

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2007 年 9 月 13 日 (13.09.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/102438 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 36/46 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) C07H 17/04 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)

本大学大学院医学薬学研究部内 Kumamoto (JP). 池田剛 (IKEDA, Tsuyoshi) [JP/JP]; 〒8620973 熊本県熊本市大江本町 5 番 1 号 熊本大学大学院医学薬学研究部内 Kumamoto (JP). 高村 千香 (TAKAMURA, Chika) [JP/JP]; 〒8620973 熊本県熊本市大江本町 5 番 1 号 熊本大学大学院医学薬学研究部内 Kumamoto (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/054083

(22) 国際出願日: 2007 年 3 月 2 日 (02.03.2007)

(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2006-058657 2006 年 3 月 3 日 (03.03.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 小林製薬株式会社 (KOBAYASHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5418507 大阪府大阪市中央区道修町四丁目 3 番 6 号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 平田 哲也 (HIRATA, Tetsuya) [JP/JP]; 〒5670057 大阪府茨木市豊川一丁目 30 番 3 号 小林製薬株式会社中央研究所内 Osaka (JP). 安藤 千穂 (ANDO, Chiho) [JP/JP]; 〒5670057 大阪府茨木市豊川一丁目 30 番 3 号 小林製薬株式会社中央研究所内 Osaka (JP). 小林 健夫 (KOBAYASHI, Takeo) [JP/JP]; 〒5670057 大阪府茨木市豊川一丁目 30 番 3 号 小林製薬株式会社中央研究所内 Osaka (JP). 野原 稔弘 (NOHARA, Toshihiro) [JP/JP]; 〒8620973 熊本県熊本市大江本町 5 番 1 号 熊

(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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, 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, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, 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, 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 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: FRACTIONATION PRODUCT OF AQUEOUS EXTRACT OF EUCOMMIA ULMOIDES OLIVER LEAF, AND ANTI-OBESITY AGENT COMPRISING THE FRACTIONATION PRODUCT

(54) 発明の名称: 杜仲葉水抽出物の分画物、および当該分画物を含む抗肥満剤

(57) Abstract: [PROBLEMS] To provide: a fractionation method for extracting an ingredient, particularly a pharmacologically active ingredient such as an iridoid compound, from an *Eucommia ulmoides oliver* leaf with good efficiency; a fractionation product of an *Eucommia ulmoides oliver* leaf, wherein the fractionation product contains a specific component in a large concentration; and an anti-obesity agent, composition for oral ingestion, pharmaceutical composition, food composition, pharmaceutical or food which comprises a natural material as a raw material, produces little adverse side effects, and is safe even when ingested over a long period. [MEANS FOR SOLVING PROBLEMS] Disclosed is a fractionation product of an aqueous extract of an *Eucommia ulmoides oliver* leaf. The fractionation product can be produced by: adsorbing an aqueous extract of an *Eucommia ulmoides oliver* leaf onto a reverse-phase synthetic adsorbent, wherein the aqueous extract is prepared from a dried *Eucommia ulmoides oliver* leaf; washing the adsorbent with water; and eluting the fractionation product with a 5-80 vol% aqueous methanol solution. Also disclosed is a pharmaceutical or food having an anti-obesity activity, which comprises the fractionation product.

(57) 要約: 【課題】 本発明は、杜仲葉の成分、特にイリドイド化合物などの薬効成分を効率的に取り出すための分画方法、および特定の成分を高濃度で含有する杜仲葉成分の分画物を提供することを目的とする。さらに本発明は、天然の素材を原料とし、副作用が少なく長期にわたって摂取した場合でも安全である抗肥満剤、経口摂取用組成物、医薬組成物、食品組成物、医薬および食品を提供することを目的とする。【解決手段】 本発明は、乾燥杜仲葉から得られる杜仲葉水抽出物を逆相の合成吸着剤に吸着させ、水で洗浄後、5～80容積%メタノール水溶液で溶離させて得られる、杜仲葉水抽出物分画物、およびそれを含む、抗肥満作用を有する医薬、食品を提供する。

WO 2007/102438 A1

明 細 書

杜仲葉水抽出物の分画物、および当該分画物を含む抗肥満剤

技術分野

- [0001] 本発明は、杜仲葉の水抽出物分画物、および当該分画物を含む抗肥満剤、経口摂取用組成物、医薬組成物、食品組成物、医薬および食品に関する。さらに本発明は、当該分画物の製造方法に関する。

背景技術

- [0002] 杜仲 (*Eucommia ulmoides* oliver) は、中国中央部起源のトチュウ科トチュウ属の一種に分類される落葉性木本類で、樹高が20mに達する喬木である。杜仲は、一般にお茶と称するツバキ科の植物と比較し、カフェインを全く含んでいないほか、含有物も異なる。杜仲葉は、1980年代から飲料としての用途が普及している。杜仲の樹皮は医薬品として取り扱われており、中国では「高血圧症、腰痛、関節痛、腎臓病、肝臓病、ストレス、精力減退、利尿困難、物忘れ」に有効な漢方薬として利用されている。
- [0003] 天然物由来の食品や漢方薬は、一般に副作用が少ないなどの利点を有することから、近年において発生が増加している生活習慣病に対してのその有用性が注目されている。上述の杜仲に関しても、杜仲葉の成分のリパーゼ阻害活性について検討した例もいくつかの報告がされている(特許文献1～5を参照)。

