

(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  
2010年12月23日(23.12.2010)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2010/146788 A1

- (51) 国際特許分類:  
*A61K 8/49* (2006.01)      *A61K 47/10* (2006.01)  
*A61K 8/34* (2006.01)      *A61Q 19/02* (2006.01)  
*A61K 31/353* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/003680
- (22) 国際出願日: 2010年6月2日(02.06.2010)
- (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 2009-144398 2009年6月17日(17.06.2009) JP  
 特願 2009-144399 2009年6月17日(17.06.2009) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 花王株式会社 (KAO CORPORATION) [JP/JP]; 〒1038210 東京都中央区日本橋茅場町一丁目14-10 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 杉山 充 (SUGIYAMA, Mitsuru) [JP/JP]; 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP). 笠松 慎也 (KASAMATSU, Shinya) [JP/JP]; 〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所 (THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE); 〒1030013 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番8号 沢の鶴人形町ビル 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, 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, 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))



WO 2010/146788 A1

(54) Title: APIGENIN-CONTAINING COMPOSITION

(54) 発明の名称: アピゲニン含有組成物

(57) Abstract: Disclosed is a composition in which apigenin can be contained stably. The composition is characterized by comprising 3 ppm or more of apigenin and dibutylhydroxytoluene, wherein the ratio of the content of apigenin to the content of dibutylhydroxytoluene is 1 or more by mass or the composition has a pH value of less than 7. Also disclosed is a process for producing an apigenin-containing composition, which is characterized by blending 3 ppm or more of apigenin to dibutylhydroxytoluene so that the ratio of the content of apigenin to the content of dibutylhydroxytoluene becomes 1 or more by mass or adjusting the pH value of the composition to less than 7.

(57) 要約: アピゲニンを安定に含有する組成物。本発明は、3 ppm以上のアピゲニンとジブチルヒドロキシトルエンとを含有し、且つジブチルヒドロキシトルエンに対するアピゲニンの質量比が1以上であるか又はpHが7未満であることを特徴とする組成物を提供する。また本発明は、ジブチルヒドロキシトルエンに対するアピゲニンの質量比が1以上となるように、3 ppm以上のアピゲニンとジブチルヒドロキシトルエンとを配合するか又は組成物のpHを7未満に調整することを特徴とするアピゲニン含有組成物の製造方法を提供する。

## 明 細 書

**発明の名称**：アピゲニン含有組成物

### 技術分野

[0001] 本発明は、アピゲニンを安定に保持する組成物に関する。

### 背景技術

[0002] アピゲニンは、カミツレ (*Matricaria recutita* L.)、ローマカミツレ (*Anthemis nobilis* L.)、ダリア (*Dahlia pinnata*)、フジモドキ (*Daphne genkwa*)、コウリヨウ (*Sorghum nervosum* Bess)等の植物に含まれているフラボノイドであり、ウレアーゼ活性阻害作用 (特許文献1)、抗酸化作用 (特許文献2)、メラニン生成促進作用 (特許文献3、特許文献4)、抗炎症作用 (特許文献5)、及び色素沈着抑制作用 (特許文献6)等を有するため、化粧品、医薬品及び医薬部外品の成分として有用である。従って、従来よりアピゲニン又はアピゲニン含有植物エキスを含む組成物が種々報告されている (特許文献2～6)。

### 先行技術文献

#### 特許文献

- [0003] 特許文献1：特開2004-91338号公報  
特許文献2：特開2005-289880号公報  
特許文献3：特開平9-263534号公報  
特許文献4：特開2004-2264号公報  
特許文献5：特開2007-8847号公報  
特許文献6：特開2006-327988号公報

### 発明の開示

[0004] 一態様において、本発明は、3ppm以上のアピゲニンとジブチルヒドロキシルエンとを含有し、且つジブチルヒドロキシルエンに対するアピゲニンの質量比が1以上であるか又はpHが7未満であることを特徴とする組成物を提供する。

別の態様において、本発明は、3 ppm以上のアピゲニンとジブチルヒドロキシトルエンとを配合することと、ジブチルヒドロキシトルエンに対するアピゲニンの質量比が1以上となるように調整するか又は組成物のpHを7未満に調整することとを特徴とするアピゲニン含有組成物の製造方法を提供する。

