

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-507192
(P2025-507192A)

(43)公表日 令和7年3月13日(2025.3.13)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	36/185 (2006.01)	A 6 1 K	36/185	4 C 0 7 6	
A 6 1 K	9/06 (2006.01)	A 6 1 K	9/06	4 C 0 8 6	
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	9/08	4 C 0 8 8	
A 6 1 K	9/14 (2006.01)	A 6 1 K	9/14		
A 6 1 K	9/20 (2006.01)	A 6 1 K	9/20		
		審査請求 有	予備審査請求 未請求	(全58頁)	最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-554801(P2024-554801)	(71)出願人	522209859		
(86)(22)出願日	令和4年3月15日(2022.3.15)		蘇中藥業集団股▲ふん▼有限公司		
(85)翻訳文提出日	令和6年10月16日(2024.10.16)		中華人民共和國 2 2 5 5 0 0 江蘇省泰		
(86)国際出願番号	PCT/CN2022/080818		州市姜堰区蘇中路1号		
(87)国際公開番号	WO2023/173268	(71)出願人	522209871		
(87)国際公開日	令和5年9月21日(2023.9.21)		江蘇蘇中藥業研究院有限公司		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		中華人民共和國 2 1 0 0 0 0 江蘇省南		
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		京市江北新区新錦湖路3-1号中丹生態		
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		生命科学産業園二期C棟7楼		
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR	(74)代理人	100095407		
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		弁理士 木村 満		
	ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,S	(74)代理人	100132883		
	I,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,G		弁理士 森川 泰司		
	A,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,	(74)代理人	100148633		
	TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B		弁理士 桜田 圭		
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位およびその調製方法並びに用途

(57)【要約】

本発明は、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位およびその調製方法並びに用途に関し、漢方薬の製薬分野に属する。本発明は、高純度アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位を調製したところ、より良好な腎症治療活性を有し、特に糖尿病性腎症、ゼブラループス腎症、または造影剤誘発腎障害、眼科疾患に対して顕著な治療効果を有することを見いだした。同時に、本発明に記載のアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位は安全性も良好である。

【選択図】 図1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の質量比でフラボノイド成分を含有し、

ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシン：イソクエルシトリン：ミリセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシドの質量比は、10：3.0～20：4.0～18：1.9～6.0：6.0～20である、

ことを特徴とするアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位。

【請求項 2】

ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシン：イソクエルシトリン：ミリセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシドの質量比は、10：4.0～17：4.50～16：1.9～5.5：7.0～16であり、好ましくは、10：6.0～15：5.0～13：2.0～5.0：8.0～14であり、

さらにケルセチンを含有し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ケルセチンは10：1.0～10.0であり、好ましくは10：1.0～6.0であり、好ましくは10：1.5～5.0であり、

またさらにルチンを含有し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ルチンは10：0.05～0.6であり、好ましくは10：0.1～0.4であり、より好ましくは10：0.1～0.3であり、

さらに好ましくはケルセチン-3-O-ロビノビオサイドを含有し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ケルセチン-3-O-ロビノビオサイドは10：0.1～2.5、10：0.1～0.9であり、好ましくは10：0.15～0.5である、

ことを特徴とする請求項 1 に記載の有効部位。

【請求項 3】

以下の質量比

【表 1】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.05～1.6
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.2～4.6
ミリセチン	0.05～1.2
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.2～3.5
ハイペリシン	0.25～3.6

でフラボノイド成分を含有することを特徴とするフラボノイド有効部位。

【請求項 4】

以下の質量比

【表 2】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.1～1.2
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.4～3.1
ミリセチン	0.10～0.9
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.4～3.1
ハイペリシン	0.5～3.0

、好ましくは、

10

20

30

40

50

【表 3】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.16 ~ 1.0
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.6 ~ 2.4
ミリセチン	0.14 ~ 0.75
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.6 ~ 2.5
ハイペリシン	0.6 ~ 2.4

10

、より好ましくは、

【表 4】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.2 ~ 0.8
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.8 ~ 2.1
ミリセチン	0.18 ~ 0.6
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.8 ~ 2.0
ハイペリシン	0.7 ~ 2.0

20

、より好ましくは、

【表 5】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.2 ~ 0.7
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.8 ~ 1.6
ミリセチン	0.2 ~ 0.5
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.8 ~ 1.8
ハイペリシン	0.8 ~ 1.4

30

、より好ましくは、

【表 6】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.2 ~ 0.6
ケルセチン-3'-O-グルコシド	1.0 ~ 1.2
ミリセチン	0.2 ~ 0.4
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.9 ~ 1.7
ハイペリシン	1.0 ~ 1.3

40

、または

50

【表 7】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.09～1.6
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.2～2.0
ミリセチン	0.05～1.2
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.5～3.0
ハイペリシン	0.25～3.6

10

、または

【表 8】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.12～0.7
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.8～1.6
ミリセチン	0.2～0.5
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.85～1.7
ハイペリシン	1.0～1.4

20

でフラボノイド分を含有することを特徴とする請求項 3 に記載の有効部位。

【請求項 5】

イソクエルシトリンの質量比の値は 1.2 または 1.0 である、ことを特徴とする請求項 3～5 のいずれか 1 項に記載の有効部位。

【請求項 6】

ルチンをさらに含有し、イソクエルシトリンとルチンの質量比は 1 : 0.001～0.08 であり、好ましくは 1 : 0.005～0.06 であり、好ましくは 1 : 0.006～0.05 であり、好ましくは 1 : 0.007～0.04 であり、好ましくは 1 : 0.009～0.04、または好ましくは 1 : 0.008～0.03 であり、好ましくは 1 : 0.009～0.03 であり、

30

さらに、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドを含有し、イソクエルシトリンとケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドの質量比は 10 : 0.1～2.5、10 : 0.1～0.9 であり、好ましくは 10 : 0.15～0.5 である、

ことを特徴とする請求項 3～5 のいずれか 1 項に記載の有効部位。

【請求項 7】

ケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリンおよびハイペリシンの含有量の合計が 55% 以上であり、好ましくは 60% 以上であり、好ましくは 65～85% であり、好ましくは 69～82% であり、

40

さらに、ケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は 12.1～25% であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は 12.6～23% または 13～20%、13～20%、または 14～25% であり、

またはさらに、ケルセチンの含有量は 0.7% を超え、さらに 1.0% を超え、さらに 1.0%～10% であり、さらに 1.5%～5% であり、

またはまたさらに、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニドは 8.5～30% であり、さらに 12%～23% である、

ことを特徴とする請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の有効部位。

【請求項 8】

前記有効部位が含有するケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン

50

、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65～85%または66～84%であり、好ましくは69～82%、または69～90%であり、

さらに、ケルセチン-3'-o-グルコシド含有量は12.1～25%であり、またさらにケルセチン-3'-o-グルコシド含有量は12.6～23%または13～20%である、

ことを特徴とする請求項7に記載の有効部位。

【請求項9】

フラボノイド成分を含有する植物抽出物であって、以下の質量含有量の成分を含有し：
ハイペリシン10～25%、イソクエルシトリン8～19%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド5～30%、ケルセチン-3'-o-グルコシド12.1～25%であり、さらにハイペリシン12～23%、イソクエルシトリン10～17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド8.5～25%、ケルセチン-3'-o-グルコシド12.6～23%であり、さらにハイペリシン13～22%、イソクエルシトリン11～17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド12～21%、ケルセチン-3'-o-グルコシド13～20%である、

ことを特徴とする植物抽出物。

【請求項10】

ケルセチン2～10%を含有し、好ましくはケルセチン2.5～9%を含有し、好ましくはケルセチン3～8.5%、さらに1.5%～5%を含有し、またさらに、ミリセチン2～11%を含有し、好ましくはミリセチン3～7%を含有し、好ましくはミリセチン3～5%を含有し、さらに、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド0.08～2.5%を含有し、好ましくは0.1～1.5%、さらに0.1～0.9%、さらに好ましくは0.1～0.5%を含有し、さらに、前記植物はアベルモスカスマニホットまたはオクラの花であり、好ましくはアベルモスカスマニホット花である、ことを特徴とする請求項9に記載の抽出物。

【請求項11】

フラボノイド成分を含有するアベルモスカスマニホット花抽出物であって、以下の質量含有量の成分を含有し、

ハイペリシン8～26%、イソクエルシトリン12.0～19.8%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド8.5～30%、ミリセチン3.0～4.9%または5.1～6.0%、ケルセチン-3'-o-グルコシド14～25%、ケルセチン1.6～4.9%であり、さらにハイペリシン11～22%、イソクエルシトリン12.0～17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド12～23%、ミリセチン1.6～4.9%または5.1～9.0%、ケルセチン-3'-o-グルコシド13～22%、ケルセチン1.4～8%または1.4～7.8%である、

ことを特徴とするアベルモスカスマニホット花抽出物。

【請求項12】

質量含有量0.01～1.0%のルチンをさらに含有し、さらに0.05～0.8%、さらに0.09～0.8%、さらに0.1～0.6%であり、

さらに、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド0.08～2.5%を含有し、好ましくは0.1～1.5%、さらに0.1～0.9%、さらに好ましくは0.1～0.5%である、

ことを特徴とする請求項11に記載のアベルモスカスマニホット花抽出物。

【請求項13】

前記アベルモスカスマニホット花抽出物中のフラボノイド成分の質量含有量は55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65～85%または66～84%であり、好ましくは69～82%または69～90%である、ことを特徴とする請求項12に記載のアベルモスカスマニホット花抽出物。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

以下の質量比でフラボノイド成分を含有し、

イソクエルシトリン：ケルセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシド：ミリセチン：ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシンの質量比は、1：0.05～1.6：0.2～4.6：0.05～1.2：0.2～3.5：0.25～3.6、さらに1：0.1～1.2：0.4～3.1：0.10～0.9：0.4～3.1：0.5～3.0、さらに1：0.16～1.0：0.6～2.4：0.14～0.75：0.6～2.5：0.6～2.4、さらに1：0.2～0.8：0.8～2.1：0.18～0.6：0.8～2.0：0.7～2.0、さらに1：0.2～0.7：0.8～1.6：0.2～0.5：0.8～1.8：0.8～1.4、さらに1：0.2～0.6：1.0～1.2：0.2～0.4：0.9～1.7：1.0～1.3または1.2：0.05～1.6：0.2～4.6：0.05～1.2：0.2～3.5：0.25～3.6、さらに1：0.1～1.2：0.4～3.1：0.10～0.9：0.4～3.1：0.5～3.0、さらに1：0.16～1.0：0.6～2.4：0.14～0.75：0.6～2.5：0.6～2.4、さらに1：0.2～0.8：0.8～2.1：0.18～0.6：0.8～2.0：0.7～2.0、さらに1：0.2～0.7：0.8～1.6：0.2～0.5：0.8～1.8：0.8～1.4、さらに1：0.2～0.6：1.0～1.2：0.2～0.4：0.9～1.7：1.0～1.3である、組成物。

