

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5192110号  
(P5192110)

(45) 発行日 平成25年5月8日 (2013.5.8)

(24) 登録日 平成25年2月8日 (2013.2.8)

(51) Int. Cl.

F I

<b>A 6 1 K</b>	<b>31/7034</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 K</b>	<b>31/7034</b>
<b>A 6 1 K</b>	<b>8/35</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 K</b>	<b>8/35</b>
<b>A 6 1 K</b>	<b>8/365</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 K</b>	<b>8/365</b>
<b>A 6 1 K</b>	<b>8/37</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 K</b>	<b>8/37</b>
<b>A 6 1 K</b>	<b>8/49</b>	<b>(2006.01)</b>	<b>A 6 1 K</b>	<b>8/49</b>

請求項の数 20 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-84030 (P2002-84030)  
 (22) 出願日 平成14年3月25日 (2002.3.25)  
 (65) 公開番号 特開2002-322067 (P2002-322067A)  
 (43) 公開日 平成14年11月8日 (2002.11.8)  
 審査請求日 平成17年3月25日 (2005.3.25)  
 審判番号 不服2009-21208 (P2009-21208/J1)  
 審判請求日 平成21年11月2日 (2009.11.2)  
 (31) 優先権主張番号 0103968  
 (32) 優先日 平成13年3月23日 (2001.3.23)  
 (33) 優先権主張国 フランス (FR)

(73) 特許権者 309010209  
 ディアナ・アングレディアン  
 DIANA INGREDIENTS  
 フランス56250サン・ノルフ、タルウ  
 エ  
 (74) 代理人 100081422  
 弁理士 田中 光雄  
 (74) 代理人 100084146  
 弁理士 山崎 宏  
 (74) 代理人 100156122  
 弁理士 佐藤 剛  
 (72) 発明者 ダヴィッド・ゴードゥ  
 フランス、エフ-35300フージュール  
 、ラ・メゾン・ヌーヴ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 フロリジン-リッチなフェノール性画分および化粧剤、食餌療法剤またはニュートラシューティカル剤としてのその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

総ポリフェノールに対して少なくとも10重量%のフロリジン、およびクロロゲン酸、エピカテキン、プロシアニジン B 2 およびクエルシトリンよりなる群から選択される1またはそれを超えるものを含む少なくとも20重量%のポリフェノールを含むバラ科 (Rosa cea) 植物の成熟リンゴ果実から得た画分であって、ここに該画分が

(i) 粉砕した成熟リンゴで出発し、

(ii) 1またはそれを超える固/液抽出を行い、ついで

(iii) その固形エクストラクトを乾燥させ、その後、さらに有機溶媒での抽出を行ってポリフェノール性画分を得る

ことを含む調製方法によって調製される該画分。

【請求項 2】

総ポリフェノールに対して10ないし70重量%のフロリジンを含む請求項1記載の画分。

【請求項 3】

p - クマル酸を含有する請求項1または2記載の画分。

【請求項 4】

フロレチンを含む請求項1ないし3いずれか1項記載の画分。

【請求項 5】

ジヒドロカルコン (フロリジンおよびフロレチン) がヒドロキシケイ皮酸 (コーヒー酸

、クロロゲン酸および p - クマル酸 ) に対して 40 重量 % 以上の比率で存在する請求項 1 ないし 3 いずれか 1 項記載の画分。

【請求項 6】

総ポリフェノールに対して少なくとも 10 重量 % のフロリジン、およびクロロゲン酸、エピカテキン、プロシアニジン B 2 およびクエルシトリンよりなる群から選択される 1 またはそれを超えるものを含む少なくとも 20 重量 % のポリフェノールを含むバラ科 (Rosa cea) 植物の成熟リンゴ果実から得た画分であって、ここに該画分が

( i ) 粉碎した成熟リンゴで出発し、

( ii ) 1 またはそれを超える固 / 液抽出を行い、ついで

( iii ) その固形エクストラクトを酵素的に液化して液体エクストラクトを得、ついでそれをクロマトグラフィーによって処理してポリフェノール性画分を得る

ことを含む調製方法によって調製される該画分。

【請求項 7】

総ポリフェノールに対して 10 ないし 70 重量 % のフロリジンを含む請求項 6 記載の画分。

【請求項 8】

p - クマル酸を含有する請求項 6 または 7 記載の画分。

【請求項 9】

フロレチンを含有する請求項 6 ないし 8 いずれか 1 項記載の画分。

【請求項 10】

ジヒドロカルコン (フロリジンおよびフロレチン) がヒドロキシケイ皮酸 (コーヒー酸、クロロゲン酸および p - クマル酸) に対して 40 重量 % 以上の比率で存在する請求項 6 ないし 9 いずれか 1 項記載の画分。

【請求項 11】

請求項 1 ないし 5 いずれか 1 項記載の画分を含むニュートラシューティカル組成物。

【請求項 12】

請求項 6 ないし 10 いずれか 1 項記載の画分を含むニュートラシューティカル組成物。

【請求項 13】

請求項 1 ないし 5 いずれか 1 項記載の画分を含む、紫外線に対する保護用の剤。

【請求項 14】

請求項 6 ないし 10 いずれか 1 項記載の画分を含む、紫外線に対する保護用の剤。

【請求項 15】

請求項 1 ないし 5 いずれか 1 項記載の画分を含む抗オキシダント組成物。

【請求項 16】

請求項 6 ないし 10 いずれか 1 項記載の画分を含む抗オキシダント組成物。

【請求項 17】

請求項 1 ないし 5 いずれか 1 項記載の画分を含有する化粧組成物。

【請求項 18】

請求項 6 ないし 10 いずれか 1 項記載の画分を含有する化粧組成物。

【請求項 19】

総ポリフェノールに対して少なくとも 10 重量 % のフロリジン、およびクロロゲン酸、エピカテキン、プロシアニジン B 2 およびクエルシトリンよりなる群から選択される 1 またはそれを超えるものを含む少なくとも 20 重量 % のポリフェノールを含むバラ科 (Rosa cea) 植物の成熟リンゴ果実から得た画分を調製する方法であって、粉碎した成熟リンゴで出発し、1 またはそれを超える固 / 液抽出を行い、ついでその固形エクストラクトを乾燥させ、その後、さらに有機溶媒での抽出を行ってポリフェノール性画分を得ることを特徴とする該方法。

【請求項 20】

総ポリフェノールに対して少なくとも 10 重量 % のフロリジン、およびクロロゲン酸、エピカテキン、プロシアニジン B 2 およびクエルシトリンよりなる群から選択される 1 ま

