

(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 8 月 2 日(02.08.2012)



(10) 国際公開番号
WO 2012/101747 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 36/28 (2006.01) A61P 7/10 (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01) A61P 9/14 (2006.01)
A61K 36/00 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61K 36/18 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2011/051246

(22) 国際出願日: 2011 年 1 月 24 日(24.01.2011)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 株式会社資生堂(SHISEIDO COMPANY, LTD.) [JP/JP]; 〒1048010 東京都中央区銀座 7 丁目 5 番 5 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): 加治屋 健太郎(KAJIYA, Kentaro) [JP/JP]; 〒2368643 神奈川県横浜市金沢区福浦 2-1-2-1 株式会社資生堂 リサーチセンター(金沢八景)内 Kanagawa (JP). 山西 治代(YAMANISHI, Haruyo) [JP/JP]; 〒2248558 神奈川県横浜市都筑区早渕 2-2-1 株式会社資生堂 リサーチセンター(新横浜)内 Kanagawa (JP). 中野 祐輔(NAKANO, Yusuke) [JP/JP]; 〒2248558 神奈川県横浜市都筑区早渕 2

- 2 - 1 株式会社資生堂 リサーチセンター
(新横浜)内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 青木 篤, 外(AOKI, Atsushi et al.); 〒1058423 東京都港区虎ノ門三丁目 5 番 1 号 虎ノ門 3 7 森ビル青和特許法律事務所 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, 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, RO, RS, RU, 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.

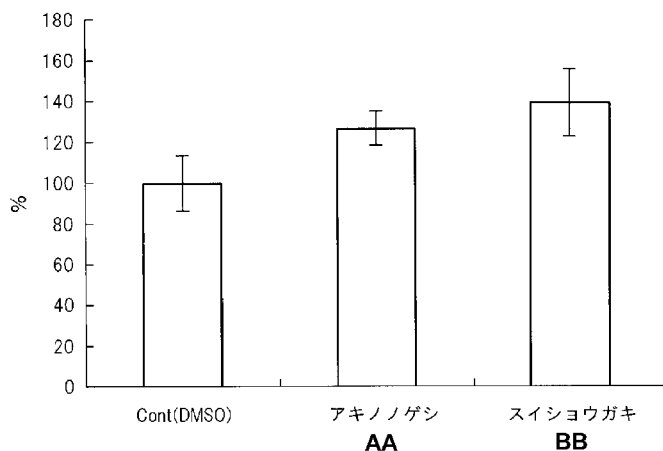
(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: Tie2 ACTIVATOR, AGENT FOR MATURING, NORMALIZING OR STABILIZING BLOOD VESSELS, AGENT FOR STABILIZING LYMPHATIC VESSELS, PREPARATION FOR PREVENTING AND REDUCING WRINKLES, AND PREPARATION FOR REDUCING AND PREVENTING SWELLING

(54) 発明の名称: Tie2 活性化剤、血管の成熟化、正常化又は安定化剤、リンパ管安定化剤並びにしわ防止・改善剤及びむくみ改善・予防剤

[図1]



AA *Lactuca indica*
BB *Chrysophyllum cainito* Linn.

(57) Abstract: Provided are a Tie2 activator, an agent for maturing, normalizing or stabilizing blood vessels and an agent for stabilizing lymphatic vessels, said agents comprising an extract of *Lactuca indica* and/or *Chrysophyllum cainito* Linn. Also provided are a preparation for preventing and reducing wrinkles and a preparation for reducing and preventing swelling, said preparations being characterized by containing said agent(s).

(57) 要約: 本発明は、アキノノゲシ (*Lactuca indica*) 及び/又はスイショウガキ (*Chrysophyllum cainito* Linn.) の抽出物から成る Tie2 活性化剤、血管の成熟化、正常化若しくは安定化剤、リンパ管安定化剤、並びにこれらの剤を配合することを特徴とするしわ防止・改善剤及びむくみ改善・予防剤を提供する。



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

Tie2活性化剤、血管の成熟化、正常化又は安定化剤、リンパ管安定化剤並びにしわ防止・改善剤及びむくみ改善・予防剤

技術分野

[0001] 本発明は、アキノノゲシ及び／又はスイショウガキの抽出物から成る新規なTie2 (Tyrosine Kinase with Ig and EGF Homology Domain 2) 活性化剤 (Tie2リン酸化剤)、血管の成熟化、正常化若しくは安定化剤、リンパ管安定化剤、並びにしわ防止・改善剤及びむくみ改善・予防剤を提供する。

背景技術

[0002] 血管は血管内皮細胞に対して、血管内皮細胞の外腔面から、血管壁細胞と総称される血管平滑筋細胞やペリサイトが、細胞外マトリックスを介して、あるいは直接的に接着している。血管径の大きさによっては内皮細胞と壁細胞の接着する比率が異なり、大血管系では、1層の内皮細胞に、複数層の壁細胞が裏打ちしており、中、小血管では、内皮細胞1細胞に壁細胞が1細胞裏打ちするものが多く、また、さらに径の細い血管では、1個の壁細胞が複数の内皮細胞に接着している。このように、壁細胞が血管内皮細胞に対し裏打ちすることは血管の構造的な「成熟化」過程にとって重要である。また、血管内皮細胞同士の接着により、血管内環境因子（細胞および液性因子）が容易には血管外に漏出しないような内皮細胞間の接着斑を形成することが、機能的な血管の「成熟化」過程にとって重要である。さらに、組織の酸素や栄養分の需要に応じて、とくにそれらが不足する際には、血管は管腔を拡大化させることで血流を増加させ、酸素、養分を組織に十分に行き渡らせるように調節する。つまり、血管内皮細胞同士が接着斑を形成することで透過性を制御し、血管内皮細胞が壁細胞の裏打ちを伴うことにより構造的安定化させ、血管腔を大中小に制御していく過程を、「血管成熟化」と定義する。

