0018] 藍葉エタノール抽出物は、藍葉をエタノールにより抽出することにより得られる。藍葉を採取する藍としては、トリプタンスリンを葉に含有する藍が好ましく、中でもタデ藍 (Polygonum tinctorum) が好ましい。用いる藍葉は、乾燥藍葉であることが好ましい。乾燥藍葉としては、凍結乾燥藍葉、加熱乾燥藍葉、天日乾燥藍葉等が例示できる。特に、天日乾燥藍葉を用いると、

得られる藍葉エキスのトリプタンスリン含有量が顕著に多くなるため、好ましい。乾燥藍葉を得る方法は特に制限されず、例えば、藍葉を乾燥させる際、葉を摘み取った後乾燥してもよいし、全草を乾燥させた後に葉を採取してもよい。なお、天日乾燥においては、乾燥時間は天候等の条件に応じて適宜設定できる。例えば、通常日本国において藍葉を収穫できる9～11月においては、2～7日程度天日にさらすことで乾燥させることができる。

[0019] エタノール抽出方法は特に限定されず、公知の方法を適宜選択して行うことができる。例えば、エタノールを用いて藍葉を還流抽出することにより、行うことができる。より具体的には、フラスコに冷却器をつなぎ、当該フラスコ内に藍葉及びエタノールを入れ、1～6時間程度還流を行う方法が例示される。エタノールに加える藍葉の量は適宜設定できる。例えば100 mLのエタノールに対して、乾燥質量換算で1～10 gの藍葉を加えるという量が例示される。なお、抽出に含水エタノール（水とエタノールの混合液）を用いてもよいが、エタノールの割合が高いものが好ましい。例えば、容量比でエタノールが70%以上が好ましく、90%以上がより好ましく、95%以上がさらに好ましく、99%以上がよりさらに好ましい。

[0020] エタノール抽出濃縮物は、エタノール抽出液を濃縮して得られる。エタノール抽出液の濃縮の方法は、特に制限されず、公知の方法を適宜選択して行うことができる。例えば、好適には減圧蒸留により行い得る。つまり、エタノール抽出濃縮物としては、減圧蒸留濃縮物が好適である。減圧蒸留は、例えば減圧蒸留濃縮装置又は真空蒸留濃縮装置を用いて行うことができる。濃縮の程度は、特に制限されないが、例えばエタノール抽出液の質量の90%以上（好ましくは90～99.99%程度）が除去される程度が例示される。前述の通り、例えば減圧蒸留又は真空蒸留により当該除去を行い得る。また、例えば、減圧蒸留により質量の変化がほとんど（実質的に）起こらない程度にまで濃縮してもよい。

[0021] 多価アルコール

本発明に用いる多価アルコールは、通常、外用剤（例えば化粧品、医薬部

外品又は外用医薬品)に使用されるものであれば、特に制限されない。多価アルコールの中でも1価アルコール又は2価アルコールが好ましい。具体的には、例えば、グリコール又はグリセリンが好ましい。より具体的には、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、ペンチレングリコール(1, 2-ペンタンジオール)、グリセリン、ジプロピレングリコール、1, 3-プロパンジオール、イソプレングリコール(イソペンチルジオール)等が好ましく例示される。中でも1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、ペンチレングリコール、又はイソプレングリコールが好ましく、1, 3-ブチレングリコールが特に好ましい。多価アルコールは、1種単独で又は2種以上を組み合わせる用いることができる。

[0022] 藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物

本発明に用いる、藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物は、例えば上述の藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを混合することにより得られる。エタノール抽出濃縮物と多価アルコールとの混合割合は特に制限されず、適宜設定することができる。例えば質量比でエタノール抽出濃縮物：多価アルコールが、1：16～2：1であることが好ましく、1：13～1：1であることがより好ましく、1：10～1：5であることがさらに好ましい。

[0023] エタノール抽出物を濃縮したエタノール抽出濃縮物を用い、さらに加える多価アルコール液量を少なめにするにより、下述する濾過工程で得られる濾液量が少なくなるため、より濃縮された溶液状態のトリプタンスリン含有藍葉エキスを得ることができる。つまり、溶液状態の藍葉エキス中のトリプタンスリン濃度を高めることや調整することができる。これにより、抽出効率を向上させることができる。

[0024] また、藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物は、さらに水を含んでもよい。かかる混合物は、藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを混合し、さらに水を加えて得ることができる。また、藍葉のエタノール抽出濃縮物及び含水多価アルコール(水と多価アルコールの

混合液)を混合することにより得ることもできる。いずれの場合も、当該混合物における水と多価アルコールの混合割合は特に制限されず適宜設定できるが、質量比で水：多価アルコールが25：75～75：25であることが好ましく、40：60～60：40であることがより好ましく、45：55～55：45であることがさらに好ましい。なお、含水多価アルコールを用いる場合には、水と多価アルコールの混合割合が当該質量比である含水アルコールを用いることが好ましい。また、含水多価アルコールを混合した後、さらに水及び／又は多価アルコールやエタノールを加えてもよい。

[0025] 以上のように、本発明のエキス製造方法は、(i) 藍葉からエタノール抽出を行う工程、(ii) 藍葉エタノール抽出物を濃縮する工程、(iii) 藍葉エタノール抽出濃縮物と多価アルコール又は含水多価アルコールとを混合する(そして、必要に応じてさらに水を混合する)工程、(iv) 藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物を濾過して濾液を回収する工程、の4工程のうち、(iv)を含む方法、(iii)及び(iv)を含む方法、(ii)～(iv)を含む方法、並びに(i)～(iv)を含む方法、を好ましく包含するといえる。

[0026] 濾過

本発明のエキス製造方法では、上記の混合物は濾過され、濾液が回収される。混合物の濾過の方法は特に制限されず、公知の方法を適宜選択して用いることができる。例えば、濾紙、濾布、ウェッジワイヤースクリーン、ウレタンスクリーン、濾過膜、ガラスフィルター等を用いた濾過機、加圧濾過機、フィルタープレス機、冷却濾過機、吸引濾過器等を単独若しくは組み合わせて利用できる。例えば、濾布濾過機(リーフフィルターやフンダバックフィルターなど)で濾過して得られた濾過液を、さらに濾過膜やガラスフィルターを用いて濾過する方法が好ましく例示される。あるいはまた、約15 μm 以上(より好ましくは約10 μm 以上)の粒子を濾過除去できる方法、例えば約10 μm 以上の粒子を保留できる濾紙(例えばアドバンテック社製定性濾紙No.1)を用いた吸引濾過も好ましく例示される。

[0027] 濾過して得られる濾液は、そのままトリプタンスリン含有藍葉エキスとして用い得る。また、得られた濾液を乾燥（例えば減圧乾燥又は凍結乾燥）するなどして固体状（例えば粉末状）にしたものも、トリプタンスリン含有藍葉エキスとして用い得る。このようなトリプタンスリン含有藍葉エキスも、本発明に包含される。

