

(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 7 月 14 日 (14.07.2016)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2016/110276 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2016/070544
- (22) 国际申请日: 2016 年 1 月 11 日 (11.01.2016)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201510013057.X 2015 年 1 月 9 日 (09.01.2015) CN
- (71) 申请人: 捷通国际有限公司 (ACCESS BUSINESS GROUP INTERNATIONAL LLC) [US/US]; 美国密执安州亚达城东富顿街 7575 号, Michigan 49335-0001 (US)。
- (72) 发明人: 韩强 (HAN, Qiang); 中国上海市张江高科技园蔡伦路 720 弄 6 号, Shanghai 201203 (CN)。张翌 (ZHANG, Yi); 中国上海市张江高科技园蔡伦路 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蔡伦路 720 弄 6 号, Shanghai 201203 (CN)。

(74) 代理人: 北京市柳沈律师事务所 (LIU, SHEN & ASSOCIATES); 中国北京市海淀区彩和坊路 10 号 1 号楼 10 层, Beijing 100080 (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))。

(54) Title: TOPICAL COMPOSITION CONTAINING OBAKUNONE AND SKIN-WHITENING METHOD USING SAME

(54) 发明名称: 含有黄柏酮的局部组合物及用其美白皮肤的方法

(57) Abstract: A topical composition capable of suppressing melanin synthesis and tyrosinase activity comprises obakunone having a purity of approximately 75-100%, a cosmetically acceptable carrier, and one or more optional cosmetic ingredients and/or skin-whitening agents. In the composition, obakunone is present in an amount that can effectively reduce melanin synthesis and/or suppress tyrosinase activity. The composition is used for skin whitening.

(57) 摘要: 局部用组合物, 对黑色素合成和酪氨酸酶活性具有抑制作用, 其包括纯度约 75-100% 的黄柏酮、化妆品可接受的载体和任选的一种或多种化妆品成分和/或皮肤美白剂。在组合物中, 黄柏酮以能有效降低黑色素合成和/或抑制酪氨酸酶活性的量存在。该组合物用于美白皮肤。



WO 2016/110276 A1

含有黄柏酮的局部组合物及用其美白皮肤的方法

技术领域

- 5 描述了包括黄柏酮的组合物，及其在抑制皮肤中的酪氨酸酶活性和黑色素合成的方法以及皮肤美白的方法中的用途。

背景技术

- 10 肤色主要取决于皮肤中的黑色素的量。黑色素是皮肤中存在的棕黑色色素。由于该色素为深色，所以黑色素量越低，则导致肤色越浅，而其量越高，则导致肤色越深。黑色素是通过在黑素细胞中将氨基酸酪氨酸氧化成二羟基苯丙氨酸而形成的。此反应是由酪氨酸酶催化的。

- 15 过度的皮肤色素沉着的原因可能为：与紫外线无关的人体内激素异常，基因疾病等等；或者由于过度紫外辐射而引起的过度黑色素生成和黑色素分布不均。皮肤中有适量的黑色素具有保持皮肤健康和吸收紫外线等的积极作用。然而，过量的黑色素导致负面影响，如皮肤变黑和非均匀肤色。因此，许多科学家已经研究了黑色素生成的抑制。

- 20 由于酪氨酸酶在黑色素形成中的这一关键作用，开发有效的皮肤美白组合物的努力，已集中在抑制酪氨酸酶的功能和活性的试剂上。例如，已经提出了多种组合物，其中包括各种已知的酪氨酸酶抑制剂，尤其是，如氢醌，维生素 C 和它的衍生物，曲酸，熊果苷，谷胱甘肽，半胱氨酸和桑椹提取物。

用合成皮肤美白剂如氢醌或曲酸的一个问题是，它们可能引起皮肤刺激或急性皮炎。因此，越来越需要将天然源引入到组合物中，以求解决合成产品的某些不希望有的方面。

25

发明内容

- 30 一种实施方案涉及一种具有降低黑色素合成的活性的局部用组合物 (topical composition)，其基本上由以下物质组成：约 75-100% 纯的黄柏酮，其量能有效降低黑色素合成；化妆品可接受的载体；和任选，一种或多种化妆品成份，其选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂 (humectant)、增湿剂 (moisturizer)、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色

剂和香料；和/或皮肤美白剂，其选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂和它们的混合物。

另一实施方案涉及一种具有降低黑色素合成的活性的局部用组合物，其由以下物质组成：约 75-100% 纯的黄柏酮，其量能有效降低黑色素合成；化妆品可接受的载体；和任选，一种或多种化妆品成份，其选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料；和/或皮肤美白剂，其选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂和它们的混合物。

在所述的组合物中，黄柏酮提纯自至少一种选自以下的植物的提取物：该植物选自芸香科吴茱萸(*Evodiarutaecarpia*)，白癣皮(*Dictamnincortex*)，关黄柏(*Phellodendriamurensis cortex*)，芸香科植物佛手(*Citrisarcodactylisfructus*)，枳实(*Aurantiifrusctusimmaturus*)和芸香科植物香橼(*Citrifructus*)。所述的吴茱萸(*Evodia*) 提取物相对于吴茱萸碱(*evodiamine*)、吴茱萸次碱(*rutaecarpine*)和柠檬碱(*limonine*)中的至少一个的含量来标准化。在该组合物中，黄柏酮是约 99.99% 纯的黄柏酮活性物质。该组合物是制剂，选自霜剂、软膏、泡沫、洗剂、硬膏、片剂、颗粒剂或乳剂。在该组合物中，所述黄柏酮与所述皮肤美白剂之重量比为约 100:1 到约 1:100。在该组合物中，降低黑色素合成的有效量为约 10-1000 mg。在该组合物中，黄柏酮构成了所述组合物的约 1-99wt%。或者，黄柏酮构成了所述组合物的约 1-75wt%。或者，黄柏酮构成了所述组合物的约 50-70wt%。

又一实施方案涉及一种用于抑制酪氨酸酶的活性的局部用组合物，基本上由以下物质组成：至少约 90% 纯的黄柏酮，其量能有效抑制酪氨酸酶的活性；化妆品可接受的载体；和任选，一种或多种化妆品成份，其选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料；和/或皮肤美白剂，其选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂和它们的混合物。

另一个实施方案涉及一种用于抑制酪氨酸酶的活性的局部用组合物，其由以下物质组成：至少约 90% 纯的黄柏酮，其量能有效抑制酪氨酸酶的活性；化妆品可接受的载体；和任选，一种或多种化妆品成份，选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料；和/或皮肤美白剂，选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂

和它们的混合物。

在该组合物中，黄柏酮提纯自至少一种以下植物的提取物，该植物选自芸香科吴茱萸，白癣皮，关黄柏，芸香科植物佛手，枳实和芸香科植物香橼。吴茱萸提取物相对于吴茱萸碱、吴茱萸次碱、和柠檬碱中的至少一个的含量来标准化。在该组合物中，黄柏酮是约 99.99% 纯的黄柏酮活性物质。该组合物是制剂，其选自霜剂、软膏、泡沫、洗剂、硬膏、片剂、颗粒剂或乳剂。在该组合物中，所述黄柏酮与所述皮肤美白剂之重量比为约 100:1 到约 1:100。在该组合物中，抑制酪氨酸酶的活性的有效量为约 10-1000 mg。在该组合物中，黄柏酮构成了所述组合物的约 1-99wt%。或者，黄柏酮构成了所述组合物的约 1-75wt%。或者，黄柏酮构成了所述组合物的约 50-70wt%。