[0003] また、種々の病態では、構造の乱れた血管が構築され、内皮細胞同士の接

着が抑制されたり、壁細胞の内皮細胞への接着が欠損した未熟な血管が形成されている。これらが無秩序な血管透過性の亢進を招くことで、組織内と血管内の液性因子や細胞の交通が異常となる。透過性が亢進すれば組織浮腫が生じ、組織の機能不全の原因となり、また炎症細胞の浸潤が無秩序に生じることで炎症を招く。さらに壁細胞は既存の血管からの血管の発芽を抑制していることから、壁細胞の伴わない血管からは血管の発芽が過剰となり、無秩序な血管の発芽が誘導され病態の悪化をもたらす。このような現象は、糖尿病性網膜症や腫瘍、炎症に代表される病態で観察される。つまり、血管透過性の破たんした血管や血管の無秩序な増生をまねくような異常な血管を、内皮細胞同士の接着をたかめ、壁細胞の内皮細胞への裏打ちを促進することにより、血管を正常な状態にすることを「血管正常化」と定義する。また、上記のような異常な血管は、糖尿病、高脂血症、高血圧などにより、血流内外環境因子の変化が内皮細胞や壁細胞に障害（細胞死など）を与えたり、がんや炎症により血管新生促進因子の過度の産生上昇が引き金になって生じる。このような病態が発生した際に、既存の血管に対する障害を抑制し、内皮細胞同士の解離を抑制したり、内皮細胞と壁細胞の解離を抑制することを「血管安定化」と定義する。また、この安定化には内皮細胞の細胞死を抑制する機構も含まれる。

- [0004] 血管新生とは既存の血管から新たな血管のネットワークが形成される現象であり、腫瘍、慢性関節リウマチ、糖尿病網膜症、高脂血症、高血圧などの血管病変を主体とした疾患と深く関わっている。VEGF (vascular endothelial growth factor: 血管内皮細胞増殖因子) が分子クローニングされたのを皮切りに血管形成に特異的に作用する因子としてVEGFファミリーとアンジオポエチン (angiopoietin; Ang) ファミリーの分子が次々に同定されてきた。VEGFとその受容体は脈管形成とよばれる血管の初期発生からその後の血管新生に至るまで非常に広い範囲の血管形成に関与する。一方、Angは脈管形成後、血管内皮細胞による発芽、分枝、嵌入、退縮などの細胞現象を伴った管腔形成において機能する。Angは血管内皮細胞に発現する受容体型チロシンキナー

ゼTie-2を介し、血管内皮細胞と、周皮細胞（ペリサイト）や血管平滑筋細胞のような血管壁細胞との接着を制御し、血管の構造的安定化に機能している（非特許文献1：実験医学 Vol. 20, No. 8（2002）pp. 52-57）。

[0005] これまでにAng-1～4までの4つのアイソフォームが知られ、Ang-1, Ang-2はヒト、マウスいずれにも存在するが、Ang-3はマウス、Ang-4はヒトに存在する。壁細胞から分泌されたAng-1, -4はTie-2を刺激し細胞内チロシンキナーゼドメインの自己リン酸化を惹起し、インテグリンの活性化、焦点接着キナーゼ（focal adhesion kinase; FAK）の活性化、PI3K/Akt（phosphatidylinositol-3-kinase; PI3K, serine-threonine kinase: Akt）の活性化を伴い、内皮細胞と壁細胞の接着を誘導する。正酸素状態では内皮細胞は壁細胞が恒常的に分泌するAng-1, -4により内皮細胞-壁細胞間の接着が維持されているが、局所的に低酸素状態が生じると、Ang-1, -4のアンタゴニストであるAng-2, -3の産生が高まり、Tie2の活性化を一時的に抑制し、内皮細胞とそれを裏打ちした壁細胞の接着が抑制される。そして壁細胞の解離により内皮細胞は増殖し発芽的血管新生を開始し、新しい血管網の形成に至る。Tie2の活性化は内皮細胞と壁細胞の接着を誘導することで、血管構造の安定化に寄与し、また、内皮細胞同士の接着を促進して血管透過性を制御する。また、Tie2の活性化は、内皮細胞の細胞死を抑制することも知られていることから（非特許文献2：Cho CH, Kammerer RA, Lee HJ, Yasunaga K, Kim KT, Choi HH, Kim W, Kim SH, Park SK, Lee GM, Koh GY. Designed angiopoietin-1 variant, C OMP-Ang1, protects against radiation-induced endothelial cell apoptosis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Apr 13;101(15):5553-8）、種々の細胞内外の血管構造を破たんさせる環境因子に対しては、Tie2の活性化を誘導して、血管の不安定化を抑制して、血管を安定化および正常化させることが可能である。また、血管再生医療において、血管内皮細胞によって構築された血管においては、Tie2の活性化を誘導することにより、内皮細胞と壁細胞の接着を誘導して血管の成熟化が可能である。また、腫瘍や糖尿病性網膜症などで観察される、壁細胞が内皮細胞に接着しないことによる無秩序な血管

が増生するような疾患では、Tie2の活性化により、壁細胞を内皮細胞に接合させ、血管を正常化させることが可能である。また文献によれば（非特許文献3：Thurston G, Suri C, Smith K, McClain J, Sato TN, Yancopoulos GD, McDonald DM. Leakage-resistant blood vessels in mice transgenically overexpressing angiopoietin-1. *Science*. 1999 Dec 24;286(5449):2511-4）、Tie2の活性化は、血管腔を拡大化することが報告されており、血管狭小化あるいは血管拡大化の抑制が原因となって生じる虚血性疾患においてはTie2の活性化により、血管腔を拡大化して病態の改善を図ることが可能である。

[0006] また最近ではAngの構造上の特徴であるcoiled-coiledドメインとfibrinogen-likeドメインを有する複数の分子が発見されている。これらはいずれもTie-1受容体、Tie-2受容体に結合能を示さないため、既存のAngファミリーとは異なる分子群とみなされ、アングリオポエチン様因子（Angiopoietin-like protein; Angptl）と命名され、Angptl-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7が報告されている。いずれのAngptlも受容体は現時点では同定されていないオーファンリガンドであるが、これらにも多様な作用を示すことが期待される。

[0007] 血管内皮細胞以外ではTie2の活性化は細胞の休眠状態を誘導することが知られている。これまでの報告によると、造血幹細胞上のTie2の活性化が造血幹細胞の休眠を誘導することが報告されている（非特許文献4：Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, Ito K, Koh GY, Suda T. Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell*. 2004 Jul 23;118(2):149-61）。つまり、Tie2の活性化を誘導することで、造血幹細胞の試験管内での生存を長期維持できることが可能となる。また、これまでの報告によれば、Tie2の活性化がインテグリンなどの接着因子の活性化により、細胞外マトリックスなどへの細胞の接着を誘導することが知られている（非特許文献5：Takakura N, Huang XL, Naruse T, Hamaguchi I, Dumont DJ, Yancopoulos GD, Suda T. Critical role of the TIE2 endothelial cell receptor in the development of definitive hematopoiesis. *Immunity*. 1998 Nov;9(5):677-86）。こ