10

【請求項 15】

前記組成物は、ルチンをさらに含有し、前記イソクエルシトリンとルチンの質量比は1：0.001～0.08であり、好ましくは1：0.005～0.06であり、好ましくは1：0.006～0.05であり、好ましくは1：0.007～0.04であり、好ましくは1：0.008～0.03であり、好ましくは1：0.009～0.03であり、さらに、フラボノイド成分におけるケルセチン-3'-O-グルコシドの含有量は12.1～25%であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシドの含有量は12.6～23%または13～20%であり、さらに、ケルセチン-3-O-ロビノビオサイド0.08～2.5%を含有し、好ましくは0.1～1.5%、さらに0.1～0.9%、さらに好ましくは0.1～0.5%である、

20

ことを特徴とする請求項 14 に記載の組成物。

30

【請求項 16】

前記組成物が含有するケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65～85%であり、好ましくは69～82%である、ことを特徴とする請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の有効部位、請求項 9～13 のいずれか 1 項に記載のアベルモスカスマニホット抽出物、または請求項 14～16 のいずれか 1 項に記載の組成物を含み、薬学的に許容される担体をさらに含む、ことを特徴とする医薬組成物。

40

【請求項 18】

前記薬学的に許容される担体は、溶媒、乳化剤、崩壊剤、充填剤、可溶化剤、酸化防止剤、pH調整剤、浸透圧調整剤、静菌剤、希釈剤、潤滑剤、結調合薬および／またはフィルム形成剤を含み、前記潤滑剤はステアリン酸マグネシウムを含まない、ことを特徴とする請求項 17 に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

前記医薬組成物の剤形は、注射剤、錠剤、坐剤、軟膏剤、ゲル剤、丸薬、錠剤、顆粒剤、カプセル剤または調合薬、懸濁剤、散剤である、ことを特徴とする請求項 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

50

腎症、好ましくは糖尿病性腎症または腎線維症を伴う糖尿病性腎症または腎炎薬物の調製における、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の有効部位、請求項 9～13 のいずれか 1 項に記載のアベルモスカスマニホット抽出物、請求項 14～16 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 17～19 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物の用途。

【請求項 2 1】

眼科疾患薬物、好ましくは黄斑変性症、視覚疲労または白内障、糖尿病性網膜症、加齢性黄斑変性症、中心性滲出性脈絡膜網膜炎、強度近視による黄斑変性症の調製における、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の有効部位、請求項 9～13 のいずれか 1 項に記載のアベルモスカスマニホット抽出物、請求項 14～16 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 17～19 のいずれか 1 項に記載の薬物の組み合わせの用途。

10

【請求項 2 2】

エリテマトーデス性狼瘡腎炎、または造影剤誘発腎障害、または肺線維症、または心不全、または尿酸低下のための薬物の調製における、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の有効部位、請求項 9～13 のいずれか 1 項に記載のアベルモスカスマニホット抽出物、請求項 14～16 のいずれか 1 項に記載の組成物、または請求項 17～19 のいずれか 1 項に記載の薬物の組み合わせの用途。

【請求項 2 3】

請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の有効部位または請求項 9～13 のいずれか 1 項に記載のアベルモスカスマニホット抽出物の調製方法であって、

(1) アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタノールで抽出して抽出液を調製するステップ、

20

(2) 前記抽出液を濃縮した後エキスを抽出してエキスを調製するステップ、

(3) 前記エキス液から溶媒を除去した後、マクロポラス樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップ、

を含み、好ましくは抽出方法がパーコレーションである、調製方法。

【請求項 2 4】

ステップ (1) における前記エタノールの使用量は前記アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの前記薬効部位の 10～25 倍であり、前記エタノールは 60～95% のエタノール溶液であり、

ステップ (2) における前記エキス用のエキス剤は n-ブタノール、石油エーテルまたは酢酸エチルであり、前記エキスの方法は連続向流エキスであり、前記エキスの材料液体比は 0.8～4:1 であり、前記エキスのエキス段数は 1 段～5 段であり、

30

ステップ (3) における前記マクロポラス樹脂の型式は D101、HPD100 または AB-8 である、

ことを特徴とする請求項 23 に記載の調製方法。

【請求項 2 5】

ステップ (2) は、前記エキスの前に、抽出液に対して活性炭吸着、アルコール沈殿または酸沈殿処理を行うことをさらに含む、ことを特徴とする請求項 24 に記載の調製方法。

【請求項 2 6】

40

前記マクロポラス樹脂の溶出工程は以下のとおりであり、マクロポラス樹脂の直径対高さ比は 1:4～1:9 であり、ローディングバッファー濃度は 0.10～0.30 g 原料/mL であり、ローディングバッファー体積は 4～12 BV であり、流速 1～4 BV/h でローディングし、4～8 BV の純水と 1～5 BV の 3～15% エタノールを用いて流速 0.5～4 BV/h で不純物を除去し、2～8 BV の 50～80% エタノールを用いて流速 1～5 BV/h で溶出する、ことを特徴とする請求項 25 に記載の調製方法。

【請求項 2 7】

請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の有効部位または請求項 9～13 のいずれか 1 項に記載のアベルモスカスマニホット抽出物の調製方法であって、

(1) アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタ

50

ノールで抽出して抽出液を調製するステップ、

(2) 前記抽出液に清澄剤を加え、水浴処理し、濾過して上澄を除去するステップ、

(3) 前記上澄液をポリアミド樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップ

を含み、好ましくは抽出方法はパーコレーションである、調製方法。

【請求項 28】

ステップ(1)における前記エタノールの使用量は前記アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの前記薬効部位の10～25倍であり、前記エタノールは60～95%のエタノール溶液であり、

ステップ(2)における水浴温度は50～70℃であり、水浴時間は30～90分間であり、

ステップ(3)における前記樹脂の直径対高さ比は1:4～1:9であり、ローディングバッファー濃度は0.10～0.60 g 原料/mLであり、ローディングバッファー体積は4～12 BVであり、4～8 BVの純水と4～8 BVの60～95%エタノールを用いて溶出する、

ことを特徴とする請求項 27 に記載の調製方法。

【請求項 29】

請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の有効部位または請求項 9～13 のいずれか 1 項に記載のアベルモスカスマニホット抽出物の調製方法であって、

(1) アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタノールで抽出して抽出液を調製するステップ、

(2) 前記抽出液の pH 値を 2.0～3.0 に調整し、冷蔵し、濾過して沈殿を取り、水を加えて溶解するステップ、

(3) 溶解液をエキスを抽出してエキスを調製するステップ、

(4) 前記エキス液から溶媒を除去した後ポリアミド樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップ、

を含み、好ましくは抽出方法は還流である、調製方法。

【請求項 30】

ステップ(1)における前記エタノールの使用量はアベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホット薬効部位の10～25倍であり、前記エタノールは60～95%のエタノール溶液であり、

ステップ(2)における pH 調整剤は塩酸、硫酸、酢酸、リン酸、クエン酸、酒石酸またはマレイン酸であり、

ステップ(3)における前記エキス用のエキス剤はn-ブタノール、石油エーテルまたは酢酸エチルであり、前記エキスの方法は連続向流エキスであり、前記エキスの材料液体比は0.8～4:1であり、前記エキスのエキス段数は1段～5段であり、

ステップ(4)における前記樹脂の直径対高さ比は1:4～1:9であり、ローディングバッファー濃度は0.10～0.60 g 原料/mLであり、ローディングバッファー体積は4～12 BVであり、4～8 BVの純水と4～8 BVの60～95%エタノールを用いて溶出する、

ことを特徴とする請求項 29 に記載の調製方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、漢方薬の製薬分野に関し、具体的にアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位およびその用途に関する。

【背景技術】

【0002】

薬用アベルモスカスマニホット花は、アオイ科植物アベルモスカスマニホット *Abelmoschus manihot* (L.) Medic の乾燥した花冠であり、味が甘くて

10

20

30

40

50

冷たく、腎臓と膀胱の経絡に属し、湿と熱を取り除き、腫れを鎮め、毒素を取り除く効能があり、癰や瘰癧、水や火によるやけどに用いられる。この薬は、《嘉佑本草》に初めて収載され、《嘉佑本草》には次のように収載された：アベルモスカスマニホット花は、悪性のただれや膿の長い間治癒しない者を外部適用で治療する。《本草綱目》に次のように収載された：アベルモスカスマニホット花、その花は甘い香り、冷たい、滑りやすい、無毒で、悪性のただれや膿の長い間治癒しない者を外部適用で治療することができ、慢性のただれを持つ患者の主な治療薬である。

【0003】

フラボノイド化合物はアベルモスカスマニホット花の主成分の一つであるだけでなく、同時にその薬理学的有効成分の一つであり、アベルモスクカプセルは長年にわたって市場に出回っており、その主要有効成分はアベルモスカスマニホット花の抽出物である。研究によると、アベルモスカスマニホット花抽出物中のフラボノイド成分は、ただれや膿に顕著な治療効果を有し、虚血による心、脳、組織などの損害にも顕著な保護作用を有することが確認され、さらに、アベルモスカスマニホット花の総フラボノイドは抗炎症、解熱鎮痛、心脳虚血損害に対する保護、血糖降下、抗ウイルスなどの分野でより優れた効果を発揮する可能性があることが、数多くの文献で報告されている。例えば、中国特許出願第201210082553.7号ではアベルモスカスマニホット花の総フラボノイド抽出物が開示されており、ケルセチン-3'-グルコシド、ケルセチン-3'-グルコシドとイソクエルシトリン重量比が(11~16):(2.5~6):(4~6.5)であるフラボノイドを含有し、腎症疾患の治療薬の調製に用いられる。中国特許出願第200610097615.6号ではアベルモスカスマニホット花の総フラボノイド抽出物が開示されており、重量%で総フラボノイド含有量は50~90%であり、フラボノイド成分は、ケルセチン-3-ロビノビオサイド1.0~5.0%、ハイペリシン8~24.0%、イソクエルシトリン7.0~20.0%、ケルセチン-3'-グルコシド5.0~15.0%、ケルセチン-3'-グルコシド3.0~10.0%、ミリセチン0.5~5.0%、ケルセチン0.5~5.0%、ケルセチン2.0~8.0%、およびその他の数種フラボノイド成分を含有し、前記アベルモスカスマニホット花の総フラボノイド抽出物は腎症治療薬の調製に用いられ、フラボノイド成分の定性と定量が明確で、治療効果が確実である。

【0004】

バイオフィラボノイドの様々な治療効果にもかかわらず、フラボノイドには数多くの種類があり、現在、主に7つの異なるサブタイプに分類することができ、フラボノイド成分の組成が異なれば治療効果も異なる。例えば、バイオフィラボノイドが糖尿病性網膜症の予防や治療に有効であることが文献で報告されているが、ケルセチンのような水酸基を5個持つ化合物は眼部血流に悪影響を及ぼすのに対し、フラボノイドを脱水素してフラバノン類にすると、眼部血流の有意な改善が得られる。さらに、血流を増加させる化合物は虚血性損傷後の網膜機能回復を有意に増加させる。このような化合物を、黄斑変性症、視覚疲労、白内障などの眼疾患の治療、あるいは糖尿病性網膜症に対する効果を高めるために、どのように開発し有効利用するかは、研究の重要な課題である。