[0028] トリプタンスリン含有藍葉エキス

本発明のトリプタンスリン含有藍葉エキスは、溶液状態における光安定性が高く、また、皮膚への刺激（特に皮膚感作性）もほとんど無いため、特に皮膚に適用するのに優れている。特に、上述の濾過により得られる濾液そのものをトリプタンスリン含有藍葉エキスとして用いる場合、白色光下で2週間静置した場合でも、その濃度はほとんど変化しない。具体的には、好ましくは白色光照射前に含まれるトリプタンスリン量の8割以上（より好ましくは9割以上）の量が照射後に存在する。ここでの白色光照射とは、約10000ルクスの白色光照射をいい、当該照射は通常の白色蛍光灯等を用いて行い得る。

[0029] また、濾液を濃縮又は乾燥するなどして、ペースト状や固体状（例えば粉末状）等にしたものも、再度適当な溶媒へ溶解させた場合において、上述と同様の効果を示し得る。ここでの適当な溶媒としては、水、エタノール、及び上述した多価アルコールからなる群より選択される少なくとも1種が例示できる。

[0030] 当該エキスを溶液形態で用いる場合は、上述の濾液そのものを用いてもよいし、濾液を乾燥（例えば凍結乾燥）するなどして固体状（例えば粉末状）にしたものを適当な溶媒へ溶解させたものを用いてもよい。

[0031] なお、藍葉エタノール抽出エキスであっても、藍葉多価アルコール抽出エキスであっても、皮膚への刺激（特に皮膚感作性）が存在するところ、本発明の製造方法で得られる藍葉エキスでは皮膚への刺激（特に皮膚感作性）が非常に低減されている。限定的な解釈を望むものではないが、藍葉には様々な皮膚刺激物質が含まれており、エタノールに溶解する皮膚刺激物質及び多

価アルコールに溶解する皮膚刺激物質も含まれているところ、エタノールにも多価アルコールにも溶解する皮膚刺激物質は藍葉には含まれていないため、このような効果が得られるのではないかと推察される。当該推察によれば、エタノール抽出濃縮物はできるだけエタノール抽出物からエタノールを除去したものをを用いるのが好ましいと考えられる。また、藍葉多価アルコール抽出濃縮物とエタノールとを混合し、これを濾過して濾液を回収することによっても、同様の効果を奏する藍葉エキスが製造できるのではないかと考えられる。

[0032] トリプタンスリン含有藍葉エキスを含む皮膚外用組成物

本発明は、上述のトリプタンスリン含有藍葉エキスを含む皮膚外用組成物も包含する。本発明のトリプタンスリン含有藍葉エキスは、トリプタンスリンの光に対する安定性（光安定性）及び温度安定性が優れており、かつ、皮膚刺激性が低く皮膚へ適用するのに優れているため、当該皮膚外用組成物を用いることで、トリプタンスリンが奏する効果を好ましく享受することができる。すなわち、本発明の皮膚外用組成物であれば、長期間保存しても温度や光によりトリプタンスリン量が減少することがほとんどなく、かつ皮膚刺激が低く、トリプタンスリンの抗炎症効果、抗アレルギー効果等の効果が好ましく発揮され得る。

[0033] 本発明の皮膚外用組成物は、上述のトリプタンスリン含有藍葉エキス（溶液形態を含む）そのものでもよいし、本発明の効果を損なわない範囲で、当該トリプタンスリン含有藍葉エキスを、さらに皮膚外用のために用いられる公知の任意成分を配合したものでもよい。任意成分の配合量は、本発明の効果を損なわない範囲で適宜設定することができる。例えば、皮膚外用組成物全体に対し、0.1～99%が例示される。用いる任意成分としては、公知の界面活性剤、水溶性高分子、着色剤、酸化防止剤、金属封鎖剤、防腐剤、pH調整剤、清涼剤、香料、保湿剤、紫外線吸収剤、紫外線散乱剤、抗酸化剤、エステル油、動植物油などが例示される。またさらに、皮膚外用のために用いられる他の有効成分を本発明の効果が発揮される範囲で配合すること

もできる。このような有効成分としては、公知の美白剤、抗炎症剤、シワ形成抑制剤、脂肪分解剤、育毛剤等が例示される。

[0034] 本発明の皮膚外用組成物は、例えば皮膚外用剤（医薬品、医薬部外品）や化粧料として用いることができる。皮膚外用剤は皮膚への適用に適した剤型、例えば、ゲル剤、クリーム剤、軟膏剤、リニメント剤、ローション剤、乳剤、粉剤、懸濁剤、エアゾール剤、硬膏剤、パップ剤、テープ剤、プaster剤などで使用できる。好ましくは、ゲル剤、クリーム剤、乳剤である。また、化粧料は、化粧水、乳液、クリーム、美容液、パック、メイクアップベースローション、メイクアップベースクリーム、ファンデーション、アイカラー、チークカラー、リップスティック、日焼け止め等の皮膚化粧料、クレンジングローション、クレンジングクリーム、クレンジングフォーム、洗顔石鹸、洗顔剤、ボディーシャンプー等の皮膚洗浄料、ヘアーシャンプー、ヘアーリンス、ヘアトリートメント等の毛髪用化粧料、浴用剤などとして使用できる。好ましくはクリーム、美容液、日焼け止めである。これらは公知の方法により、上述のトリプタンスリン含有藍葉エキス並びに必要に応じて上述の任意成分及び有効成分を用いて製造することができる。

実施例

[0035] 以下、本発明をより具体的に説明するが、本発明は下記の例に限定されるものではない。

[0036] トリプタンスリン含有藍葉エキスの製造

〔製造例〕：概略を図1に示す

タデ藍の天日乾燥葉（全草を7日間天日乾燥後葉を採取）50gを、99.5%エタノール800mL（740g）に加え、2時間還流することによりエタノール抽出を行った。抽出後、室温になるまで自然冷却し、#300メッシュのステンレス製濾過具を用いた濾過により、葉を除去した。このようにして得られた濾液（藍葉エタノール抽出液）を以下「藍Etエキス」ともいう。

[0037] 藍Etエキス約530gをロータリーエバポレーターにより減圧蒸留し、

総量が7.9 g 以下になるまで濃縮した。このようにして得られた濃縮物を以下「藍E t 濃縮エキス」ともいう。

[0038] さらに、当該藍E t 濃縮エキス約5 g に対し、50% (w/w) 含水1, 3-ブチレングリコール80 mL を加えて当該エキスを溶解させた。このようにして得た藍E t 濃縮エキスが溶解した溶液を、濾過して濾液を回収した。当該濾過は、約10 μ m 以上の粒子を保留できる濾紙（アドバンテック社製 定性濾紙No.1）を用いた吸引濾過である。この濾液を得る検討を22回繰り返したところ、得られた濾液の平均重量は、約74 g であった。当該濾液を以下「藍E t -BGエキス」ともいう。藍E t -BGエキスは、本発明のトリプタンスリン含有藍葉エキスの好ましい態様の一例である。

[0039] 〔比較製造例〕：概略を図2に示す

タデ藍の天日乾燥葉（全草を7日間天日乾燥後葉を採取）50 g を、50% (w/w) 含水1, 3-ブチレングリコールに浸漬させ、55℃で5時間静置した。これを吸引濾過（アドバンテック社製 定性濾紙No.1使用）により濾過し、濾液を回収した。当該濾液を以下「藍BGエキス」ともいう。