のような細胞接着の誘導により、Tie2の活性化によって造血幹細胞は足場依存的な生存維持が生体内外で誘導可能となると考えられる。さらに、近年の報告によると、がんの組織中に存在する最も悪性度の高いとされ、がんの再発に関与するとされているがん幹細胞において、Tie2の発現が示唆されてきている（非特許文献6：Lee OH, Xu J, Fueyo J, Fuller GN, Aldape KD, Alonso MM, Piao Y, Liu TJ, Lang FF, Bekele BN, Gomez-Manzano C. Expression of the receptor tyrosine kinase Tie2 in neoplastic glial cells is associated with integrin beta1-dependent adhesion to the extracellular matrix. *Mol Cancer Res.* 2006 Dec;4(12):915-26）。Tie2の活性化が、造血幹細胞の細胞周期を休眠状態に陥らせることが可能なように、がん幹細胞に発現するTie2の活性化によっても、がん幹細胞の増殖を抑制することが可能である。

[0008] 血管系とは別個に組織液の排水路を形成するものがリンパ管である。リンパ管は、末梢組織で血管から漏出した間質液、タンパク質、脂肪、細胞などを血管系へと環流することにより血液量を一定に保ち、閉鎖循環系を維持する。皮膚に存在する毛細血管では、内皮細胞の外側を基底膜が取り囲み、さらに周皮細胞が付着している。一方、毛細リンパ管では、内皮細胞の外には基底膜がほとんどなく、周皮細胞の付着もない。この構造が、効率よく間質から体液や細胞を取り込むために役立っている（非特許文献7：実験医学 Vol. 24, No. 18 (2006), pp. 133-138）。これまでに、チロシナーゼ型受容体 VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor)-3 がリンパ管内皮細胞に特異的に発現することが示され、そのリガンドである VEGF-C および VEGF-D がリンパ管の新生を誘導することが示された。また、VEGF-A はリンパ管内皮細胞に発現する VEGFR2 を介してリンパ管新生を誘導していることが明らかになった（非特許文献8：Jussila L and Alitalo K, (2006) Vascular growth factors and lymphangiogenesis. *Physiol Rev* 82:673-700）。さらに、リンパ管の機能に関しては、以下の報告がある。VEGF-A を発現するアデノウイルスを感染させたマウス耳では、顕著なリンパ管新生が見られたが、構造的

な異常とともに、コロイダルカーボンに耳に注入した実験から、リンパ管の回収機能も顕著に阻害されていることが明らかになった（非特許文献 9 : Nagy et al., (2002) Vascular permeability factor/ vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis. J Exp Med 196: 1497-1506）。つまり、リンパ管の機能にはリンパ管内皮細胞が適切に配置して裏打ちされていることが必要であると考えられる。これをわれわれは「リンパ管の安定化」と定義する。

[0009] 皮膚に対する物理的あるいは化学的刺激は血管新生やVEGF-Aなどによる血管透過性を誘導して、この結果組織液の貯留と浮腫が生じる。一方で、これらの刺激は直接的にリンパ管の新生・拡張を誘導することも知られている。これまでに、紫外線炎症によってリンパ管の拡張が観測され、染料を注入した実験からリンパ管の機能が障害されていることが明らかになった。血管拡張に伴う水分の真皮内への漏出にともない、リンパ管は拡張して間質液を回収しようとしていると考えられる。しかしながら、過剰なリンパ管の拡張はその回収機能を逆に低下させ浮腫を遅延していると考えられた（非特許文献 10 : Kajiya K., Hirakawa S., and Detmar M., (2006) VEGF-A mediates UVB-induced impairment of lymphatic vessel function. Am J Pathol 169: 1496-1503）。つまり、組織間液の速やかな回収には、リンパ管の過剰な拡張を誘導しないような“リンパ管の安定化”が必要であると考えられる。

[0010] これまでに、リンパ管の機能不全が関与する病態としては、先天性リンパ浮腫とともに、フィラリア、手術、悪性腫瘍、炎症にともなう二次性のリンパ浮腫、が知られている。先天性のリンパ浮腫としてはMilroy病、Meige病、lymphedema-distichiasis症候群がある。Milroy病ではリンパ管の無形成や低形成が報告され、一方でlymphedema-distichiasis症候群ではリンパ管の過形成が報告されている。これらからも、リンパ管の新生だけではなくリンパ管の安定化によって回収機能を保持することが必要であると考えられる（非特許文献 11 : 実験医学 Vol. 24, No. 18 (2006), pp. 139-143）。

先行技術文献

非特許文献

- [0011] 非特許文献1：実験医学 Vol. 20, No. 8 (2002) pp. 52-57
- 非特許文献2：Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Apr 13;101(15):5553-8
- 非特許文献3：Science. 1999 Dec 24;286(5449):2511-4
- 非特許文献4：Cell. 2004 Jul 23;118(2):149-61
- 非特許文献5：Immunity. 1998 Nov;9(5):677-86
- 非特許文献6：Mol Cancer Res. 2006 Dec;4(12):915-26
- 非特許文献7：実験医学 Vol. 24, No. 18 (2006), pp. 133-138
- 非特許文献8：Physiol Rev 82:673-700
- 非特許文献9：J Exp Med 196: 1497-1506
- 非特許文献10：Am J Pathol 169: 1496-1503
- 非特許文献11：実験医学 Vol. 24, No. 18 (2006), pp. 139-143

発明の概要

- [0012] 本発明の課題は、新規なTie2活性化剤の提供、延いては、血管の成熟化、正常化、安定化剤、並びに、リンパ管の安定化を図り、リンパ管の回収機能を維持・亢進するのに有効な薬剤の提供にある。
- [0013] 紫外線Bの照射を受けた皮膚組織中での挙動について詳細に検討したところ、紫外線照射により内皮細胞と壁細胞の接着が抑制され、Tie2のリン酸化（活性化）が抑制された状態に誘導されること、そして、Tie2を強制発現した細胞に様々な生薬エキスを作用させて検討した実験から、ニッケイ（Cinnamomum）属植物由来のケイシ抽出物等にはTie2を活性化する作用があること、が見出されている（国際公開番号W02009/123211）。また、同特許公報では、紫外線Bの照射により光老化を惹起させたマウス皮膚にケイシ抽出物を塗布した結果、同抽出物を塗布することにより改善作用が具体的に示されている。このように、同抽出物はTie2リン酸化により内皮細胞—壁細胞間の接着を改善、促進し、安定な血管構造を形成し、延いてはUVB誘導性の皮膚損傷およびしわ形成を回復することが確認されている。従って、Tie2活性化が血管の成熟化、正常化又は安定化に寄与していることが明らかにされている。