【0005】

脈絡膜新生血管(CNV)は、加齢性黄斑変性症(AMD)、中心性滲出性脈絡膜網膜炎および強度近視による黄斑変性症などの多くの眼底疾患で見られるが、中でも、AMDに続発するCNVが最も多く、高齢者における不可逆的な視覚機能障害の主な原因の一つとなっている。血流不全も視覚疲労に影響する因子であり、眼部血流を促進したり、眼部平滑筋に作用させたりすることで、視覚疲労を回復させることに寄与する。

【0006】

近位腎尿細管グルコース再吸収は、ナトリウム-グルコース共輸送体タンパク質(SGLT)1およびSGLT2輸送体によって媒介され、ここで、グルコース再吸収の約90%はSGLT2によって媒介され、残りの10%はSGLT1によって媒介される。SGLT2阻害薬は、SGLT2受容体を選択的に結合することによって、腎細管グルコースの再吸収を阻害し、腎グルコース閾値を低下させ、尿グルコース排泄量を増加させ、顕著

な血糖降下目的を達成する。近年、臨床研究によると、SGLT2阻害薬が糖尿病に起因しない慢性腎臓病（CKD）に対して腎臓保護作用を有することが判明した。SGLT2阻害薬は、TGFβ-1、PAI1、STAT1、MMP7の発現を低下させ、かつAGEs-RAGE軸を阻害することにより、コラーゲン、フィブロネクチンの発現を低下させることができ、細胞外マトリックスの蓄積を減少させ、DN腎臓線維症の進行を緩和することができる。SGLT2阻害薬は、尿細管球のフィードバックを調節し、蛋白尿の過程を減少させ、抗炎症、抗線維症の作用に加えて、糖尿病患者の体内尿酸（SUA）も減少させることができ、例えば、対照群と比較すると、SGLT2阻害薬（エンパグリフロジン、カルグリフロジン、ダグリフロジン、トグリフロジン、ルグリフロジン、イグリフロジン）は血清尿酸値を有意に減少させる。SGLT2阻害薬は、血漿量の減少、前後負荷の減少、心筋エネルギー代謝の改善、心筋リモデリングの改善により、心不全の予防と治療に有益である可能性がある。

10

【0007】

文献で報告されているアベルモスカスマニホット花の抽出方法には、エタノール還流抽出、超音波抽出、常温浸漬抽出などがあるが、アベルモスカスマニホット花抽出物の成分は複雑で、有効成分の含有量も大きく異なり、抽出移行率が低く、抽出のエネルギー消費量が多く、溶媒使用量も多い。したがって、腎症、特に糖尿病性腎症および眼科疾患などの様々な疾患を同時に治療するために組み合わせることができるアベルモスカスマニホット花治療薬物およびその抽出方法を探求する必要がある。

【0008】

出願人はアベルモスクカプセルの副作用症例を統計したところ、アベルモスクカプセル副作用は最近1年間に194件あり、薬物副作用発現状況の統計によると、吐き気、かゆみ、発疹、嘔吐、下痢、心窩部膨満感、不快感など、いずれも既知の副作用であり10件以上の発現回数がある。最近新たに出現したADR症状にはめまい、頭痛、食欲減退などがある。さらに、寄せられた重篤な副作用には、肝細胞障害が一件あり、アベルモスクカプセルの肝細胞障害を示唆している可能性がある。したがって、新しいアベルモスカスマニホット花のフラボノイド抽出物を開発し、副作用を軽減し、疾患治療のための薬物を調製することには臨床的な意味がある。

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

30

【0009】

上記欠点に鑑み、本発明は、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位およびその用途を提供する。本発明は、エキス結合樹脂法により高純度アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位を調製したところ、腎症、例えば糖尿病性腎症、造影剤腎損害またはエリテマトーデス性狼瘡腎炎により良好な治療活性を有し、眼科疾患を治療する作用も有する。同時に、本発明に記載のアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物または組成物は、副作用が少なく、患者により良好な治療薬物を提供することができる。

【課題を解決するための手段】

【0010】

40

上記技術的問題を解決するために、本発明は以下の技術的解決策を提供する。

【0011】

第1態様において、本発明は、以下の質量比でフラボノイド成分を含有するアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位を提供し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシン：イソクエルシトリン：ミリセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシドの質量比は、10：3.0～20：4.0～18：1.9～6.0：6.0～20である。

【0012】

具体的に、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシン：イソクエルシトリン：ミリセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシドの質量比は、10：4.0～1

50

7 : 4 . 5 0 ~ 1 6 : 1 . 9 ~ 5 . 5 : 7 . 0 ~ 1 6 であり、好ましくは、1 0 : 6 . 0 ~ 1 5 : 5 . 0 ~ 1 3 : 2 . 0 ~ 5 . 0 : 8 . 0 ~ 1 4 であり、さらに、ケルセチン含有し、ここで、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ケルセチンは1 0 : 1 . 0 ~ 1 0 . 0 であり、好ましくは1 0 : 1 . 0 ~ 6 . 0 であり、好ましくは1 0 : 1 . 5 ~ 5 . 0 であり、またさらに、ルチン含有し、ここで、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ルチンは1 0 : 0 . 0 5 ~ 0 . 6 であり、好ましくは1 0 : 0 . 1 ~ 0 . 4 であり、より好ましくは1 0 : 0 . 1 ~ 0 . 3 であり、さらに好ましくは、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド含有し、ここで、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドは1 0 : 0 . 1 ~ 2 . 5、1 0 : 0 . 1 ~ 0 . 9 であり、好ましくは1 0 : 0 . 1 5 ~ 0 . 5 である。

10

【0013】

第2態様において、本発明は、以下の質量比でフラボノイド成分を含有するアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位を提供し、イソクエルシトリン：ケルセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシド：ミリセチン：ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシンの質量比は、0 . 8 ~ 1 . 2 : 0 . 0 5 ~ 1 . 6 : 0 . 2 ~ 4 . 6 : 0 . 0 5 ~ 1 . 2 : 0 . 2 ~ 3 . 5 : 0 . 2 5 ~ 3 . 6 である。

【0014】

具体的に、前記アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位は以下の質量比でフラボノイド成分を含有し、イソクエルシトリン：ケルセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシド：ミリセチン：ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシンの質量比は、0 . 8 ~ 1 . 2 : 0 . 1 ~ 1 . 2 : 0 . 4 ~ 3 . 1 : 0 . 1 0 ~ 0 . 9 : 0 . 4 ~ 3 . 1 : 0 . 5 ~ 3 . 0、さらに0 . 8 ~ 1 . 2 : 0 . 1 6 ~ 1 . 0 : 0 . 6 ~ 2 . 4 : 0 . 1 4 ~ 0 . 7 5 : 0 . 6 ~ 2 . 5 : 0 . 6 ~ 2 . 4、さらに0 . 8 ~ 1 . 2 : 0 . 2 ~ 0 . 8 : 0 . 8 ~ 2 . 1 : 0 . 1 8 ~ 0 . 6 : 0 . 8 ~ 2 . 0 : 0 . 7 ~ 2 . 0、さらに0 . 8 ~ 1 . 2 : 0 . 2 ~ 0 . 7 : 0 . 8 ~ 1 . 6 : 0 . 2 ~ 0 . 5 : 0 . 8 ~ 1 . 8 : 0 . 8 ~ 1 . 4、さらに0 . 8 ~ 1 . 2 : 0 . 2 ~ 0 . 6 : 1 . 0 ~ 1 . 2 : 0 . 2 ~ 0 . 4 : 0 . 9 ~ 1 . 7 : 1 . 0 ~ 1 . 3 である。

20

【0015】

具体的に、前記アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位は、以下の質量比、イソクエルシトリン：ケルセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシド：ミリセチン：ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシンの質量比は、0 . 8 ~ 1 . 2 : 0 . 0 9 ~ 1 . 6 : 0 . 2 ~ 2 . 0 : 0 . 0 5 ~ 1 . 2 : 0 . 5 ~ 3 . 0 : 0 . 2 5 ~ 3 . 6 でフラボノイド成分を含有する。

30

【0016】

具体的に、前記アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位は、以下の質量比、イソクエルシトリン：ケルセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシド：ミリセチン：ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシンの質量比は、0 . 8 ~ 1 . 2 : 0 . 1 2 ~ 0 . 7 : 0 . 8 ~ 1 . 6 : 0 . 2 ~ 0 . 5 : 0 . 8 5 ~ 1 . 7 : 1 . 0 ~ 1 . 4 でフラボノイド成分を含有する。

【0017】

より具体的に、前記イソクエルシトリンの質量比の値は1 . 2 または1 . 0 である。

40

【0018】

より具体的に、前記アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位はルチンを含さらに含有し、イソクエルシトリンとルチンの質量比は1 : 0 . 0 0 1 ~ 0 . 0 8 であり、好ましくは1 : 0 . 0 0 5 ~ 0 . 0 6 であり、好ましくは1 : 0 . 0 0 6 ~ 0 . 0 5 であり、好ましくは1 : 0 . 0 0 7 ~ 0 . 0 4 であり、好ましくは1 : 0 . 0 0 9 ~ 0 . 0 4、または好ましくは1 : 0 . 0 0 8 ~ 0 . 0 3 であり、好ましくは1 : 0 . 0 0 9 ~ 0 . 0 3 であり、さらに、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド含有し、イソクエルシトリンとケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドの質量比は1 0 : 0 . 1 ~ 2 . 5、1 0 : 0 . 1 ~ 0 . 9 であり、好ましくは1 0 : 0 . 1 5 ~ 0 . 5 である。

50

【0019】

より具体的に、前記アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位はケルセチン含有し、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65~85%であり、好ましくは69~82%であり、さらに、ケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.1~25%であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.6~23%または13~20%、13~20%、または14~25%であり、またはさらに、ケルセチンの含有量は0.7%を超え、さらに1.0%を超え、さらに1.0%~10%であり、さらに1.5%~5%であり、またはまたさらに、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニドは8.5~30%であり、さらに12%~23%である。

10

【0020】

より具体的に、前記有効部位はケルセチン含有し、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65~85%または66~84%であり、好ましくは69~82%、または69~90%であり、さらに、ケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.1~25%であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.6~23%または13~20%である。

20

【0021】

第3態様において、本発明は、以下の質量含有量の成分を含有するフラボノイド成分を含有する、植物抽出物を提供し、ハイペリシン10~25%、イソクエルシトリン8~19%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド5~30%、ケルセチン-3'-O-グルコシド12.1~25%であり、さらにハイペリシン12~23%、イソクエルシトリン10~17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド8.5~25%、ケルセチン-3'-O-グルコシド12.6~23%であり、さらにハイペリシン13~22%、イソクエルシトリン11~17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド12~21%、ケルセチン-3'-O-グルコシド13~20%である。

【0022】

具体的に、前記の抽出物はケルセチン2~10%をさらに含有し、好ましくはケルセチン2.5~9%を含有し、好ましくはケルセチン3~8.5%を含有し、さらに1.5%~5%を含有し、またさらに、ミリセチン2~11%を含有し、好ましくはミリセチン3~7%を含有し、好ましくはミリセチン3~5%を含有し、さらに、ケルセチン-3-O-ロビノビオサイド0.08~2.5%を含有し、好ましくは0.1~1.5%、さらに0.1~0.9%、さらに好ましくは0.1~0.5%を含有し、さらに、前記植物はアベルモスカスマニホットまたはオクラの花であり、全花であっても花冠であってもよく、好ましくはアベルモスカスマニホット花である。