再一实施方案涉及一种局部用组合物，其包括化妆品可接受的载体和约 75-100% 纯的黄柏酮，其中黄柏酮构成了所述组合物的约 1-99wt%。

另一个实施方案涉及美白皮肤的方法，其包括将本文中所述的组合物局部施加到皮肤上，其中以足以明显美白皮肤的量和持续时间施加所述的组合物。

再一实施方案，在局部用皮肤美白化妆品组合物中，含有一种或多种选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料中的化妆品成份，改进在于有效量的美白皮肤的约 75-100% 纯的黄柏酮组成。

又一实施方案涉及本文所述的局部用组合物在制造具有降低黑色素合成的活性的美容剂中的用途。

进一步的实施方案涉及本文所述的局部用组合物在制造具有酪氨酸酶的酶抑制活性的美容剂中的用途。

附图说明

图 1 描绘了显示黄柏酮在 B16F10 细胞中的细胞毒性-CTG 的曲线图。

图 2 描绘了显示通过在 B16F10 细胞中的黄柏酮来抑制酪氨酸酶的酶活性的曲线图。

图 3 描绘的曲线图显示了通过在 B16F10 细胞中的黄柏酮来抑制黑色素合成。

具体实施方式

应当理解,本发明并不限于在本文中所述的具体组合物、方法或方案。此外,除非另有定义,本文中所使用的所有技术和科学术语具有的含义与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同。也应当理解,本文所使用的术语
5 仅用于描述特定实施方案的目的,而并非意在限制本发明的范围,本发明的范围仅由权利要求来限定。

本发明是基于以下令人惊讶的发现:黄柏酮作为皮肤美白剂具有积极作用且没有毒性(图1) 而且在黑色素产生上以及酪氨酸酶活性上提供了抑制效果。如图2中所示,酪氨酸酶的活性随着黄柏酮的剂量的增加而被抑制;如
10 图3中所示,黑色素产生随着黄柏酮剂量的增加逐渐降低或被抑制。

因此,描述了包括提纯的黄柏酮(其量足以实现黑色素生成的降低和/或酪氨酸酶活性的降低)的组合物,以及其在皮肤美白或增白的方法中的用途。

定义

15 术语“组合物”是指治疗、改善、促进、提高、管理、控制、保持、优化、改进、降低、抑制或防止与天然状态、生物过程或疾病或病症有关的特定状态的产品。术语组合物包括,但不限于,包括有效量的提纯的化合物、提取物、其至少一种组分或其混合物的药物(即药(drug)),非处方药(OTC),化妆品,食品,食品成份或膳食补充剂组合物。示例性的组合物包括霜剂、化妆
20 水(cosmetic lotion)、膜(pack)或粉,或作为乳剂、洗剂、搽剂泡沫、片剂、硬膏、颗粒剂或软膏。

本文中所使用的术语“提取物”是指固态、半流体或液体物质或制剂,其包括植物物质如浓缩形式的芸香科吴茱萸(*Juss.*) 的活性成份(一种或多种)。术语“提取物”的意图不仅包括通过使用溶剂(选自水,1至4个碳原子的低级醇如甲醇、乙醇、丁醇、等等,乙烯,丙酮,己烷,醚,氯仿,乙酸乙酯,
25 乙酸丁酯,二氯甲烷,N,N-二甲基甲酰胺(DMF),二甲基亚砷(DMSO),1,3-丁二醇,丙二醇和它们的组合)来从植物中制备的粗提取物,而且还包括一部分的在该溶剂中的粗提取物。只要提取方法能确保活性成份(一种或多种)的提取和保存,则任何提取方法都可以利用。

30 本文中所使用的与黄柏酮相连的术语“纯(即以重量计的纯度)”是指通过以物理方式将黄柏酮与剩余的植物提取物组分分离所制备的黄柏酮。各种

纯化方法是已知的并且能够用来获得纯黄柏酮。例如，使用的方法可以如分馏或亲和纯化。作为纯化方法的结果，黄柏酮可以是至少约 10% 纯（即至少约 10wt% 纯度）；或者，至少约 20% 纯；或者，至少约 30% 纯；或者，至少约 40% 纯；或者，至少约 50% 纯；或者，至少约 60% 纯；或者，至少约 70% 纯；或者，至少约 80% 纯；或者，至少约 90% 纯；或者，至少约 95% 纯；或者，至少约 99% 纯；而且优选约 75%-100% 纯。

本文中所使用的术语组合物、提取物、提取物混合物、提取物的组分和/或活性剂或成份的“有效量”或“治疗有效量”是指在剂量和持续时间上足以实现期望结果的有效的量。例如，“有效量”或“治疗有效量”是指：本发明的组合物、提取物、提取物混合物、提取物的组分和/或活性剂或成份的量，当其给药到受试者（例如，哺乳动物，如人）时，要足以在受试者中实现治疗如抑制黑色素合成（即黑色素生成）、抑制酪氨酸酶的活性、皮肤美白和/或增白、降低或减轻暗斑等等。构成“有效量”或“治疗有效治疗 (therapeutically effective treatment)”的本公开的组合物、提取物、提取物混合物、提取物的组分和/或活性剂或成份的量根据以下因素而变化：该活性剂或化合物、所治疗的病症和其严重程度，给药方式，治疗的持续时间或需治疗的受试者的年龄，不过也可以常规地通过本领域技术人员考虑他的自身知识和本公开来确定。

术语“药学可接受的”的意思是：药物、药剂、提取物或惰性成份，是适合于与人类和低等动物的组织接触的，且没有过多的毒性、不相容性、不稳定性、刺激性等等，其是与合理的利益/风险比相称的。

术语“给药 (administer)”、“给药 (administered)”、“给药 (administers)”和“给药 (administering)”定义为通过本领域中已知的途径将组合物提供给受试者，给药途径包括但不限于静脉内、动脉内、口服、肠外、口腔、局部、透皮、直肠、肌肉、皮下、骨内、透粘膜或腹膜内途径。在优选的实施方案中，组合物局部途径给药是合适的。

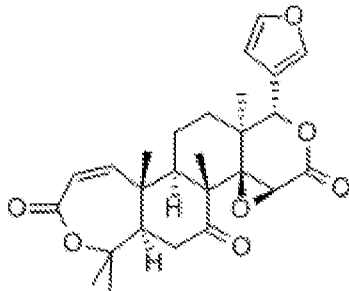
本文中所使用的术语“受试者”或“个体”包括哺乳动物，可以向其给药组合物。哺乳动物的非限制性例子包括人类、非人灵长类、啮齿动物（包括转基因和非转基因小鼠）或类似动物。在一些实施方案中，受试者是哺乳动物，而在一些实施方案中，受试者是人。

黄柏酮

芸香科吴茱萸 (*Evodiarutaecarpa*) BENTHAM (芸香科) 的果实可以用

EtOH 来提取,从而得到吴茱萸的提取物 (“吴茱萸提取物”),该吴茱萸的提取物可以用作黄柏酮化合物的来源,所述黄柏酮化合物在本发明的独特的组合物中是有用的。

黄柏酮($C_{26}H_{38}O_7$)的示例性结构显示如下:



5

商业上,黄柏酮可以获自各种来源,包括 ChemStrong Scientific Co., Ltd 或 Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd。此外,黄柏酮可以提纯自植物的提取物,包括的植物如:芸香科吴茱萸、白檫(*Dictamnus dasycarpus* Turcz.)(芸香科)的干燥根皮、黄柏(*Phellodendron amurense* Rupr.)(科:芸香科)的干燥树皮、黄皮树(*Phellodendron chinense* Schneid.)(科:芸香科)的干燥树皮、柑桔属物种金橘(*Fortunella margarita*)、卡西树(*Casimiroa edulis*)、佛手(*Citrus cordata* Fructus)、枳实(*Aurantium fructus immaturus*)和香橼(*Citrus fructus*)。在某些方面,植物的花、头状花序或果实或叶子用作提取物的来源。当提取时,提取物可以标准化为活性标记化合物。例如,关黄柏(*cortex phellodendri amurensis*)提取物可以相对于小檗碱、巴马汀、柠檬苦素和黄柏酮中的至少一种的含量来标准化。

15

各种纯化和提取技术下面将进行更加全面的讨论或在本领域中是已知的。

示例性的提取工艺

20

在一个例子中,在本发明的独特的组合物中有用的提取物和/或活性化合物可以通过使用有机溶剂提取技术来获得。

在另一个例子中,使用 H_2O 、 H_2O -EtOH、 H_2O -MeOH 或 H_2O -丙酮等等作为溶剂的溶剂顺序分馏,可以用来获得在本发明的独特的组合物中是有用的提取物和/或活性化合物。

25

含水乙醇总提取(total hydro-ethanolic extraction)技术也可用于获得本发明的独特的组合物中是有用的提取物和/或活性化合物。通常,这称为总提取。在此工艺中产生的提取物将会包含各种各样的存在于提取物质中的植物化

学物质，其包括脂肪和水溶物。在收集提取物溶液之后，将溶剂蒸发，从而获得提取物。

乙醇总提取也可在本发明中使用。这种技术使用乙醇，而不是含水乙醇，作为溶剂。该提取技术生成的提取物，除水溶性化合物之外，还可以包括脂溶性和/或亲脂性化合物。

可用于获得在本发明中使用的提取物和/或活性化合物的提取技术的另一个例子是超临界流体二氧化碳提取(SFE)。在此提取过程中待提取的材料不暴露于任何有机溶剂。更确切地，提取溶剂是在超临界条件中(>31.3°C. 和 >73.8 巴)的二氧化碳，有或没有改性剂均可。本领域技术人员将会认识到，可以变化温度和压力条件，从而得到提取物的最好的产率。这种技术产生脂溶性和/或亲脂性化合物的提取物，类似于以上所述的己烷和乙酸乙酯总提取技术。

本领域技术人员将会认识到，还有许多其他的提取和纯化方法，两者在本领域中都是已知的并描述在各种专利和出版物中，可用于获得用于实践本发明的提取物和/或活性化合物。例如，可以在实施本发明中使用在下列参考文献（其通过引用来引入在本文中）中所描述的提取过程：Murga 等人，“Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon dioxide and alcohol.” *J. Agric Food Chem.* 2000 年 8 月:48(8):3408-12; Hong 等人，“Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from grape seed.” *Nat Prod Lett.* 2001 年; 15(3):197-204; Ashraf-Khorassani 等人，“Sequential fractionation of grape seeds into oils, polyphenols, and procyanidins via a single system employing CO₂-based fluids.” *J. Agric Food Chem.*, 2004 年 5 月 5 日; 52(9):2440-4。

根据本发明的一个实例，黄柏酮提取物可通过用 70% EtOH 提取吴茱萸(Juss.)果实来制备。最终的提取物的水分含量>5.0%，从而所生产的植物提取物具有的植物源(botanical):成品的粗提取率为 5-7:1。

然后黄柏酮提取物可以相对于活性标记物含量（如吴茱萸碱、吴茱萸次碱、小檗碱、巴马汀和柠檬碱的含量）来分析和标准化。

然后该黄柏酮活性物质可以通过溶剂-水分离如二氯甲烷-水、乙酸乙酯-水、正丁醇-水体系来提纯。

或者，该黄柏酮活性物质可以通过不同的色谱法如大孔树脂、有机硅树

脂、MCI 树脂、凝胶等等来提纯。

另外，该黄柏酮活性物质可以通过制备色谱法，半制备色谱法，如制备 HPLC、半制备 HPLC 等等来提纯。

另外，该黄柏酮活性物质可以通过高速逆流色谱法来提纯。

5

组合物

黄柏酮可以配制成组合物。具体而言，某些实施方案涉及一种具有黑色素合成-抑制活性的组合物，其包括的黄柏酮的量能有效降低黑色素合成。某些其他实施方案涉及用于抑制酪氨酸酶的酶活性的组合物，其包括的黄柏酮的量能有效抑制酪氨酸酶的酶活性。某些其他实施方案涉及用于皮肤美白和/或皮肤增白的组合物，其包括的黄柏酮的量能有效美白或增白皮肤。

某些组合物涉及用于降低黑色素合成和/或抑制酪氨酸酶的酶活性的组合物，其包括的黄柏酮的量能有效降低黑色素合成和/或抑制酪氨酸酶的酶活性，其中黄柏酮是至少约 75% 纯。或者，在组合物中，黄柏酮是至少约 80% 纯；或者，至少约 85% 纯；或者，至少约 90% 纯；或者，至少约 95% 纯；或者，至少约 96% 纯；或者，至少约 97% 纯；或者，至少约 98% 纯；或者，至少约 99% 纯；或者，在组合物中，黄柏酮是约 99.99% 纯。

黄柏酮构成了所述组合物的约至少 50wt%，更优选至少约为组合物的 55wt%，至少约组合物的 60wt%，至少约组合物的 65wt%，至少约组合物的 70wt%，至少约组合物的 75wt%，至少约组合物的 80wt%，至少约组合物的 85wt%，至少约组合物的 90wt%，至少约组合物的 95wt%，至少约组合物的 99wt%。或者，黄柏酮构成了所述组合物的约 1-99wt%；或者，黄柏酮构成了所述组合物的约 1-90wt%；或者，黄柏酮构成了所述组合物的约 1-75wt%；或者，黄柏酮构成了所述组合物的约 50-70wt%。

25 在组合物中，黄柏酮的存在量可以为约 0.001% 到约 10%。

当然，本领域技术人员将会认识到，引入到组合物中的黄柏酮的量，可以取决于标记物的标准化的含量。例如，对于由吴茱萸提取物制备的黄柏酮而言，标记物可以是吴茱萸碱、吴茱萸次碱和/或柠檬碱。因此，如果将黄柏酮标准化到标记化合物的约 40%，则黄柏酮的上述量将会减少二分之一。例如，黄柏酮提取物可以标准化到约 0.5%，1.0%，1.5%，2.0%，2.5%，3.0%，3.5%，4.0%，4.5%，5.0%，5.5%，6.0%，6.5%，7.0%，7.5%，8.0%，8.5%，