10

20

30

40

50

たはそれを超えるものを含む少なくとも20重量%のポリフェノールを含むバラ科(Rosaceae)植物の成熟リンゴ果実から得た画分を調製する方法であって、粉碎した成熟リンゴで出発し、1またはそれを超える固液抽出を行い、ついでその固形エクストラクトを酵素的に液化して液体エクストラクトを得、ついでそれをクロマトグラフィーによって処理してポリフェノール性画分を得ることを特徴とする該方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、果物からのフェノール画分およびこの画分を得る方法に関する。このエクストラクトは抗オキシダント化合物、フロリジンに富み、化粧、食餌療法またはニュートラシューティカル調製物として使用し得る。

【0002】

【従来の技術】

ポリフェノール性化合物は植物界に比較的広範にかつ多量に存在することが知られている。特に、バラ科(Rosaceae)植物においては、リンゴのポリフェノールの分析により少なくとも37のフェノール性化合物が同定されており、そのうち最も豊富に存在するものはクロロゲン酸、プロシアニジンB1およびB2、エピカテキン、フロレチン、フロリジンおよびp-クマル酸である。これらの化合物の幾つかのものは、抗オキシダント、抗突然変異、抗アレルギー、抗癌および抗糖尿病特性などのごとき生理学的特性を有する。

【0003】

多くの他のポリフェノール-リッチな製品が市販されており、最も一般的なものは緑茶、ブドウ種子およびマツ樹皮から抽出されるものである(米国特許第4698360号、EP A348781号、EP A283349号、FR A1427100号、FR A2092743号、FR A2643073号およびFR A2372823号)。特許EP A0657169号は、バラ科植物の未熟果実からのポリフェノール画分の抽出をすでに開示している(3ないし10g計量)。かく定義されるポリフェノール性画分は、多量のヒドロキシケイ皮酸族(クロロゲン酸、コーヒー酸、およびp-クマル酸)の誘導体およびフラボノール族(カテキン、エピカテキンおよびプロシアニジン)からの分子の誘導体を含むことによって特徴付けられる。未熟果実の果汁から得たエクストラクトの高速液体クロマトグラフィーによる分析は、フロリジンは総フェノール性化合物の7重量%未満を表し、9%未満のジヒドロカルコン(フロリジンおよびフロレチン)を表すことを示している。

【0004】

フェノール性化合物の中では、フロレチンおよびそのグリコシル化誘導体、フロリジンがリンゴおよびバラ科植物の他の果実の典型的なものである。特に、フロリジンは種子中に多量に見出されるが、リンゴ果汁および果皮中にも存在する。フロリジンは抗オキシダント活性を有し、エストロゲンに類似する心血管保護を許容する。さらに、フロリジンはチロシナーゼを含む酵素のカスケードを活性化することによってメラニン形成に作用することができ、したがって、紫外線に対する高い保護を許容する。フロリジンは、グルコース、ガラクトースなどのごとき代謝物のナトリウム依存性血液輸送を競合的に阻害することによって、抗糖尿病作用も有する。フロリジンは、プロテインキナーゼCの活性をブロックすることによって腫瘍細胞の増殖を阻害することにも関与する。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、リンゴ(ホモジネートまたは果汁)中には、他のポリフェノールに対してジヒドロカルコン(フロレチンおよびフロリジン)は少量しか存在しない。クロロゲン酸およびプロシアニジンは、ジュース用リンゴであるか生食用リンゴであるかにかかわらず、リンゴ中の主要ポリフェノールであり、フロリジンおよびフロレチンが成熟ジュース用リンゴの総ポリフェノールの5重量%を超えて表されることはない(15の異なる品種の分析)(図1および2)。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 0 6 】

公知のポリフェノール性エクストラクトにおいては、種々の出発物質中に存在する比率と比較して種々のフェノール性分子間の比率が保存されているが、抽出の間に消失するかまたは分解するポリマー性プロシアニジンに関しては例外である。

## 【 0 0 0 7 】

したがって、ヒドロキシケイ皮酸（コーヒー酸、クロロゲン酸およびクマル酸）およびフラボノール（カテキン、エピカテキンおよびプロシアニジン）には富むが、ジヒドロカルコン（フロリジンおよびフロレチン）に乏しいポリフェノール性エクストラクトが慣用的に得られている（図3を参照されたい）。

## 【 0 0 0 8 】

## 【表1】

フェノール性化合物	リンゴ* ジュースのmg/Lまたは ホモジネートのkg	リンゴの公知ポリフェノール性 エクストラクト (粉末のmg/g)
コーヒー酸	ε	21.7
カテキン	ε ないし 150	15.1
クロロゲン酸	60 ないし 1200	161.0
プロシアニジン	500 ないし 5000	69.6 (B <sub>1</sub> および B <sub>2</sub> )
p-クマル酸	1 ないし 150	9.3
エピカテキン	ε ないし 1400	41.4
フロリジン	6 ないし 100	32.7
ケルシトリン	ε	1.9
フロレチン	5 ないし 100	9.5
総ポリフェノール (フロリジン等価として表す)		483.4

## 【 0 0 0 9 】

= 定量不可能な量

\* = 3 回収集した 15 品種のジュース用リンゴおよび 3 品種の生食用リンゴに対する測定から収集した値

## 【 0 0 1 0 】

Karadeniz F & Ekski A. Phenolic compounds in apple juice from different varieties. Report-Scientific Technical Com. Int. Fed. Fruit Juice Producers, (1996), 24, pp. 265-275.

Sanoner P., Guyot S., Marnet N. and Drilleau J. F. Polyphenolic profiles of French cider apples varieties. In "Polyphenols, wines and health", symposium, Bordeaux (14-16 April, 1999).

Sasoner P., Guyot S., Marnet N. Molle D. and Drilleau J. F. Polyphenol profiles of French cider apples varieties. J. Agric. Food Chem. (1999), 47, pp. 4847-4853.

## 【 0 0 1 1 】

リンゴには、たとえ存在するとしても非常に少量のコーヒー酸しか天然に存在しない。おそらく、実際は、コーヒー酸はクロロゲン酸の分解産物である（Fiedler, 1954, Arzneimittel-Forsch, 4, 41）。

## 【 0 0 1 2 】

## 【課題を解決するための手段】

本出願人は、本発明の主題をなす新規なフェノール性画分を開発した。

すなわち、本発明は、その第1の態様として、総ポリフェノールに対して少なくとも 10

10

20

30

40

50

重量%のフロリジンを含む少なくとも20%のポリフェノールを含むことによって特徴付けられるバラ科の果実から得た画分を提供する。

また、本発明は、その第2の態様として、総ポリフェノールに対して10ないし70重量%のフロリジンを含むことによって特徴付けられる第1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第3の態様として、クロロゲン酸を含有することによって特徴付けられる第1または第2の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第4の態様として、クロロゲン酸の重量に対するフロリジンの重量比が1以上である第1ないし第3いずれか1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第5の態様として、エピカテキンを含有することによって特徴付けられる第1ないし第4いずれか1の態様の画分を提供する。