30

【0023】

第4態様において、本発明は、以下の質量含有量の成分を含有するフラボノイド成分を含有する、アベルモスカスマニホット花抽出物を提供し、ハイペリシン8~26%、イソクエルシトリン12.0~19.8%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド8.5~30%、ミリセチン3.0~4.9%または5.1~6.0%、ケルセチン-3'-O-グルコシド14~25%、ケルセチン1.6~4.9%であり、さらにハイペリシン11~22%、イソクエルシトリン12.0~17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド12~23%、ミリセチン1.6~4.9%または5.1~9.0%、ケルセチン-3'-O-グルコシド13~22%、ケルセチン1.4~8%または1.4~7.8%である。

40

【0024】

具体的に、前記抽出物は質量含有量0.01~1.0%のルチンをさらに含有し、さらに0.05~0.8%、さらに0.09~0.8%、さらに0.1~0.6%であり、さ

50

らに、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド0.08~2.5%を含有し、好ましくは0.1~1.5%、さらに0.1~0.9%、さらに好ましくは0.1~0.5%である。

【0025】

具体的に、前記アベルモスカスマニホット花抽出物中のフラボノイド成分の質量含有量は55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65~85%または66~84%であり、好ましくは69~82%または69~90%である。

【0026】

第5態様において、本発明は以下の質量比でフラボノイド成分を含有する組成物を提供し、イソクエルシトリン：ケルセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシド：ミリセチン：ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシンの質量比は、1：0.05~1.6：0.2~4.6：0.05~1.2：0.2~3.5：0.25~3.6、さらに1：0.1~1.2：0.4~3.1：0.10~0.9：0.4~3.1：0.5~3.0、さらに1：0.16~1.0：0.6~2.4：0.14~0.75：0.6~2.5：0.6~2.4、さらに1：0.2~0.8：0.8~2.1：0.18~0.6：0.8~2.0：0.7~2.0、さらに1：0.2~0.7：0.8~1.6：0.2~0.5：0.8~1.8：0.8~1.4、さらに1：0.2~0.6：1.0~1.2：0.2~0.4：0.9~1.7：1.0~1.3または1.2：0.05~1.6：0.2~4.6：0.05~1.2：0.2~3.5：0.25~3.6、さらに1：0.1~1.2：0.4~3.1：0.10~0.9：0.4~3.1：0.5~3.0、さらに1：0.16~1.0：0.6~2.4：0.14~0.75：0.6~2.5：0.6~2.4、さらに1：0.2~0.8：0.8~2.1：0.18~0.6：0.8~2.0：0.7~2.0、さらに1：0.2~0.7：0.8~1.6：0.2~0.5：0.8~1.8：0.8~1.4、さらに1：0.2~0.6：1.0~1.2：0.2~0.4：0.9~1.7：1.0~1.3である。

【0027】

具体的に、前記組成物はルチンをさらに含有し、前記イソクエルシトリンとルチンの質量比は1：0.001~0.08であり、好ましくは1：0.005~0.06であり、好ましくは1：0.006~0.05であり、好ましくは1：0.007~0.04であり、好ましくは1：0.008~0.03であり、好ましくは1：0.009~0.03であり、さらに、フラボノイド成分におけるケルセチン-3'-O-グルコシドの含有量は12.1~25%であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシドの含有量は12.6~23%または13~20%であり、さらに、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド0.08~2.5%を含有し、好ましくは0.1~1.5%、さらに0.1~0.9%、さらに好ましくは0.1~0.5%である。

【0028】

より具体的に、前記組成物はケルセチンを含有し、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65~85%であり、好ましくは69~82%である。

【0029】

第6態様において、本発明は医薬組成物を提供し、前記医薬組成物は上記有効部位、上記アベルモスカスマニホット抽出物または上記組成物を含有し、前記医薬組成物は薬学的に許容される担体をさらに含有する。

【0030】

具体的に、前記薬学的に許容される担体は、溶媒、乳化剤、崩壊剤、充填剤、可溶化剤、酸化防止剤、pH調整剤、浸透圧調整剤、静菌剤、希釈剤、潤滑剤、結調合薬および／またはフィルム形成剤を含み、前記潤滑剤はステアリン酸マグネシウムを含まない。

【0031】

具体的に、前記医薬組成物の剤形は、注射剤、錠剤、坐剤、軟膏剤、ゲル剤、丸薬、顆

10

20

30

40

50

粒剤、カプセル剤または調合薬、懸濁剤、散剤を含む。

【0032】

第7態様において、本発明は、上記有効部位、上記アベルモスカスマニホット抽出物、上記組成物または上記医薬組成物の、腎症薬物の調製における用途を提供し、好ましくは前記腎症は糖尿病性腎症または腎線維症を伴う糖尿病性腎症または腎炎である。

【0033】

第8態様において、本発明は、上記有効部位、上記アベルモスカスマニホット抽出物、上記組成物または上記医薬組成物の、眼科疾患薬物の調製における用途を提供し、前記眼科疾患は好ましくは黄斑変性症、視覚疲労または白内障、糖尿病性網膜症、加齢性黄斑変性症、中心性滲出性脈絡膜網膜炎、強度近視による黄斑変性症である。

10

【0034】

第9態様において、本発明は、上記有効部位、上記アベルモスカスマニホット抽出物、上記組成物または上記医薬組成物の、エリテマトーデス性狼瘡腎炎、または造影剤誘発腎障害、または肺線維症、または心不全、または降低尿酸、またはSGLT2阻害薬の薬物の調製における用途を提供する。

【0035】

第10態様において、本発明は、上記有効部位または上記アベルモスカスマニホット抽出物の調製方法を提供し、前記方法は、(1)アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタノールで抽出して抽出液を調製するステップ、(2)抽出液を濃縮した後エキスを抽出してエキスを調製するステップ、(3)エキスを溶媒を除去した後、マクロポラス樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップを含み、好ましくは抽出方法はパーコレーションである。

20

【0036】

具体的に、ステップ(1)におけるエタノールの使用量はアベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホット薬効部位の10～25倍であり、前記エタノールは60～95%のエタノール溶液であり、ステップ(2)におけるエキス用のエキス剤はn-ブタノール、石油エーテルまたは酢酸エチルであり、前記エキス方法は連続向流エキスであり、前記エキスの材料液体比は0.8～4:1であり、前記エキスのエキス段数は1段～5段であり、ステップ(3)におけるマクロポラス樹脂型式はD101、HPD100またはAB-8である。

30

【0037】

具体的に、ステップ(2)は、エキス前に、抽出液に対して活性炭吸着、アルコール沈殿または酸沈殿処理を行うことをさらに含む。

【0038】

具体的に、ステップ(3)におけるマクロポラス樹脂の溶出工程は以下のとおりであり、マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1:4～1:9であり、ローディングバッファー濃度は0.10～0.30g原料/mLであり、ローディングバッファー体積は4～12BVであり、流速1～4BV/hでローディングし、4～8BV純水と1～5BVの3～15%エタノールを用いて流速0.5～4BV/hで不純物を除去し、2～8BVの50～80%エタノールを用いて流速1～5BV/hで溶出する。

40

【0039】

第11態様において、本発明は、上記有効部位または上記アベルモスカスマニホット抽出物の調製方法を提供し、前記調製方法は、(1)アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタノールで抽出して抽出液を調製するステップ、(2)抽出液に清澄剤を加え、水浴処理し、濾過して上澄を除去するステップ、(3)上澄液をポリアミド樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップを含み、好ましくは抽出方法はパーコレーションである。

【0040】

具体的に、ステップ(1)におけるエタノールの使用量はアベルモスカスマニホット花

50

10

20

30

(2) 本発明に記載の調製方法は、工程が簡単で、生産サイクルが短く、処理条件が温和で、エネルギー消費量が少なく、アベルモスカスマニホット花の7つのフラボノイドの分

離効果が良好である。使用される原料および試薬は広範囲から得られ、コストが低く、工業化された大規模生産の実現が容易である。

【0047】

(3) 本発明に記載のアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物または組成物は、副作用が少なく、患者により良好な治療手段を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0048】

【図1】異なる投与でラットに3ヶ月繰り返して投与した場合検出された病理学的変化の結果を示すグラフである。その内、A：正常群、B：実施例9、2サンプル群、C：アベルモスクカプセル群、D：実施例2-A4群である。

10

【図2】DKD群、HK群およびHT群の病理学的結果を示すグラフである。

【図3】DKD、HKおよびHT群のSLC5A2 mRNAの発現検出結果を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0049】

以下、具体的な実施例に関連して、本発明をさらに詳細に説明するが、以下の実施例は本発明を限定することを意図するものではなく、本発明を説明する目的でのみ使用される。以下の実施例で使用される実験方法は、特に明記しない限り、実施例における具体的な条件を指示しない実験方法は、通常、従来の条件に従って行われ、以下の実施例で 사용되는材料、試薬などは、特に明記しない限り、いずれも市販されるものである。

20

【0050】

以下の実施例のアベルモスカスマニホット花はアベルモスカスマニホットの乾燥した花冠であり、特に明記しない限り、同じバッチのアベルモスカスマニホット花である。

【0051】

各実施例で調製されたアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位について7つの成分の含有量を測定した。この7つの成分は、ハイペリシン、ルチン、イソクエルシトリン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、ミリセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ケルセチンである。有効部位サンプルの調製過程中、乾燥前の有効部位の溶液についても各成分の含有量を測定し、乾燥前後のサンプルの含有量に若干の変化が見られた。検出方法は、《ワンテストマルチ評価法によるアベルモスカスマニホット花の7つの成分の測定》（《薬物分析雑誌》、2013年第12期、2082～2087）に報告されているUPLC法によりその成分の含有量を測定した。

30

【0052】

前記エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は体積比である。

【0053】

実施例1. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

100gのアベルモスカスマニホット花を粗粉末に粉碎し、15倍の60%エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からn-ブタノールを除去し、水で希釈し、活性炭で吸着した後、n-ブタノールで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は1.5：1であり、エキスのローディング速度は40mL/分であり、エキスの抽出機の回転速度は40Hzであり、エキスのエキス段数は2段であり、エキス液を40℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：6であり、ローディングバッファー（水溶液）濃度は0.15g原料/mLであり、ローディングバッファー体積は7BVであり、流速2BV/hでローディングし、6BVの純水と3BVの5%エタノールを用いて流速2BV/hで順次除染し、4BVの60%エタノールを用いて流速2BV/hで溶出して溶出液を得、その後該溶出液を50℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花のフラボノイド抽出物を得、含有量を測定し、含有量測定結果に応じてアクセシオン法により7つの成分の含有量を調整した。各

40

50

成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の総固形分は 2.23 g であり、7つの成分は合計 1769 mg であり、総固形分の 79.32% を占めた。