- [0004] 特許文献1:特開2005－289950号公報
特許文献2:特開2005－289951号公報
特許文献3:特開2003－342185号公報
特許文献4:特開2002－179586号公報
特許文献5:特開2002－275077号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0005] 杜仲葉に含まれる成分のうちゲニポシド酸などのイリドイド化合物と薬効との関連が指摘されている。したがって、杜仲葉の薬効成分を効率よく摂取するために、杜仲葉

から効率よくイリドイド化合物を取り出すための方法が求められている。

[0006] したがって、本発明は、杜仲葉の成分、特にイリドイド化合物などの薬効成分を効率的に取り出すための分画方法、および特定の成分を高濃度で含有する杜仲葉成分の分画物を提供することを目的とする。

[0007] さらに本発明は、天然の素材を原料とし、副作用が少なく長期にわたって摂取した場合でも安全である抗肥満剤、経口摂取用組成物、医薬組成物、食品組成物、医薬および食品を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者は、上記の課題解決のために鋭意研究を進めたところ、杜仲葉成分の特定の分画物に、高度の抗肥満作用を見だし、本発明を完成させた。

すなわち本発明の一つの側面によれば、乾燥杜仲葉から得られる杜仲葉水抽出物を逆相の合成吸着剤に吸着させ、水で洗浄後、5～80容積％メタノール水溶液で溶離させる工程を含む製造方法により得られる、杜仲葉水抽出物分画物が提供される。本発明の1つの態様において、ここで、前記メタノール水溶液は、例えば10容積％以上40容積％未満、好ましくは20～35容積％、より好ましくは25～35容積％のメタノール水溶液で合ってもよく、例えば30容積％のメタノール水溶液を用いることができる。本発明の別の態様において、前記メタノール水溶液は、例えば40～60容積％、好ましくは45～55容積％のメタノール水溶液であつてもよく、例えば50容積％のメタノール水溶液を用いることができる。

[0009] 本発明の別の側面によれば、溶媒を留去した後の固形成分として、イリドイド化合物を10～90重量％含む、本発明として既に定義した杜仲葉水抽出物分画物が提供される。

さらに、本発明の別の態様によれば、溶媒を留去した後の固形成分として、アスペルロサイドを、例えば10重量％以上、好ましくは20％以上、より好ましくは30％以上、さらに好ましくは40％以上（例えば10～70重量％、好ましくは20～60重量％、より好ましくは30～60重量％）含む、本発明として既に定義した杜仲葉水抽出物分画物が提供される。

[0010] さらに、本発明の別の側面によれば、前記乾燥杜仲葉が、杜仲生葉を蒸熱する工

程;杜仲葉を攪拌および／または揉圧しながら乾燥する工程;および杜仲葉に対して遠赤外線を照射することにより杜仲葉を乾燥する工程を含む製造方法により得られる、本発明として既に定義した杜仲葉水抽出物分画物が提供される。

[0011] さらに、本発明の別の側面によれば、本発明として既に定義した杜仲葉水抽出物分画物を含む抗肥満剤抗肥満剤が提供される。

さらに、本発明の別の側面によれば、本発明として既に定義した抗肥満剤を含む医薬および食品が提供される。前記食品は、特に限定はされないが、例えば、機能性食品、健康食品、健康補助食品、栄養補助食品、保険機能食品、特定保険用食品または栄養機能食品であってもよい。

[0012] さらに、本発明の別の側面によれば、杜仲葉水抽出物分画物の製造方法であって、乾燥杜仲葉から得られる杜仲葉水抽出物を逆相の合成吸着剤に吸着させ、水で洗浄後、5～80容積%メタノール水溶液で溶離させる工程を含む、前記方法が提供される。

[0013] さらに、本発明の別の側面によれば、得られる杜仲葉水抽出物分画物がイリドイド化合物を10～90重量%含む本発明として既に定義した杜仲葉水抽出物分画物の製造方法が提供される。

[0014] さらに、本発明の別の側面によれば、アスペルロサイドを、例えば10重量%以上、好ましくは20%以上、より好ましくは30%以上、さらに好ましくは40%以上(例えば10～70重量%、好ましくは20～60重量%、より好ましくは30～60重量%)含む、固体の杜仲葉水抽出物分画物が提供される。

発明の効果

[0015] 本発明により、杜仲葉水抽出物の分画物はイリドイド化合物を高濃度に含むため、当該化合物を摂取するための医薬、食品の製造において有用である。さらに本発明に係る抗肥満剤は、天然の素材を原料とし、長期にわたって安全に摂取することができるため患者に負担が少なく、安定した抗肥満効果を得ることができる。

本発明の具体的な態様

[0016] 以下、本発明をさらに具体的に説明する。

本発明の分画物に含まれるイリドイド化合物としては、例えば杜仲葉に含まれる配

糖体成分であるイリドイド化合物が挙げられる。その具体例には、例えば、ゲニポシド酸、アスペルロサイド、アスペルロサイド酸(asperulosidic acid)、デアセチルアスペルロサイド酸、スカンドサイド 10-*O*-アセテート、オークビンなどが含まれる。