[0040] 藍エキスに含有されるトリプタンスリンの安定性の検討

藍E t -BGエキス、及び藍BGエキスを以下の（1）～（4）の4種類の条件下で保存し、保存開始から1ヶ月後、2ヶ月後、3ヶ月後に、それぞれ、トリプタンスリンの含有量を計測した。なお、藍E t -BGエキスについては保存開始から2週間後にも計測した。また、白色蛍光灯の照射では、約10000ルクスの白色光を各エキスに照射した。具体的には、二本の白色蛍光灯（FL40SS-EX-D/37（長尺状）パナソニック社製：長さ1198 mm、ガラス管口径28 mm）を並行に設置し（間隔約30 cm）、その中間位置に各エキスを設置して（すなわち、各白色蛍光灯からエキスまでの距離は約15 cm）照射を行った。

（1）暗所にて室温保存

（2）暗所にて40℃で保存

（3）暗所にて-5℃で保存

(4) 白色蛍光灯常時照射下にて室温保存

なお、トリプタンスリンの含有量の測定は、HPLCを用いて、以下の条件で標準品との比較をすることにより行った。

[HPLC条件]

カラム：Cosmosil5C18 MS-II 4.6X150mm (5 μ m)

移動相：水／メタノール＝50／50

流速：1 mL／min

カラム温度：40℃

検出波長：254 nm

注入量：20 μ L

[0041] 藍E t－BGエキスの結果を図3に、藍BGエキスの結果を図4に、それぞれ示す。図3及び図4から、藍E t－BGエキスは光安定性が優れている（少なくとも光照射によっても1ヶ月間は安定である）のに対し、藍BGエキスでは光によりトリプタンスリンが分解され、トリプタンスリン含有量が減少することが確認できた。また、いずれのエキスも温度安定性は優れていた。さらに、藍E t－BGエキスは藍BGエキスにくらべ、トリプタンスリン濃度が顕著に高いこともわかった。これは、藍E t－BGエキスが、トリプタンスリンが高濃縮されたエキスであることを示している。なお、上記（4）光照射条件下1ヶ月は、商品として店に陳列された際の光照射1年程度に相当すると推測され、商品化した場合に十分な光安定性を有するものと考えられる。

[0042] トリプタンスリン含有藍葉エキスの皮膚刺激性（感作性）の検討

〔検討例1：藍BGエキスの皮膚感作性〕

藍BGエキスの皮膚感作性について、モルモット（感作群5匹、対照群3匹：日本SLCから購入）を用いてGuinea Pig Maximization Test法（GPM T法）により検討した。なお、当該検討に用いた藍BGエキスのトリプタンスリン濃度は20.4 μ g/mLであった。また、検討に用いたフロイントの完全アジュバント（FCA）はDIFCO LABORATORIES

から購入した。

[0043] 皮内感作は、具体的には次のようにして行った。すなわち、感作開始日に、感作群には以下の（a）（b）（c）をこの順に、対照群には以下の（a）（d）（a）をこの順に、頸部皮膚の左右2ヶ所に、それぞれ少しずつ投与位置をずらして0.1 mLずつ皮内投与した。つまり、いずれのモルモットに対しても、頸部皮膚の左右それぞれにおいて、3ヶ所の皮内投与を行った。なお、感作群における（a）→（b）投与時の投与間隔距離は（b）→（c）投与間隔距離より短く、また、対照群における（a）→（d）投与時の投与間隔距離は（d）→（a）投与間隔距離より短くなるようにした。また、感作群における（a）→（b）投与間隔距離と対照群における（a）→（d）投与間隔距離、並びに、感作群における（b）→（c）投与間隔距離と対照群における（d）→（a）投与間隔距離は、ほぼ同様になるようにした。

（a）：フロイントの完全アジュバント（FCA）と生理食塩液の当量乳化物

（b）：藍BGエキスの30w/w%液（溶媒：生理食塩水）

（c）：藍BGエキスの60w/w%液（溶媒：生理食塩水）とFCAの当量乳化物

（d）：生理食塩水

接触感作は、皮内感作（0日目）から7日目に藍BGエキス0.2 mLを2×4 cmのリント布に含浸させ、皮内投与部位に48時間閉塞貼付して行った。

[0044] 惹起は、21日目に藍BGエキスの50w/w%液（溶媒：注射用水）0.1 mLを、パッチテスト用絆創膏の布部に含浸させ、モルモットの腹側部に24時間閉塞貼付して行った。皮膚反応の観察は、惹起貼付除去24時間後及び48時間後に行った。当該検討の概略を図5及び次に示す。

試験法：Guinea Pig Maximization Test法（GPMT法）

使用動物：白色モルモット（感作群5匹、対照群3匹）

試料：藍BGエキス

方法：Day 0：FCA、試料(30%)、FCA＋試料(60%)を頸部背側部皮内投与〔感作〕

Day 7：試料を48h閉塞貼付(100%)〔感作〕

Day 21：腹側部に試料を閉塞貼付(50%)〔惹起〕

Day 22-23：24h、48h後に観察

なお、試験期間中の一般状態に異常は認められず、体重においても順調な増加推移を示した。皮膚所見（貼付除去48時間後）の結果を表1に示す。

[0045] [表1]

投与試料	感作群		対照群	
	陽性率(%)	平均評点	陽性率(%)	平均評点
藍BGエキス 50%	100	4.2	0	0

また、表1における「陽性率」、「平均評点」の算出方法等について図6及び次に示す。

判定：皮膚反応判定基準（Draize法）

紅斑及び痂皮形成0-4＋浮腫0-4＝合計0-8（評点）

<紅斑及び痂皮形成>

0：紅斑なし

1：ごく軽度の紅斑（やっと認められる程度）

2：明らかな紅斑

3：中等度から強い紅斑

4：深紅色の強い紅斑に痂皮形成（傷害は深部に及ぶ）

<浮腫形成>

0：浮腫なし

1：ごく軽度の浮腫（やっと認められる程度）

2：軽度の浮腫（周囲と明らかに区分可能）

3：中等度の浮腫（1mm程盛り上がっている）

4：強い浮腫（1mm以上盛り上がり、周囲にも広がる）

各判定時における「紅斑及び痂皮形成」並びに「浮腫」の合計点が1以上を陽性とし、下記式から陽性率を求めた。感作群の陽性率と対照群の陽性率の差を感作率とし、感作性評価区分は上記基準に従った。但し、感作性が0%の場合は、感作性無しとした。また、下記式から平均評点も算出した。また、下記式から感作率を算出した。

[0046] 陽性率（％）＝（陽性動物数／全動物数）× 100

平均評点＝（紅斑及び浮腫の合計点）／動物数

感作率（％）＝感作群の陽性率－対象群の陽性率

求めた感作率から、以下のように感作性評価区分を求めることができる。

[0047]

感作率（％）	Grade	Classification
0～8	I	Weak
9～28	II	Mild
29～64	III	Moderate
65～80	IV	Strong
81～100	V	Extreme

[0048] 以上のように、藍BGエキスには皮膚感作性が認められた。なお、感作性評価区分は、惹起濃度50w/w%でGrade V（Extreme）であった。

[0049] [検討例2：藍Etエキス及び藍Et-BGエキスの皮膚感作性]