【0054】

【表1】

表1. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペリ シン	ルチン	イソクエ ルシトリ ン	hibifolin	ミリセチ ン	ケルセチ ン-3'-o- グルコシ ド	ケルセ チン
含有量 (mg)	326.96	6.14	252.79	480.33	101.78	421.87	179.03
各成分/ イソクエ ルシトリ ン	1.293	0.024	1.000	1.900	0.403	1.669	0.708
各成分/ hibifolin	0.68	0.01	0.53	1	0.21	0.88	0.37
各成分/ 総固形分 (%)	14.66	0.28	11.34	21.54	4.56	18.92	8.03

10

20

【0055】

実施例2. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

実施例2-1

100 g のアベルモスカスマニホット花を粗粉末に粉碎し、18倍の70%エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、酢酸エチルで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキ剤：抽出液）は2.5：1であり、エキスのローディング速度は80 mL / 分であり、エキスの抽出機の回転速度は40 Hz であり、エキスのエキス段数は4段であり、エキスを40℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：5であり、ローディングバッファー濃度は0.15 g 原料 / mL であり、ローディングバッファー体積は6 BV であり、流速2 BV / h でローディングし、6 BV の純水と3 BV の5%エタノールを用いて流速2 BV / h で不純物を除去し、4 BV の60%エタノールを用いて流速1.5 BV / h で溶出して溶出液を得、その後該溶出液を60℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花フラボノイド抽出物を得、含有量を測定し、含有量の測定結果に応じてアクセシオン法により7つの成分の含有量を調整した。各成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位総固形分は2.99である。ケルセチン-3-O-ロビノビオサイドの含有量は0.28%である。

30

40

【0056】

【表 2 - 1】

表 2 - 1. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペ リシン	ルチン	イソク エルシ トリン	hibifolin	ミリセ チン	ケルセチ ン-3'-o-グ ルコシド	ケルセ チン	7つの 成分合計
含有量(mg)	427.66	9.57	379.17	662.80	148.54	579.18	241.21	2448.13
各成分／イ ソクエルシ トリン	1.128	0.025	1.000	1.748	0.392	1.527	0.636	/
各成分／ hibifolin	0.65	0.01	0.57	1	0.22	0.87	0.36	0.01
各成分／総 固形分 (%)	14.30	0.32	12.68	22.17	4.97	19.37	8.07	81.88

10

【0057】

実施例 2 - A . アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

上記実施例 2 の方法に従い、アベルモスカスマニホット花を 10 倍に拡大し、別の 2 バッチのアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位を調製し、表 2 - 2 . サンプル含有量の測定データのサンプルを得た。ケルセチン-3-O-ロビンジオサイド含有量は 0.20 ~ 0.50 % である。

20

【0058】

【表 2 - 2】

表 2 - 2. サンプル含有量の測定データ

実施例	ルチン	ハイペ リシン	イソク エルシ トリン	hibifolin	ミリセ チン	ケルセチン -3'-o-グルコ シド	ケルセ チン	7つの 成分合計
2-A1	0.2	20.83	17.41	14.89	4.46	17.04	1.89	76.72
2-A2	0.15	18.19	13.6	17.33	4.67	16.12	3.94	73.99

30

【0059】

ここで、2 - A 1 はピーク面積に換算された含有量 0.24 % を含み、各成分の比率関係は以下の表 2 - 3 に示される。

【0060】

【表 2 - 3】

表 2 - 3. サンプル各成分間の含有量の比率データ

実施例	ルチン	ハイペ リシン	イソク エルシ トリン	hibifolin	ミリセ チン	ケルセチン -3'-o-グルコ シド	ケルセ チン
2-A1	0.01	1.20	1.00	0.86	0.26	0.98	0.11
2-A2	0.01	1.34	1.00	1.27	0.34	1.19	0.29
2-A1	0.01	1.40	1.17	1	0.30	1.14	0.13
2-A2	0.01	1.05	0.78	1	0.27	0.93	0.23

40

【0061】

50

実施例 2-A 3

ハイペリシン、イソクエルシトリン、hibifolin、ミリセチン、ケルセチン-3'-o-グルコシド、ケルセチン、ケルセチン3-O-ロビノバイオサイド原料を取り、実施例 2-A 1 の比率に従って成分を混合し（ルチンをケルセチン3-O-ロビノバイオサイドに置き換え、比率を0.02に調整）、調製して総フラボノイド組成物を得た。

【0062】

実施例 2-A 4

ハイペリシン、イソクエルシトリン、hibifolin、ミリセチン、ケルセチン-3'-o-グルコシド、ケルセチン、ケルセチン3-O-ロビノバイオサイド原料を取り、実施例 2-A 1 の比率に従って成分を混合し（ルチンをケルセチン3-O-ロビノバイオサイドに置き換え、比率を0.05に調整）、調製して総フラボノイド組成物を得た。

【0063】

実施例 2-B

質量が均一性要求を満たすアベルモスカスマニホット花の有効部位を調製するために、複数バッチの実施例 2-1 の抽出物の各成分の含有量結果から、薬物と抽出物の前記成分の含有量関係を調べるため、成分差が大きい3バッチの異なるアベルモスカスマニホット花をソフトウェア計算方式に従って混合し、混合後のアベルモスカスマニホット花2000gを取り、18倍の70%エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、酢酸エチルで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は3：1であり、エキスのローディング速度は120mL／分であり、エキスの抽出機の回転速度は60Hzであり、エキスのエキス段数は4段であり、エキス液を50℃下で減圧して溶媒を回収した後、水を加えて希釈し、遠心分離し、上澄液を取ってD101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：6であり、ローディングバッファー濃度は0.15g原料／mLであり、ローディングバッファー体積は7BVであり、流速2BV／hでローディングし、6BVの純水と3BVの5%エタノールを用いて流速2BV／hで不純物を除去し、4BVの60%エタノールを用いて流速2BV／hで溶出して溶出液を得、濃縮し、60℃下で減圧および乾燥し、総固形分を得た。ルチン0.22%、ハイペリシン20.58%、イソクエルシトリン17.81、hibifolin16.07%、ミリセチン5.15%、ケルセチン-3'-o-グルコシド17.37%、ケルセチン1.77%を含有し、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドのピーク面積換算が0.43%である。各成分間の質量比率は以下の表2-4に示される。

【0064】

【表 2-4】

表 2-4. サンプルの各成分間の含有量比率データ

ルチン	ハイペリシン	イソクエルシトリン	hibifolin	ミリセチン	ケルセチン-3'-o-グルコシド	ケルセチン	ケルセチン3-O-ロビノバイオサイド
0.01	1.16	1.00	0.90	0.28	0.98	0.09	0.02
0.01	1.28	1.11	1.00	0.31	1.08	0.10	0.03

【0065】

実施例 3 アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

実施例 3. 1

100 g のアベルモスカスマニホット花を粗粉末に粉碎し、18 倍の 60 % エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、酢酸エチルで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキ剤：抽出液）は 3 : 1 であり、エキスのローディング速度は 100 mL / 分であり、エキスの抽出機の回転速度は 40 Hz であり、エキスのエキス段数は 5 段であり、エキス液を 40 °C 下で減圧して溶媒を回収した後、D101 マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は 1 : 8 であり、ローディングバッファー濃度は 0.15 g 原料 / mL であり、ローディングバッファー体積は 8 BV であり、流速 2 BV / h でローディングし、6 BV の純水と 3 BV の 5 % エタノールを用いて流速 2 BV / h で不純物を除去し、4 BV の 60 % エタノールを用いて流速 3 BV / h で溶出して溶出液を得、その後該溶出液を 60 °C 下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花フラボノイド抽出物を得、含有量を測定し含有量の測定結果に応じてアクセシオン法により 7 つの成分の含有量を調整した。各成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位総固形分 3.18 g である。ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド含有量 0.20 ~ 0.50 % である。

10

20

30

40

50

【0066】

【表 3】

表 3. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペリシン	ルチン	イソクエルシトリン	hibifolin	ミリセチン	ケルセチン-3'-O-グルコシド	ケルセチン	7 つの成分合計
含有量(mg)	434.84	10.18	399.27	699.92	147.98	605.99	246.54	2544.72
各成分 / イソクエルシトリン	1.089	0.025	1.000	1.753	0.371	1.518	0.617	/
各成分 / hibifolin	0.62	0.01	0.57	1	0.21	0.87	0.35	/
各成分 / 総固形分 (%)	13.67	0.32	12.56	22.01	4.65	19.06	7.75	80.02

【0067】

3. 2

実施例 3. 1 の調製方法に従って、アベルモスカスマニホット花薬物 500 g に対して繰り返して実験し、得られた 2 バッチの含有量データは以下の表 4 に示される。ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド含有量は 0.30 ~ 0.80 % である。A は「各成分 / 総固形分 (%)」を示し、B は「各成分 / イソクエルシトリン」を示す。

【0068】

【表 4】

表 4

バッチ		ハイペリ シン	ルチン	イソク エルシト リン	hibifolin	ミリセチ ン	ケルセチ ン-3'-o-グ ルコシド	ケルセチ ン	7つの成 分合計
3.2-1	A	15.39	0.38	13.52	17.58	3.38	14.41	4.65	69.30
	B	1.14	0.03	1.00	1.30	0.25	1.07	0.34	/
3.2-2	A	14.78	0.55	15.35	13.12	3.27	13.46	5.04	65.57
	B	0.96	0.04	1.00	0.85	0.21	0.88	0.33	/

10

【0069】

実施例 4 アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

実施例 4-1

100gのアベルモスカスマニホット花を、18倍の70%エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、n-ブタノールで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は3：1であり、エキスのローディング速度は120mL／分であり、エキスの抽出機の回転速度は60Hzであり、エキスのエキス段数は5段であり、エキス液を50℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：6であり、ローディングバッファー濃度は0.15g原料／mLであり、ローディングバッファー体積は7BVであり、流速2BV／hでローディングし、6BVの純水と3BVのV5%エタノールを用いて流速2BV／hで不純物を除去し、4BVの60%エタノールを用いて流速2BV／hで溶出して溶出液を得、その後該溶出液を60℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花抽出物を得、含有量を測定し、含有量の測定結果に応じてアクセシオン法により7つの成分の含有量を調整した。各成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位総固形分は2.05gである。

20

【0070】

30

【表 5】

表 5. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペ リシン	ルチン	イソク エルシ トリン	hibifolin	ミリセ チン	ケルセチ ン-3'-o-グ ルコシド	ケルセ チン	7つの 成分合計
含有量(mg)	286.21	9.36	243.67	446.73	99.84	367.12	149.38	1602.31
各成分／イ ソクエルシ トリン	1.175	0.038	1.000	1.833	0.410	1.507	0.613	/
各成分／ hibifolin	0.64	0.02	0.55	1	0.22	0.82	0.33	
各成分／総 固形分(%)	13.96	0.46	11.89	21.79	4.87	17.91	7.29	78.16