別の態様において、本発明は、アピゲニンとジブチルヒドロキシトルエンとを含有する組成物において、ジブチルヒドロキシトルエンに対するアピゲニンの質量比を1以上に調整するか又は組成物のpHを7未満に調整することとを特徴とするアピゲニンの安定化方法を提供する。

### 発明を実施するための形態

[0005] 本発明者らは、アピゲニンを高濃度に含む組成物について検討する過程で、アピゲニンを含有する組成物に、抗酸化剤等として一般に使用されている物質であるジブチルヒドロキシトルエン（BHT）が共存した場合、アピゲニンとBHTとが付加体を形成し、結果としてアピゲニンを組成物中で安定に維持できないという問題があることを突き止めた。

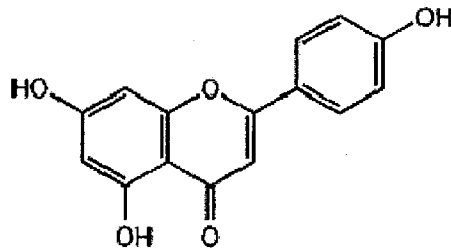
[0006] そこで本発明者らは、BHT存在下でアピゲニンを組成物中に安定に維持させるべく検討を行った。その結果、組成物中のBHTに対するアピゲニンの質量比を1以上に調整するか、又は組成物中のpHを7未満に調整することで、当該組成物中でアピゲニンを安定に維持することができることを見出した。

[0007] 本発明によれば、アピゲニンを安定に含有する組成物を提供することができ、有効成分としてのアピゲニンの効果を最大限に発揮し得る医薬品、医薬部外品、又は化粧品を提供することができる。

[0008] 本発明において、アピゲニンとは下記式で表される化合物を意味する。

[0009]

[化1]



[0010] アピゲニンとは、当該分野で通常知られた方法によって得ることができる。代表的には、アピゲニンを含有する植物、例えば、カミツレ、ローマカミツレ、ダリア、フジモドキ、コウリョウ等の植物又はその抽出物、好ましくは高濃度植物抽出物から得ることができる。ここで、カミツレとは、キク科の *Matricaria recutita* L. を意味し、ジャーマン・カモミール、ジャーマン・カミツレとも称される。また、ローマカミツレとは、キク科の *Anthemis nobilis* L. を意味し、ダリアとは、キク科の *Dahlia pinnata* を意味する。また、フジモドキとは、ジンチョウゲ科の *Daphne genkwa* を意味し、コウリョウとは、イネ科の *Sorghum nervosum* Bess を意味する。

上記植物のうち、キク科植物が好ましく、高濃度のアピゲニン含有抽出物を得る点で、カミツレ及びローマカミツレがより好ましく、ローマカミツレがさらに好ましい。

[0011] アピゲニンを含有する植物としては、上記に挙げた植物の任意の部分、例えば全草、葉、茎、芽、花、蕾、木質部、樹皮、地衣体、根、根茎、仮球茎、球茎、塊茎、種子、果実、菌核若しくは樹脂等、又はそれらの組み合わせが使用できる。カミツレ及びローマカミツレの場合、花冠又は蕾を使用するのが好ましい。これらの部分は、そのまま、粉碎して、切断して又は乾燥されて、あるいはさらに抽出等の工程を経て、本発明の組成物に添加される。

[0012] アピゲニンを含有する植物の抽出物には、常法により得られる各種溶剤抽出液、又はその希釈液、その濃縮液、その乾燥末若しくはその活性炭処理したものが挙げられる。このうち、各種溶媒抽出液が好ましい。あるいは、市販される当該植物のエキスを使用することもできる。抽出方法の具体例とし