[0014] 一方、Tie2とリンパ管との関係についてAng-1とリンパ管内皮細胞で発現しているTie2との関係に着目してAng-1の機能についてリンパドレナージュアッセイにより調べた結果、Ang-1はTie2の活性化を介してリンパ管の回収機能を促進することが明らかとされている（国際出願番号PCT/JP2009/061047）。従って、Tie2活性化は、血管の成熟化、正常化又は安定化のみならず、リンパ管の安定化に寄与しリンパの流れを促進することが明らかにされている。

[0015] 本発明者がTie2活性化能を有する様々な生薬エキスについてスクリーニングを行ったところ、調べたエキスのうちで、アキノノゲシ及びスイショウガキの抽出物がTie2活性を有することを見出し、以下の発明を完成するに至った：

（１）アキノノゲシ（*Lactuca indica*）及び／又はスイショウガキ（*Chrysophyllum cainito* Linn.）の抽出物から成る、Tie2活性化剤。

（２）前記抽出物がエタノール、メタノール、１，３－ブチレングリコール、水から選ばれる１種又は２種以上の溶媒による抽出物である、（１）のTie2活性化剤。

（３）アキノノゲシ又はスイショウガキの抽出物から成る、血管の成熟化、正常化又は安定化剤。

（４）（３）の血管の成熟化、正常化又は安定化剤、を含んで成るしわ防止・改善剤。

（５）（３）の血管の成熟化、正常化又は安定化剤を被験者に適用することからなる、しわを防止・改善するための美容学的方法。

（６）アキノノゲシ又はスイショウガキの抽出物から成る、リンパ管の安定化剤。

（７）（６）のリンパ管安定化剤を含んで成るむくみ改善・予防剤。

（８）（６）のリンパ管の安定化剤を被験者に適用することからなる、むくみを改善又は予防するための美容学的方法。

（９）血管の成熟化、正常化又は安定化のための方法であって、血管の成熟化、正常化又は安定化を必要とする被験者にアキノノゲシ又はスイショウガキ

キの抽出物から成るTie2活性化剤を適用することを含んでなる方法。

(10) 血管の成熟化、正常化又は安定化のための、アキノノゲシ又はスイショウガキの抽出物から成るTie2活性化剤の使用。

- [0016] 本発明によれば、アキノノゲシ及び／又はスイショウガキの抽出物はTie2を活性化し、それにより血管が成熟化、正常化又は安定化され、そして／あるいはリンパ管が安定化され、その結果しわ、むくみの改善などが図られる。

図面の簡単な説明

- [0017] [図1]アキノノゲシ又はスイショウガキの抽出物を添加した場合の、正常ヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）におけるリン酸化Tie2量の変化を示すグラフである。

発明を実施するための形態

- [0018] Tie2活性化剤

1つの観点において、本発明はアキノノゲシ及び／又はスイショウガキの抽出物から成るTie2活性化剤を提供する。

- [0019] アキノノゲシ (*Lactuca indica*) は、キク目 (Asterales)、キク科 (Asteraceae) の植物であり、スイショウガキ (*Chrysophyllum cainito* Linn.) は、カキノキ目 (Ebenales)、アカテツ科 (Sapotaceae) の植物である。これらの抽出物はいずれも、Tie2活性化、Tie2活性化に伴う血管の成熟化、正常化又は安定化、あるいはリンパ管安定化、延いては、しわ、むくみの改善等の効果を奏することは知られていない。

- [0020] 上記抽出物は常法により得ることができ、例えばその起源となる植物の一部又は全部を抽出溶媒とともに常温で又は加熱して浸漬または加熱還流した後、濾過し、濃縮して得ることができる。アキノノゲシの場合全草が、そしてスイショウガキの場合その葉又は枝が抽出部位として使用されうるが、抽出部位はこれらに限定されない。溶媒抽出の前に、抽出部位を乾燥させてもよい。抽出溶媒としては、通常抽出に用いられる溶媒であれば任意に用いることができ、例えば、有機溶媒、例えばメタノール、エタノール、プロピレ

ングリコール、1, 3-ブチレングリコール、グリセリン等のアルコール類、含水アルコール類、クロロホルム、ジクロルエタン、四塩化炭素、アセトン、酢酸エチル、ヘキサン等、あるいは水性溶媒、例えば水、生理食塩水、リン酸緩衝液、ホウ酸緩衝液等を、それぞれ単独で、あるいは組み合わせて用いることができる。好ましくは、溶媒としてメタノール、エタノール、1, 3-ブチレングリコール、水から選ばれる1種または2種以上が好適に使用される。

[0021] 上記溶媒で抽出して得られた抽出物をそのまま、あるいは例えば凍結乾燥などにより濃縮したエキスを使用でき、また必要であれば吸着法、例えばイオン交換樹脂を用いて不純物を除去したものや、ポーラスポリマー（例えばアンバーライトXAD-2）のカラムにて吸着させた後、所望の溶媒で溶出し、さらに濃縮したものも使用することができる。

[0022] Tie2の活性化とは、Tie2をリン酸化することでその活性体（リン酸化Tie2）に変換できる能力をいう。Tie2の活性化剤として、アンジオポエチン1 (Ang-1) などがTie2を活性化するものとして知られていた。

[0023] アキノノゲシ及び／又はスイショウガキの抽出物は、抽出物そのものをTie2活性化剤として使用することができる。また、濃度依存的にTie2活性化作用を示す。従って、このような観点からは、アキノノゲシ及び／又はスイショウガキの抽出物の配合量は、配合する組成物の剤形により異なるが、配合組成物全量中、乾燥物として0.0001～20.0質量%、好ましくは0.0001～10.0質量%である。

[0024] 血管の成熟化、正常化又は安定化剤

別の観点において、本発明は、アキノノゲシ及び／又はスイショウガキの抽出物から成る、血管の成熟化、正常化又は安定化剤を提供する。

[0025] 本発明に係る血管の成熟化、正常化又は安定化剤は、血管の構造変化を原因とする、種々の疾患および老化の予防、改善に有効な医薬品または化粧品として利用できる。本発明の血管の成熟化、正常化又は安定化剤は、血管の正常化、安定化を誘導することにより、種々の炎症性疾患や免疫疾患、成人