40

【0071】

実施例 4-2

50

アベルモスカスマニホット花を、18倍の70%エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、抽出液から0.5～1.0 g 原料/mLになるまでエタノールを除去し、添加量がそれぞれ4% B成分と2% A成分のZTC1+1-EE清澄剤とし、水浴温度は60℃であり、水浴保温時間は60分間であり、遠心分離し、濾過し、希釈し、ポリアミド樹脂で処理し、樹脂の処理工程は以下のとおりであり：樹脂の直径対高さ比は1：7であり、ローディングバッファー濃度は0.15～0.5 g 原料/mLであり、ローディングバッファー体積は8 BVであり、5 BVの純水と5 BVの80%エタノールで溶出して溶出液を得、濃縮し、60℃下で減圧して乾燥し、含有量を測定し、含有量の測定結果に応じてアクセシオン法により7つの成分の含有量を調整した。各成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の総固形分を得、ケルセチン-3-O-ロビノビオサイドの含有量は0.39%である。

10

【0072】

【表5-1】

成分	ルチン	ハイペリシン	イソクエルシトリン	hibifolin	ミリセチン	ケルセチン-3'-O-グルコシド	ケルセチン	総フラボノイド
各成分／総固形分 (%)	0.31	13.64	13.27	17.12	3.86	15.26	6.95	70.42
各成分／イソクエルシトリン	0.02	1.03	1	1.29	0.29	1.15	0.52	0.02
各成分／hibifolin	0.02	0.80	0.78	1	0.23	0.89	0.41	0.02

20

30

【0073】

実施例5. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

実施例5-1

100 gのアベルモスカスマニホット花を、15倍の70%エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、n-ブタノールで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキ剤：抽出液）は2.5：1であり、エキスのローディング速度は80 mL/分であり、エキスの抽出機の回転速度は50 Hzであり、エキスのエキス段数は4級であり、エキスを50℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：6であり、ローディングバッファー濃度は0.2 g 原料/mLであり、ローディングバッファー体積は6 BVであり、流速2 BV/hでローディングし、1 BVの純水と4 BVの5%エタノールを用いて流速2 BV/hで不純物を除去し、3 BVの60%エタノールを用いて流速2 BV/hで溶出して溶出液を得、溶出液を60℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花抽出物を得、含有量を測定し、含有量の測定結果に応じてアクセシオン法により7つの成分の含有量を調整した。各成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位総固形分は2.86 gである。

40

【0074】

実施例5-2

50

アベルモスカスマニホット花を、15倍の70%エタノールで還流抽出し、抽出液から0.5～1.0g原料/mLになるまでエタノールを除去し、10%塩酸溶液を加えてpH値を2.0～3.0に調整し、冷蔵し、濾過し、洗浄し、沈殿を取り、水を加えて溶解し、酢酸エチルで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は3：1であり、エキスのエキス数は4段であり、エキス液を50℃下で減圧して溶媒を回収した後、水を加えて希釈し、ポリアミド樹脂で処理し、樹脂の処理工程は以下のとおりであり：樹脂の直径対高さ比は1：6であり、ローディングバッファー濃度は0.15～0.5g原料/mLであり、ローディングバッファー体積は6BVであり、4BVの純水と4BVの70%エタノールで溶出して溶出液を得、濃縮し、60℃下で減圧して乾燥して得た。ケルセチン-3-O-ロビンジオサイド含有量は0.47%である。

10

【0075】

【表5-2】

成分	ルチン	ハイペリシン	イソクエルシトリン	hibifolin	ミリセチン	ケルセチン-3'-o-グルコシド	ケルセチン	総フラボノイド
各成分／総固形分（%）	0.2	20.29	16.44	13.07	5.2	18.18	2.91	76.28
各成分／イソクエルシトリン	0.01	1.23	1	0.80	0.32	1.11	0.18	0.01
各成分／hibifolin	0.02	1.55	1.26	1	0.40	1.39	0.22	0.02

20

【0076】

実施例6．アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

100gのアベルモスカスマニホット花を、16倍の60%エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、酢酸エチルで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は2：1であり、エキスのローディング速度は100mL／分であり、エキスの抽出機の回転速度は40Hzであり、エキスのエキス段数は4段であり、エキス液を50℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：6であり、ローディングバッファー濃度は0.3g原料/mLであり、ローディングバッファー体積は3BVであり、流速2BV／hでローディングし、3BVの純水と3BVの5%エタノールを用いて流速2BV／hで不純物を除去し、4BVの70%エタノールを用いて流速2BV／hで溶出して溶出液を得、含有量を測定し、7つの具体的な成分を加えることで、7つの成分の含有量を調整し、各成分の含有量は以下の表に示され、その後該溶出液を60℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花抽出物を得、含有量を測定し、含有量の測定結果に応じてアクセシオン法により7つの成分の含有量を調整した。添加量は総重量の10%以下である。各成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の総固形分は3.16gである。

30

40

【0077】

50

【表 6】

表 6. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペ リシン	ルチン	イソク エルシ トリン	hibifolin	ミリセ チン	ケルセチ ン-3'-o-グ ルコシド	ケルセ チン	7つの 成分合計
含有量(mg)	396.27	8.32	203.99	651.22	116.93	423.88	153.92	1954.53
各成分／イ ソクエルシ トリン	1.943	0.041	1.000	3.192	0.573	2.078	0.755	/
各成分／ hibifolin	0.61	0.01	0.31	1	0.18	0.65	0.24	/
各成分／総 固形分 (%)	12.54	0.26	6.46	20.61	3.70	13.41	4.87	61.85

10

【0078】

実施例 7. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製（比較例）

20

実施例 7-1

500 g のアベルモスカスマニホット花を粗粉末に粉碎し、20 倍の 70 % エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、減圧して溶媒を回収した後、D101 マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は 1：4 であり、ローディングバッファー濃度は 0.15 g 原料／mL であり、ローディングバッファー体積は 6 BV であり、流速 2 BV／h でローディングし、7 BV の純水と 4 BV の V5 % エタノールを用いて流速 2 BV／h で不純物を除去し、4 BV の 60 % エタノールを用いて流速 1.5 BV／h で溶出して溶出液を得、溶出液を 60℃下で減圧してエタノールを回収した後、アベルモスカスマニホット花総固形分 16.12 g を得た。各成分の含有量は以下の表に示される。

30

【0079】

【表 7-1】

表 7. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペ リシン	ルチン	イソク エルシ トリン	hibifolin	ミリセ チン	ケルセチ ン-3'-o-グ ルコシド	ケルセ チン	7つの 成分合計
含有量(mg)	2908	58	2421	2670	310	2522	95	16120
各成分／イ ソクエルシ トリン	1.20	0.02	1.00	1.10	0.13	1.04	0.04	/
各成分／総 固形分 (%)	17.60	0.35	14.65	16.16	1.88	15.27	0.58	66.49

40

【0080】

実施例 7-2

100 g のアベルモスカスマニホット花を粗粉末に粉碎し、18 倍の 70 % エタノール

50

でパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：5であり、ローディングバッファー濃度は0.15 g 原料／mLであり、ローディングバッファー体積は6 BVであり、流速2 BV／hでローディングし、6 BVの純水と3 BVの5 %エタノールを用いて流速2 BV／hで不純物を除去し、4 BVの60 %エタノールを用いて流速1.5 BV／hで溶出して溶出液を得、溶出液を60℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花総固形分3.56 gを得た。

【0081】

【表7-2】

表7. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペリシン	ルチン	イソクエルシトリン	hibifolin	ミリセチン	ケルセチン-3'-o-グルコシド	ケルセチン	7つの成分合計
含有量(mg)	582.48	13.22	454.17	495.16	73.96	437.40	33.12	2089.51
各成分／イソクエルシトリン	1.283	0.029	1.000	1.090	0.163	0.963	0.073	/
各成分／総固形分(%)	16.36	0.37	12.76	13.91	2.08	12.29	0.93	58.69

【0082】

実施例8. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製（比較例）

100 gのアベルモスカスマニホット花を粗粉末に粉碎し、18倍の70 %エタノールパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、酢酸エチルで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は2.5：1であり、エキスのローディング速度は80 mL／分であり、エキスの抽出機の回転速度は40 Hzであり、エキスのエキス段数は4段であり、エキスを40℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：5であり、ローディングバッファー濃度は0.15 g 原料／mLであり、ローディングバッファー体積は6 BVであり、流速2 BV／hでローディングし、6 BVの純水と3 BVの5 %エタノールを用いて流速2 BV／hで不純物を除去し、4 BVの60 %エタノールを用いて流速1.5 BV／hで溶出して溶出液を得、含有量を測定し、その後溶出液にルチン、ハイペリシンを加えた。各成分の含有量は以下の表に示される。その後60℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花総固形分4.28 gを得た。

【0083】

10

20

30

40

50

【表 8】

表 8. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペ リシン	ルチン	イソク エルシ トリン	hibifolin	ミリセ チン	ケルセチ ン-3'-o-グ ルコシド	ケルセ チン	7つの 成分合計
含有量(mg)	1742.42	66.53	382.26	668.04	144.57	583.08	243.28	3830.18
各成分／イ ソクエルシ トリン	4.558	0.173	1.000	1.748	0.216	1.525	0.636	/
各成分／総 固形分(%)	40.71	1.55	8.93	15.61	3.38	13.62	5.68	89.49

10

【0084】

実施例 9.

9. 1. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

25kgのアベルモスカスマニホット花を粗粉末に粉碎し、18倍の70%エタノールパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、酢酸エチルで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は2.5：1であり、エキスのエキス段数は4段であり、エキス液を40℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：5であり、ローディングバッファー濃度は0.15g原料/mLであり、ローディングバッファー体積は3BVであり、流速1.5BV/hでローディングし、6BVの純水と3BVの10%エタノールを用いて流速2BV/hで不純物を除去し、4BVの60%エタノールを用いて流速1.5BV/hで溶出して溶出液を得、該溶出液を60℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花総固形分を得、7つの具体的な成分を加えることで、7つの成分を調整した（添加成分の含有量が総重量の20%以下である）。各成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位総固形分を得た。ケルセチン-3-O-ロビノビオサイド含有量は0.20～0.50%である。

20

30

【0085】

【表 9】

表 9-1. サンプル含有量の測定データ

成分	ハイペ リシン	ルチン	イソクエル シトリン	hibifolin	ミリセ チン	ケルセチ ン-3'-o-グ ルコシド	ケルセ チン	7つの 成分合計
各成分／総固 形分(%)	13.80	0.14	13.63	13.84	4.33	15.63	7.52	69.00
各成分／イソク エルシトリン	1.00	0.011	1.00	1.00	0.333	1.167	0.556	

40

【0086】

9. 2. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

実施例 2-Bを参照し、30kgのアベルモスカスマニホット花混合物を粗粉末に粉碎し、18倍の70%エタノールでパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニ

50

ホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、酢酸エチルで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は2.5：1であり、エキスのローディング速度は80 mL／分であり、エキスの抽出機の回転速度は40 Hzであり、エキスのエキス段数は4段であり、エキス液を40℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：5であり、ローディングバッファー濃度は0.15 g 原料／mLであり、ローディングバッファー体積は5 BVであり、流速1.5 BV／hでローディングし、3 BVの純水と4 BVの5%エタノールを用いて流速2 BV／hで不純物を除去し、5 BVの60%エタノールを用いて流速1.5 BV／hで溶出して溶出液を得、溶出液を65℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花総固形分を得、真空乾燥し、粉碎し、7つの成分のフラボノイド含有量（%）を検出した。結果は以下に示され、ここで、ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイド含有量は0.20～0.50%である。