藍Etエキス及び藍Et-BGエキスの皮膚感作性について、モルモット（感作群5匹、対照群3匹：日本SLCから購入）を用いてAdjuvant and Patch Test法により検討した。なお、当該検討に用いた藍Etエキスのトリプタンスリン濃度は17.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、藍Et-BGエキスのトリプタンスリン濃度は17.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また、検討に用いたフロイントの完全アジュバント（FCA）はDIFCO LABORATORIESから購入した。

[0050] 感作群の感作は次のようにして行った。感作0日目に、フロイントの完全アジュバント（FCA）と生理食塩液の当量乳化物を投与部位（頸部皮膚）の四隅に皮内投与した後、投与部位に注射針を用いて#型の傷を付けた。そして、藍Etエキスを0.1 mLを含浸させた2×4 cmのリント布を用いて、4箇所（#型の傷全て）を覆うようにして、24時間閉塞貼付した。第1、2日目に皮内投与を除く操作を同様に行った。第7日目に藍Etエキスを0.2 mLを含浸させた2×4 cmのリント布を、同じ部位に48時間閉塞貼付した。なお、対照群に対しては、エキスの代わりに注射用水を用いて同様に処理を行った。

[0051] 惹起は、感作第21日目に、藍Etエキスの50w/w%液、又は藍Et-BGエキスの50w/w%液（溶媒はいずれも注射用水）をそれぞれ0.1 mLずつパッチテスト用絆創膏の布部に含浸させ、モルモットの左右腹側部に24時間閉塞貼付して行った。皮膚反応の観察は、惹起貼付除去24時間後及び48時間後に行った。当該検討の概略を図7及び次に示す。

試験法：Adjuvant & Patch-test法

使用動物：白色モルモット（処置群5匹、対照群3匹）

方法：Day 0：FCAを頸部背側部皮内投与（図7では、モルモット模式図の1（頸部）の4隅の#で投与位置が示される）

Day 0-2：試料を24h閉塞貼付（100%）×3日（藍Etエキス）

Day 7-9：腹側部に試料を48h閉塞貼付（100%）（藍Etエキス）

Day 21-22：腹側部に試料を24h閉塞貼付（50%）（藍Etエキス、藍Et-BGエキス）

Day 23-24：貼付除去後24、48hに観察

図7中のマウス模式図には#型の傷（4ヶ所）、感作時の閉塞貼付部位、及び惹起時の閉塞貼付部位の概略を示す。

[0052] なお、試験期間中の一般状態に異常は認められず、体重においても順調な増加推移を示した。50w/w%液で惹起をした場合の皮膚所見（貼付除去48時間後）の結果を表2に示す。また、表2における「陽性率」、「平均評点

」の算出方法等については、検討例１と同様である（すなわち図６又は上に示される）。

[0053] [表2]

投与試料	感作群		対照群	
	陽性率(%)	平均評点	陽性率(%)	平均評点
藍Etエキス 50%	40	0.4	0	0
藍Et-BGエキス 50%	0	0	0	0

[0054] 以上のように、藍Etエキスには皮膚感作性が認められた一方、藍Et-BGエキスには皮膚感作性は認められなかった。なお、藍Etエキスの感作性評価区分は、惹起濃度50w/w%でGrade III (Moderate)であった。

[0055] 以上の結果から、藍BGエキス及び藍Etエキスには皮膚感作性があること、及び藍Et-BGエキスには皮膚感作性が無く、従って皮膚への適用に好ましいこと、が確認できた。

[0056] 各種乾燥藍葉の検討

用いる藍葉の状態により、得られる藍葉エキスに含まれるトリプタンスリン量が変わるかを検討した。

[0057] タデ藍全草（地上部）を収穫し、給水スポンジに差した状態で冷蔵輸送し、その後下記の通り乾燥処理を行った。

- 1) 生葉（乾燥処理行わず）
- 2) 全草より葉を採取後、凍結乾燥（12時間）
- 3) 全草より葉を採取後、加熱乾燥（80℃、24時間）
- 4) 全草より葉を採取後、天日乾燥（2日間、開花前）
- 5) 全草より葉を採取後、天日乾燥（2日間、開花後）
- 6) 全草を天日乾燥（7日間）後、葉を採取

いずれの処理においても、タデ藍生葉40gを用いた。乾燥後は、いずれも7.5g程度の乾燥葉となった。

[0058] そして、1)～6)の生葉又は乾燥葉、並びに市販乾燥藍葉を用いて、上記製造例1に記載の方法と同様にして、藍Etエキスを製造した。そして、当該エキス中に含まれるトリプタンスリンの量を上記の[HPLC条件]にて

測定した。

[0059] 結果を図8に示す。当該結果から、生葉よりも乾燥葉を用いた方が、より多くのトリプタンスリンを含有するエキスを得られること、及び天日乾燥葉を用いると、顕著に多くのトリプタンスリンを含有するエキスを得られること、及び、天日で藍葉を乾燥させることにより、藍葉に含まれるトリプタンスリン量を向上させることができること、がわかった。

[0060] 藍葉エキスの抗菌活性の検討

以下のようにして、各種藍葉エキスの抗菌活性の強さを検討した。なお、当該検討で用いたSCD液体培地及びSCDLP寒天培地は、メルク社から購入した。具体的には、SCD液体培地は「ソイビーンカゼインダイジェスト」（メルク社製）を、SCDLP寒天培地は「ポリソルベート80及びレシチン加ソイビーンカゼインダイジェスト」（メルク社製）を、それぞれ用いた。また、当該検討に用いた「藍水エキス」は、藍BGエキスを製造した方法（つまり、上記〔比較製造例〕に記載の方法）において、50%（w/w）含水1,3-ブチレングリコールの代わりに水を用いて得た藍葉エキスである。

[0061] 黄色ブドウ球菌（*Staphyrococcus aureus* NBRC 13276）を、5 mLのSCD液体培地に懸濁して、30℃で一晩振盪培養した。これを、SCD液体培地で希釈してマクファーランド0.5（生菌数濃度 約 1.5×10^8 CFU/mLに相当）に調製し、さらにSCD液体培地で100倍に希釈したものを接種菌液とした。

[0062] 試験管に分注したSCD液体培地4.5 mLに、藍Et-BGエキス、藍BGエキス、藍水エキス、又は水を150 μ L加え、さらにSCD液体培地を加えて5 mLにメスアップしたエキス含培地に、接種菌液を50 μ L加えてよく攪拌し、30℃で24時間振盪培養した。このようにして得られた培養液を、培養菌液とした。培養菌液を0.85%塩化ナトリウム溶液で10倍ずつ段階希釈し、段階希釈した液を100 μ LずつSCDLP寒天培地に播いて30℃で1日間培養した。具体的には、藍Et-BGエキスを加えた

培養菌液については、これを 10^4 倍又は 10^5 倍希釈した液を調製し、各液を寒天培地2枚ずつ（合計4枚）に播いて培養した。また、その他のエキス又は水を加えた培養菌液については、それぞれ、 10^5 倍又は 10^6 倍希釈した液を調製して用いた以外は、同様に培養した。培地表面に生じたコロニー数を測定し、測定されたコロニー数に基づき、培養菌液1 mLに含まれる生菌数（CFU/mL）を求めた。藍葉エキスの代わりに水を用いた場合の生菌数を1としたときの、各藍葉エキスをを用いた場合の生菌数の割合をグラフ化した図を図9に示す。図9において、*は $p < 0.05$ を、**は $p < 0.005$ を、それぞれ示す。なお、藍BGエキス、又は藍水エキスを培地に加えて培養した場合と、代わりに水を培地に加えて培養した場合とでは、有意差はなかった。