10

また、本発明は、その第6の態様として、プロシアニジンB2を含有することによって特徴付けられる第1ないし第5いずれか1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第7の態様として、エピカテキンの重量に対するフロリジンの重量比が9よりも大きいことを特徴とする第1ないし第6いずれか1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第8の態様として、クエルシトシンを含有することによって特徴付けられる第1ないし第7いずれか1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第9の態様として、p-クマル酸を含有することによって特徴付けられる第1ないし8いずれか1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第10の態様として、コーヒー酸の重量に対するフロリジンの重量比が4よりも大きくなるような量のコーヒー酸を含有することによって特徴付けられる第1ないし第9いずれか1の態様の画分を提供する。

20

また、本発明は、その第11の態様として、コーヒー酸の重量比が総ポリフェノールの1%未満を表すことによって特徴付けられる第10の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第12の態様として、フロレチンを含有することによって特徴付けられる第3ないし第11いずれか1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第13の態様として、ジヒドロカルコン(フロリジンおよびフロレチン)がヒドロキシケイ皮酸(コーヒー酸、クロロゲン酸およびp-クマル酸)に対して40重量%よりも大きい比率で存在することによって特徴付けられる第3ないし第11いずれか1の態様の画分を提供する。

30

また、本発明は、その第14の態様として、少なくとも10%のフロリジン、クロロゲン酸、エピカテキン、プロシアニジンB2、クエルシトリン、p-クマル酸およびコーヒー酸を含む少なくとも20重量%の総ポリフェノールを含有することによって特徴付けられる第1ないし第13いずれか1の態様の組成物を提供する。

また、本発明は、その第15の態様として、50重量%を超える総ポリフェノールを含有することによって特徴付けられる第1ないし第14いずれか1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第16の態様として、粉末化形態であることによって特徴付けられる第1ないし第15いずれか1の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第17の態様として、粉末1g当りに少なくとも10%のフロリジン含有することによって特徴付けられる第16の態様の画分を提供する。

40

また、本発明は、その第18の態様として、粉末1g当りに10ないし70%のフロリジン含有することによって特徴付けられる第16の態様の画分。

また、本発明は、その第19の態様として、粉碎したリンゴで出発し、1またはそれを超える固/液抽出を行い、ついでその固形エクストラクトを乾燥させ、その後、さらに有機溶媒での抽出を行ってポリフェノール性画分を得ることを特徴とする第1ないし第18いずれか1の態様の画分を調製する方法を提供する。

また、本発明は、その第20の態様として、粉碎したリンゴで出発し、1またはそれを超える固/液抽出を行い、ついでその固形エクストラクトを酵素的に液化して液体エクストラクトを得、ついでそれをクロマトグラフィーによって処理してポリフェノール画分を得ることによって特徴付けられる第1ないし第18いずれか1の態様の画分を調製する方法

50

を提供する。

また、本発明は、その第 21 の態様として、固形エクストラクトに対してからるうを除去する (dewaxing) 工程を行うことによって特徴付けられる第 19 または 20 の態様の画分を調製する方法を提供する。

また、本発明は、その第 22 の態様として、最終乾燥を行うことによって特徴付けられる第 19 ないし 21 いずれか 1 の態様の画分を調製する方法を提供する。

また、本発明は、その第 23 の態様として、成熟リンゴの抽出を行うことによって特徴付けられる第 19 ないし第 22 いずれか 1 の態様の画分を調製する方法を提供する。

また、本発明は、その第 24 の態様として、マルス・シルベストリス・ミル (Malus sylvestris Mill) リンゴの抽出を行うことによって特徴付けられる第 19 ないし 23 いずれか 1 の態様の方法を提供する。

また、本発明は、その第 25 の態様として、第 19 ないし第 24 いずれか 1 の態様の方法によって得ることができることによって特徴付けられる第 1 ないし第 18 いずれか 1 の態様の画分を提供する。

また、本発明は、その第 26 の態様として、第 1 ないし第 18 および第 25 いずれか 1 の態様の組成物を含む食餌療法またはニュートラシューティカル組成物を提供する。

また、本発明は、その第 27 の態様として、紫外線に対する保護剤としての、第 1 ないし第 18 および第 25 いずれか 1 の態様の画分の使用を提供する。

また、本発明は、その第 28 の態様として、抗オキシダントとしての、第 1 ないし第 18 および第 25 いずれか 1 の態様の画分の使用を提供する。

さらに、本発明は、その第 1 ないし第 18 および第 25 いずれか 1 の態様の画分を含有することによって特徴付けられる化粧組成物を提供する。

他の目的に関しては、下記の発明の詳細な説明および実施例から明らかになるであろう。

#### 【0013】

#### 【発明の実施の形態】

本発明によるポリフェノール性画分は、少なくとも 20 重量%、好ましくは 50 重量%のポリフェノールを含み、そのうちの少なくとも 10 重量%、好ましくは 10 ~ 70 重量%はフロリジンからなる。このエクストラクトは、クロロゲン酸、エピカテキン、プロシアニジン B2、クエルシトリン (quercitrin) p - クマル酸およびフロレチンをもその組成物中に含み得る。

特に好ましいこのポリフェノール性画分である 1 の組成物は：重量%で

- 20 重量%、好ましくは 50 重量%を超える総ポリフェノール
- フロリジンとして少なくとも 30 重量%、好ましくは 30 ~ 40 重量%のポリフェノール

- クロロゲン酸として 11 重量%以下、好ましくは 2 ~ 11 重量%のポリフェノール

- エピカテキンとして 4 重量%以下のポリフェノール

- プロシアニジン B2 として 2 重量%以下のポリフェノール

クエルシトリンとして 1.5 重量%以下のポリフェノール

- p - クマル酸として 0.4 重量%以下のポリフェノール、および

- コーヒー酸として 0.2 重量%未満のポリフェノール

を含む。

#### 【0014】

本発明のもう 1 の主題は、コーヒー酸が、存在するフロリジンの 20 重量%未満の重量比率で存在するものである。好ましくは、コーヒー酸はエクストラクト中の総ポリフェノールの 1 重量%未満を表す。フロリジンの比率はカテキンのものよりも重量で 9 倍大きい。存在するフロリジンの量はクロロゲン酸のものと少なくとも等しい重量である。

#### 【0015】

本発明のもう 1 の主題は、それがフロレチンを含有することによって特徴付けられる。酸加水分解を制御することにより、実質的に全てのフロリジンをより水溶性が低いフロレチンに変換し得る。