病など、例えば、種々の感染症、がん、関節リウマチ、痛風、高血圧、糖尿病、動脈硬化症、アトピー性皮膚炎などにおいて、血管新生や血管の破たんを伴う全身の病変部位の改善を図る医薬品として利用できる。また、血管透過性の抑制により、皮膚を含め臓器、器官、各種組織内の浮腫、たとえば炎症性疾患や免疫疾患、成人病による血管浮腫や、紫外線暴露や虫さされ、アレルギーなどによる血管透過性亢進による浮腫やかゆみなどの症状を改善する医薬品または化粧品として利用できる。さらに、Tie2リン酸化剤は、種々の要因によって誘導される内皮細胞の細胞死、たとえば炎症性疾患や免疫疾患、成人病など、例えば、種々の感染症、がん、関節リウマチ、痛風、高血圧、糖尿病、動脈硬化症、または放射線障害、種々の薬剤や紫外線による内皮細胞の細胞死を抑制して、血管の不安定化を抑制できる医薬品または化粧品として利用できる。本発明の血管の成熟化、正常化又は安定化剤は、血管成熟化や血管腔を拡大化することにより、外傷や縛そうなど創傷治癒の促進、血管再生医療における血管の成熟化、虚血性疾患、たとえば脳梗塞や心筋梗塞の改善剤として医薬品に利用でき、また、血流改善効果を利用して、腰痛症、凍傷、脱毛症などに対する内服および外用医薬品としても利用できる。脳血流の増大においては、痴呆症への応用も可能である。脱毛症に対しては、化粧品としての利用も可能である。また、がんにおいては、がん細胞の休眠を誘導する治療薬として、幹細胞においてはその生体内外での維持薬として利用が可能である。

[0026] 光老化とは、一般に日光に対する被曝が繰り返された結果として認められる皮膚の外見及び機能の変化を意味する。日光の構成要素である紫外線（UV）、特に中間UV（UVBと呼ばれる、波長290－320nm）が主として光老化を引き起こす。光老化を引き起こすのに必要なUVBの被曝量は現在のところ知られていない。しかしながら、紅斑や日焼けを引き起こすレベルでのUVBに対する繰り返しの被曝が、通常光老化に結びつく。臨床的には、光老化は肌荒れ、しわの形成、斑の着色、土色化、たるみの形成、毛細管拡張症の発症、ほくろの発生、紫斑病の発症、傷つき易くなる、萎縮、繊

維症的色素除去領域の発生、前悪性腫瘍及び悪性腫瘍の発症等として特定され得る。光老化は普通、顔、耳、頭、首、と手のような、日光に習慣的に曝される皮膚に起こる。皮膚における老化においては、皮膚障害や紫外線に対する暴露による光老化が主因となるが、本Tie2リン酸化剤は、光老化の原因となる血管障害を抑制することにより、光老化の改善に利用できる。

[0027] リンパ管安定化剤

別の観点において、本発明は、アキノノゲシ及び／又はスイショウガキの抽出物を含んで成る、リンパ管の安定化剤を提供する。

[0028] 本発明に係るリンパ管安定化剤はリンパ管の構造の不安定化を原因とするリンパ液の漏出による様々な皮膚疾患、例えば浮腫（むくみ）の治療・予防に有効な医薬品または化粧品として利用できる。浮腫には、例えば紫外線照射、フィラリア、手術、悪性腫瘍、炎症にともなう二次性のリンパ浮腫や、先天性リンパ浮腫、例えばMilroy病、Meige病、lymphedema-distichiasis症候群がある。

[0029] 本発明に係るTie2活性化剤、血管の成熟化、正常化又は安定化剤及びリンパ管安定化剤は、その使用目的に合わせて用量、用法、剤型を適宜決定することが可能である。例えば、本発明の血管の成熟化、正常化又は安定化剤及びリンパ管安定化剤の投与形態は特に制限されるものではなく、経口、非経口、外用等であってよいが、好ましくは外用剤、食品である。剤型としては、例えば軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、浴用剤等の外用剤、注射剤、点滴剤、若しくは坐剤等の非経口投与剤、又は錠剤、粉剤、カプセル剤、顆粒剤、エキス剤、シロップ剤等の経口投与剤、タブレット、ドリンク、クッキー等の食品に配合できる。

[0030] 本発明の血管の成熟化、正常化又は安定化剤及びリンパ管安定化剤中のアキノノゲシ及び／又はスイショウガキの抽出物の配合量は、用途に応じて適宜決定できるが、一般には配合する組成物全量中、植物抽出物の乾燥残分として0.0001～20.0質量%、好ましくは0.0001～10.0質量%である。

[0031] また、本発明の血管の成熟化、正常化又は安定化剤及びリンパ管安定化剤には、Tie2活性化剤以外に、例えば、通常の商品や医薬品に使用される賦形剤、防湿剤、防腐剤、強化剤、増粘剤、乳化剤、酸化防止剤、甘味料、酸味料、調味料、着色料、香料等、化粧品等に通常用いられる美白剤、保湿剤、油性成分、紫外線吸収剤、界面活性剤、増粘剤、アルコール類、粉末成分、色剤、水性成分、水、各種皮膚栄養剤等を必要に応じて適宜配合することができる。

[0032] さらに、本発明の血管の成熟化、正常化又は安定化剤あるいはリンパ管安定化剤を、しわ防止・改善剤又はむくみ改善・予防剤のような皮膚外用剤として使用する場合、皮膚外用剤に慣用の助剤、例えばエデト酸二ナトリウム、エデト酸三ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、メタリン酸ナトリウム、グルコン酸等の金属封鎖剤、カフェイン、タンニン、ベラパミル、トラネキサム酸およびその誘導体、甘草抽出物、グラブリジン、カリンの果実の熱水抽出物、各種生薬、酢酸トコフェロール、グリチルリチン酸およびその誘導体またはその塩等の薬剤、ビタミンC、アスコルビン酸リン酸マグネシウム、アスコルビン酸グルコシド、アルブチン、コウジ酸等の美白剤、グルコース、フルクトース、マンノース、ショ糖、トレハロース等の糖類、レチノイン酸、レチノール、酢酸レチノール、パルミチン酸レチノール等のビタミンA類なども適宜配合することができる。皮膚外用剤に配合される血管の成熟化、正常化又は安定化剤あるいはリンパ管安定化剤の量は、適宜決定することができるが、一般には配合する組成物の全量中、植物抽出物の乾燥残分として、0.0001～20.0質量%、好ましくは0.0001～10.0質量%である。