[0063] 以上の結果から、藍Et-BGエキスは非常に優れた抗菌活性を示すことが分かった。

[0064] 以下に、本発明の皮膚外用組成物の処方例を示す。各処方例は、常法に従って調製した。なお、処方例における「藍エキス」は藍Et-BGエキスである。また、%は質量%を表す。

[0065] [表3]

<処方例1:美容液>	
成分名	配合量(%)
藍エキス	10
濃グリセリン	1
スクワラン	2
オリーブ油	2
ホホバ油	1.8
テトラオクタン酸ペンタエリスリチル	1
ポリオキシエチレンオレイルエーテル	0.8
メチルポリシロキサン	0.5
パラオキシ安息香酸メチル	0.1
カルボキシビニルポリマー	0.2
キサンタンガム	0.05
水酸化カリウム	適量(pH7.5に調整)
精製水	残部
合計	100

[0066]

[表4]

<処方例2:化粧水>	
成分名	配合量(%)
藍エキス	1
エタノール	5
濃グリセリン	10
1, 3-ブチレングリコール	5
ヒアルロン酸ナトリウム	0.2
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (60.E.O.)	0.6
パラオキシ安息香酸メチル	0.1
クエン酸	0.06
クエン酸ナトリウム	0.08
精製水	残部
合計	100

[0067] [表5]

<処方例3:スキンクリーム>	
成分名	配合量(%)
藍エキス	5
濃グリセリン	10
スクワラン	8
オリーブ油	4
マカデミアナッツ油	4
ステアリン酸	3
セタノール	3
新油型モノステアリン酸グリセリン	3
モノステアリン酸ポリグリセリル	2
パラオキシ安息香酸メチル	0.2
水酸化カリウム	適量 (pH6.5に調整)
精製水	残部
合計	100

[0068] [表6]

<処方例4:UVクリーム>	
成分名	配合量(%)
環状シリコーン(n=5)	15
微粒子酸化亜鉛	10
微粒子酸化チタン	5
スクワラン	3
ヘーゼルナッツ油	2
オリーブ油	1
ベヘニルアルコール	2
ジイソステアリン酸ポリグリセリル	2
藍エキス	1
塩化ナトリウム	0.5
1, 3-ブチレングリコール	5
パラオキシ安息香酸メチル	0.1
精製水	残部
合計	100

[0069]

[表7]

<処方例5:洗顔剤>	
成分名	配合量(%)
藍エキス	0.5
ラウリン酸カリウム	5
ミリスチン酸カリウム	15
パルミチン酸カリウム	10
ステアリン酸カリウム	10
ポリエチレングリコール	5
ヤシ油脂肪酸ジエタノールアミド	2
ポリオキシエチレンヤシ油脂肪酸グリセリル	1
濃グリセリン	10
パラオキシ安息香酸メチル	0.1
精製水	残部
合計	100

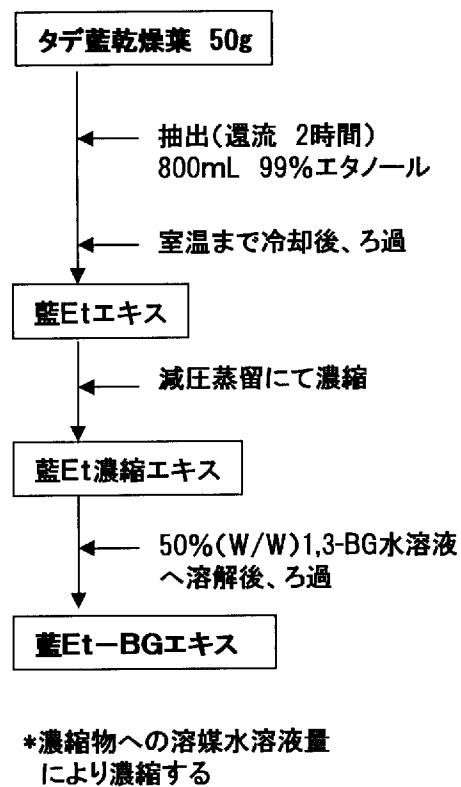
[0070] [表8]

<処方例6:クレンジング剤>	
成分名	配合量(%)
藍エキス	1
POEラウリルスルホコハク酸Mg(3EO)	2
テトラオレイン酸POE(40)ソルビトール	1
自己乳化型モノステアリン酸グリセリル	2
ステアリン酸	4
セタノール	2
パルミチン酸セチル	2
パラフィン(135° F)	2
流動パラフィン	30
パルミチン酸イソプロピル	10
トリ2-エチルヘキサン酸グリセリル	10
パラオキシ安息香酸メチル	0.1
1,3-ブチレングリコール	5
香料	0.1
クエン酸	適量(pH5.0に調整)
精製水	残部
合計	100