ては、抽出原料の5～40倍量（質量比）の抽出溶剤に植物を浸漬し、常温又は還流加熱下で1日から1ヶ月抽出した後、濾過して残渣を除去する方法が挙げられる。

[0013] 抽出溶剤としては、極性溶剤、非極性溶剤のいずれをも使用することができる。当該抽出溶剤の具体例としては、例えば、水；メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール類；プロピレングリコール、ブチレングリコール等の多価アルコール類；アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類；酢酸メチル、酢酸エチル等のエステル類；テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル等の鎖状及び環状エーテル類；ポリエチレングリコール等のポリエーテル類；スクワラン、ヘキサン、シクロヘキサン、石油エーテル等の炭化水素類；トルエン等の芳香族炭化水素類；ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタン等のハロゲン化炭化水素類；及び二酸化炭素等が挙げられ、これらは混合物として用いることができる。これらのうち、好適な具体例としては、エタノール水溶液、ブタンジオール水溶液、プロピレングリコール水溶液が挙げられ、エタノール水溶液、ブタンジオール水溶液がより好ましく、エタノール水溶液がさらに好ましい。当該エタノール水溶液としては、5～99.5容量%のエタノール水溶液が好ましく、10～80容量%のエタノール水溶液がより好ましい。カミツレを使用するときは5～55容量%のエタノール水溶液が好ましく、10～50容量%のエタノール水溶液がより好ましい。ローマカミツレを使用するときは30～99.5容量%のエタノール水溶液が好ましく、40～80容量%のエタノール水溶液がより好ましい。当該溶媒の使用量は、10～40倍（質量比）程度である。抽出時間としては、1日～1ヶ月が好ましく、抽出温度としては、5～80℃が好ましい。

[0014] さらに好ましくは、特願2009-004378の記載に従って、上記のとおり得られた抽出物をさらに下記の吸着工程、洗浄工程、溶出工程の3工程に付すことにより、より高濃度のアピゲニンを含有する抽出物を得ることができる。

[0015] 吸着工程では、例えば、抽出物と吸着担体を接触又は接触混合させて吸着

物を得る。吸着担体の好適な具体例としては、粉末セルロース、ラジオリイト、セライト等が挙げられ、好ましくは粉末セルロース及びラジオリイトならびにそれらの組み合わせが挙げられる。吸着担体は、アピゲニン回収率の点で、抽出液200mLあたり、2.5g~10g程度用いるのが好ましい。また、アピゲニンの吸着担体への吸着を強化するため、上記接触等させた後に、アピゲニン含有植物の抽出物を濃縮するのが好ましい。当該濃縮は常法に従えばよいが、具体的手段としては減圧濃縮等が挙げられる。

[0016] 洗浄工程は、例えば、前工程で得られた吸着物に2~10倍容量の水又は20容量%以下のエタノール水溶液を接触させることにより行われる。水との接触が好ましい。

洗浄の具体的手段としては、例えば、ろ過、デカンテーションが挙げられ、好ましくはろ紙やろ布等を使用した常圧ろ過；フィルタープレス、加圧ろ紙ろ過機、リーフフィルター、ロータリープレス等を使用した加圧式ろ過；回転ドラム式連続ろ過機、真空フィルター等を使用した減圧ろ過等が挙げられる。簡便性の点で、常圧ろ過が好ましい。ろ過により洗浄する場合、アピゲニンは吸着担体中に保持され、その他のものはろ液として分離される。

[0017] 溶出工程は、洗浄された吸着物に、2~10倍容量の40~99.5容量%のエタノール水溶液を接触させることにより行われる。溶出の具体的手段としては、上記洗浄と同様のものが挙げられる。ろ過により溶出する場合、アピゲニンはろ液として吸着担体から分離される。

[0018] 上記3工程にかけることで、蒸発残分あたりアピゲニンを10~30質量%、好ましくは15~25質量%含有する高濃度アピゲニン含有抽出物が得られる。

[0019] 得られた高濃度アピゲニン含有抽出物を、さらにクロマトグラフィー、液々分配等にかけることで、当該抽出物中の不活性な夾雑物を除去することができる。

[0020] 上記の高濃度アピゲニン含有抽出物は、そのまま用いることもできるが、希釈、濃縮若しくは凍結乾燥した後、粉末又はペースト状に調製して用いて

もよい。

[0021] ジブチルヒドロキシトルエン（BHT）は、抗酸化剤等として使用されている周知の物質であり、市販品（例えば、和光純薬工業株式会社、Code No. 047-29451）を購入することができる。

[0022] 本発明の組成物は、アピゲニンとBHTとを配合することと、BHTに対するアピゲニンの質量比が1以上になるように調整することによって製造することができる。質量比は、好ましくは1以上であり、より好ましくは10以上である。さらに好ましくは、10～10000の範囲内である。あるいは、本発明の組成物は、アピゲニンとBHTとを配合することと、組成物のpHを7未満に調整することによって製造することができる。これらの手順によって、当該組成物中におけるBHTとアピゲニンとの付加体形成が抑制され、組成物中でアピゲニンが安定に維持される。好ましい態様において、本発明の組成物におけるアピゲニンの残存率（50℃の条件下で1ヶ月間保存した後のアピゲニン量の、-5℃で同期間保存した場合のアピゲニン量に対する比）は、91%より大きく、より好ましくは94%以上、さらに好ましくは96%以上である。