[0017] 本発明における杜仲葉水抽出物は、例えば乾燥杜仲葉を使用して調製される。当該乾燥杜仲葉は、特には限定されないが、例えば杜仲生葉を特定の工程に付すことにより調製されうる。ここで、杜仲生葉は、収穫後乾燥前の杜仲葉を意味するものであり、栽培により生産されたものであっても天然より採取されたものであってもよい。例えば、当年葉で落葉前の生葉を用い、採取時期は4月から10月、好ましくは5月から8月、より好ましくは7月から8月までの生葉を用いることができる。

[0018] 本発明の杜仲生葉は、そのまま用いてもよいが、裁断したものを用いてもよい。従って、本願発明は、杜仲生葉を裁断する工程をさらに含んでもよい。杜仲生葉は、例えば5～30mm程度、好ましくは10～20mm程度の幅に切断して用いてもよい。好ましくは、本発明においては裁断されていない杜仲生葉が用いられる。裁断されていない杜仲生葉を利用することにより、その後の乾燥工程において、緩やかな乾燥が可能となり、乾燥中に葉が崩れることによる歩留まりの低下、および杜仲葉の変色を抑制することができる。

[0019] 本発明における杜仲生葉の蒸熱工程は、市販されている蒸し機またはオートクレーブなどを用いて、当該技術分野で通常行われている方法により実施することができる。例えば、ネットコンベア上に杜仲生葉を広げ、ボイラーから供給される無圧蒸気を充満させた処理室を通過させることにより、杜仲生葉を蒸熱処理することができる。例えば、宮村鉄工株式会社製、給葉機、地上型1500およびネットコンベア、送带式1000などを用いることができる。蒸熱温度は、杜仲葉の大きさに応じて、例えば90～120℃、好ましくは95～110℃、より好ましくは100～110℃の範囲で適宜選択されうる。また蒸熱時間も、10～240秒間、好ましくは20～180秒間、より好ましくは20～120秒間の範囲で適宜選択されうる。また、使用する蒸気量は、例えば200～70L/分、好ましくは170～100L/分の範囲で適宜選択されうる。蒸し葉の処理量は、生葉の水分率に応じて、例えば3～10kg/分、好ましくは4～8kg/分、より好ましくは5～7kg/分の範囲で適宜選択されうる。この蒸熱工程は、杜仲葉を褐色に変色さ

せる酵素が失活することにより杜仲葉の緑色が保たれやすくなる;および、杜仲葉が柔らかくなることで、蒸熱工程の後の杜仲葉を攪拌および／または揉圧しながら乾燥する工程の実施が容易になる、などの効果をもたらす。

[0020] 蒸熱処理された杜仲葉は、そのまま次の工程に使用することもできるが、冷却後に次の工程で使用することもできる。ここでの冷却は、送風などにより荒熱を取り除くことにより行われうる。

[0021] 本発明において、杜仲葉を攪拌および／または揉圧しながら乾燥する工程は、例えば、市販されている連続式葉打機、回転式葉打機、回分型葉打機または粗揉機などを用いて、当該技術分野で通常行われている方法により実施することができる。例えば市販の葉打機としては、カワサキ機工株式会社製、葉打機(回分型)60K、90K、120Kおよび180Kなどを用いることができる。例えば、本工程における揉圧は、適当な弾性を有する板バネで支えられた「より手」が葉打機内で回転し、処理胴の壁面に杜仲葉を押さえつけることにより行われる。また、本工程における攪拌は、葉打機に取り付けられた「葉ざらい」が回転することにより行われる。本工程における揉圧は、緩やかに行うのが好ましく、例えば葉ざらいの回転のみで行ってもよい。乾燥方法は特に限定されないが、好ましくは杜仲葉に熱風を送ることにより行われる。ここで熱風の温度は、特に限定されないが、例えば70～120℃、好ましくは75～110℃の範囲から適宜選択されうる。また本工程に要する時間は、10～60分間、好ましくは15～50分間、より好ましくは20～40分間の範囲で適宜選択されうる。例えば本工程は、100℃で20～30分間行うことができる。本工程により、杜仲葉各部分の水分を均一に保ちつつ効率よく杜仲葉が乾燥される。また本工程における攪拌および／または揉圧により、杜仲葉に含まれる糖質、脂質などの粘性物質が杜仲葉から分離され、その結果得られる杜仲茶の「えぐ味」および「青臭さ」が低減される。本工程は、好ましくは、水分の杜仲葉表面からの蒸散速度と杜仲葉内部での水分拡散速度が平衡となるように行われる。また、得られる杜仲茶の「えぐ味」および「青臭さ」を低減するために、葉打ち機内の密封性が高いほうが好ましい。このような条件を保ちながら行うことにより、杜仲葉表面がしめった状態を保ち、杜仲葉の表面温度を一定範囲内に保つことができ、杜仲生葉の変色を抑制しつつ乾燥させることが可能となる。ここで、本工程

における乾燥時の杜仲茶葉表面温度は、例えば30～60℃、好ましくは40～50℃である。本工程を経て得られる杜仲葉の水分量は、例えば乾量基準で30～45%、好ましくは30～40%、より好ましくは30～35%である。