## 【 0 0 1 6 】

もう1の主題は、ジヒドロカルコンがヒドロキシケイ皮酸に対して40重量%以上の比率で存在することによって特徴付けられる。

成熟リンゴからジヒドロカルコン - リッチなポリフェノール性画分を選択的に抽出する抽出方法は、以下の工程を含むことによって特徴付けられる：

・破碎したリンゴを、添加した水の存在または不存在下で、1またはそれを超える固/液抽出に付す。

・ついで、得られた湿固形エクストラクトを乾燥するかまたは酵素的に液化して、液体エクストラクトを得る。

・乾燥固形エクストラクトを、純粋または水との混合液としての極性有機溶媒、好ましくはC1 - C4脂肪族アルコールを用いる10分間ないし2時間にわたるさらなる抽出に付して、有機エクストラクトを得る。

・この有機エクストラクトを、好ましくは減圧下にて、60以下の温度にて蒸発乾固させる。

・ついで、この残渣を水に採り、その後それを、数回、好ましくは4回、水 - 非混和性溶媒、好ましくは酢酸エチル、酢酸メチルまたは酢酸プロピルを用いて奪う。

・得られた有機溶液を一緒に混合し、60未満、好ましくは50未満の温度にて蒸発乾固させて本発明の主題であるポリフェノール性画分を得る。

・もう1の経路を介して、湿潤固形エクストラクトを酵素混合物の存在下、30ないし50、好ましくは40ないし45の温度にて1ないし4時間、水と混合して液体エクストラクトを得る。

・この液体抽出物を遠心または濾過、ついで限外濾過によって清澄化する。

・そのエクストラクトを、スチレン - ジビニルベンゼン型の吸着樹脂を充填したクロマトグラフィー・カラムに負荷する。その樹脂を酸性化した水で洗浄して不純物および残渣糖を除去する。ついで、ポリフェノールを、40ないし70重量%、好ましくは50ないし60重量%のエタノールを含有するアルコール水溶液で溶出する。メタノールおよびブタノールのごとき他のC1 - C4脂肪族アルコールも用い得る。

・必要なら、当該方法の間からろうを除去する工程を導入する。

・抽出によって得た生成物を最後に水に採り、ついで好ましくは噴霧乾燥または凍結乾燥によって乾燥させて、少なくとも20重量%のポリフェノール、好ましくは50重量%を超えるポリフェノールを含有するベージュ色の粉末を得る。このポリフェノールの10重量%、好ましくはポリフェノールの10ないし70%はジヒドロカルコン、好ましくはフロリジンである。

## 【 0 0 1 7 】

画分は、上記の方法によって、好ましくはバラ科植物の成熟リンゴ、詳細にはマルス・シルベストリス・ミル (*Malus sylvestris* Mill) から得る。

前述の特徴を有し、前記の方法に従って得た食用リンゴのこのエクストラクトは、食餌療法またはニュートラシューティカル補助剤として使用し得る。

本発明によるジヒドロキシカルコン - リッチなフェノール性画分は、紫外線に対する保護用の剤としての特性を有する。

本発明によるジヒドロカルコン - リッチなフェノール性画分は抗オキシダント特性を有する。

本発明の主題は、とりわけ前記のジヒドロキシカルコン - リッチなポリフェノール性画分を含む化粧組成物でもある。

本発明による組成物は、摂食するかまたは皮膚に適用し得る。投与の様式に従って、本発明による組成物は化粧品において通常用いられるいずれの形態でも存在し得る。

本発明による組成物は、とりわけ、ゲルカプセル剤、ミルク、ローション、クリーム、ゲルまたは飲料の形態で存在し得る。

## 【 0 0 1 8 】

本発明のニュートラシューティカル、食餌療法または化粧組成物は、それらが意図する適

10

20

30

40

50

用に従って慣用的に処方される。

以下の実施例は本発明を説明するものであって、如何なる場合においてもそれを限定するものではない。

【 0 0 1 9 】

【実施例】

実施例 1：リンゴのポリフェノール性画分を抽出するためのプロトコール No. 1

種マルス・シルベストリス・ミルのリンゴを以下の抽出処理に付した；

リンゴを粉碎し、そのホモジネートを約 20 重量 % の水の存在下で攪拌する。

・第 2 の工程からのいまだ湿潤形態である固形エクストラクトを乾燥させ、ついで 90 / 10 の重量比率のメタノール / 水混合液中で 2 時間処理する。

・その有機エクストラクトを減圧下、約 50 の温度にて蒸発乾固する。

・その蒸発残渣を水に採り、ついで得られた水溶液を酢酸エチル、水 - 非混和性溶媒で 4 回奪う。

・得られた有機溶液を一緒に混合し、約 45 の温度にて蒸発させて乾燥エクストラクトを得る。

・乾燥エクストラクトを最後に採集乾燥用の水に採り、好ましくは噴霧乾燥または凍結乾燥によって微細なベージュ色の部分水溶性の粉末を得る。

【 0 0 2 0 】

その純粋標準に対する各分子の濃度の高速液体クロマトグラフィーによって得たこのエクストラクトのポリフェノール性組成は以下のとおりである（図 4）。

かくして、各エクストラクトにおいて、以下の濃度が測定された：

【 0 0 2 1 】

【表 2】

フェノール性化合物	本発明によるポリフェノール性 エクストラクト (mg/g)
総ポリフェノール (フロリジン等価として表す)	492.1
フロリジン	196.2
クロロゲン酸	55.0
エピカテキン	20.8
プロシアニジン B 2	11.3
ケルシトリン	7.9
p-クマル酸	2.3
コーヒー酸	<1

【 0 0 2 2 】

この抽出方法によって得たフェノール性画分は特にフロリジンに富むことが判明した。それは、ヒドロキシ桂皮酸族の酸、より詳細にはクロロゲン酸に乏しいという特徴を有する。それは、フラボノール族の酸（カテキン、エピカテキン、プロシアニジン B 1、B 2 ほか）にも乏しく、それはリンゴについて記載したものととは全体的に異なる元のフェノール性プロフィールに通じ、成熟リンゴを用いて標準的方法によって得たフェノール性プロフィールとは全体的に異なる。

【 0 0 2 3 】

得られた粉末は、標準としてクロロゲン酸を用いて、フォリン - シオカルト比色定量分析法によって、総ポリフェノールの 55 重量 % の力価を有する。この方法は、フォリン - シオカルト試薬を用いる（リファレンス 9001、Merck）。簡単には、この試薬はリント



ングステン酸およびリンモリブデン酸の混合物よりなり、これはフェノールの酸化の間にタングステンおよびモリブデンの青色酸化物の混合物に還元される。発色は存在するフェノール性化合物の含量に比例する。

【 0 0 2 4 】

クロマトグラフィー法および高速液体クロマトグラフィーによって得たプロフィールを統合すると、値をフロリジン等価またはクロロゲン酸等価として表すかに依存して、各々、総ポリフェノールの 4 9 重量%ないし 6 7 重量%の力価を有する。