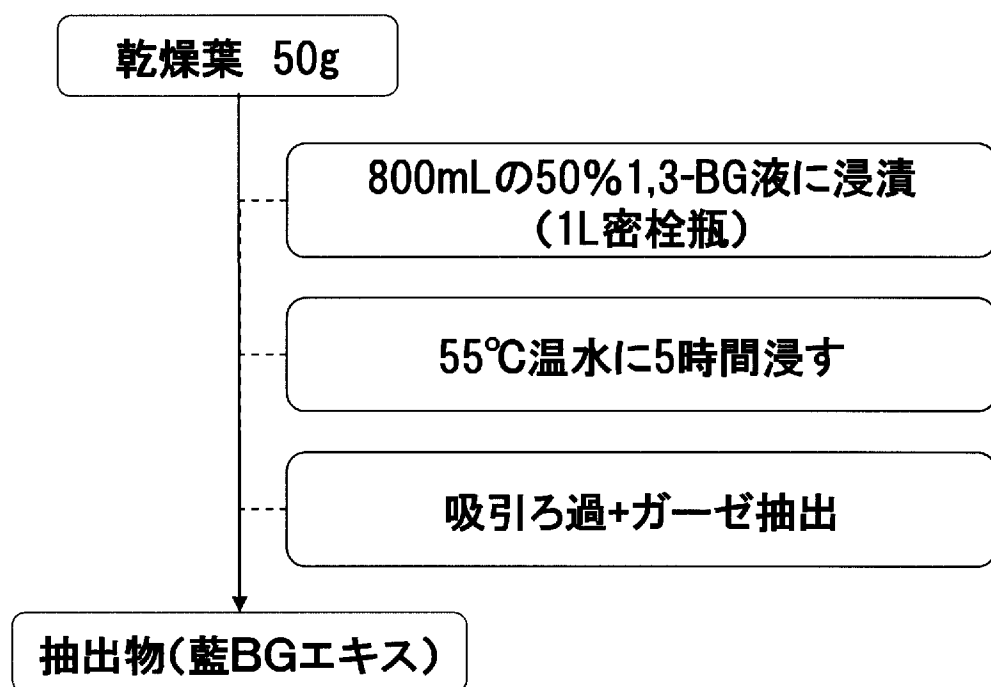
請求の範囲

- [請求項1] 藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物を、濾過して濾液を回収する工程を含む、トリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。
- [請求項2] 前記混合物が、さらに水を含む、請求項1に記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。
- [請求項3] 多価アルコールが、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、イソプレングリコール、及びペンチレングリコールからなる群より選択される少なくとも1種のグリコールである、請求項1又は2に記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。
- [請求項4] 藍葉のエタノール抽出濃縮物を含水多価アルコールと混合する工程、及び
得られた藍葉のエタノール抽出濃縮物及び多価アルコールを含む混合物を、濾過して濾液を回収する工程を含む、請求項1～3のいずれかに記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。
- [請求項5] 前記藍葉が、乾燥藍葉である、請求項1～4のいずれかに記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。
- [請求項6] 前記藍葉が、天日乾燥藍葉である、請求項5に記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法。
- [請求項7] 請求項1～6のいずれかに記載のトリプタンスリン含有藍葉エキス製造方法で製造されたトリプタンスリン含有藍葉エキス。
- [請求項8] 請求項7に記載のトリプタンスリン含有藍葉エキスを含む皮膚外用組成物。

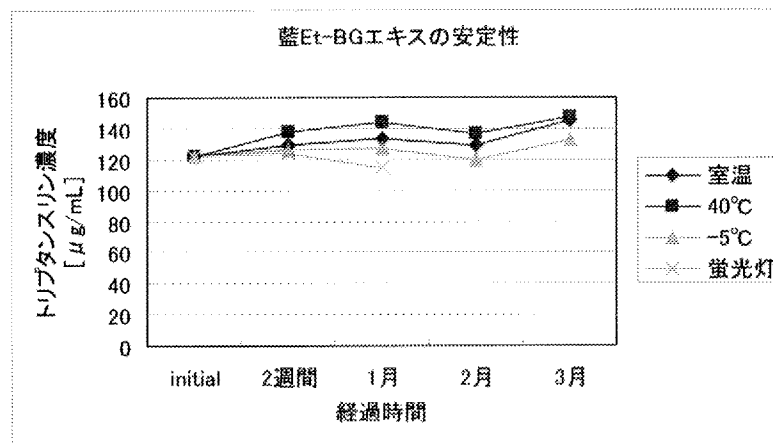
[図1]



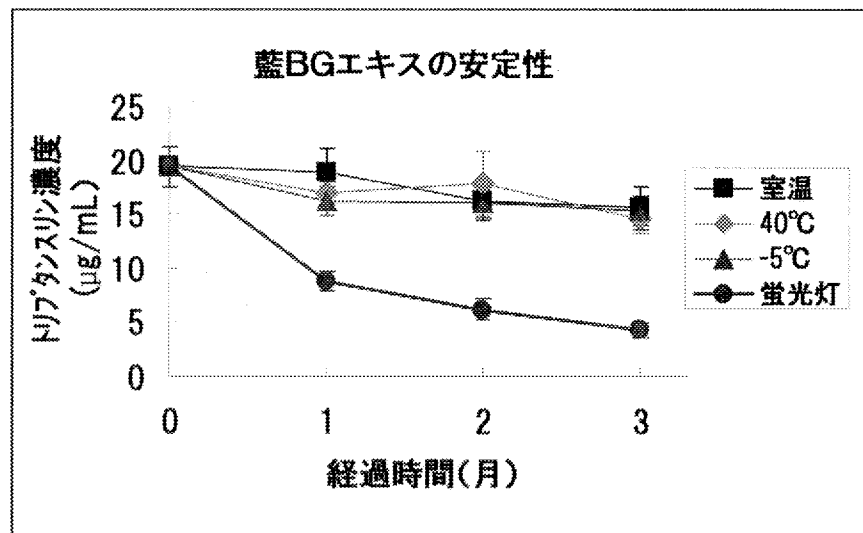
[図2]



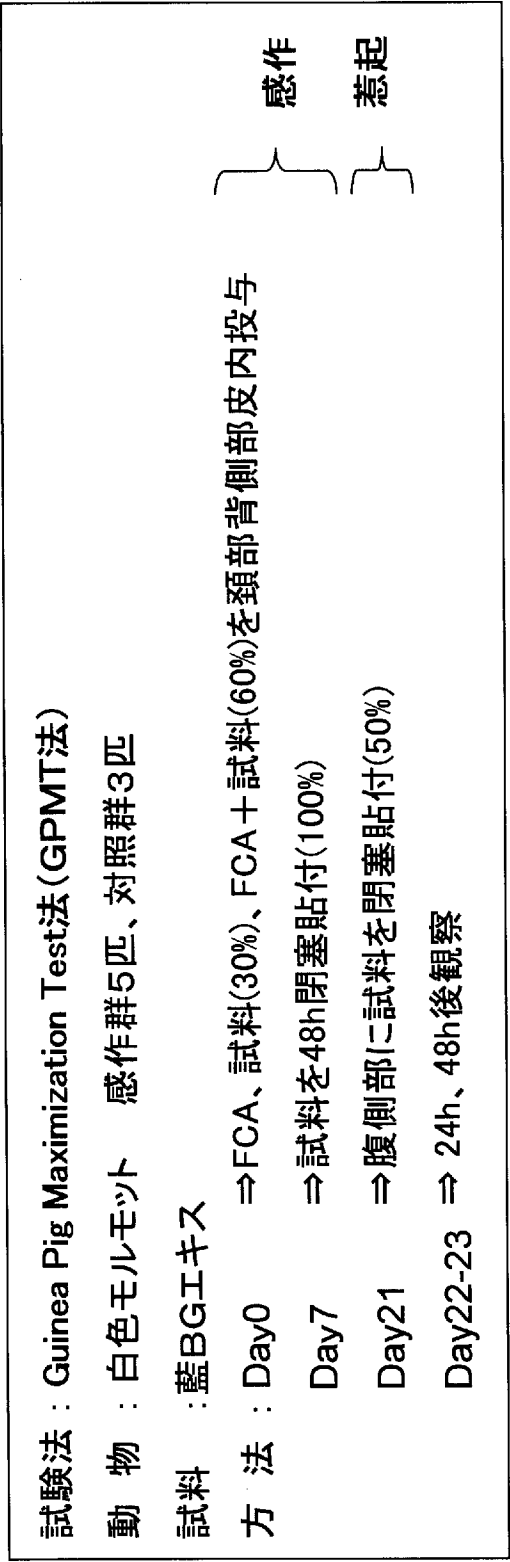
[図3]