[0023] 本発明の組成物のpHは、当該組成物中でBHTに対するアピゲニンの質量比が1以上に調整されている場合、特に限定されず、7以上（例えばpH 7.0、pH 7.0以上、またはpH 7.0より高い）であっても7未満（pH 7.0より低い）であってもよい。それ以外の場合、本発明の組成物のpHは7未満に調整されていればよい。本発明の組成物のpHは、上記の範囲内で、当該組成物の用途等に応じて適宜調整すればよい。

本発明の組成物のpH値は、好ましくは7未満であり、より好ましくは6.8以下であり、なお好ましくは6.5以下であり、pH 4～6.5の範囲内がさらに好ましい。組成物のpHは、pH調整剤によって調整することができる。pH調整剤としては、通常使用されるものであれば特に限定されないが、例えば、塩酸、硫酸、硝酸、炭酸、リン酸等の無機酸類；クエン酸、酢酸、乳酸、コハク酸、グリコール酸、アスコルビン酸、リンゴ酸、フマル

酸、酒石酸、尿素、 $\epsilon$ -アミノカプロン酸、ピロリドンカルボン酸等の有機酸類；グリシンベタイン、リジンベタイン等のベタイン類；金属水酸化物等の無機アルカリ類；グアニジン、2-アミノ-2-メチルプロパン等の有機アミン類；アンモニア、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、イソプロパノールアミン、ジイソプロパノールアミン等のアルカノールアミン；アルギニン、リジン等の塩基性アミノ酸等、およびこれらの組み合わせが挙げられる。

[0024] 本発明において組成物中にアピゲニンを安定に維持させる際に、組成物中のアピゲニン及びBHTの含有量（絶対量）は特に限定されず、組成物の剤型、用途等に応じて適宜調整すればよい。例えば、アピゲニンの含有量は組成物の全質量に対して1質量ppm以上であればよく、好ましくは3質量ppm以上、より好ましくは5～50質量ppm、さらにより好ましくは7～25質量ppmである。BHT含有量は、例えば組成物の全質量に対して0.001～500質量ppm、好ましくは0.01～10質量ppmの範囲であればよい。本発明の組成物の製造にアピゲニン含有抽出物を使用する場合、最終組成物中のアピゲニン含有量が上記範囲内になるように、適切な量の抽出物を本発明の組成物に配合する。

[0025] 本発明の組成物は、上述したアピゲニン、BHTやpH調整剤以外にも、組成物の剤型、用途等にあわせて他の有効成分、又は任意の添加剤を適切な量で添加することができる。添加剤としては、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、希釈剤、浸透圧調整剤、乳化剤、防腐剤、安定剤、酸化防止剤、着色剤、紫外線吸収剤、保湿剤、増粘剤、光沢剤、活性増強剤、抗炎症剤、殺菌剤、香料、矯味剤、矯臭剤等が挙げられる。他の有効成分としては、例えば化粧品組成物の場合、アピゲニン以外の有効成分、例えば、保湿剤、美白剤、紫外線保護剤、細胞賦活剤、洗浄剤、角質溶解剤、メイクアップ成分（例えば、化粧下地、ファンデーション、おしろい、パウダー、チーク、口紅、アイメイク、アイブロウ、マスカラ、その他）等の他の美容・化粧品成分を含有することができる。

[0026] 本発明の組成物は、医薬品、医薬部外品、化粧品等、あるいはそれらの原料として利用することができる。組成物の形態は、その用途に応じて任意に選択される。例えば、医薬品、医薬部外品の場合、錠剤、丸剤、カプセル、液剤、シロップ、粉末、顆粒等の経口投与用の形態、注射、輸液、経皮、経粘膜、経鼻、経腸、吸入、坐剤、ポーラス等のための液剤、乳剤、懸濁剤等の非経口投与用の形態、ならびにクリーム、ローション、ジェル、シート、パッチ、スティック等の局所投与用の形態が挙げられる。組成物を化粧品とする場合の形態としては、クリーム、乳液、ローション、懸濁液、ジェル、パウダー、パック、シート、パッチ、スティック、ケーキ等、化粧品に使用され得る任意の形態が挙げられる。