10

【0087】

【表10】

表10. サンプル含有量の測定データ

成分含有量	ハイペリン	ルチン	イソクエルシトリン	hibifolin	ミリセチン	ケルセチン-3'-o-グルコシド	ケルセチン	7つの成分合計
各成分／総固形分 (%)	19.80	0.15	16.83	15.06	4.45	17.05	3.70	77.16
各成分／イソクエルシトリン	1.178	0.009	1	0.911	0.267	1.022	0.222	

20

【0088】

実施例11. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の目薬の調製

調製過程：実施例1～7のいずれか1つの方法に従って有効部位を調製し、注射用水を加えて攪拌して溶解し、100 Lに定容し、pHを7に調整し、濾過し、フィリングし、滅菌して目薬を得た。使用するpH調整剤は水酸化ナトリウムまたは／および塩酸である。

30

【0089】

実施例12. グルコース腎臓モデルの薬理実験

実施例12-1

動物モデル：ストレプトゾトシン（STZ）＋高脂肪飼料グルコース腎臓モデル、C57BL／6マウス、20±10 g、SPF級、雄性。

投与方法：経口投与

実験モデリング：実験マウスを3日間順応飼育後、高脂肪高糖質飼料（実験室自製、レシビ：ラード：ショ糖：卵黄：基礎飼料＝18：20：3：59）を8週間摂取させた後、100 mg／kgの量でSTZクエン酸ナトリウム溶液を7日間腹腔内注射し、8日目に尾静脈でマウスの血糖値を検出し、血糖値が16.7 mmol／Lを超える場合を糖尿病モデル形成の基準とした。血糖値が13.8 mmol／Lを超え、尿蛋白が出現し、腎機能が異常になると、モデリングの成功を示した。

40

実験群分け：正常群、モデル群、陽性薬群（ダグリフロジン錠、45.5 mg／kg）、実施例2-1の方法で調製されたサンプル群（62.4 mg／kg）、実施例6の方法で調製されたサンプル群（62.4 mg／kg）、実施例8の方法で調製されたサンプル群（62.4 mg／kg）に分け、合計6群、各群15匹とし、4週間投与後尿蛋白および尿クレアチニンを検出し、1日の摂取量およびマウス状態を計算した。検出結果は以下

50

の表 1 2 - 1 に示される。

【 0 0 9 0 】

【表 1 1】

表 1 2 - 1

群分け	尿蛋白／mg	尿蛋白／尿クレアチニン	下痢／匹数	膨満／匹数
正常群	19.37±13.28	0.24±0.08	0	0
モデル群	58.36±36.31*	2.82±1.12*	0	0
陽性薬群	17.51±12.34#	1.04±1.09#	0	0
実施例 8 サンプル群	39.62±18.67	1.81±0.37#	3	2
実施例 2 - 1 サンプル群	20.15±15.67#	1.04±2.21#	1	0
実施例 6 サンプル群	29.74±17.78	1.11±0.98#	4	3

注：* 正常対照群と比較すると、 $p<0.05$ 、# モデル対照群と比較すると、 $p<0.05$ 、& 実施例 2 - 1 群と比較すると、 $p<0.05$ である。

10

20

【 0 0 9 1 】

実施例の各群はいずれも尿蛋白を低下させる作用を有し、ここで、実施例 2 - 1 のサンプル群は尿蛋白および尿アルブミン／尿クレアチニン比（A C R）を有意に低下させることができる。マウス状態の観察結果から分かるように、実施例 2 のサンプル群における下痢、膨満を起こしたマウスは他の各群に比べて有意に少なかった。

【 0 0 9 2 】

実施例 1 2 - 2

動物モデル：d b ／ d b マウス、1 6 週齢、C 5 7 B L ／ 6 マウス、1 6 週齢。

投与方法：経口投与

実験モデリング：d b ／ d b マウスを 1 7 週間飼育後、尿蛋白を検出し、尿蛋白が出現し、腎機能が異常になると、モデルが成功し、後の実験に使用した。

実験群分け：C 5 7 B L ／ 6 マウスを正常群、d b ／ d b マウスをモデル群、陽性薬群（ダグリフロジン錠、4 5 . 5 m g ／ k g ）、実施例 3 - 1 の方法で調製されたサンプル群（6 2 . 4 m g ／ k g ）および実施例 9 . 1 の方法で調製されたサンプル群（6 2 . 4 m g ／ k g ）、実施例 2 - A 3 の方法で調製されたサンプル群（6 2 . 4 m g ／ k g ）に分け、合計 6 群、各群 1 5 匹とし、4 週間後尿蛋白および尿クレアチニン並びに 1 日摂取量を検出し、マウス状態を観察した。検出結果は以下の表 1 2 - 2 に示される。

【 0 0 9 3 】

30

40

50

【表 1 2】

表 1 2 - 2

群分け	尿蛋白／mg	尿蛋白／尿クレアチニン	下痢／匹数	膨満／匹数
正常群	17.21±10.07	0.29±0.16	0	0
モデル群	61.97±32.17*	2.68±1.03*	0	0
陽性薬群	15.09±10.27#	1.17±1.26#	0	0
実施例 3 - 1 サンプル群	17.28±14.54	1.29±1.21#	1	0
実施例 9 - 1 サンプル群	16.91±13.32#	1.17±1.91#	2	0
実施例 2 - A 3 サンプル群	19.38±14.67#	1.31±1.28#	1	1
実施例 7 - 1 サンプル群	36.42±14.23	1.45±1.29#	5	3

注：* 正常対照群と比較すると、 $P<0.05$ 、# モデル対照群と比較すると、 $P<0.05$ 、& 実施例 7 - 1 群と比較すると、 $P<0.05$ である。

【0 0 9 4】

実施例の各群はいずれも尿蛋白を低下させる作用を有し、各サンプル群は尿蛋白および尿アルブミン／尿クレアチニン比（ACR）を低下させることができる。マウス状態の観察結果から分かるように、実施例 3 - 1 および実施例 9 - 1 のサンプル群における下痢、膨満を起こしたマウスは他の各組に比べて有意に少なかった。

【0 0 9 5】

実施例 1 3 . 眼血流および脈絡膜新生血管に対するフラボノイドの作用

実験動物：ラット、体重 1 5 0 ~ 1 8 0 g、SPF 級、雌雄半々。

投与方法：経口投与

実験モデリング：健康な雄性 Brown - Norway ラットを選択し、ケタミン（5 0 m g / k g）の筋肉注射により動物を麻酔し、0 . 5 % トロピカミドとネオフォリンの混合液で瞳孔を拡張し、クリプトンイエローレーザー（コジマ株式会社、米国）（波長 5 6 8 n m、パラメータ：スポット径 1 0 0 μ m、露光時間 0 . 1 s、出力 1 5 0 ~ 2 0 0 m W）を用い、1 2 0 D 専用前置レンズの下で、視神経円板から 2 - 4 円板径、視神経円板周囲、大血管の間の網膜に 8 点の光凝固を行い、Bruch 膜が破れて小さな泡が発生した場合合格した光凝固適格点とし、網膜、脈絡膜、硝子体出血は除外した。

実験群分け：

薬物群分けおよび投与量：正常群、モデル群、陽性対照薬群（ビテキソフェン 1 . 3 5 m g / k g）、実施例 2 - 1 サンプル群（6 9 . 9 m g / k g）、実施例 3 . 1 サンプル群（8 7 . 3 6 m g / k g）、実施例 7 サンプル群（8 7 . 3 6 m g / k g）、実施例 9 . 1 サンプル群（8 7 . 3 6 m g / k g）、実施例 9 . 2 サンプル群（8 7 . 3 6 m g / k g、実施例 9 . 2 に従って調製された固形分）を各群 1 5 匹ずつとし、4 週間投与後の眼球脈絡膜血流抑制率及び脈絡膜新生血管面積を検出した。検出結果は以下の表 1 3 に示される。

【0 0 9 6】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

表 1 3

群分け	脈絡膜血流抑制率	脈絡膜新生血管面積/ μm^2
正常群	0	0
モデル群	39.78 $\pm$ 10.45*	34.67 $\pm$ 1.78*
陽性薬対照群	87.98 $\pm$ 11.23#	19.80 $\pm$ 1.23#
実施例 2-1 サンプル群	80.67 $\pm$ 13.78#	23.24 $\pm$ 1.33#
実施例 3 サンプル群	83.76 $\pm$ 14.68#	22.89 $\pm$ 1.34#
実施例 7-2 サンプル群	61.98 $\pm$ 16.21#	28.78 $\pm$ 1.45#
実施例 9. 1 サンプル群	84.19 $\pm$ 15.92#	24.57 $\pm$ 1.39#
実施例 9. 2 サンプル群	85.27 $\pm$ 11.34#	23.79 $\pm$ 1.41#

注：* 正常対照群と比較すると、 $P<0.01$ 、# モデル対照群と比較すると、 $P<0.05$ である。

10

【0097】

結論：

20

各実施例のサンプルは脈絡膜血流抑制率および脈絡膜新生血管面積の抑制作用を有し、実施例 2 サンプル群、実施例 3 サンプル群、実施例 9. 1 サンプル、実施例 9. 2 サンプルは脈絡膜新生血管を有意に抑制することができる。

【0098】

実施例 14. 造影剤腎損害に対するフラボノイドの作用

実験動物：SD ラット、体重 200～250 g、SPF 級、雌雄半々。

投与方法：経口投与

実験モデリング：健康な雄性 SD ラットを選択し、まず、フロセミド（10 ml/kg）を筋肉内注射した後、15 分ごとにプロスタグランジン合成阻害剤（インドメタシン、10 mg/kg、ジメチルスルホキシドに溶解し、1.25% NaHCO₃ 溶液で希釈）および一酸化窒素合成酵素阻害剤（N-ニトロ-L-アルギニンメチルエステル、L-NAME、10 mg/kg、0.9% NaCl 溶液に溶解）および 76% パンテチン（10 ml/kg）を尾静脈注射した。

30

モデリング成功基準 2012 年 KDIGO AKI 臨床ガイドラインで推奨されている急性腎障害の診断基準（以下のいずれかを満たす場合に診断とした）：（1）48 時間以内の血清クレアチニンの上昇が 26.5 $\mu\text{mol/L}$ （0.3 mg/dl）を超え、（2）血清クレアチニンの上昇がベースライン 50% を超え 7 日以内に発生したことを確認または推定、（3）尿量減少 < 0.5 ml/(kg * h)、6 時間以上続く。ここで、動物モデルでは、血清クレアチニンの上昇がベースライン 50% を超えることを急性腎障害の診断基準、すなわちモデリング成功基準としてしばしば使用する。

40

薬物群分けおよび投与量：正常群、モデル群、陽性対照薬群（イルベサルタ 50 mg/kg/d）、実施例 2-1 サンプル群（69.9 mg/kg）、実施例 3. 1 サンプル群（87.36 mg/kg）、実施例 7 サンプル群（87.36 mg/kg）、実施例 9. 1 サンプル群（87.36 mg/kg）、実施例 9. 2 サンプル群（87.36 mg/kg、実施例 9. 2 で調製された固形分）を各群 15 匹とし、4 週間投与後眼部脈絡膜血流抑制率および脈絡膜新生血管面積を検出した。検出結果は以下の表 14 に示される。