[0033] 美容方法

別の観点において、本発明は、血管の成熟化、正常化又は安定化剤を被験者に適用することからなる、しわを防止・改善するための美容学的方法、を提供する。本発明に係る美容方法は、小じわが形成されやすい顔面の皮膚、特に目尻、下瞼または口元等の皮膚に適用することができるが、これらの部

位に限定されない。

- [0034] 更に別の観点において、本発明は、リンパ管の安定化剤を被験者に適用することからなる、むくみを改善又は予防するための美容学的方法、を提供する。本発明に係る美容方法は、むくみや目袋の軽減・予防を目的とするものである。この美容学的方法は、例えば本発明に係るリンパ管安定化剤をむくみなどのある部位に適用し、そのまま放置するか又は例えばリンパ管の流れの方向に即してマッサージなどを施し、リンパ管液の流れを促進するなどして行うことができる。この方法の適用箇所には顔面、首、手足、など、全身のあらゆる部位が挙げられる。

実施例

- [0035] 次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。なお、本発明はこれにより限定されるものではない。

[0036] アキノノゲシのメタノール抽出物の調製

アキノノゲシの全草乾燥物9.52gを室温で1週間、メタノール80mlに浸漬した。ついで、ろ紙ろ過により得た抽出液よりメタノールを留去し、メタノール抽出物1.66gを得た（抽出率17.3%）。

[0037] スイショウガキのメタノール抽出物の調製

スイショウガキの葉、枝の乾燥物11.81gを室温で1週間、メタノール80mlに浸漬した。ついで、ろ紙ろ過により得た抽出液よりメタノールを留去し、メタノール抽出物1.68gを得た（抽出率14.3%）。

[0038] 血管内皮細胞のウェスタンブロッティング

Tie2を発現する正常ヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）は、三光純薬より購入した。増殖因子などの添加因子を加えたEBM-2（Cambrex; Verviers, Belgium）中でHUVECを培養した後、各種濃度（0.01%～0.0001質量%）の各生薬存在下でHUVEC内のタンパク質をPhosphosafe Extraction Reagent（Novagen, Madison, WI）で抽出した。コントロールとしてDMSOを添加したHUVECも調製した。

- [0039] 総タンパク量をRC DC Protein Assay Kit（BIO-RAD, Hercules, CA）にて

定量し、以下のようにウエスタンブロッティングして検出した。等量の総タンパク量を7.5%アクリルアミドゲル（NPU-7.5L, ATTO, Japan）でSDS-PAGEを行い、Tie2およびリン酸化Tie2のタンパク質の発現は、抗体（Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA）を用いて、ECL Kitにより発色した。結果を図1に示す。

[0040] 図1の結果より、コントロールのDMSOと比較して、アキノノゲシ又はスィショウガキのメタノール抽出物が、Ang-1と同様、顕著なTie2活性化作用を示すことが分かる。従って、これらの抽出物がいずれもTie2リン酸化効果を示し、血管成熟化、正常化、安定化に寄与し、その結果血管新生を抑制できることが示唆された。更に、Tie2活性化能を有するAng-1がリンパ管の回収機能を促進することから、これらの抽出物もAng-1と同様にリンパ管の安定化作用を奏するものと考えられる。

[0041] Tie2活性化剤の配合例

本発明によるTie2活性化剤を含む、錠剤、ソフトカプセル、顆粒、ドリンク、キャンディー、クッキーの配合例を以下に示す。これらの配合例は例示を目的として列挙されるものであって本発明の技術的範囲を限定することを意図するものではない。

[0042] 配合例1（錠剤）

（組成物）	配合量（mg／1錠中）
本発明のTie2活性化剤（植物抽出物の乾燥残分として）	360.5
乳糖	102.4
カルボキシメチルセルロースカルシウム	29.9
ヒドロキシプロピルセルロース	6.8
ステアリン酸マグネシウム	5.2
結晶セルロース	10.2

515.0

[0043] 配合例2（錠剤）

(組成物)	配合量 (mg / 1錠中)
ショ糖エステル	70
結晶セルロース	74
メチルセルロース	36
グリセリン	25
本発明のTie2活性化剤 (植物抽出物の乾燥残分として)	475
N-アセチルグルコサミン	200
ヒアルロン酸	150
ビタミンE	30
ビタミンB6	20
ビタミンB2	10
α -リポ酸	20
コエンザイムQ10	40
セラミド (コンニャク抽出物)	50
Ｌ-プロリン	300
	1500

[0044] 配合例3 (ソフトカプセル)

(組成物)	配合量 (mg / 1カプセル中)
食用大豆油	530
トチュウエキス	50
ニンジンエキス	50
本発明のTie2活性化剤 (植物抽出物の乾燥残分として)	100
ローヤルゼリー	50
マカ	30
GABA	30
ミツロウ	60
ゼラチン	375

グリセリン	1 2 0
グリセリン脂肪酸エステル	1 0 5

1 5 0 0

[0045] 配合例 4 (ソフトカプセル)

(組成物)	配合量 (m g / 1 カプセル中)
玄米胚芽油	6 5 9
本発明のTie2活性化剤 (植物抽出物の乾燥残分として)	5 0 0
レスベラトロール	1
ハス胚芽エキス	1 0 0
エラスチン	1 8 0
D N A	3 0
葉酸	3 0

1 5 0 0

[0046] 配合例 5 (顆粒)

(組成物)	配合量 (m g / 1 包中)
本発明のTie2活性化剤 (植物抽出物の乾燥残分として)	4 0 0
ビタミンC	1 0 0
大豆イソフラボン	2 5 0
還元乳糖	3 0 0
大豆オリゴ糖	3 6
エリスリトール	3 6
デキストリン	3 0
香料	2 4
クエン酸	2 4

1 2 0 0

[0047] 配合例 6 (ドリンク)

(組成物)	配合量 (g / 60 mL 中)
トチュウエキス	1.6
ニンジンエキス	1.6
本発明のTie2活性化剤 (植物抽出物の乾燥残分として)	1.6
還元麦芽糖水飴	28
エリスリトール	8
クエン酸	2
香料	1.3
N-アセチルグルコサミン	1
ヒアルロン酸Na	0.5
ビタミンE	0.3
ビタミンB6	0.2
ビタミンB2	0.1
α -リポ酸	0.2
コエンザイムQ10	1.2
セラミド (コンニャク抽出物)	0.4
Ｌ-プロリン	2
精製水	残余