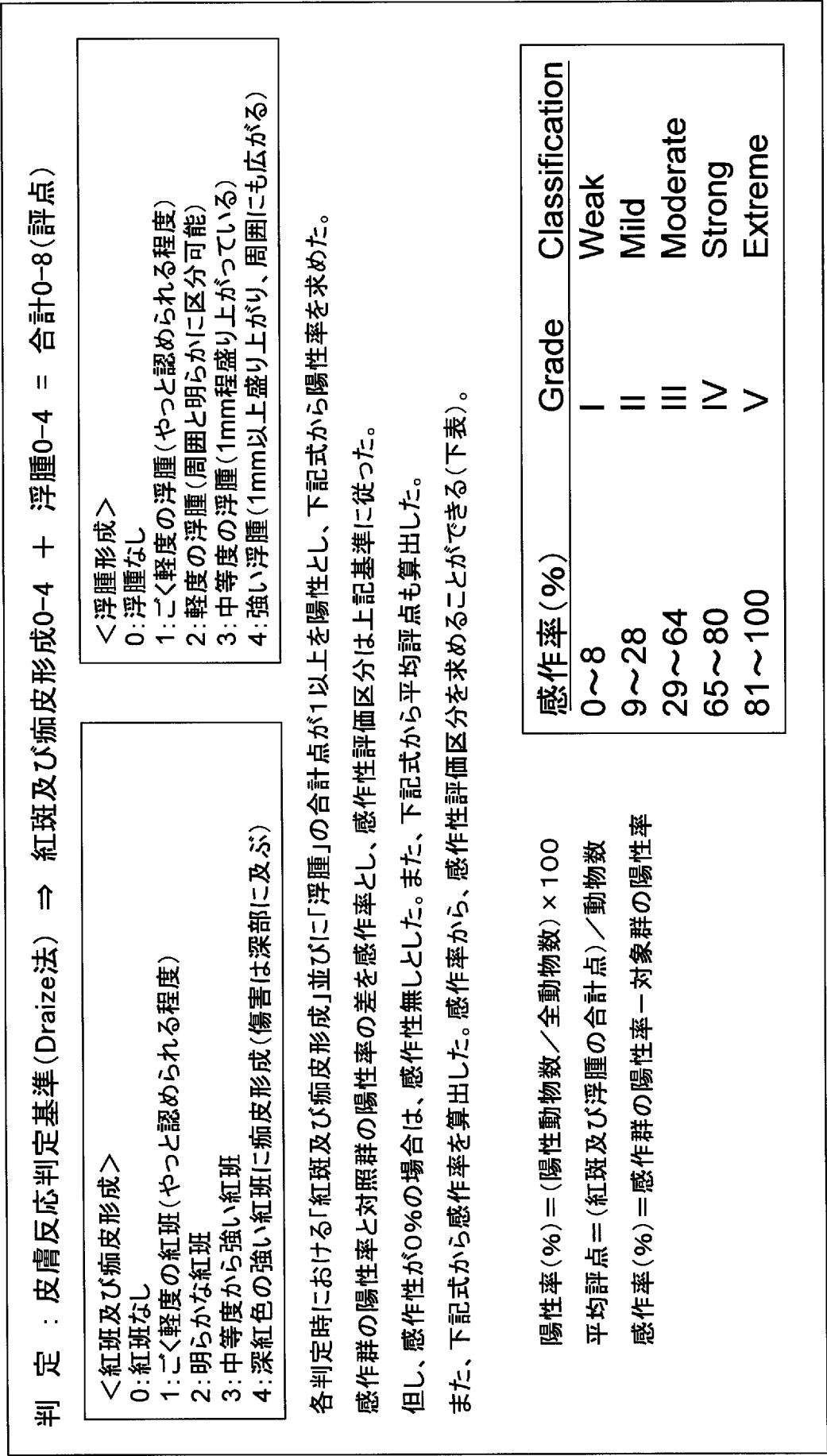
[図4]



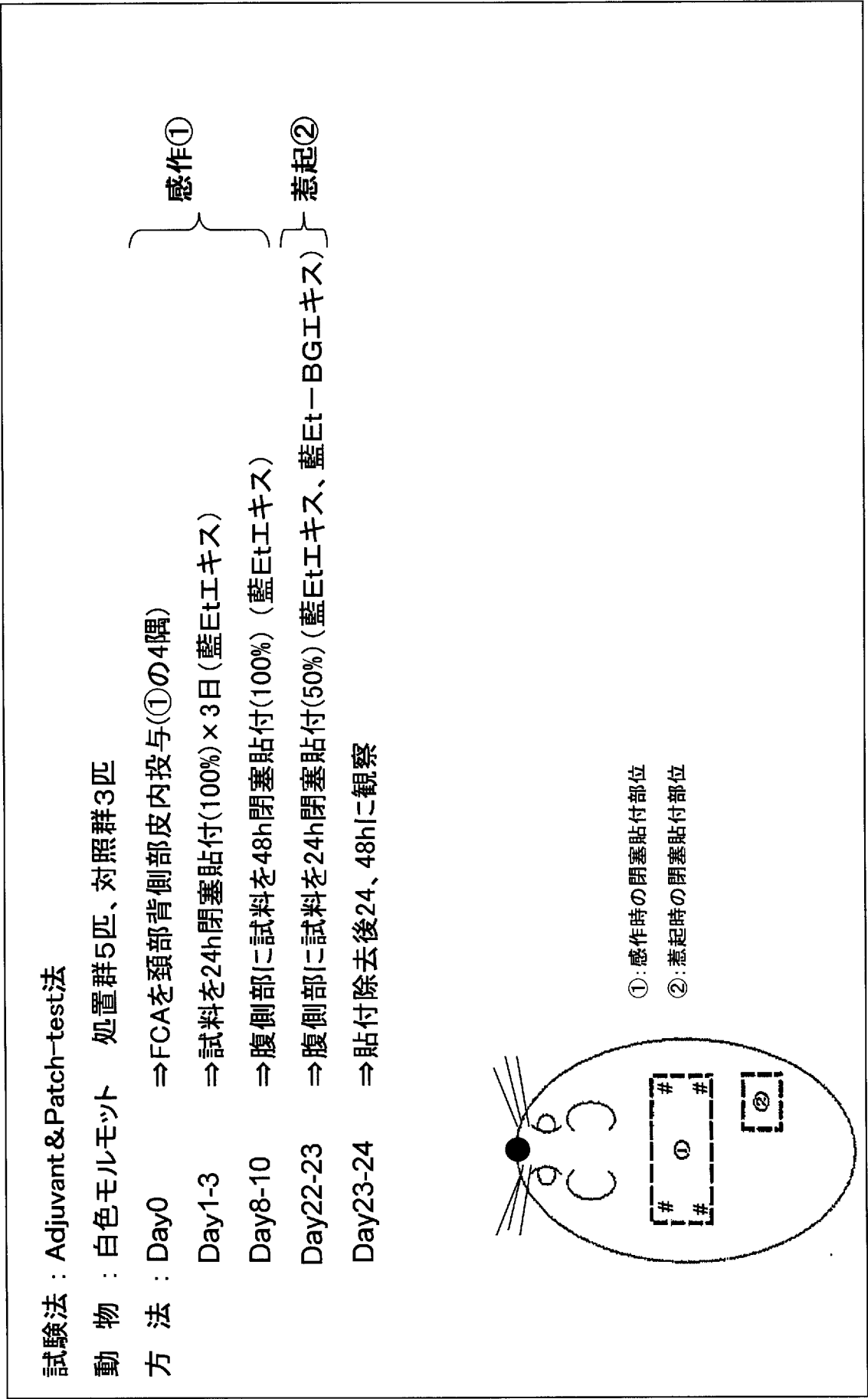
[図5]