[0022] 本発明においては、「杜仲葉を攪拌および／または揉圧しながら乾燥する工程」と「杜仲葉を乾燥する工程」の間に、杜仲葉の水分を均一化する工程が含まれていてもよい。本発明において、杜仲葉中の水分を均一化する工程は、例えば市販されている揉捻機、粗揉機または中揉機を用いて、当該技術分野で通常行われている方法により実施することができる。例えば市販の揉捻機としては、株式会社寺田製作所製、揉捻機60Kg型などを用いることができる。本工程における杜仲葉中の水分の均一化は、例えば、揉捻機の揉捻盤と回転胴の間に杜仲葉が挟まれ、かつ揉捻盤により加圧されると同時に回転胴が回転することにより行われる。杜仲葉は葉肉、葉脈、葉軸の順に乾燥するので、例えば葉肉の乾燥度が十分な場合でも葉軸にはまだ余分な水分が残っている。従って、本工程により、杜仲葉中の水分が均一に整えられ、部分乾燥による粉体化が抑制されるのと同時に、乾燥に要する時間を短縮することができる。本工程は、必要に応じて加熱下で行うこともできるが、好ましくは加熱せずに行われる。また本工程に要する時間は、10～80分間、好ましくは20～60分間、より好ましくは30～45分間の範囲で適宜選択されうる。例えば本工程は、常温で40分間行うことができる。本工程中に揉捻盤による加圧がなされるが、工程開始時の無加圧時間は、0～10分間、好ましくは2～8分間、より好ましくは4～5分間の範囲で適宜選択されうる。本工程を経て得られる杜仲葉の水分量は、例えば乾量基準で25～40%、好ましくは25～35%である。

[0023] 本発明に「杜仲葉中の水分を均一化する工程」が含まれる場合、杜仲葉を乾燥する工程の前に、追加の「杜仲葉を攪拌および／または揉圧しながら乾燥する工程」および「杜仲葉中の水分を均一化する工程」、または「杜仲葉を攪拌および／または揉圧しながら乾燥する工程」が含まれていてもよい。これらの工程を繰り返すことにより、不要な脂質などがさらに取り除かれた杜仲茶葉を得ることができる。

[0024] 「杜仲葉を攪拌および／または揉圧しながら乾燥する工程」を追加する場合、当該工程は上述の方法および条件で行うことができ、熱風の温度は、特に限定されない

が、例えば50～110℃、好ましくは55～105℃の範囲から適宜選択されうる。また本工程に要する時間は、5～45分間、好ましくは10～40分間、より好ましくは10～35分間の範囲で適宜選択されうる。例えば70℃で20～30分間行うことができる。

[0025] 「杜仲葉中の水分を均一化する工程」を追加する場合、当該工程は上述の方法および条件で行うことができ、また本工程に要する時間は、10～80分間、好ましくは20～60分間、より好ましくは30～45分間の範囲で適宜選択されうる。例えば常温で40分間行うことができる。

[0026] 本発明の杜仲葉を乾燥する工程は、例えば、市販されている乾燥機を用いて当該技術分野で通常行われている方法により実施することができる。本工程における乾燥方法は、特に限定はされないが、例えば、搬送コンベア上の杜仲葉を、熱風発生器による熱風で満たされた高温の乾燥室内を移動させることにより行うことができる。例えば、株式会社寺田製作所製、乾燥機ND120型により行われうる。ここで熱風の温度は、特に限定されないが、例えば70～100℃、好ましくは85～95℃の範囲から適宜選択されうる。また本工程に要する時間は、5～80分間、好ましくは10～70分間、より好ましくは20～80分間の範囲で適宜選択されうる。本工程を経て得られる杜仲葉の水分量は、例えば水分率5%以下、好ましくは水分率3%以下、より好ましくは水分率2%以下である。

[0027] 本発明においては、杜仲葉に対して遠赤外線を照射することにより杜仲葉を乾燥する工程を含んでもよい。当該工程は、特に限定はされないが、例えば市販されている遠赤外線ヒーターを用いて行うことができる。例えば、山益製作所株式会社製、VR型により行われうる。ここで照射される遠赤外線の波長は、例えば1～1000 μ m、好ましくは2.5～50 μ m、より好ましくは3～30 μ mの範囲から適宜選択される。乾燥中の照射設定温度は、例えば100～400℃、好ましくは150～350℃、より好ましくは200～300℃の範囲の範囲より適宜選択されうる。また本工程に要する時間は、赤外線ランプ通過速度として30～60秒間、好ましくは40～55秒間、より好ましくは45～50秒間の範囲で適宜選択されうる。本工程を経て得られる乾燥杜仲葉の水分量は、例えば水分率5%以下、好ましくは水分率3%以下、より好ましくは水分率2%以下である。