 60

[0048] 配合例 7 (キャンディー)

(組成物)	配合量 (重量%)
砂糖	50
水飴	48
本発明のTie2活性化剤 (植物抽出物の乾燥残分として)	1
香料	1

100

[0049] 配合例 8 (クッキー)

(組成物)	配合量 (重量%)
薄力粉	45.0
バター	17.5
グラニュー糖	20.0
本発明のTie2活性化剤 (植物抽出物の乾燥残分として)	4.0
卵	12.5
香料	1.0

100.0

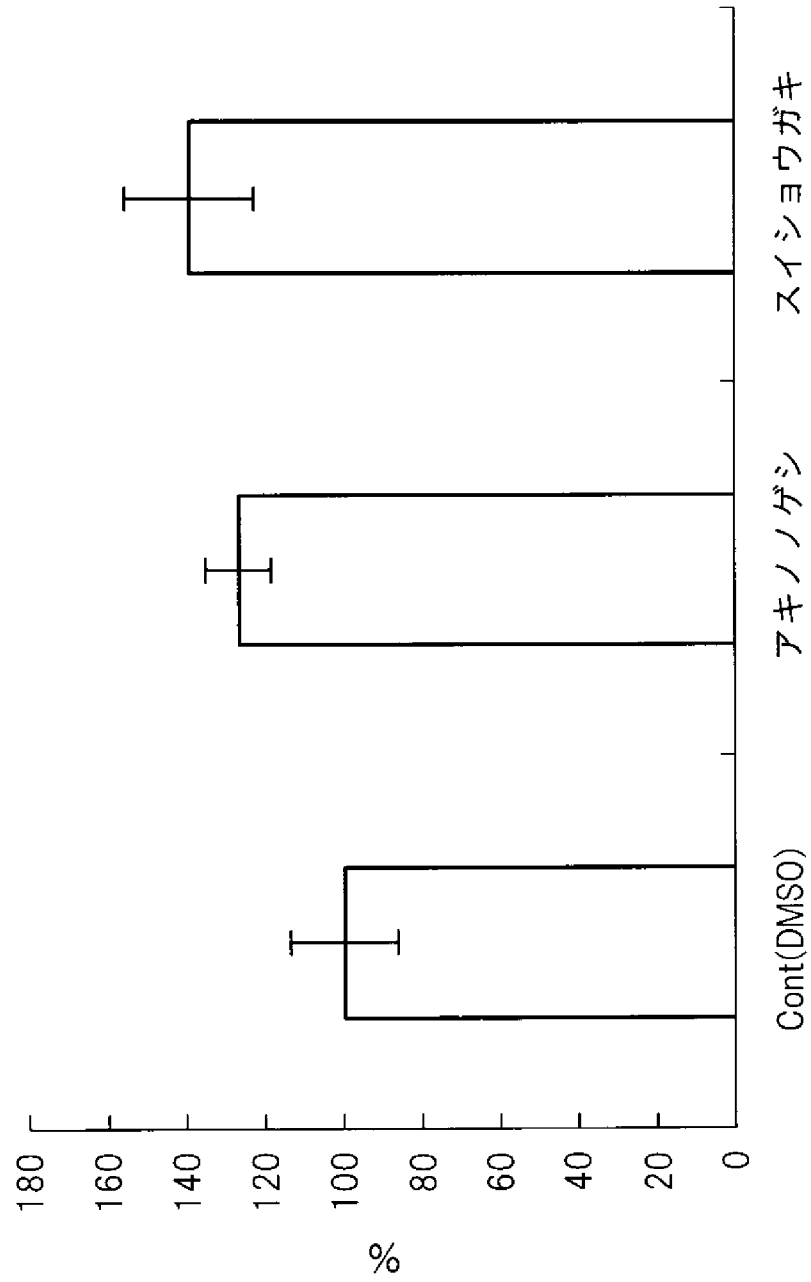
[0050] 配合例 8 (クッキー) の製造方法

バターを攪拌しながらグラニュー糖を徐々に添加し、卵、本発明のTie2活性化剤、及び香料を添加して攪拌した。十分に混合した後、均一に振るった薄力粉を加えて低速で攪拌し、塊状で冷蔵庫で寝かせた。その後、成型し170°C15分間焼成しクッキーとした。

請求の範囲

- [請求項1] アキノノゲシ (*Lactuca indica*) 及び／又はスイショウガキ (*Chrysophyllum cainito* Linn.) の抽出物から成る、Tie2活性化剤。
- [請求項2] 前記抽出物がエタノール、メタノール、1, 3-ブチレングリコールから選ばれる1種又は2種以上の溶媒による抽出物である、請求項1に記載のTie2活性化剤。
- [請求項3] アキノノゲシ (*Lactuca indica*) 及び／又はスイショウガキ (*Chrysophyllum cainito* Linn.) の抽出物から成る、血管の成熟化、正常化又は安定化剤。
- [請求項4] 請求項3に記載の血管の成熟化、正常化又は安定化剤、を含んで成るしわ防止・改善剤。
- [請求項5] 請求項3に記載の血管の成熟化、正常化又は安定化剤を被験者に適用することからなる、しわを防止・改善するための美容学的方法。
- [請求項6] アキノノゲシ (*Lactuca indica*) 及び／又はスイショウガキ (*Chrysophyllum cainito* Linn.) の抽出物から成る、リンパ管の安定化剤。
- [請求項7] 請求項6に記載のリンパ管安定化剤を含んで成るむくみ改善・予防剤。
- [請求項8] 請求項6に記載のリンパ管の安定化剤を被験者に適用することからなる、むくみを改善又は予防するための美容学的方法。

[図1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/051246

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/28(2006.01)i, A61K8/97(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61K36/18(2006.01)i, A61P7/10(2006.01)i, A61P9/14(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61Q19/08(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)

A61K36/28, A61K8/97, A61K36/00, A61K36/18, A61P7/10, A61P9/14, A61P17/00, A61Q19/08

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	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

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

CAPLUS/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 2002-308753 A (MITSUI CHEMICALS INC.), 23 October 2002 (23.10.2002), claims; examples (Family: none)	1-5 6, 7
X A	JP 2004-323406 A (SANKO BUSSAN KABUSHIKI KAISHA), 18 November 2004 (18.11.2004), claims; examples (Family: none)	1-5 6, 7
X A	KR 10-0897140 B1 (DERMALAB), 14 May 2009 (14.05.2009), claims; examples (Family: none)	1-5 6, 7