【 0 0 2 5 】

実施例 2：リンゴのポリフェノール性画分を抽出するためのプロトコル No. 2

種マルス・シルベストリス・ミルのリンゴを以下の抽出処理に付した：

- ・リンゴを破碎し、そのホモジネートを約 2 0 % の水の存在下で攪拌する。
- ・そのホモジネートを一連の固ノ液抽出に付して、糖リッチな液体画分を除去する。
- ・その湿固形エクストラクトを、ペクチン溶解、ヘミセルロース溶解およびセルロース溶解活性に富む酵素混合物の存在下、約 4 5 の温度にて約 2 時間、水と混合して液体エクストラクトを得る。
- ・その液体エクストラクトを遠心または濾過、ついで限外濾過によって清澄化する。
- ・ついで、その清澄液体エクストラクトを、スチレン - ジビニルベンゼン型の吸着樹脂を充填したクロマトグラフィーカラムに負荷する。
- ・その樹脂を酸性化した水で洗浄して、不純物および残渣糖を除去する。
- ・ついで、6 0 重量%のエタノールを含有するアルコール水溶液でポリフェノールを溶出する。
- ・得られたポリフェノール性溶液を濃縮し、ついで噴霧乾燥または凍結乾燥によって乾燥させて微細なベージュ色粉末を得る。

【 0 0 2 6 】

その純粋標準に対する各分子の濃度の高速液体クロマトグラフィー測定によって得たこのエクストラクトのポリフェノール組成は以下のとおりである（図 5）：

【 0 0 2 7 】

【表 3】

フェノール性化合物	本発明によるポリフェノール性 エクストラクト (mg/g)
総ポリフェノール (フロリジン等価として表す)	293.2
フロリジン	36.7
クロロゲン酸	7.5
エピカテキン	1.0
プロシアニジン B 2	ε
クエルシトリン	3.8
p-クマル酸	1.2
コーヒー酸	1.7

【 0 0 2 8 】

得られた粉末は、標準としてクロロゲン酸を用いるフォリン - シオカルト比色定量分析法によって、総ポリフェノールの 5 0 重量%の力価を有する。

この抽出方法によって得たフェノール性画分は特にフロリジンに富むことが判明した。実施例 1 のエクストラクトと同様、この画分は、ヒドロキシ桂皮酸族の酸、より詳細にはクロロゲン酸に乏しいという特徴を有する。それは、フラボノール（カテキン、エピカテキン、プロシアニジン B 1、B 2 ほか）にも乏しい特徴も有し、それはリンゴについて記載

したものとは全体的に異なる元のフェノール性プロフィールに通じ、成熟リンゴを用いて標準的方法によって得たフェノール性プロフィールとは全体的に異なる。

【 0 0 2 9 】

実施例 1 に対して、少量のコーヒー酸が存在し、これは存在するフロリジンの量の 4 重量 % のみを表す。

高速液体クロマトグラフィーによって得たプロフィールを統合すると、値をフロリジン等価またはクロロゲン酸等価として表すかに依存して、各々、総ポリフェノールの 2 9 重量 % ないし 4 0 重量 % の力価を有する。

【 0 0 3 0 】

実施例 3 : リンゴのポリフェノール性画分を抽出するためのプロトコール No . 3

本発明によるフロリジン - リッチなポリフェノール性エクストラクトは、最終乾燥工程の前に修飾し得る。この方法は、鉍酸 ( 約 pH 3 まで希釈した ) 存在下のフロリジン ( フロレチン 2' - - グルコシド ) のフロレチンへの制御された酸加水分解からなる。乾燥後に得られた粉末は、水溶性に乏しい ( 非常に低溶解性のフロレチン ) が、有利な抗オキシダント活性を有する。

【 0 0 3 1 】

実施例 4 : 本発明によるフロリジン - リッチなポリフェノール画分の抗オキシダント ( またはフリーラジカル・スクャベンジング ) 活性

ポリフェノール性エクストラクトのフリーラジカル・スクャベンジング活性の測定は、わずかに修飾した Brand - Williams ら ( 1995 ) および Lu および Foo ( 2000 ) によって記載された DPPH ( 1 , 1 - ジフェニル - 2 - ピクリルヒドラジル ) 方法 ( Brand - Williams W. , Cuvelier, M. E. and Berset C. ( 1995 ) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 28, pp. 25-30. Lu Y. and Foo L. Y. ( 2000 ) Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. Food Chemistry, 68, pp. 81-85. ) 。

【 0 0 3 2 】

原理は、操作条件下で安定である発色ラジカルであって、標準化した条件下で、抗オキシダント・エクストラクトの存在下のインキュベートの間にその濃度が低下する、DPPH<sup>°</sup> の残存量を測定するものである。詳細には、抗オキシダント活性を有するエクストラクトは DPPH<sup>°</sup> ラジカルを DPPH<sub>2</sub> に還元する。抗酸化活性は、参考分子、トロロックス ( 水溶性ビタミン E アナログ ) の活性に対して表す。

【 0 0 3 3 】

6 mg の DPPH<sup>°</sup> を 7 5 体積 % でメタノール水溶液 1 0 0 m l に注意深く溶解する。平行して、分析すべき試料の正確な量および 1 8 mg のトロロックスを 7 5 % のメタノール性溶液 2 5 m l に溶解する。2 m l の DPPH<sup>°</sup> 溶液を測定すべき 2 5 μ l の溶液と、リークタイト・フラスコ中、3 7 ± 0 . 5 の温度にて 6 時間インキュベートする。溶液の発色強度の低下は、t = 0 分、t = 5 分および t = 6 時間に、5 1 5 n m の波長で測定する。活性は、6 時間インキュベートした後のナノモルのトロロックス等価 / 生成物 k g として表す。

【 0 0 3 4 】

DPPH 法を用いて、以下の生成物の抗酸化活性を測定した :

- ・ 血漿
- ・ 赤ワイン
- ・ 5 % の総ポリフェノールを含有する濃縮赤ワインエクストラクト
- ・ 5 5 % の総ポリフェノールを含有する赤ワイン粉末
- ・ リンゴ果汁
- ・ 4 0 % の総ポリフェノール ( OD 2 8 0 n m ) を含有するニフトコの実エクストラクト
- ・ 3 0 % の総ポリフェノール ( OD 2 8 0 n m ) を含有するブルーベリーのエクストラクト
- ・ 5 0 % の本発明の製法による総ポリフェノールを含有するフロリジン - リッチなポリフ