- [0028] 本明細書において杜仲葉水抽出物は、乾燥杜仲葉1kgに対して、例えば5～50kg、好ましくは10～30kg、より好ましくは15～20kgから適宜選択される量の水が用いることができる。抽出温度は、例えば85～98℃、好ましくは90～95℃の範囲から適宜選択されうる。抽出時間は、特に限定はされないが、例えば10～120分、好ましくは20～90分、より好ましくは30～60分から適宜選択されうる。
- [0029] 抽出液の濾過は、例えば、ざる、または30～200メッシュのフィルターなどを用いて行われうる。濾液は濃縮を行う前に一定時間静置してもよい。静置することにより発生する沈殿物を除去することにより、不要物を取り除くことができる。静置する時間は、特に限定はされないが、例えば1～24時間、好ましくは6～20時間、より好ましくは8～18時間から適宜選択されうる。静置する際の温度は、特に限定はされないが、例えば0～35℃、好ましくは0～16℃、より好ましくは2～8℃から適宜選択されうる。
- [0030] こうして得られる杜仲葉抽出液をそのまま使用することもできるが、遠心分離に付して生じる沈殿を除去した後得られる上澄みを次の工程に使用することもできる。さらに、当該上澄み液を濃縮して使用することもできる。
- [0031] 本発明で使用される「逆相の合成吸着剤」は、天然成分の分離などに通常使用されるものであれば特に限定されないが、ポリスチレンゲル(ポリスチレン・ジビニルベンゼン共重合体など)、例えば、MCIGEL CHP10M/CHP2MGM、SEPABE ADS CHP20A/CHP20Y/CHP55A/CHP55Y/CHP20P/SP20SS/HP2MGY/SP207/SP825/SP850/SP70/SP700、Diaion HP20/HP21/HP2MGなどが挙げられ、工業的スケールにおける製造の観点から好ましくはDiaion HP20が使用される。当該吸着剤は、例えばカラムの担体として使用することができる。使用される吸着剤の量は、杜仲葉抽出液110Lに対して、例えば10000～18000g、好ましくは15000～18000gの範囲から選択されうる。
- [0032] 本発明の1つの態様において、逆相の吸着剤を充填させたカラムに杜仲葉抽出液を注入し、その後水を溶出液として使用して溶出する成分を除去し、さらにその後に5～80容積%のメタノール水溶液を溶離液として使用して、当該カラムより本発明の分画物を溶離させることができる。ここで、溶出液として使用する水の量は特に限定されないが、例えば、吸着剤17200gに対して、70～110Lの範囲から選択される量

で使用することができる。

[0033] 上記態様において、溶離液として使用するメタノール水溶液は、例えば10容積%以上40容積%未満のメタノール水溶液、好ましくは15～30容積%のメタノール水溶液を使用することができる。また、15～30容積%のメタノール水溶液(例えば30容積%のメタノール水溶液)を使用した後に、40～60容積%のメタノール水溶液(例えば50容積%のメタノール水溶液)を使用することもできる。この態様において、各々のメタノール水溶液は、特に限定されないが、例えば、吸着剤17200g対して、70Lの範囲から選択される量を使用することができる。さらに、当該メタノール水溶液による溶離物を分取することにより、目的の成分を高濃度で含むより好ましい分画物を得ることができる。

[0034] 水-メタノール溶液として得られる分画物は、好ましくは、濃縮して使用される。濃縮率は特に限定されないが、例えば容積比で60%以下であってよく、好ましくは30%以下であり、さらに好ましくは乾固して得られる固体物として使用される。また当該濃縮は常圧下または減圧下のいずれにおいても行われうるが、好ましくは減圧下で行われる。濃縮方法は、通常使用される方法であれば特に限定されず、例えばロータリーエバポレーターなどを使用して濃縮することができる。

[0035] 本明細書で用いられる用語「抗肥満剤」とは、特に限定はされないが、例えば、高血圧症、高脂血症、糖尿病の効果をj得るために投与される薬剤を意味する。

本発明の抗肥満剤は、特に限定はされないが、肥満の改善のために使用されうる他の薬剤、抗脂血症の予防剤および治療剤、糖尿病の予防剤および治療剤、ならびに高血圧など治療剤または予防剤とともに使用されうる。

[0036] 本発明の抗肥満剤は、医薬組成物の有効成分として使用することができる。当該医薬組成物は、種々の剤形、例えば、経口投与のためには、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、丸剤、液剤、乳剤、懸濁液、溶液剤、酒精剤、シロップ剤、エキス剤、エリキシル剤などとしることができ、例えば、局所投与のためにはクリーム、ゼリー、ゲル、ペースト、軟膏などとしことができるが、これらには限定されない。当該医薬組成物は、一般に用いられる各種成分を含みうるものであり、例えば、1種もしくはそれ以上の薬学的に許容され得る賦形剤、崩壊剤、希釈剤、滑沢剤、着香剤、着色剤、甘

味剤、矯味剤、懸濁化剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、補助剤、防腐剤、緩衝剤、結合剤、安定剤、コーティング剤等を含みうる。また本発明の医薬組成物は、持続性または徐放性剤形であってもよい。

[0037] 本発明の抗肥満剤の投与量は、患者の体型、年齢、体調、疾患の度合い、発症後の経過時間等により、適宜選択することができ、本発明の医薬組成物は、治療有効量および／または予防有効量の抗肥満剤を含むことができる。例えば本発明の杜仲葉粉碎物またはその水抽出物として、一般に10～50000mg／日／成人、好ましくは100～5000mg／日／成人の用量で使用される。当該医薬組成物の投与は、単回投与または複数回投与であってもよく、たとえば他の抗肥満剤などの他の薬剤と組み合わせ使用することもできる。