30

9.0%, 9.5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%或 95%的标记化合物含量。

所述的组合物的 pH 可以为约 6.0 到约 8.0, 或者所述的组合物的 pH 可以是基本上中性的。在某些实施方案中, 使用黄柏酮的组合物具有大致中性 pH。

某些实施方案涉及用于增加皮肤美白或增白的组合物。该组合物包括有效量的黄柏酮, 从而降低黑色素产生和/或抑制酪氨酸酶的酶活性。该组合物可以包括化妆品可接受的载体。

某些另外的实施方案涉及增加皮肤美白或增白的方法, 其包括将包括黄柏酮提取物的组合物给药到受试者, 其中该组合物降低或减少黑色素生成、色素沉着, 或两者兼而有之。

本发明的组合物可以局部给药。

本发明的组合物可以在可接受的载体、媒介物或赋形剂中进行配制而且可以制备、包装和标识用于受试者的皮肤美白或增白的化妆品或药物用途。在某些实施方案中, 黄柏酮构成了所述组合物的约 50-70wt%, 而载体、媒介物或赋形剂构成了所述组合物的约 50-30wt%。

通常, 所述的组合物包括化妆品可接受的载体。适用于本发明的所有实施方案的化妆品可接受的载体的例子包括, 但不限于, 水, 甘油, 各种醇如乙醇、丙醇, 植物油, 矿物油, 硅油, 脂肪醚, 脂肪酯, 脂肪醇, 二醇, 聚二醇或它们的任意组合。配制的方法是本领域中公知的并例如公开在 Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Mack Publishing Co., Easton Pa., 1990 中, 其通过引用合并于此。

在某些实施方案中, 组合物可以进一步包括一种或多种美白剂从而提高组合物的美白效果。认为示例性的美白剂包括: 所有已知的美白剂和将来可能开发的美白剂。优选, 所述的美白剂选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂及其混合物。合适的酪氨酸酶抑制剂的例子包括, 但不限于, 曲酸和它的衍生物, 熊果苷和它的衍生物, 甘草提取物和它的衍生物, 抗坏血酸和它的衍生物, 以及氢醌和它的衍生物。合适的自由基清除剂的例子包括, 但不限于, 甘草提取物和它的衍生物, 维生素 E 和它的衍生物, 维生素 A 和它的衍生物, 维生素 C 和它的衍生物, 迷迭香 (Rosemary) 提取物和它的衍生物以及超氧化物歧化酶。优选的美白剂选自曲酸, 曲酸的衍生物, 熊果苷, 熊果苷

的衍生物,熊果提取物,柠檬提取物,黄瓜提取物,维生素 C 和它的衍生物,针叶樱桃 (acerola cherry) 的提取物和针叶樱桃的发酵物。

维生素 C 衍生物的非排他性的例子是,例如, L-抗坏血酸的烷基酯如 L-抗坏血酸基棕榈酸酯, L-抗坏血酸基异棕榈酸酯, L-抗坏血酸基二棕榈酸酯, L-抗坏血酸基异硬脂酸酯, L-抗坏血酸基二硬脂酸酯, L-抗坏血酸基二异硬脂酸酯, L-抗坏血酸基肉豆蔻酸酯, L-抗坏血酸基异肉豆蔻酸酯, L-抗坏血酸基 2-乙基己酸酯, L-抗坏血酸基二-2-乙基己酸酯, L-抗坏血酸基油酸酯和 L-抗坏血酸基二油酸酯; L-抗坏血酸的磷酸酯如 L-抗坏血酸基-2-磷酸酯和 L-抗坏血酸基-3-磷酸酯; L-抗坏血酸的硫酸酯如 L-抗坏血酸基-2-硫酸酯和 L-抗坏血酸基-3-硫酸酯; 它们与碱土金属如钙和镁的盐。它们可以单独使用或以两种或多种的混合物方式使用。

当黄柏酮与任何已知的美白剂混合时,黄柏酮与已知美白剂的比为约 1:100 到约 100:1,优选约 1:50 到约 50:1,更优选约 1:10 到约 10:1。最优选,黄柏酮与已知增白剂的比为约 1:5 到约 5:1。

本发明的组合物可以以各种形态来制备。例如,它们可以是呈化妆品制剂的形态如霜剂、化妆水、膜(pack)或粉,或为乳剂、洗剂、搽剂泡沫、片剂、硬膏、颗粒剂、气溶胶喷剂、凝胶、摩丝、润发油或软膏。在各制剂中,可以引入各种已知的常规化妆品成份。例如,可以包括的化妆品成份如醇,脂肪和油,表面活性剂,脂肪酸,硅油,保湿剂,增湿剂,粘度调节剂,乳化剂,稳定剂,着色剂和香料。某些进一步实施方案涉及的组合物可以以适用于局部施加到皮肤上的任何方便的形态来配制。合适的乳剂包括水包油、油包水和有机硅包水乳剂。

在某些实施方案中提供的是一种改进的该类型的皮肤美白组合物,其包含皮肤美白剂,其中改进之处包括添加黄柏酮。该组合物可以包括化妆品可接受的载体。

可根据需要来给药组合物,每日,每日数次或任何使得所需结果得以实现的合适方案。组合物可以基于连续或间歇方式来给药。

方法

本文所述的组合物可以用于各种化妆品和/或药物应用,包括抑制或降低黑色素生成,抑制或降低酪氨酸酶的酶活性和/或皮肤美白、增白和亮白。

某些实施方案涉及美白皮肤的方法，其包括将以上所述的任何组合物以及它们的任意组合来局部施加到皮肤上。

某些具体的实施方案涉及美白皮肤的方法，其包括将包括黄柏酮（其量能有效降低黑色素合成和/或抑制酪氨酸酶的酶活性）的组合物来局部施加到皮肤上。以足以明显美白皮肤的量和持续时间施加组合物。

在局部皮肤美白化妆品组合物中，包含一种或多种化妆品成份，其选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料，改进包括有效量的黄柏酮来美白皮肤。

在该方法中，局部施加的频率将会取决于若干因素，包括抑制黑色素生成的希望水平和/或抑制酪氨酸酶的酶活性的希望水平以及黄柏酮在组合物中的含量。一种合适的示例性的方案包括每日施加到皮肤上两次，早上施加一次和晚上施加一次。

实施例

实施例 1: 通过在 B16F10 细胞中的 CellTiter-Glo®(CTG) 发光细胞存活力实验（Luminescent Cell Viability Assay）来进行的黄柏酮的细胞毒性/安全评估

为了测定黄柏酮的细胞安全性，进行了如下的实验。

该 CellTiter-Glo® (CTG)发光细胞存活力实验(来自 Promega)是按照制造商的说明书来进行的，从而基于存在的 ATP（为代谢活性细胞的指示物）的定量来确定在培养物中的存活细胞的数量。在该实验中使用了 99.99%纯的黄柏酮（以 100.00 µg/mL, 33.333 µg/mL, 11.111 µg/mL, 3.704 µg/mL, 1.235µg/mL, 0.412µg/mL, 0.137µg/mL, 0.046 µg/mL, 0.015 µg/mL）和氢醌(用作参比，以相同梯度浓度)。该实验使用 B16F10 细胞来进行。

根据利用 CTG 进行的基于细胞的安全性评估，黄柏酮没有表现出细胞毒性(见表 1)。

表 1:

黄柏酮		氢醌	
底部	-3.237	底部	-8.666
顶部	100.000	顶部	99.453
相对 IC50	121.896	相对 IC50	3.346
上升点(hill)	2.520	上升点	18.900