10

20

30

40

50

エノール性エクストラクト

・ 90%の本発明の製法による総ポリフェノールを含有するフロリジン・リッチなポリフェノール性エクストラクト

エノール性エクストラクト

・ 90%の本発明の製法による総ポリフェノールを含有するフロレチン・リッチなポリフェノール性エクストラクト

エノール性エクストラクト

【0035】

【表4】

生成物	抗オキシダント能 (mmolトロックス等価 / kg 生成物)
血漿 (生物学的参照)	20-25
赤ワイン	15-25
5%の総ポリフェノールを含有する 赤ワインの濃縮エクストラクト	680-700
リンゴ果汁	5-20
40重量%の総ポリフェノールを含有する ニフトコの実のエクストラクト	2900-3000
30重量%の総ポリフェノールを含有する ブルーベリーのエクストラクト	3500-3600
50重量%の本発明の方法による総ポリフェノールを 含有するフロリジン・リッチなポリフェノール性 エクストラクト	4000-4500
90重量%の本発明の方法による総ポリフェノールを 含有するフロリジン・リッチなポリフェノール性 エクストラクト	6000-6500
90重量%の本発明の方法による総ポリフェノールを含有 するフロレチン・リッチなポリフェノール性エクストラクト	5800-6300

【0036】

上記結果から、本発明の方法によりマルス・シルベストリス・ミル・リンゴから抽出したフェノール性エクストラクトは、参照として試験した、抗オキシダント活性について知られている生成物のフリーラジカル・スクャベンジングまたは抗オキシダント活性よりも遥かに優れた活性を有する。

【0037】

実施例5：粉末化したポリフェノール性画分のフリーラジカル・スクャベンジング作用物質の遺伝毒性は、ゲノムDNAまたはプラスミドDNAに損傷を作成するその能力として定義される。遺伝毒性因子は、外因性のもの（紫外線、電離放射線、化学物質ほか）または内因性のもの（細胞代謝によって生成されるフリーラジカルほか）のものとし得る。

【0038】

本発明の方法により得たフロリジン・リッチなポリフェノール性画分のフリーラジカル・スクャベンジング作用は、“3D”試験 (Damaged DNA Detection, Analytical Biochemistry, (1995), pp.37-42) によってイン・ビトロ (in vitro) で測定する。

【0039】

原理はDNA損傷の修復に基づく、損傷したDNAをフリーOH<sup>・</sup>ラジカルに関する試験分子の保護的効力のマーカーとして用い：そのDNAに認められる損傷の減少はフリーラジカルの捕捉と相関する。再生工程の間に標識（ビオチン標識したヌクレオチド）をDN

Aに取込ませ、ついでこの取込み（修復した損傷の数の定量的指標）を化学ルミネセンスによって明らかにする。

【0040】

プラスミドDNAで行うこの試験により、損傷 - 突然変異 - 癌化工程の初期段階で遺伝毒性因子を検出することができる。したがって、抗オキシダントまたはフリーラジカル - スキャベンジング特性を有する、したがって反応性酸化種（ROS）によって引き起こされる酸化損傷からヒト細胞を保護し得る、分子または混合物を検出し得る。

【0041】

プロトコールは以下のとおりである：

- 標的DNAを感作（sensitized）ウェルに吸着させ、ついで試験すべきポリフェノール性エクストラクト（2%のエタノール溶液またはDMSOに溶解）の存在下もしくは不存在下で、またはカテキン（対照）の存在下で遺伝毒性因子とインキュベートする。この試験においては、過酸化水素の溶血性切断によって生成したOH<sup>•</sup>ラジカルをDNA損傷遺伝毒性因子として用いる。過酸化水素をウェルに添加し、ついでそれをUVB光（700 J/m<sup>2</sup>）で照射する。さらに、紫外線C線で予め損傷させたプラスミドDNAからなるポジティブ修復対照を加える。

10

【0042】

- 超純粋ついで超純粋中の20%のジオキサン溶液で、30 にて5分間ゆっくりと攪拌しつつ洗浄する工程により、修復シグナルを妨害し得るタンパク質のごとき巨大分子の存在に起因する、試料および試験の間の非特異的な相互作用を除去することができるように

20

【0043】

- 修復工程は、精製した細胞エクストラクト（種々のDNA損傷修復経路の活性酵素を含有する）およびビオチン - 結合修飾ヌクレオチド（dUTP）の存在下で行う。損傷の修復には、損傷の切除のフェーズにつづくDNAフラグメントまたは切除した塩基の再合成のフェーズが含まれる。したがって、修復合成工程の間に、修飾ヌクレオチドがDNAに取込まれる。

- ヌクレオチドによって運搬されるビオチンに結合することによってヌクレオチドがDNAに結合する部位を認識する工程（アビジン分子はペルオキシダーゼ分子に結合している）。

30

【0044】

- 化学ルミネセンス・ペルオキシダーゼ基質を添加することにより反応を明らかにする工程。ルミノメーターで観察され、判読した光シグナルは、修復された損傷の量に比例する。用量効果は6キロベース当り1ないし15の損傷の限界で認められ、これは大部分の損傷の場合である。

【0045】

ROSの存在下で認められた保護のパーセントは、OH<sup>•</sup>種による損傷作用の相対的低下として算出する、すなわち：

$$RLU_{\text{オキシダント}} - RLU_{\text{(オキシダント + 試料)}} / RLU_{\text{オキシダント}}$$

式中、RLU = 相対光単位（光の量の任意単位）

40

【0046】

保護の比パーセントは、UV Cで予め損傷した試料に対して測定した非特異的阻害のパーセントによって補正する。それは、添加したエクストラクトのみに起因するフリーラジカル - スキャベンジング活性の指標である。

IC<sub>50</sub>は、遺伝毒性因子OH<sup>•</sup>に対する50%の保護活性を与える試験生成物のmg/mlでの濃度である。値が低ければ低いほど、試験生成物の抗オキシダント活性はより大きい。

【0047】

【表5】

試験生成物	濃度 (mg/ml)	比保護 (%)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
カテキン (参照分子)	1.00	65	0.24
	0.25	52	
	0.06	28	
	0.016	16	
エピカテキン (参照分子)	1	83	0.06
	0.25	71	
	0.10	59	
	0.010	37	
50重量%の本発明の方法による 総ポリフェノールを含有する フロリジン-リッチなフェノール性 エクストラクト	0.10	75	0.05
	0.01	41	
	0.001	17	
	0.0001	5	
90重量%の本発明の方法による 総ポリフェノールを含有する フロリジン-リッチなフェノール性 エクストラクト	0.10	95	0.005
	0.01	64	
	0.001	27	
	0.0001	7	
90重量%の本発明の方法による 総ポリフェノールを含有する フロレチン-リッチなフェノール性 エクストラクト	0.10	60	0.075
	0.01	23	
	0.001	10	
	0.0001	1	

## 【0048】

3の試料がOH<sup>・</sup>ラジカルによるDNAに対する損傷の形成に関して保護効果を有する。したがって、それらは、エピカテキンのフリーラジカル-スクャベンジング活性よりも高く、かつカテキンのものよりも遥かに高い、優れたフリーラジカル-スクャベンジング活性を有し、2の参照分子はそれ自体、それらの良好なフリーラジカル-スクャベンジング能が認識された。用量-応答効果は目視可能である。