[0038] 本発明に係る食品は、液体飲料および固形の食品を含む。当該食品は、医薬部外品、他の飲食物などの成分、食品添加物などとして使用することができる。また本明細書における経口摂取用組成物は、そのまま機能性食品として使用できるほか、医薬品、医薬部外品、飲食物等の成分、食品添加物などとして使用することができる。当該使用により、本発明の肥満改善効果および動脈硬化予防剤を有する当該食品または経口摂取用組成物の日常のおよび継続的な摂取が可能となり、肥満の効果的な改善、および肥満に関連する疾患（例えば、高血圧症、高脂血症、糖尿病など）の効果的な予防が可能となる。

[0039] 本発明の抗肥満剤を含む食品または飲料の例としては、リパーゼ阻害効果もしくは肥満抑制効果を有する機能性食品、健康食品、健康補助食品、栄養補助食品（栄養ドリンク等）、保険機能食品、特定保険用食品、栄養機能食品、一般食品（ジュース、菓子、加工食品等）などが含まれる。本明細書における食品または飲料は、任意の添加物として、鉄およびカルシウムなどの無機成分、種々のビタミン類、オリゴ糖およびキトサンなどの食物繊維、大豆抽出物などのタンパク質、レシチンなどの脂質、ショ糖および乳糖などの糖類、アスパルテーム、アセスルファムカリウム、ステビア、ソウマチン、サッカリン、サッカリンナトリウムなどの甘味料・矯味料を含むことができる。

実施例

[0040] 以下、本発明の好適な実施例についてさらに詳細に説明するが、本発明はこれら

の実施例に限定されるものではない。

[0041] [実施例1] 合成吸着剤による乾燥杜仲葉水抽出物分画物の調製

乾燥杜仲葉は、特開2005-1287469号公報の実施例4の記載に基づいて製造される乾燥杜仲葉を使用した。

[0042] 乾燥杜仲葉(10kg)にイオン交換水(70L)を加え、65℃で7時間加熱した。加熱後、一晚放置した。ざる(テトロン3号)を使用して杜仲葉残渣を除去した後に、連続遠心分離を行い(遠心加速度:9340xg;(S型超高速遠心分離機U-6-H:関西遠心分離機製作所社製))、上澄み液(約55L)を得た。同様の手法でもう1バッチ行い、杜仲葉抽出物を合わせて約110Lの溶液として得た。

[0043] 得られた溶液を、Diaion HP20を充填したカラム(直径135x長さ1200mm)に注入し、その後さらに70Lの水を使用して、水により溶出される成分を除去し、水画分を得た。その後、30容積%メタノール水溶液(70L)を使用して溶離した画分(以下、画分Aとも称する)、50容積%メタノール水溶液(70L)を使用して溶離した画分(以下、画分Bとも称する)、80容積%メタノール水溶液(70L)を使用して溶離した画分(以下、画分Cとも称する)および100容積%メタノール(70L)を使用して溶離したメタノール画分を得た。いずれも画分も減圧下(0.5kPa)、65℃で乾固するまで濃縮し、水画分(4520g)、画分A(432.0g)、画分B(215.4g)、画分C(76.7g)およびメタノール画分(2.4g)をいずれも固体物として得た。

[0044] [実施例2] 乾燥杜仲葉水抽出エキスの調製

乾燥杜仲葉は、特開2005-1287469号公報の実施例4の記載に基づいて製造される乾燥杜仲葉を使用した。乾燥杜仲葉(2.3kg)にイオン交換水(16L)を加え、65℃で7時間加熱した。加熱後、一晚放置した。ざる(テトロン3号)を使用して杜仲葉残渣を除去した後に、連続遠心分離を行い(遠心加速度:9340xg;S型超高速遠心分離機U-6-H:関西遠心分離機製作所社製)、上澄み液(約12L)を得た。

[0045] 得られた溶液を、減圧下(0.5kPa)、65℃で乾固するまで濃縮し、乾燥杜仲葉水抽出エキス(652g)を固体として得た。

[0046] [実施例3] 杜仲葉水抽出分画物の抗肥満効果試験

(1) 実験材料および飼料の調製

ICR系雌性マウスに、牛脂と杜仲葉水抽出分画物を配合した高脂肪食を摂取させ、体重、内臓脂肪重量、血液中の中性脂肪及び総コレステロールに対する影響を調べた。

[0047] 具体的には、ICR系雌性マウス(4週齢、体重20～25g)を体重の平均値が各群等しくなるように5群に分けた(各群5匹)。

実施例1と同様の方法により各種画分を調製した。飼料の組成を表1に示す。飼料の配合割合は、水画分、画分A、画分B、画分Cおよびメタノール画分の重量の合計を100%として各画分の重量をもとに比率を求め、表1に示す飼料組成物であるコーンスターチ10%に代替飼料として配合した。

[0048] 第1群は乾燥杜仲葉水抽出エキスが10%、第2群は画分Aが0.82%、第3群は画分Bが0.41%、第4群は画分Cが0.15%、第5群はサンプルとしてコーンスターチで調整した高脂肪食(コントロール)を4週間投与した。なお試験中は、餌及び水は自由摂取とした。