绝对 IC50	>100	绝对 IC50	3.376
图表细胞	#Ok	图表细胞	#Ok

该结果示于图 1。

实施例 2: 在 B16F10 细胞中用黄柏酮进行的对酪氨酸酶的酶活性的剂量依赖性抑制

5 为了测定黄柏酮是否影响了酪氨酸酶的酶活性, 进行了如下的实验。

在第 1 天, 将 B16F10 细胞以约 18,000 个细胞/ml 的密度平板接种(plated)到 24 孔测定板。测定板在 37 °C、5% CO₂、在湿润的条件下温育 24 小时。

第 2 天, 将参比物(熊果苷)和试验化合物(黄柏酮)添加 (在测定板上的所述化合物为 5μl (最终浓度: 1x)) 到该板上和将该板在 37 °C、5% CO₂、
10 在湿润的条件下再温育 2 天。

在第 5 天, 将板进行成像。在培养基废物桶 (medium waste receptacle) 上将倒置的板进行摇动并用清洁的纸巾揩吸。添加 80μl 0.05mM PBS (0.1% Triton-X)并将板放置在冰箱中, 以-80 °C 持续 4 小时。然后将板在室温解冻并重复两次洗涤和冷冻步骤。然后将样品转移至 96-孔的 V 底板中并以 3000
15 RPM 离心 (span) 10 分钟。将 60 μl 上层清液样品转移至 UV 板中并将 140 μl 的新鲜的 0.1% L-DOPA 添加到每一个孔中。将板在 37 °C 温育 1 小时。在温育之后在 475nm 来读取吸收值。将 5 μl 的上层清液样品转移至另一个 UV 板中以用 BCA 来确定蛋白质浓度。

酪氨酸酶活性的抑制百分比的计算如下:

20 抑制率% = [(A-B)/A]*100

其中 A 是对照样品 (在具有和不具有酪氨酸酶的样品之间) 的吸收值的差, 和 B 是试验样品 (在具有和不具有酪氨酸酶的样品之间) 的吸收值的差(Diwakar G, Rana J, Scholten J D. Inhibition of melanin production by a combination of Siberian larch and pomegranate fruit extracts. Fitoterapia,
25 2012;83:989-95)。

从用 L-DOPA 处理过的细胞中获得最大的信号; 底部信号来自于未用 L-DOPA 处理过的细胞。

用黄柏酮处理过的 B16F10 细胞表现出提高的对酪氨酸酶酶活性的抑制 (其中抑制率在 100 μg/mL 为 90.5%), 相比于阳性对照熊果苷而言, 其在

与熊果苷相同浓度时，具有强得多的抑制率（表 2 和表 3）。

结果示于下表 2 和表 3 中。

表 2. 黄柏酮

浓度 (ug/ml)	信号		抑制率%		均值	SD
100	0.11	0.1	90.8	90.2	90.5	0.4
50	0.28	0.3	68.3	71.3	69.8	2.1
10	0.73	0.5	10.8	42.9	26.9	22.7
0	0.93	0.8	-13.8	8.4	-2.7	15.7

表 3. 熊果苷

浓度 (ug/ml)	信号		抑制率%		均值	SD
250	0.19	0.2	52.3	50.9	51.6	1.0
125	0.28	0.3	22.6	22.5	22.6	0.1
50	0.28	0.3	21.4	20.4	20.9	0.7
0	0.33	0.3	7.5	0.6	4.0	4.9

5 如图 2 中所示，黄柏酮的给药导致了黄柏酮对酪氨酸酶的酶活性的剂量依赖性抑制。

实施例 3: 黄柏酮显示了黑色素产生的剂量依赖性降低

为了测定黄柏酮是否影响黑色素产生，进行了如下的实验。

10 测试了 100 ug/mL 的黄柏酮。将熊果苷（公知的酪氨酸酶抑制剂）用作实验中的阳性对照抑制剂。

15 使黄柏酮溶解在 DMSO 中并添加到 B16F10 细胞中，该 B16F10 细胞在处理之前在 24 孔板中以 18,000 细胞/mL 的密度接种 24 小时。试验化合物的最终浓度是 1x。在这一实验中的 B16F10 细胞的胞质 pH 约为 5-7。将各剂量的黄柏酮添加到细胞中，一式三份。然后将板在 37 °C、5% CO₂、在湿润的条件下温育 72 小时。

在第 5 天，将培养基从细胞中除去，将 150 µl 的 1M 的 NaOH 添加到测定板的各孔中并将板在 80°C 温育 30 分钟。在温育之后，将 140 µl 的溶液转

移至 UV 板中并以 400 nm 信号进行测试。将 5 μ l 的溶液转移至 UV 板中并将 200 μ l 的 BCA 试剂添加到每个孔中。将板在 37 °C 温育 20 分钟。在温育之后在 562 nm 读取吸收值。

在 DMSO 的作用下获得最大的信号; 在 200ug/mL 熊果苷中获得最小信号。

样品的抑制活性报告为黑色素产生的降低的百分比, 相对于 100%未处理的对照(UT)而言。

结果发现, 在用黄柏酮(以 100mg/mL)温育 72 小时之后在 B16F10 培养细胞中的黑色素抑制率为 77.8%, 相比于熊果苷的阳性对照而言(参见表 4 和 5)。这表明, 对于中断在 B16F10 细胞中的黑色素合成而言, 黄柏酮具有优异的功效。

表 4. 黄柏酮

浓度(ug/ml)	信号		抑制率%		均值	SD
100	0.13	0.13	77.3	78.2	77.8	0.6
50	0.14	0.13	69.6	74.3	72.0	3.3
10	0.21	0.20	10.9	17.4	14.1	4.6
0	0.25	0.23	-24.1	-3.7	-13.9	14.4

表 5.熊果苷

浓度(ug/ml)	信号		抑制率%		均值	SD
250	0.10	0.10	103.9	133.4	118.7	20.9
125	0.10	0.11	103.8	120.0	111.9	11.5
25	0.11	0.12	84.1	85.4	84.8	0.9
0	0.15	0.14	17.9	0.0	9.0	12.7

图 3 绘制了结果。可以看出, 使用黄柏酮使得黑色素产生呈剂量依赖性降低。

因此, 可以预期, 前述详细说明视为是举例性的而不是限制性的, 并且应理解的是, 权利要求包括所有等价物, 权利要求旨在定义本发明的精神和范围。

权利要求书

1.一种局部用组合物，其具有降低黑色素合成的活性，其基本上由以下物质组成：

- 5 a)约 75-100%纯的黄柏酮，其量能有效降低黑色素合成；
b)化妆品可接受的载体；和
c)任选的：
i) 一种或多种化妆品成份，其选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料；和
10 /或

ii)皮肤美白剂，其选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂和它们的混合物。

2.一种局部用组合物，其具有降低黑色素合成的活性，其由以下物质组成：

- a)至少约 90%纯的黄柏酮，其量能有效降低黑色素合成；
15 b)化妆品可接受的载体；和
c)任选的：
i) 一种或多种化妆品成份，其选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料；和
/或

20 ii)皮肤美白剂，其选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂和它们的混合物。

3.权利要求 1-2 中的任何一项的组合物，其中所述的黄柏酮提纯自至少一种以下植物的提取物，该植物选自芸香科吴茱萸(*Evodiarutaecarpia*)，白癣皮(*Dictamnincortex*)，关黄柏(*Phellodendriamurensis cortex*)，芸香科植物佛手(*Citrisarcodactylisfructus*)，枳实(*Aurantiifrusctusimmaturus*)和芸香科植物香橼(*Citrifructus*)。