[0027] 本発明によれば、組成物に含まれるBHTとアピゲニンとの付加体形成が抑制されるため、組成物中のアピゲニンは安定に維持される。したがって、本発明によれば、有効成分であるアピゲニンを安定的に含有し、結果としてアピゲニンの効果を最大限に発揮する組成物を提供することができる。本発明によって提供される組成物においては、アピゲニンが有する作用（例えば、ウレアーゼ活性阻害作用、抗酸化作用、メラニン生成促進作用、抗炎症作用、色素沈着抑制作用、または美白作用）が低下することなく安定に維持され、結果として当該組成物は優れた効果を発揮する。

## 実施例

[0028] 以下の参考例、実施例に基づき本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの内容に限定されるものではない。以下において、ppmは質量ppmを表す。

[0029] 実施例1 組成物中でのアピゲニンの安定性評価

ローマカミツレ20gを50%ブタンジオール200mLで、室温下、7日間抽出した後、ろ過し、ローマカミツレエキス155mLを得た。抽出液1mL当りの蒸発残分は18.6mg、アピゲニン量は305ppmであった。このエキスを、以降の実験でアピゲニン含有抽出物として利用した。

[0030] 下記表1の処方に従って異なるpH条件の溶液を作製した。各pH条件の

溶液に、BHTを各々0、1、10、100、及び500 ppm添加し、試験溶液（アピゲニン最終濃度 約9 ppm）を作製した。各試験溶液を−5℃及び50℃の条件下で1ヶ月間保存した後、溶液中のアピゲニン量を、HPLC（ジールサイエンス社製 イナートシルODS3（内径3.0mm、長さ150mm、粒子径5μm）；溶離液 50% 25mMリン酸二水素カリウム水溶液／50%メタノール；カラム温度 40度；検出 UV340nm）で定量した。−5℃でのアピゲニン量に対する50℃でのアピゲニン量の比をアピゲニン残存率として求めた。

[0031] [表1]

	(mL)			
	pH6	pH6.5	pH7	pH8
0.1M Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 水溶液	9.80	11.48	12.78	15.09
0.1M クエン酸水溶液	5.72	4.04	2.74	0.43
EtOH	15.52	15.52	15.52	15.52
ローマカミツレエキス (アピゲニン含有抽出物)	0.96	0.96	0.96	0.96
合計	32	32	32	32

[0032] 結果を下記表2に示す。アピゲニンとBHTの質量比が約1未満（BHT 10 ppm以上）、且つpH7以上の条件では、アピゲニン残存率は低下しており、アピゲニンとBHTとの付加体形成が進行したことが示された。一方、アピゲニンとBHTの質量比が約1以上の場合、又は溶液のpHが7未満の場合は、付加体形成が起こらず、長期保存の後にも高い残存率が維持された。すなわち、溶液中のアピゲニンとBHTの質量比を1以上にすること、又は溶液のpHを7未満に調整することで、アピゲニンを良好に保持することができることが示された。

[0033]

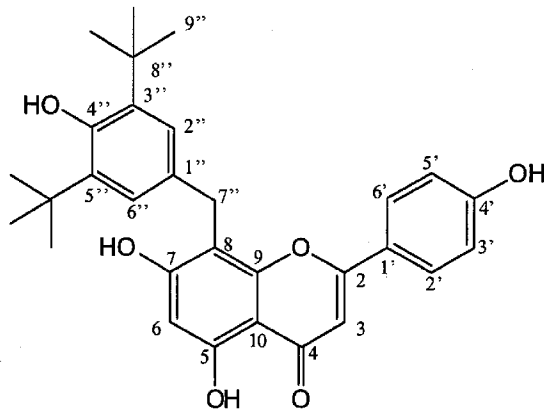
[表2]

アピゲニン残存率（50℃でのアピゲニン量／-5℃でのアピゲニン量）

	pH6	pH6.5	pH7	pH8
BHT 0ppm	103%	100%	96%	98%
BHT 1ppm	102%	94%	96%	99%
BHT 10ppm	98%	98%	98%	91%
BHT 100ppm	96%	96%	82%	73%
BHT 500ppm	96%	99%	35%	11%

[0034] アピゲニン残存率が低下した試験溶液では、下記式のアピゲニンとBHTとの付加体が形成されていた。

[0035] [化2]



[0036]

[表3]