[0049] 上記飼料を投与してから4週間後、体重を測定した後に、マウスをエーテル麻酔により屠殺し、心臓より採血を行って、血清中の中性脂肪、総コレステロールを酵素法を用いて測定した。また開腹後、内臓脂肪重量を秤量により測定した。全ての測定値は、平均±標準偏差で示した。摂取期間における体重及び摂餌量の変動、摂取4週間目における群間での体重、内臓脂肪重量及び血中脂質については対応のないt検定を行った。

[0050] [表1]

表1. 飼料の組成(単位: g)

成分名	乾燥杜仲葉 水抽出エキス	画分A	画分B	画分C	コントロール
牛脂	40	40	40	40	40
グラニュー糖	9	9	9	9	9
ミネラル mix	4	4	4	4	4
ビタミン mix	1	1	1	1	1
カゼイン	36	36	36	36	36
コーンスターチ	—	9.18	9.59	9.85	10
サンプル	10	0.82	0.41	0.15	—
	100	100	100	100	100

[0051] (2)結果

結果を表2に示す。乾燥杜仲葉水抽出エキス、画分A及び画分Bを添加した群は、コントロールと比べ体重、内臓脂肪重量、中性脂肪、総コレステロールが低値を示した。画分Cにおいては、コントロールに比べ内臓脂肪重量、中性脂肪及び総コレステロールが低値を示すことが確認された。乾燥杜仲葉水抽出エキスと各画分を比較したところ、画分A及び画分Bは乾燥杜仲葉水抽出エキスとほぼ同様の挙動を示した。

[0052] [表2]

表2. 摂取4週間目における群間での体重、内臓脂肪重量、中性脂肪、総コレステロール

	体重(g)	内臓脂肪重量(g)	中性脂肪(mg/dl)	総コレステロール(mg/dl)
乾燥杜仲葉水抽出エキス	30.7±1.3	1.2±0.1	21.8±14.0	100.8±17.5
画分A	30.4±2.2	0.9±0.1	8.8±3.5	106.8±15.2
画分B	30.4±2.1	1.2±0.4	19.2±6.8	100.4±19.8
画分C	34.0±2.3	1.3±0.1	17.0±6.3	105.6±10.7
コントロール	34.6±1.7	2.0±0.6	33.6±12.7	141.8±19.7

[0053] [実施例4] 杜仲葉水抽出物分画物の含有成分

(1) 試験方法

試験は、乾燥杜仲葉水抽出エキス、画分Aおよび画分Bを各100mg秤量し、50%メタノール液に溶かし供試した。試験液の含有成分は、アウクビン(aucubin)、アスペルロサイド(asperuloside)、ゲニポシド酸(geniposidic acid)およびクロロゲン酸(chlorogenic acid)を標準物質として用いた。分析方法は、HPLC(LC-6:島津製作所社製)を用いて、カラム:YMC-Pack ODS-A A-312 φ6.0mm×150mm(YMC社製)、移動層:水/メタノール/リン酸=870/130/1、カラム温度:40℃、検出器:UV検出器(測定波長:215nm)、流速:1ml/min.として、試料溶液を注入し、クロマトグラムを得て、各指標成分のピーク面積から含量を求めた。

[0054] (2) 結果

結果を表3に示す。

[0055] [表3]

表3 試験液の含有成分の定量

	定量物質 (mg/g)			
	アウクビン	ゲニポシド酸	アスペルロサイド	クロロゲン酸
乾燥杜仲葉水抽出エキス	148.9	65.2	44.6	58.8
画分A	12.9	16.9	445.9	32.0
画分B	検出せず	検出せず	12.0	3.4
画分C	検出せず	検出せず	検出せず	検出せず

[0056] [実施例5] 杜仲葉水抽出物分画物の色調変化試験

(1) 試験方法

試験溶液は、乾燥杜仲葉水抽出エキス、画分Aおよび画分Bをそれぞれ1.5g秤取り、500mLの蒸留水に加え攪拌し試験液とした。試験溶液は、透明の密封容器に封入し40℃下の環境下で2週間保管した。試験液の評価は、試験溶液での目視評価と分光高度計(UV—1200:島津製作所社製)により吸光度をOD560およびOD720の波長で測定を行った。

[0057] (2) 結果

結果を表4に示す。

[0058] [表4]

表4 試験液の経時変化

	色調		OD560 (Abs)		OD720 (Abs)	
	開始時	2週間後	開始時	2週間後	開始時	2週間後
乾燥杜仲葉 水抽出エキス	濁りのない 薄茶褐色	濁りのない 茶褐色	0.069	0.418	0.027	0.055
画分A	濁りのない 薄茶褐色	濁りのない 茶褐色	0.082	0.631	0.027	0.173
画分B	黒色	黒色	0.571	1.189	0.219	0.357
画分C	濁りのない 薄茶褐色	濁りのない 薄茶褐色	0.457	0.397	0.315	0.397

[0059] [実施例6] 杜仲葉水抽出物分画物のからのアスペルロサイドの単離

乾燥杜仲葉577.6gを使用して、実施例1と同様の手法により水抽出液を調製し、乾固するまで濃縮して、水抽出物(267.4g)を固体として得た。当該水抽出物を水に溶解し、実施例1と同様の手法によりDiaion HP20を充填したカラムで30%メタノール水溶液画分として、カラムから先に溶離した画分(画分D:17.28g)および後に溶離した画分(画分E:3.78g)の2種類の分画物を得た。