4.权利要求 3 的组合物，其中所述的吴茱萸提取物相对于吴茱萸碱、吴茱萸次碱和柠檬碱中的至少一个的含量来标准化。

5.权利要求 1-4 中的任何一项的组合物，其中所述的黄柏酮是约 99.99%纯的黄柏酮活性物质。

30 6.权利要求 1-5 中的任何一项的组合物，所述的组合物是选自以下的制剂：霜剂、软膏、泡沫、洗剂、硬膏、片剂、颗粒剂或乳剂。

7.权利要求 1-2 中的任何一项的组合物, 其中所述黄柏酮与所述皮肤美白剂之重量比为约 100:1 到约 1:100。

8.权利要求 1-7 中的任何一项的组合物, 其中降低黑色素合成的有效量为约 10-1000 mg。

5 9.权利要求 1-8 中的任何一项的组合物, 其中所述的黄柏酮构成了所述组合物的约 1-99wt%。

10.权利要求 1-8 中的任何一项的组合物, 其中所述的黄柏酮构成了所述组合物的约 1-75wt%。

10 11.权利要求 1-8 中的任何一项的组合物, 其中所述的黄柏酮构成了所述组合物的约 50-70wt%。

12.一种用于抑制酪氨酸酶的活性的局部用组合物, 其基本上由以下物质组成:

a)约 75-100%纯的黄柏酮, 其量能有效抑制酪氨酸酶的活性;

b)化妆品可接受的载体; 和

15 c)任选的:

i) 一种或多种化妆品成份, 其选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料; 和/或

20 ii)皮肤美白剂, 其选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂, 和它们的混合物。

13.一种用于抑制酪氨酸酶的活性的局部用组合物, 其由以下物质组成:

a)至少约 90%纯的黄柏酮, 其量能有效抑制酪氨酸酶的活性;

b)化妆品可接受的载体; 和

c)任选的:

25 i) 一种或多种化妆品成份, 其选自醇、脂肪、油、表面活性剂、脂肪酸、硅油、保湿剂、增湿剂、粘度调节剂、乳化剂、稳定剂、着色剂和香料; 和/或

ii)皮肤美白剂, 其选自酪氨酸酶抑制剂、自由基清除剂和它们的混合物。

30 14.权利要求 12-13 中的任何一项的组合物, 其中所述的黄柏酮提纯自至少一种以下植物的提取物, 该植物选自芸香科吴茱萸, 白癣皮, 关黄柏, 芸香科植物佛手, 枳实和芸香科植物香橼。