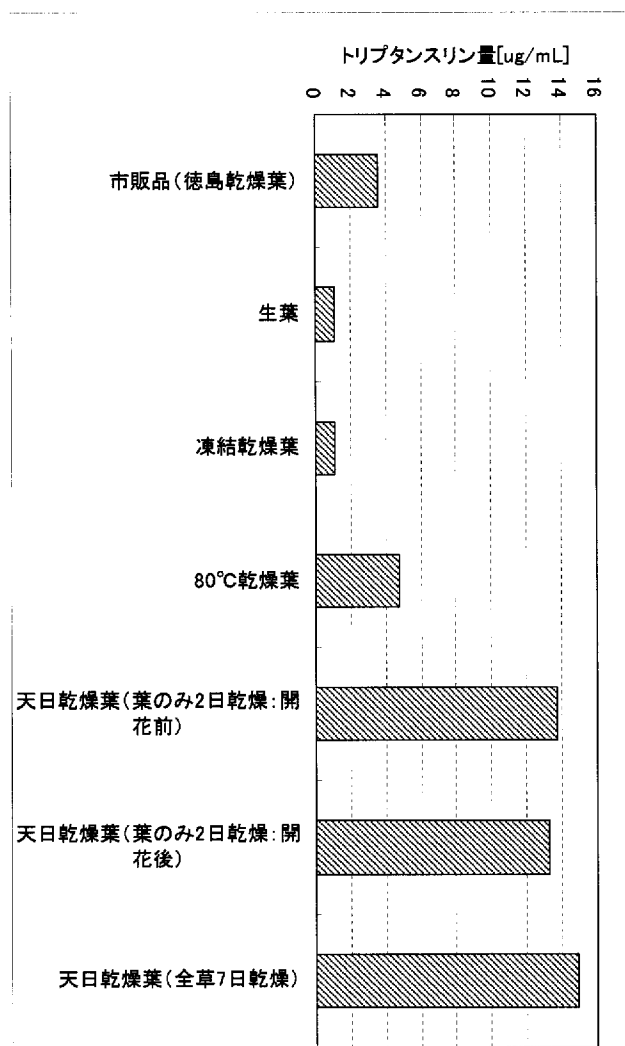
[図6]



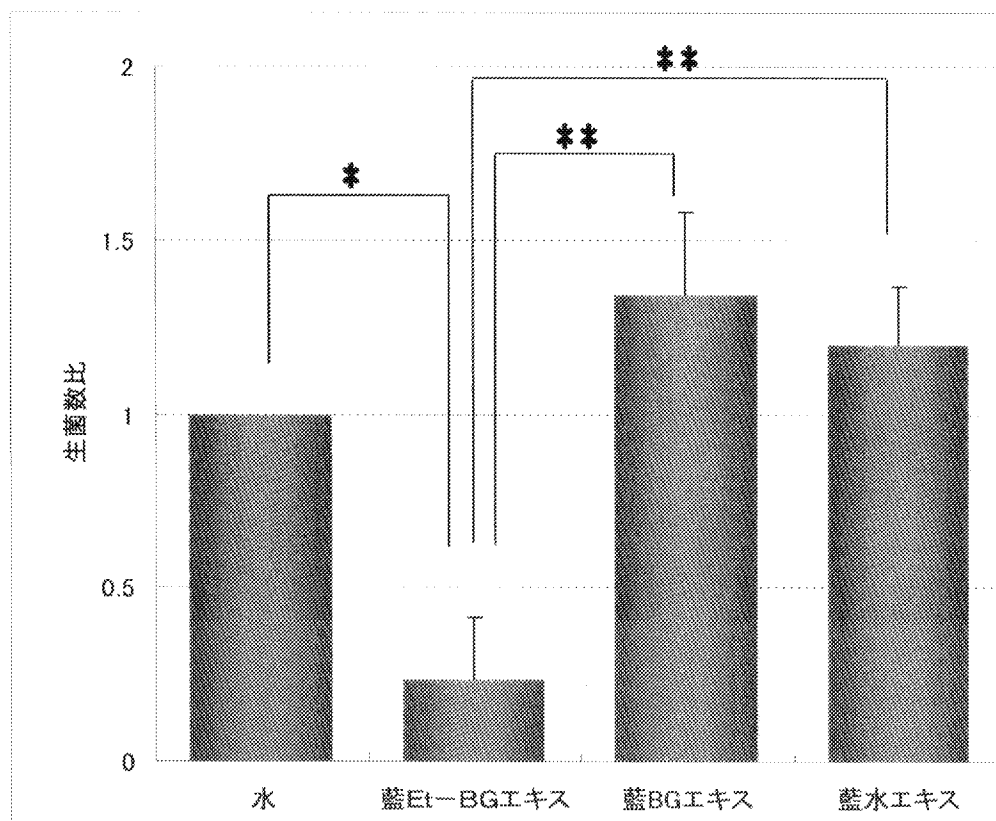
[図7]



[図8]



[図9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/056598

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/00(2006.01)i, A61K8/97(2006.01)i, A61K31/502(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P31/10(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i, A61Q17/04(2006.01)i, A61Q19/00(2006.01)i, A61Q19/10(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)

A61K36/00, A61K8/97, A61K31/502, A61P17/00, A61P31/10, A61P37/08, A61Q17/04, A61Q19/00, A61Q19/10

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	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

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

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN),
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP 2005-281253 A (NOF Corp.), 13 October 2005 (13.10.2005), claims; paragraph [0017]; examples 3 to 8 (Family: none)	7-8 1-6
X A	JP 2001-31581 A (Hayashibara Biochemical Labs., Inc.), 06 February 2001 (06.02.2001), claims; examples & US 2002/0068094 A1 & EP 987027 A1 & DE 69919287 D & DE 69919287 T & TW 248817 B & KR 10-2000-0006570 A	7-8 1-6



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
01 June, 2012 (01.06.12)

Date of mailing of the international search report
12 June, 2012 (12.06.12)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K36/00(2006.01)i, A61K8/97(2006.01)i, A61K31/502(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i,
A61P31/10(2006.01)i, A61P37/08(2006.01)i, A61Q17/04(2006.01)i, A61Q19/00(2006.01)i,
A61Q19/10(2006.01)i

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 (I P C))

Int.Cl. A61K36/00, A61K8/97, A61K31/502, A61P17/00, A61P31/10, A61P37/08, A61Q17/04, A61Q19/00, A61Q19/10

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 2 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 2 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 2 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)

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTplus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

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 請求項の番号
X A	JP 2005-281253 A (日本油脂株式会社) 2005. 10. 13, 【特許請求の範囲】, 【0017】, 実施例 3-8 (ファミリーなし)	7-8 1-6
X A	JP 2001-31581 A (株式会社林原生物化学研究所) 2001. 02. 06, 【特許請求の範囲】, 実施例 & US 2002/0068094 A1 & EP 987027 A1 & DE 69919287 D & DE 69919287 T & TW 248817 B & KR 10-2000-0006570 A	7-8 1-6

☐ 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

0 1 . 0 6 . 2 0 1 2

国際調査報告の発送日

1 2 . 0 6 . 2 0 1 2

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
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)

石井 裕美子

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

3 4 0 2