## 【0049】

50%の保護効果を与える濃度は低く；同レベルの保護に、カテキンのものよりも5倍低い50%のポリフェノールエクストラクトが必要であり、約50倍低い90%のフロリジン-リッチなポリフェノールを含有するエクストラクトが必要である。本発明に記載する低濃度のポリフェノール性エクストラクトで、フリーラジカルの損傷作用における顕著な低下を生じるのに十分である。したがって、本発明によるポリフェノール画分は、OH<sup>・</sup>ラジカルの遺伝毒性作用に対してDNAをイン・ビトロ (in vitro) で保護する強力なフリーラジカル-スクャベンジング因子である。

## 【0050】

実施例6：粉末ポリフェノール性画分の抗オキシダント作用

本発明の方法により得たフロリジン-リッチなポリフェノール性画分の抗オキシダント作用は、先に記載した“3D”試験原理に従ってプラスミドDNAで測定する。方法は同一であり、唯一異なる点は、この試験においてはDNAを損傷する遺伝毒性因子がメチレンブルーを照射することによって生成した一重項酸素<sup>1</sup>O<sub>2</sub>であることである。

## 【0051】

原理はDNA損傷を修復することに基づき、損傷したDNAを一重項酸素<sup>1</sup>O<sub>2</sub>に関する

種々の分子の保護効力のマーカーとして用いる。

したがって、照射し、超純粋中で  $4 \text{ ng/ml}$  まで希釈したメチレンブルーをウェルに導入し、ついでこれを白色光 ( $2 \times 75 \text{ W}$ ) で  $20$  分間照射する。用いた参照分子はシリマリンまたはシリピニン (Sigma) であり、これは酸素に関するその解毒活性についてよく知られているシリブム・マリアナム (Silybum marianum) から抽出し精製した抗肝細胞毒性フラボノ・リグナンの混合物である。

結果は以下のとおりである：

【0052】

【表6】

試験生成物	濃度 (mg/ml)	比保護 (%)
シリマリン	1 0.1	74.6 0
50重量%の本発明の方法による 総ポリフェノールを含有するフロリジン- リッチなフェノール性エクストラクト	1 0.1	85.8 0
90重量%の本発明の方法による 総ポリフェノールを含有するフロリジン- リッチなフェノール性エクストラクト	1 0.1	90 81
1.59mgのTTP/gの力価 (フロリジン等価として表されるポリフェノール) を有する“リンゴ産業”濃縮果汁	100 10 1	80.3 77.1 0

TPP: 総ポリフェノール

【0053】

本発明により得たエクストラクトは、リンゴ果汁濃縮物（それ自体で相当な活性を有する）よりも約  $100$  倍高い抗オキシダント活性を有する。

その活性は、本発明の方法による  $50$  重量%の総ポリフェノールを含有するフロリジン・リッチなフェノール性エクストラクトに対するシリマリンの活性に匹敵し、本発明の方法による  $90$  重量%の総ポリフェノールを含有するフロリジン・リッチなフェノール性エクストラクトに対するシリマリンの活性よりも  $10$  倍高い。

【0054】

したがって、本発明によるポリフェノール性画分は、細胞代謝によって形成された反応性酸化種の作用に付される身体を保護することに重要な役割を果たす強力なフリーラジカル・スカベンジャーである。

【0055】

実施例8：粉末化ポリフェノール性画分の光・遺伝保護作用

本発明によるフロリジン・リッチなポリフェノール性画分の抗・紫外線保護役割は、先に記載したイン・ビトロ (in vitro) “3D” 試験の原理に従ってプラスミドDNAで測定する。

【0056】

原理はDNAが被った損傷の量を測定することに基づき、損傷DNAを紫外線に対する試験分子の保護効力のマーカーとして用いる。

試験すべき潜在的に光・保護性の生成物は純粋なエタノールまたは超純粋水に希釈し、ついで紫外線・透過性のプレート上に沈澱させる。ついで、このプレートを吸着したプラスミドDNAを含有するものに重ねる。そのアセンブリーを  $50 \text{ KJ/m}^2$  の出力の紫外線B光で照射する。用いた参照生成物は、紫外線に対するその保護作用が認められている市販物、Roche社からのParsol MCXである。（紫外線の不存在下の）修復シグナルの非特異的阻害はこの試験においては可能でない。なぜなら、試験生成物は吸着したDNAと常に直接接触していないからである。

## 【 0 0 5 7 】

IC<sub>50</sub>とは、紫外線B光に対して50%保護活性を与える試験生成物のmg/mlの濃度である。この値が低ければ低いほど、試験生成物の抗オキシダント活性は高い。

結果は以下のとおりである：

## 【 0 0 5 8 】

【表 7】

	濃度 (mg/ml)	比保護 (%)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Parsol MCX (Roche)	1	64.9	0.03
	0.1	69.1	
	0.01	39.2	
50重量%の本発明の方法による 総ポリフェノールを含有する フロリジンーリッチな フェノール性エクストラクト	1	49.7	1.00
	0.1	23.0	
	0.01	0	
90重量%の本発明の方法による 総ポリフェノールを含有する フロリジンーリッチな フェノール性エクストラクト	1	70.1	0.40
	0.1	38.4	
	0.01	21.6	
	0.001	13.6	
1.59mgのTTP/gの力価 (フロリジン等価として表される ポリフェノール)を有する “リンゴ産業”濃縮果汁	100	59.0	33
	10	44.5	
	1	21.0	
	0.1	40.2	
	0.01	37.9	

## 【 0 0 5 9 】

Paesolよりも光保護は小さいが、それにもかかわらず、ポリフェノール性エクストラクトは高い抗 - 紫外線B活性を示す。

したがって、本発明において記載するポリフェノール性エクストラクトは紫外線B光に関する相当な光 - 遺伝保護作用を有し、それは公知の工業的濃縮リンゴ果汁の効果よりも30ないし80倍高いと結論付け得る。

## 【 0 0 6 0 】

## 【発明の効果】

本発明によれば、抗オキシダント化合物、フロリジンに富み、化粧、食餌療法またはニュートラシューティカル調製物として使用し得る、果物からのフェノール画分およびこの画分を得る方法を提供することが可能となる。

## 【図面の簡単な説明】

【図 1】 図 1 は、ジュース用リンゴ試料の各種ポリフェノール性画分のHPLCプロファイルを示す図である。

【図 2】 図 2 は、生食用リンゴ試料の各種ポリフェノール性画分のHPLCプロファイルを示す図である。

【図 3】 図 3 は、従来のポリフェノール性エクストラクト試料の各種ポリフェノール性画分のHPLCプロファイルを示す図である。

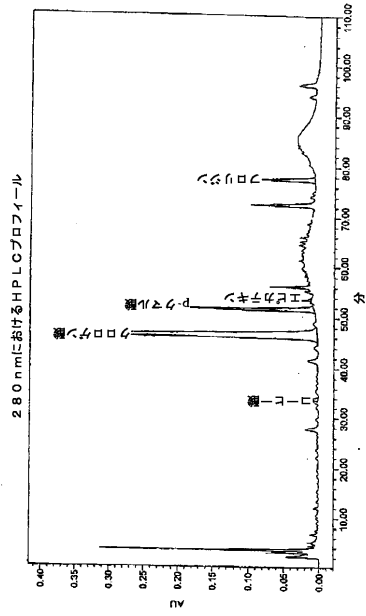
【図 4】 図 4 は、本発明の実施例 1 によるエクストラクト試料の各種ポリフェノール性画分のHPLCプロファイルを示す図である。