15.权利要求 14 的组合物,其中所述的黄柏酮相对于吴茱萸碱、吴茱萸次碱、和柠檬碱中的至少一个的含量来标准化。

16.权利要求 12-15 中的任何一项的组合物,其中所述的黄柏酮是约 99.99%纯的黄柏酮活性物质。

5 17.权利要求 12-16 中的任何一项的组合物,所述的组合物是选自以下的制剂:霜剂、软膏、泡沫、洗剂、硬膏、片剂、颗粒剂或乳剂。

18.权利要求 12-13 中的任何一项的组合物,其中所述黄柏酮与所述皮肤美白剂之重量比为约 100:1 到约 1:100。

10 19.权利要求 12-18 中的任何一项所述的组合物,其中能有效抑制酪氨酸酶的活性的量约为 10-1000 mg。

20.权利要求 12-19 中的任何一项的组合物,其中所述的黄柏酮构成了所述组合物的约 1-99wt%。

21.权利要求 12-19 中的任何一项的组合物,其中所述的黄柏酮构成了所述组合物的约 1-75wt%。

15 22.权利要求 12-19 中的任何一项的组合物,其中所述的黄柏酮构成了所述组合物的约 50-70wt%。

23.一种局部用组合物,其包括化妆品可接受的载体和至少 90%纯的黄柏酮,其中所述的黄柏酮构成了所述组合物的约 1-99wt%。

20 24.一种美白皮肤的方法,其包括将权利要求 1-23 中任一项的组合物局部施加到皮肤上,其中以足以明显美白皮肤的量和持续时间施加所述的组合物。

25.权利要求 1-23 中的任一项的局部用组合物在制造具有降低黑色素合成的活性的美容剂中的用途。

25 26.权利要求 1-23 中的任一项的局部用组合物在制造具有酪氨酸酶的酶抑制活性的美容剂中的用途。

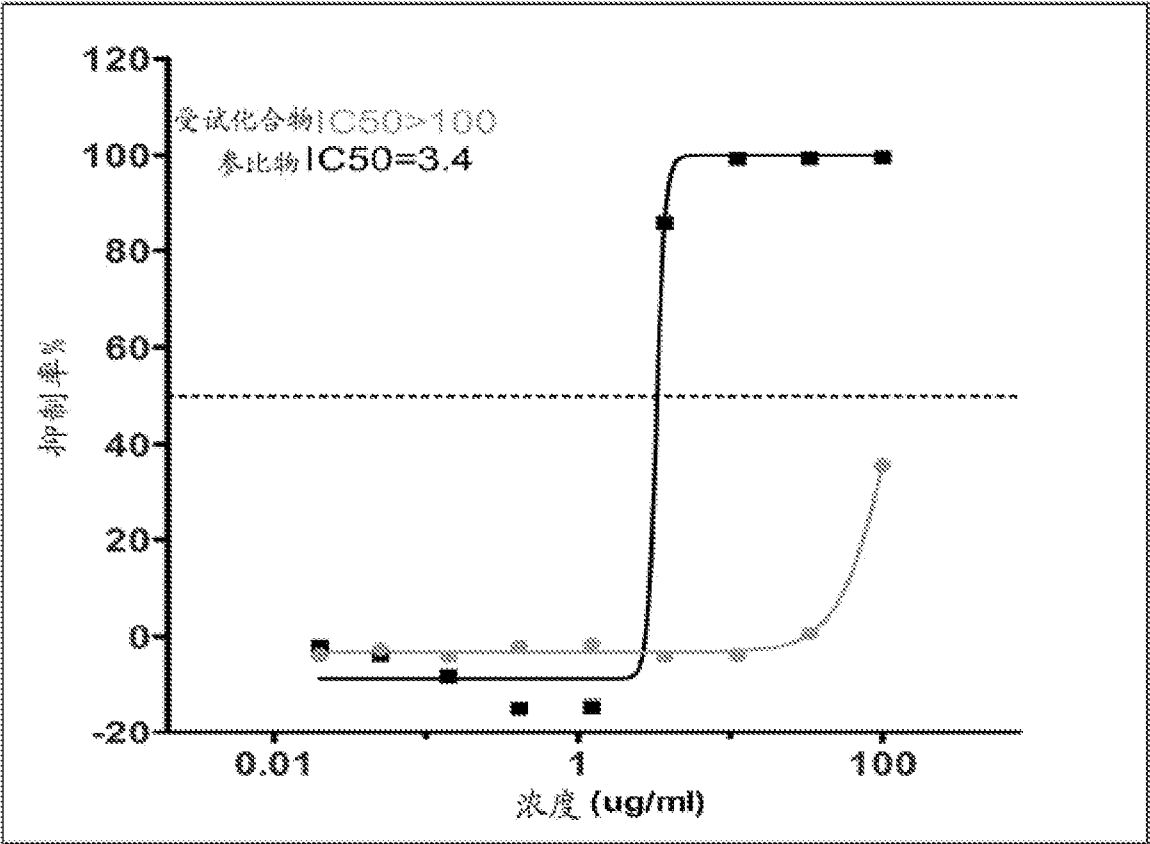


图 1

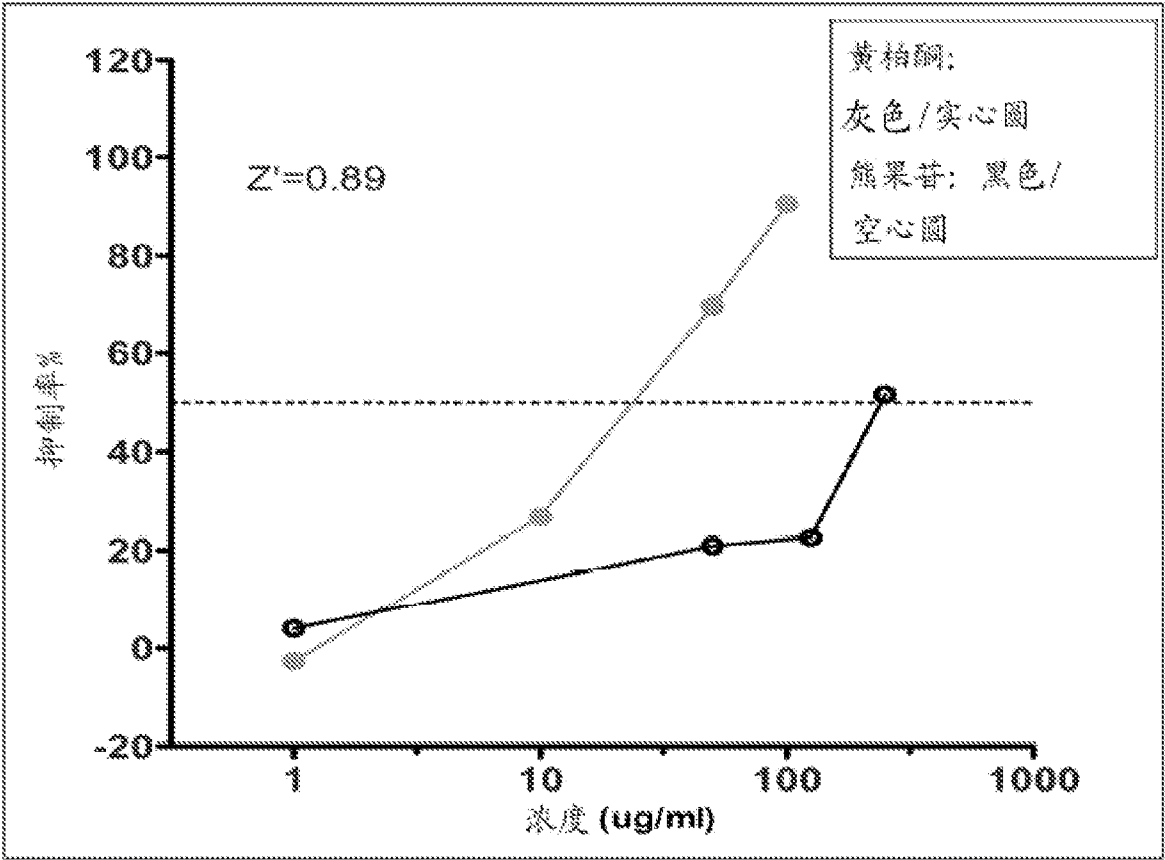


图 2

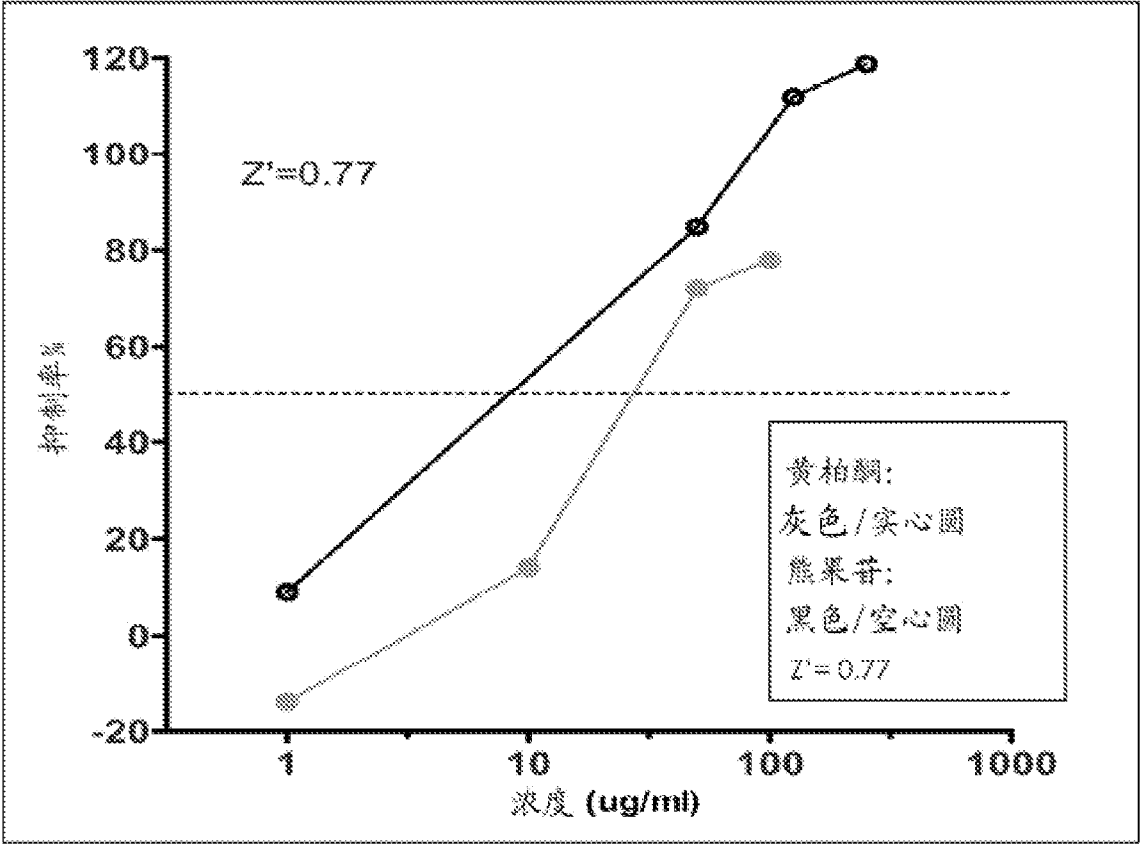


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/070544

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 8/97 (2006.01) i; A61Q 19/00 (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, A61P

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)