## HPLC 精製した付加体の NMR 解析結果

	1H				13C
	$\delta$ (ppm)	Integ	Peak	J (Hz)	$\delta$ (ppm)
1					
2					165.5
3	6.69	1	s		102.4
4					181.7
5					159.2
6	6.28	1	s		98.8
7					163.4
8					107.2
9					154.5
10					102.8
1'					121.2
2', 6'	7.87	2	d	8.8	128.3
3', 5'	6.89	2	d	8.8	116.0
4'					161.5
1''					132.1
2'', 6''	7.13	2	s		124.4
3'', 5''					139.0
4''					151.7
7''	3.94	2	s		27.9
8''					34.4
9''	1.24	18	s		30.3

(Bruker AV600 溶媒 : DMSO-d6)

[0037] 参考例 アピゲニンの美白効果

(試験サンプルの調製)

実施例 1 で調製したローマカミツレエキスを用いて、表 4 に示す組成の試験サンプルを作製し、アピゲニンの美白効果を評価した。

[0038]

[表4]

成分 (質量%)	試験品		比較品 (プラセボ)
	1	2	1
ローマカミツレエキス (アピゲニン濃度 ppm)	5 (15)	1 (3)	0 (-)
エタノール	50	50	50
1,3-Butylene Glycol	25	25	25
イオン交換水	残量	残量	残量

[0039] (美白効果評価)

健常男女被験者 10 名の上腕内側部の皮膚の色を色差計 (株式会社村上色彩研究所製 CMS-35FS) により測定し、得られたマンセル値から初期 L\*値を算出した。皮膚色を測定した部位の皮膚に、東芝株式会社製 FS-20SE ランプを用いて、最小紅斑量の 2 倍量 (2MED) の UV-B 領域の紫外線を単回照射した。その後、1 日 2 回、3 週間、同じ部位にサンプル (試験品 1、2、比較品 1) を連続塗布した。色差計により再度皮膚色の測定を行い、得られたマンセル値から L\*値を算出した。試験品 1、2 及び比較品 1 塗布部皮膚の L\*値の初期値に対する変化量 ( $\Delta L^*$ ) を算出した。各サンプルについて、 $\Delta L^*$  値の平均値 (n = 10) を計算した。試験品 1、2 塗布部皮膚の  $\Delta L^*$  値平均値と比較品 1 塗布部皮膚の  $\Delta L^*$  値平均値とで対応のある t 検定を行うことにより危険率 (p 値) を求、美白評価の指標とした。結果を表 5 に示す。

[0040] [表5]

	試験品		比較品 (プラセボ)
	1	2	1
3 週間後の $\Delta L^*$ 値平均値	3.491	3.54	3.752
比較例との t 検定危険率	p=0.0178	p=0.0954	

[0041] 表 2 の結果より、5 質量%ローマカミツレ抽出物配合品 (アピゲニン 15 ppm 含有) は、比較品 (プラセボ) と比較して有意な  $\Delta L^*$  値の抑制効果が

認められ、美白効果に優れていることが示された。1質量%ローマカミツレ抽出物配合品（アピゲニン3ppm含有）の場合でも、比較品（プラセボ）と比較して $\Delta L^*$ 値の抑制傾向が認められ、美白効果が示唆された。

[0042] 調製実施例 美白組成物

以下の組成のpH6の化粧水を作成した。

(組成)	(配合：質量%)
ローマカミツレエキス	5
エタノール	20
1,3-Butylene Glycol	25
BHT	0.001
精製水	バランス

## 請求の範囲

- [請求項1] 3 ppm以上のアピゲニンとジブチルヒドロキシトルエンとを含有し、且つジブチルヒドロキシトルエンに対するアピゲニンの質量比が1以上であるか又はpHが7未満であることを特徴とする組成物。
- [請求項2] 美白用組成物である請求項1記載の組成物。
- [請求項3] pHが6.8以下である請求項1記載の組成物。
- [請求項4] pHが6.5以下である請求項3記載の組成物。
- [請求項5] 50°Cの条件下で1ヶ月間保存した後のアピゲニン残存率が91%より大きい、請求項1～4のいずれか1項記載の組成物。
- [請求項6] 3 ppm以上のアピゲニンとジブチルヒドロキシトルエンとを配合することと、ジブチルヒドロキシトルエンに対するアピゲニンの質量比が1以上となるように調整するか又は組成物のpHを7未満に調整することとを特徴とするアピゲニン含有組成物の製造方法。
- [請求項7] 組成物が美白用組成物である請求項6記載の方法。
- [請求項8] ジブチルヒドロキシトルエンに対するアピゲニンの質量比が1以上となるように調整するか又は組成物のpHを7未満に調整することによって、当該組成物中でアピゲニンが安定に維持される、請求項6記載の方法。
- [請求項9] pHが6.8以下である請求項6～8のいずれか1項記載の方法。
- [請求項10] pHが6.5以下である請求項9記載の方法。
- [請求項11] アピゲニンとジブチルヒドロキシトルエンとを含有する組成物において、ジブチルヒドロキシトルエンに対するアピゲニンの質量比を1以上に調整するか又は組成物のpHを7未満に調整することを特徴とするアピゲニンの安定化方法。
- [請求項12] pHが6.8以下である請求項11記載の方法。
- [請求項13] pHが6.5以下である請求項12記載の方法。
- [請求項14] 50°Cの条件下で1ヶ月間保存した後の組成物中におけるアピゲニン残存率が91%より大きい、請求項11～13のいずれか1項記載