【図 5】 図 5 は、本発明の実施例 2 によるエクストラクト試料の各種ポリフェノール性画分のHPLCプロファイルを示す図である。

【図 1】

FIG.1

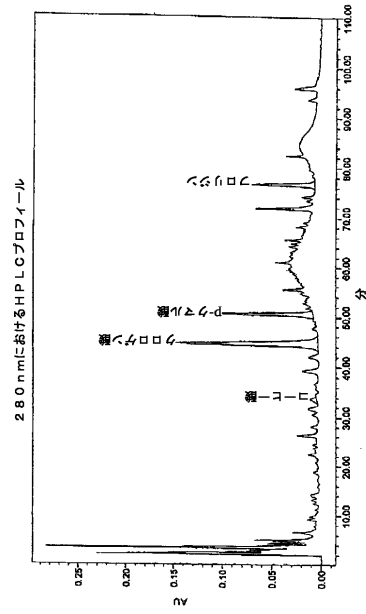
試料：ジュース用リンゴ  
注入体積 = 15.00  $\mu$ l



【図 2】

FIG.2

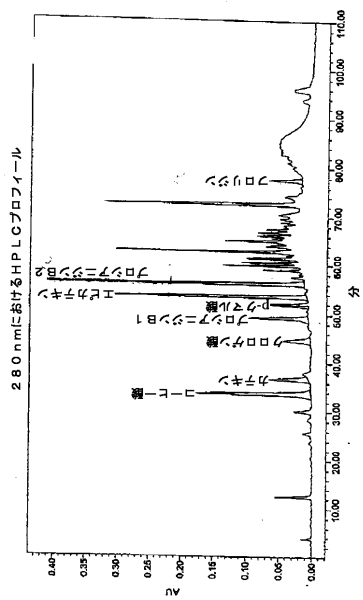
試料：生食用リンゴ  
注入体積 = 20.00  $\mu$ l



【図 3】

FIG.3

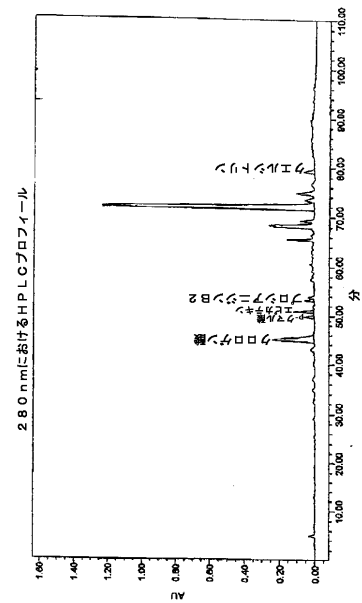
試料：従来のポリフェノール性エクストラクト  
注入体積 = 5.00  $\mu$ l



【図 4】

FIG.4

試料：本発明の実施例 1 によるエクストラクト  
注入体積 = 10.00  $\mu$ l

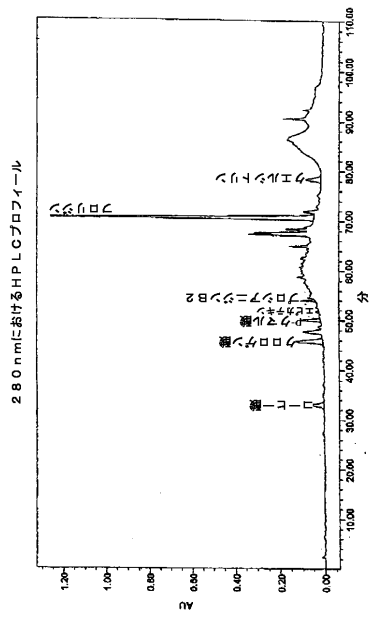




【図 5】

FIG.5

試料：本発明の実施例2によるエクストラクト

注入体積 = 15.00  $\mu$ l

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 8/60 (2006.01)		A 6 1 K 8/60	
A 6 1 K 31/12 (2006.01)		A 6 1 K 31/12	
A 6 1 K 31/192 (2006.01)		A 6 1 K 31/192	
A 6 1 K 31/216 (2006.01)		A 6 1 K 31/216	
A 6 1 K 31/353 (2006.01)		A 6 1 K 31/353	
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)		A 6 1 K 31/7048	
A 6 1 K 36/73 (2006.01)		A 6 1 K 35/78	H
A 6 1 K 36/00 (2006.01)		A 6 1 K 35/78	X
A 6 1 P 3/00 (2006.01)		A 6 1 P 3/00	
A 6 1 P 39/00 (2006.01)		A 6 1 P 39/00	
A 6 1 P 39/06 (2006.01)		A 6 1 P 39/06	
A 6 1 Q 17/04 (2006.01)		A 6 1 Q 17/04	
A 2 3 L 1/30 (2006.01)		A 2 3 L 1/30	B

- (72)発明者 デニ・メガール  
フランス、エフ - 3 5 4 6 0 サン・ブリス・アン・コグル、ル・スーシャイ
- (72)発明者 クロード・イニサン  
フランス、エフ - 3 5 0 0 0 レンヌ、リュ・アナートル・ル・プラス 6 1 番
- (72)発明者 クリスチャン・エステーヴ  
フランス、エフ - 5 3 2 3 0 コッス・ル・ヴィヴィアン、リュ・デ・ププリエ 8 番
- (72)発明者 フレデリック・ルジャール  
フランス、エフ - 5 6 6 1 0 アラドン、スクワール・サント・アンヌ 7 番

## 合議体

審判長 内田 淳子

審判官 穴吹 智子

審判官 荒木 英則

- (56)参考文献 特開 2 0 0 0 - 1 6 9 5 1 ( J P , A )  
特開平 4 - 2 3 5 1 1 2 ( J P , A )  
特開平 2 - 2 9 2 2 0 8 ( J P , A )  
特開昭 6 3 - 2 7 7 5 2 1 ( J P , A )  
特表平 1 0 - 5 1 0 8 0 3 ( J P , A )  
J . Clin . Invest . , Vol . 7 9 , No . 5 , P 1 5 1 0 - 1 5 1 5 ( 1 9 8 7 年  
5 月 )

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A61K31/00-31/7048

A61K35/78