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
17 February, 2011 (17.02.11)

Date of mailing of the international search report
08 March, 2011 (08.03.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/051246

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WANG, S. et al, Antioxidant Properties and Phytochemical Characteristics of Extracts from <i>Lactuca indica</i> ., J Agric Food Chem, 2003, Vol.51, No.5, p.1506-1512	1-5 6,7
X A	KIM, K.H. et al, Isolation of quinic acid derivatives and flavonoids from the aerial parts of <i>Lactuca indica</i> L. and their hepatoprotective activity in vitro, Bioorg Med Chem Lett, 2007, Vol.17, No.24, p.6739-6743	1-5 6,7
X A	HOU, C. et al, Antidiabetic Dimeric Guianolides and a Lignan Glycoside from <i>Lactuca indica</i> , J Nat Prod, 2003, Vol.66, No.5, p.625-629	1-5 6,7
X A	CHEN, Y. et al, Induction of Apoptosis by the <i>Lactuca indica</i> L. in Human Leukemia Cell Line and Its Active Components, J Agric Food Chem, 2007, Vol.55, No.5, p.1743-1749	1-5 6,7
X A	KIM, M. et al, Serum cholesterol-lowering effect of triterpene acetate obtained from <i>Lactuca indica</i> , Saengyak Hakhoechi, 1997, Vol.28, No.1, p.21-25, (abstract) CA [online] AN 127:60467	1-5 6,7
X A	WO 2010/010248 A2 (CLARINS LAB), 28 January 2010 (28.01.2010), claims; examples & FR 2934159 A	1-5 6,7
X A	JP 2001-122732 A (ICHIMARU PHARCOS INC.), 08 May 2001 (08.05.2001), claims; examples (Family: none)	1-5 6,7
X A	JP 2009-114158 A (SHIROSAKI Miyuki), 28 May 2009 (28.05.2009), claims; examples (Family: none)	1-5 6,7
X A	EINBOND, L.S. et al, Anthocyanin antioxidants from edible fruits, Food Chemistry, 2004, Vol.84, No.1, p.23-28	1-5 6,7
X A	GITHIORI, J.B. et al, Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants, Veterinary Parasitology, 2006, Vol.139, No.4, p.308-320	1-5 6,7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/051246

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	FUJIMAKI, Y. et al, Macrofilaricidal and microfilaricidal effects of <i>Neurolaena lobata</i> , a Guatemalan medicinal plant, on <i>Brugia pahangi</i> , Journal of Helminthology, 2005, Vol.79, No.1, p.23-28	1-5 6, 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/051246

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 8
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although the wording "cosmological method" is appeared in claim 8, claim 8 pertains to method for treatment of the human body by therapy from the contents in [0028], (continued to extra sheet)
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/051246

Continuation of Box No.II-1 of continuation of first sheet(2)

and thus relates to a subject matter on which this International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K36/28(2006.01)i, A61K8/97(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61K36/18(2006.01)i,
A61P7/10(2006.01)i, A61P9/14(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61Q19/08(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. A61K36/28, A61K8/97, A61K36/00, A61K36/18, A61P7/10, A61P9/14, A61P17/00, A61Q19/08

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

C Aplus/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 2002-308753 A (MITSUI CHEMICALS INC) 2002. 10. 23, 特許請求の範囲及び実施例 (ファミリーなし)	1-5 6, 7
X A	JP 2004-323406 A (SANKO BUSSAN KK) 2004. 11. 18, 特許請求の範囲及び実施例 (ファミリーなし)	1-5 6, 7

☒ 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

1 7 . 0 2 . 2 0 1 1

国際調査報告の発送日

0 8 . 0 3 . 2 0 1 1

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)

原口 美和

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

4 C

3 8 4 4

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 請求項の番号
X A	KR 10-0897140 B1 (DERMALAB) 2009.05.14, 特許請求の範囲及び実施例 (ファミリーなし)	1-5 6, 7
X A	WANG, S. et al, Antioxidant Properties and Phytochemical Characteristics of Extracts from Lactuca indica., J Agric Food Chem, 2003, Vol.51, No.5, p.1506-1512	1-5 6, 7
X A	KIM, K. H. et al, Isolation of quinic acid derivatives and flavonoids from the aerial parts of Lactuca indica L. and their hepatoprotective activity in vitro, Bioorg Med Chem Lett, 2007, Vol.17, No.24, p.6739-6743	1-5 6, 7
X A	HOU, C. et al, Antidiabetic Dimeric Guianolides and a Lignan Glycoside from Lactuca indica, J Nat Prod, 2003, Vol.66, No.5, p.625-629	1-5 6, 7
X A	CHEN, Y. et al, Induction of Apoptosis by the Lactuca indica L. in Human Leukemia Cell Line and Its Active Components, J Agric Food Chem, 2007, Vol.55, No.5, p.1743-1749	1-5 6, 7
X A	KIM, M. et al, Serum cholesterol-lowering effect of triterpene acetate obtained from Lactuca indica, Saengyak Hakhoechi, 1997, Vol.28, No.1, p.21-25, (abstract) CA [online] AN 127:60467	1-5 6, 7
X A	WO 2010/010248 A2 (CLARINS LAB) 2010.01.28, 特許請求の範囲及び実施例 & FR 2934159 A	1-5 6, 7
X A	JP 2001-122732 A (ICHIMARU PHARCOS INC) 2001.05.08, 特許請求の範囲及び実施例 (ファミリーなし)	1-5 6, 7

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 請求項の番号
X A	JP 2009-114158 A (SHIROSAKI Miyuki) 2009.05.28, 特許請求の範囲及び実施例 (ファミリーなし)	1-5 6, 7
X A	EINBOND, L. S. et al, Anthocyanin antioxidants from edible fruits, Food Chemistry, 2004, Vol.84, No.1, p.23-28	1-5 6, 7
X A	GITHIORI, J. B. et al, Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants, Veterinary Parasitology, 2006, Vol.139, No.4, p.308-320	1-5 6, 7
X A	FUJIMAKI, Y. et al, Macrofilaricidal and microfilaricidal effects of Neurolaena lobata, a Guatemalan medicinal plant, on Brugia pahangi, Journal of Helminthology, 2005, Vol.79, No.1, p.23-28	1-5 6, 7

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 8 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項8には、「美容学的方法」と記載されているものの、[0028]の内容からみて、請求項8は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。