[0060] 画分Dをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶離液 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=20:1 \rightarrow 9:1$)で精製し、アスペルロサイド(275.3mg)を得た。

画分Eを分取HPLC(カラム:Chromatrex ODS;溶離液:15%メタノール水溶液)により精製し、アスペルロサイド(2001.5mg)を得た。

請求の範囲

- [1] 乾燥杜仲葉から得られる杜仲葉水抽出物を逆相の合成吸着剤に吸着させ、水で洗浄後、5～80容積%メタノール水溶液で溶離させる工程を含む製造方法により得られる、杜仲葉水抽出物分画物。
- [2] 溶媒を留去した後の固形成分として、イリドイド化合物を10～90重量%含む、請求項1に記載の杜仲葉水抽出物分画物。
- [3] 溶媒を留去した後の固形成分として、アスペルロサイドを10～70重量%含む、請求項1に記載の杜仲葉水抽出物分画物。
- [4] 前記乾燥杜仲葉が、杜仲生葉を蒸熱する工程；杜仲葉を攪拌および／または揉圧しながら乾燥する工程；および杜仲葉に対して遠赤外線を照射することにより杜仲葉を乾燥する工程を含む製造方法により得られる、請求項1～3のいずれか1項に記載の杜仲葉水抽出物分画物。
- [5] 前記メタノール水溶液が、10容積%以上40容積%未満のメタノール水溶液である、請求項1に記載の杜仲葉水抽出物分画物。
- [6] 前記メタノール水溶液が、40～60容積%メタノール水溶液である、請求項1に記載の杜仲葉水抽出物分画物。
- [7] 請求項1～6のいずれか1項に記載の杜仲葉水抽出物分画物を含む、抗肥満剤。
- [8] 請求項7に記載の抗肥満剤を含む医薬。
- [9] 請求項7に記載の抗肥満剤を含む食品。
- [10] 機能性食品、健康食品、健康補助食品、栄養補助食品、保険機能食品、特定保険用食品または栄養機能食品である、請求項9に記載の食品。
- [11] 杜仲葉水抽出物分画物の製造方法であって、
乾燥杜仲葉から得られる杜仲葉水抽出物を逆相の合成吸着剤に吸着させ、水で洗浄後、5～80容積%メタノール水溶液で溶離させる工程を含む、前記方法。
- [12] 得られる杜仲葉水抽出物分画物がイリドイド化合物を10～90重量%含む、請求項11に記載の方法。
- [13] アスペルロサイドを10～70重量%含む、固体の杜仲葉水抽出物分画物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/054083

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/46(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K31/7048(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, C07H17/04(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)

A61K36/46, A23L1/30, A61K31/7048, A61P3/04, C07H17/04

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	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

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

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), CAPLUS (STN), JMEDPLUS (JDream2), JSTPLUS (JDream2)

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 4-368336 A (Hitachi Zosen Corp.), 21 December, 1992 (21.12.92), Pages 2 to 3; Par. No. [0013] (Family: none)	13 1-12
Y	JP 3-63231 A (Hitachi Zosen Corp.), 19 March, 1991 (19.03.91), Page 2, lower right column; page 3, upper left column; examples (Family: none)	1-13
Y	JP 10-117748 A (Shigeki ISHIHARA), 12 May, 1998 (12.05.98), (Family: none)	1-13



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
20 April, 2007 (20.04.07)

Date of mailing of the international search report
01 May, 2007 (01.05.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/054083

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2005/99488 A1 (Kobayashi Pharmaceutical Co., Ltd.), 27 October, 2005 (27.10.05), & JP 2005.287469 A	1-13
Y	JP 2005-289950 A (Kobayashi Pharmaceutical Co., Ltd.), 20 October, 2005 (20.10.05), & WO 2005/99734 A1	1-13

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K36/46(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K31/7048(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, C07H17/04(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. A61K36/46, A23L1/30, A61K31/7048, A61P3/04, C07H17/04

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

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), CApplus(STN), JMEDPlus(JDream2), JSTPlus(JDream2)

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 請求の範囲の番号
X Y	JP 4-368336 A(日立造船株式会社)1992. 12. 21, p 2-3 【0013】 (ファミリーなし)	13 1-12
Y	JP 3-63231 A(日立造船株式会社)1991. 03. 19, p2 右欄下 p 3 左欄上段、実施例(ファミリーなし)	1-13
Y	JP 10-117748 A(石原繁樹)1998. 05. 12(ファミリーなし)	1-13
Y	WO 2005/99488 A1(小林製薬株式会社)2005. 10. 27&JP 2005. 287469 A	1-13

☒ 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

2 0 . 0 4 . 2 0 0 7

国際調査報告の発送日

0 1 . 0 5 . 2 0 0 7

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)

鶴見 秀紀

4 C

8 4 1 5

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

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 請求の範囲の番号
Y	JP 2005-289950 A(小林製薬株式会社)2005. 10. 20&WO 2005/99734 A1	1-13