の方法。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/003680

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K8/49(2006.01)i, A61K8/34(2006.01)i, A61K31/353(2006.01)i, A61K47/10  
(2006.01)i, A61Q19/02(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)

A61K8/49, A61K8/34, A61K31/353, A61K47/10, A61Q19/02

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	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

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

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, Y	JP 2003-505404 A (Alwyn Co., Inc.), 12 February 2003 (12.02.2003), paragraph [0056] & US 6281236 B1 & EP 1202700 A1 & WO 2001/006991 A1	1-14
Y	JP 10-203921 A (Shiseido Co., Ltd.), 04 August 1998 (04.08.1998), paragraph [0023] (Family: none)	1-14
Y	JP 2007-31301 A (Max Co., Ltd.), 08 February 2007 (08.02.2007), paragraphs [0003] to [0005], [0038] (Family: none)	1-14

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 June, 2010 (17.06.10)

Date of mailing of the international search report  
29 June, 2010 (29.06.10)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/003680

**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.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
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:

The invention according to claim 1 relates to a composition comprising a predetermined amount of apigenin and dibutylhydroxytoluene (referred to as "BHT", hereinbelow) wherein a) the ratio of the amount of apigenin to the amount of BHT is 1 or more by mass, or a composition comprising the above-mentioned compounds wherein b) the composition has a pH value of lower than 7. However, a composition comprising a predetermined amount of apigenin and BHT is known at the time of filing the present application (see JP 2003-505404 A, JP 10-203921, etc.), and therefore there is no common special technical feature between the matters mentioned in items a) and b). (Similar comments apply to claims 6  
(continued to extra sheet)

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/JP2010/003680

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet (2)

and 11).

Consequently, the present application does not comply with the requirement of unity of invention.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
 Int.Cl. A61K8/49(2006.01)i, A61K8/34(2006.01)i, A61K31/353(2006.01)i, A61K47/10(2006.01)i, A61Q19/02(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 (IPC))  
 Int.Cl. A61K8/49, A61K8/34, A61K31/353, A61K47/10, A61Q19/02

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 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2010年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2010年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2010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. 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, Y	JP 2003-505404 A (アルウィン カンパニー, インコーポレイテッド) 2003.02.12, 【0056】 & US 6281236 B1 & EP 1202700 A1 & WO 2001/006991 A1	1-14
Y	JP 10-203921 A (株式会社資生堂) 1998.08.04, 【0023】 (ファミリーなし)	1-14
Y	JP 2007-31301 A (株式会社マックス) 2007.02.08, 【0003】 - 【0005】【0038】 (ファミリーなし)	1-14

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、一般的な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 17.06.2010	国際調査報告の発送日 29.06.2010
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 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) 小川 知宏 電話番号 03-3581-1101 内線 3468

4Q 3344

## 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（PCT17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 \_\_\_\_\_ 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、
  
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ろの国際調査機関は認めた。

請求項1に係る発明は、所定量のアピゲニンとジブチルヒドロキシトルエン（以下BHTとする）とを含有し、かつa) BHTに対するアピゲニンの質量比が1以上の組成物、又はb) pHが7未満の組成物であるが、所定量のアピゲニンとBHTとを含有する組成物は出願時に公知であり（JP2003-505404 A, JP 10-203921 等参照）、結果前記a), b) に共通する特別な技術的特徴は存在しない（請求項6, 11についても同様）。したがって、本願は発明の単一性の要件を満足しない。

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ため、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ため、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。