DWPI; EPODOC; CNMED; CPRSABS; CNABS; CNKI; CNTXT: Bark of Chinese Corktree, Amur Corktree Bark, Cortex Phellodendri, Phellodendron chinense Schneid., Phellodendron amurense Rupr, dilactone, obacunone, Medicinal Evodia Fruit, Fruit of Medicinal Evodia, Fructus Evodiae, Evodia rutaecarpa, Densefruit Pittany Root-bark, Root-bark of Densefruit Pittany, Cortex Dictamni radices, Cortex Dictamni, Dictamnus dasycarpus Turcz, Finger Citron, Fructus Citri Sarcodactylis, Citrus medica L. var. sarcodactylis Swingle, Citrus medica L. Var. Sarcodactylis Swingle, Fructus Aurantii Immaturus, Citron Fruit, Fructus Citri, Citrus medica L., Citrus wilsonii Tanaka, melanin, whiten, tyrosinase, pigmentation

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102573787 A (AMOREPACIFIC CORP.), 11 July 2012 (11.07.2012), claims 1-8, description, paragraph [0079], embodiments 1, 2, 4, 8-13, 16, 17, 19, 20 and 22, and figure 42	1-26
X	CN 101695470 A (TIANJIN YUMEIJING GROUP CO., LTD.), 21 April 2010 (21.04.2010), claims 1-8, description, paragraph [0012], lines 6-12, paragraphs [0040]-[0079], and embodiments 1-7	1-6, 8, 12-17, 19
A	CN 101695470 A (TIANJIN YUMEIJING GROUP CO., LTD.), 21 April 2010 (21.04.2010), claims 1-8, description, paragraph [0012], lines 6-12, paragraphs [0040]-[0079], and embodiments 1-7	7, 9-11, 18, 20-26
X	CN 102357066 A (TIANJIN YUMEIJING GROUP CO., LTD.), 22 February 2012 (22.02.2012), claims 8-10, description, paragraph [0002], and embodiments 3-5	1-6, 8, 12-17, 19
A	CN 102357066 A (TIANJIN YUMEIJING GROUP CO., LTD.), 22 February 2012 (22.02.2012), claims 8-10, description, paragraph [0002], and embodiments 3-5	7, 9-11, 18, 20-26

☒ 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
06 April 2016 (06.04.2016)

Date of mailing of the international search report
14 April 2016 (14.04.2016)

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

CHEN, Mao

Telephone No.: (86-10) **62412205**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2016/070544

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 102614101 A (TIANJIN YUMEIJING GROUP CO., LTD.), 01 August 2012 (01.08.2012), claims 1-10, and description, paragraphs [0003], [0063]-[0066] and [0086]-[0091]	1-6, 8, 12-17, 19
A	CN 102614101 A (TIANJIN YUMEIJING GROUP CO., LTD.), 01 August 2012 (01.08.2012), claims 1-10, and description, paragraphs [0003], [0063]-[0066] and [0086]-[0091]	7, 9-11, 18, 20-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2016/070544

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102573787 A	11 July 2012	US 2015306024 A1	29 October 2015
		CN 103893345 A	02 July 2014
		CN 103585342 A	19 February 2014
		JP 2013501779 A	17 January 2013
		WO 2011019239 A3	03 June 2011
		WO 2011019239 A2	17 February 2011
		CN 103893070 A	02 July 2014
		US 2012141613 A1	07 June 2012
		CN 103893352 A	02 July 2014
CN 101695470 A	21 April 2010	CN 101695470 B	10 August 2011
CN 102357066 A	22 February 2012	CN 102357066 B	21 August 2013
CN 102614101 A	01 August 2012	CN 102614101 B	03 July 2013

A. 主题的分类		
A61K 8/97 (2006.01)i; A61Q 19/00 (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, A61P		
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))		
DWPI; EPODOC; CNMED; CPRSABS; CNABS; CNKI; CNTXT: 黄柏, Bark of Chinese Corktree, Amur Corktree Bark, Cortex Phellodendri, Phellodendron chinense Schneid., Phellodendron amurense Rupr, 黄柏酮, dilactone, obacunone, 吴茱萸, Medicinal Evodia Fruit, Fruit of Medicinal Evodia, Fructus Evodiae, Evodia rutaecarpa, 白藓皮, Densefruit Pittany Root-bark, Root-bark of Densefruit Pittany, Cortex Dictamni radices, Cortex Dictamni, Dictamnus dasycarpus Turcz, 佛手, Finger Citron, Fructus Citri Sarcodactylis, Citrus medica L. var. sarcodactylis Swingle, Citrus medica L. Var. Sarcodactylis Swingle, 枳实, 香橼, Citron Fruit, Fructus Citri, Citrus medica L., Citrus wilsonii Tanaka, 黑色素, 美白, 酪氨酸酶, 色素沉着, melanin, whiten, tyrosinase, pigmentation		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 102573787 A (株式会社爱茉莉太平洋) 2012年 7月 11日 (2012 - 07 - 11) 权利要求1-8, 说明书第[0079]段, 实施例1、2、4、8-13、16、17、19、20和22, 说明书附图图42	1-26
X	CN 101695470 A (天津郁美净集团有限公司) 2010年 4月 21日 (2010 - 04 - 21) 权利要求1-8, 说明书第[0012]段第6-12行, 第[0040]段至第[0079]段, 实施例1-7	1-6, 8, 12-17, 19
A	CN 101695470 A (天津郁美净集团有限公司) 2010年 4月 21日 (2010 - 04 - 21) 权利要求1-8, 说明书第[0012]段第6-12行, 第[0040]段至第[0079]段, 实施例1-7	7, 9-11, 18, 20-26
X	CN 102357066 A (天津郁美净集团有限公司) 2012年 2月 22日 (2012 - 02 - 22) 权利要求8-10, 说明书第[0002]段, 实施例3-5	1-6, 8, 12-17, 19
A	CN 102357066 A (天津郁美净集团有限公司) 2012年 2月 22日 (2012 - 02 - 22) 权利要求8-10, 说明书第[0002]段, 实施例3-5	7, 9-11, 18, 20-26
☒ 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		国际检索报告邮寄日期
2016年 4月 6日		2016年 4月 14日
ISA/CN的名称和邮寄地址		授权官员
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		陈矛
		电话号码 (86-10) 62412205

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 102614101 A (天津郁美净集团有限公司) 2012年 8月 1日 (2012 - 08 - 01) 权利要求1-10, 说明书第[0003]段, 第[0063]-[0066]段, 第[0086]-[0091]段	1-6, 8, 12-17, 19
A	CN 102614101 A (天津郁美净集团有限公司) 2012年 8月 1日 (2012 - 08 - 01) 权利要求1-10, 说明书第[0003]段, 第[0063]-[0066]段, 第[0086]-[0091]段	7, 9-11, 18, 20-26

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2016/070544

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102573787	A	2012年 7月 11日	US	2015306024	A1	2015年 10月 29日
				CN	103893345	A	2014年 7月 2日
				CN	103585342	A	2014年 2月 19日
				JP	2013501779	A	2013年 1月 17日
				WO	2011019239	A3	2011年 6月 3日
				WO	2011019239	A2	2011年 2月 17日
				CN	103893070	A	2014年 7月 2日
				US	2012141613	A1	2012年 6月 7日
				CN	103893352	A	2014年 7月 2日
CN	101695470	A	2010年 4月 21日	CN	101695470	B	2011年 8月 10日
CN	102357066	A	2012年 2月 22日	CN	102357066	B	2013年 8月 21日
CN	102614101	A	2012年 8月 1日	CN	102614101	B	2013年 7月 3日