【0099】

50

【表 1 4】

表 1 4

群分け	血清クレアチニン	血清尿素窒素
正常群	10.12±3.89	2.48±0.89
モデル群	35.21±4.32*	9.89±0.56*
陽性薬対照群	16.67±1.23#	3.01±0.98#
実施例 2－A 1 サンプル群	15.56±4.39#	2.98±0.34#
実施例 3． 1 サンプル群	17.67±2.78#	3.12±0.67#
実施例 4－2 サンプル群	18.80±4.67#	4.02±0.91#
実施例 8 サンプル群	25.23±9.89#	4.21±1.21#
実施例 6 サンプル群	27.43±8.79#	5.23±0.78#

注：* 正常群と比較すると、 $P<0.01$ 、# モデル群と比較すると、 $P<0.05$ である。

【0 1 0 0】

結論：

モデル群の造影剤腎損害ラット血清クレアチニン、血清尿素窒素は各投与群に比べて有意に高く、実施例 9． 1 サンプル群、実施例 2－A 1 サンプル群、実施例 3． 1 サンプル、実施例 8 サンプルおよび実施例 6 サンプルでは、いずれも血清クレアチニン、血清尿素窒素が異なる程度に減少した。

【0 1 0 1】

実施例 1 5． エリテマトーデス性狼瘡腎炎に対するフラボノイドの作用

MRL / l p r 雄性マウス（エリテマトーデス性狼瘡腎炎マウス）26 匹を選択し、1 群を観察し、体重 18～22 g、13 週齢とし、南京君科生物工程有限公司から購入した。正常群として選択された雄性 C 5 7 B L / 6 マウス 24 匹は、体重 18～22 g、13 週齢であり、武漢華連科生物技術有限公司から購入した。

薬物群分けおよび投与量：正常群、MRL / l p r マウスモデル群、陽性対照薬群（デキサメタゾン 1 mg / k g）、実施例 2－B サンプル群（69． 9 mg / k g）、実施例 3． 1 サンプル群（87． 36 mg / k g）、実施例 7 サンプル群（87． 36 mg / k g）、実施例 9． 1 サンプル群（87． 36 mg / k g）、実施例 8 サンプル群（87． 36 mg / k g、実施例 9． 2 で調製された固形分）を各群ごとに 15 匹とし、4 週間投与した。

実験指標：

投与終了後、24 時間の尿液を採取し、尿蛋白を検出し、尿液を採取した後、すべてのマウスの眼球を摘出して採血し、遠心分離して血清を得、抗核抗体検出に用い、同時に、腎臓を摘出し、液体窒素で急速凍結した後、マイナス 80 度の冷蔵庫に移して保存し、腎イムノアッセイ検出に用いた。検出結果は以下の表 1 5 に示される。

【0 1 0 2】

【表 1 5】

表 1 5

群分け	尿蛋白	抗核抗体価対数	腎臓 IgG 値	腎臓 C3 値
正常群	13.89±3.23	0.32±0.45	0.78±0.78	0.98±0.22
モデル群	37.23±3.89*	1.71±0.21*	2.21±0.24*	2.20±0.34*
陽性薬対照群	11.67±3.45#	0.81±0.11#	1.32±0.67#	1.21±0.67#
実施例 2-B サンプル群	18.51±2.34#	0.91±0.23#	1.28±0.56#	1.35±0.44#
実施例 3. 1 サンプル群	16.56±2.45#	1.12±0.34#	1.35±0.67#	1.45±0.23#
実施例 5-2 サンプル群	13.78±4.21#	0.69±0.67#	1.21±0.32#	1.13±0.88#
実施例 8 サンプル群	21.45±3.56#	1.19±0.98	1.89±0.65#	1.67±0.12#
実施例 7 サンプル群	22.89±4.53#	1.20±0.12	1.76±0.56#	1.78±0.35#

注：* 正常群と比較すると、 $P<0.01$ 、# モデル群と比較すると、 $P<0.05$ である。

【0 1 0 3】

結論：

モデル群のエリテマトーデス性狼瘡腎炎マウス尿蛋白、血清抗核抗体レベル、腎組織内 IgG および C3 沈着量は各投与群に比べて有意に高く、実施例 9. 1 サンプル群、実施例 2-B サンプル群、実施例 3. 1 サンプル、実施例 8 サンプルおよび実施例 7 サンプルはいずれも尿蛋白、血清抗核抗体レベル、腎組織内 IgG および C3 沈着に対して改善作用を奏することができ、実施例 2-B サンプル、実施例 3. 1 サンプル、実施例 5-2 サンプルがより効果的であった。

【0 1 0 4】

実施例 1 6. フラボノイドの毒性作用

実験動物：ラット、体重 150～180 g、SPF 級、雌雄半々。

投与方法：経口投与

薬物群分けおよび投与量：正常群、アベルモスクカプセル群（抽出物 8 g / kg）、実施例 2-A 1 サンプル群（5 g / kg）、実施例 9. 1 サンプル群（8 g / kg）、各群 30 匹、1 日 1 回、12 週間連続投与し、投与量は抽出物に従って計算した。

【0 1 0 5】

実験結果：

投与終了後、正常群に比べて、アベルモスクカプセル群の腎臓重量、腎臓体積および臓器係数が上昇し、病理検査では、アベルモスクカプセル組では中程度の腎細管肥大が認められたが、実施例 9. 2 サンプル群および実施例 2-A 1 群では、病理検出で腎細管肥大が認められなかった。検出結果は以下の表 1 6、図 1 に示される。

【0 1 0 6】

【表 1 6】

表 1 6

群分け	腎臓重量	臓器係数	
		肝臓	脾臓
正常群	3.390±0.470	0.158±0.013	2.477±0.193
実施例 9. 2 サンプル群	3.289±0.321	0.159±0.032	2.153±0.156
アベルモスクカプセル群	3.931±0.433*	0.234±0.052*	2.748±0.190*
実施例 2-A 1 サンプル群	3.432±0.345	0.187±0.124	2.453±0.134

正常群に比べて、* $P<0.05$

10

20

30

40

50

【0107】

実施例17 特発性肺線維症に対する総フラボノイド有効部位の作用

実験動物：昆明種マウス60匹、雌雄半々、体重18～22克、清潔グレード。

動物群分け：無作為に6群、すなわち正常群、モデル群、対照薬群（ロシグリタゾン5mg/kg）、実施例2-A3の方法で調製されたサンプル群（70mg/kg）、実施例9.2の方法で調製されたサンプル群（70mg/kg）、アベルモスクカプセルサンプル群（抽出物換算で180mg/kg）に分け、各群10匹のマウスを用いた。

実験モデリング：実験マウスを3日間順応飼育後、4%の抱水クロラル（0.01ml/g）を腹腔注射して麻酔した。仰臥位で固定し、日常的な消毒を行い、頸部正中部を切開し、鈍的剥離で気管を露出させ、モデル群、対照薬群、治療群は気管軟骨リングギャップ穿刺でゆっくりとブレオマイシン（5mg/kg）を注入し、正常対照群は同量の生理食塩水を注入し、薬物注入直後にマウスを直立姿勢で3～5分間回転させ、薬物溶液が両側の肺に均一に分布するようにし、皮膚を縫合し、縫合箇所を消毒し、覚醒させ、清潔グレード観察室で飼育した。

投与方法：モデリング2日目から投与を開始し、投与群は上記投与量で1日1回投与し、正常群およびモデル群は同様の方法で同量の蒸留水10ml/kgを投与し、28日間連続投与した。

肺病理組織切片染色：投与終了後、右肺を摘出し、固定、包埋、切片化し、通常の病理学的方法に従ってHE染色した。肺肺炎と肺線維症の程度を4段階に分類した。

【0108】

実験結果は以下の表17に示される。

【0109】

【表17】

表17

群分け	肺肺炎程度	線維症程度
正常群	0.43±0.58	0.29±0.38
モデル群	1.69±0.66*	1.87±0.69*
対照薬群	1.03±0.49#	1.15±0.81#
実施例2-A3 サンプル群	1.23±0.55#	1.20±0.67#
実施例9.2 サンプル群	1.19±0.68#	1.17±0.90#
アベルモスクカプセル群	1.48±0.62#	1.69±0.63#

注：* 正常群と比較すると、 $P<0.01$ 、# モデル群と比較すると、 $P<0.05$

【0110】

実験結果から分かるように、モデル群のマウス肺組織肺肺炎および肺線維症の程度が有意に増加し、肺線維症の典型的な実質病変を示した。28日間投与後、各投与量群のマウスの肺係数は有意に減少し、肺組織肺肺炎および肺線維症の程度は有意に減少した。総フラボノイド有効部位は、肺線維症マウスの肺肺炎および肺線維症の程度を有意に低下させ、肺線維症マウスの肺を保護する作用があり、線維症相手の肺部組織への損傷を減少させることができる。

【0111】

実施例18 SGLT2作用メカニズム研究

Sodium-glucose cotransporter 2 (SLC5A2、S

G L T 2とも呼ばれる)は、ナトリウム-グルコース共輸送体をコードする遺伝子であり、糸球体で濾過されたグルコースの約90%以上を再吸収する。S L C 5 A 2は、腎臓の近位細管上皮細胞膜内の刷子縁にのみ発現しており、近位尿細管のマーカーと考えられている。主な機能は濾過されたナトリウムとグルコースの再利用である。糖尿病および糖尿病性腎症患者の腎組織において、S L C 5 A 2タンパク質の発現を阻害することは、ナトリウムおよびグルコースの排出に役割を果たすことができるため、糖尿病および糖尿病性腎症患者の腎組織を保護することができる。

動物モデル：d b / d bマウス、18週齢

投与方法：経口投与

実験群分け：U A C R > 200 mg / g の d b / d bマウスを、糖尿病性腎症群 (D K D)、アベルモスクカプセル群 (D K D + H K、0.84 g / kg / d) および総フラボノイド群 (D K D + H T、実施例2-A2のサンプル、0.0755 g / kg / d) の3組に分け、アベルモスクカプセル群および総フラボノイド群は四週間 (28 d) 投与した。Enzyme-linked immunosorbent assay (E L I S A) 法でd b / d bマウス尿液中のマイクロアルブミン (U A C R) を検出し、Rever se T r a n s c r i p t i o n P o l y m e r a s e C h a i n R e a c t i o n (R T - P C R) 法でS L C 5 A 2 mRNA 発現レベルを検出し、Immuno H i s t o C h e m i s t r y (I H C) 法でS L C 5 A 2タンパク質発現レベルを検出した。

10

【0112】

20

実験結果：

D K D群に比べて、H K群 (アベルモスクカプセル群)、H T群 (総フラボノイド群) の群分け前の体重D K D (N=5)、H K (N=5)、H T (N=6)、1週間投与後体重および4週間投与後体重D K D (N=5)、H K (N=5)、H T (N=6) に有意差がなかった。1週間投与後血糖および4週間投与後血糖D K D (N=5)、H K (N=5)、H T (N=6) に有意差がなかった。1週間投与後U A C R値D K D (N=5)、H K (N=5)、H T (N=6) に有意差がなかった。4週間投与後H T群はD K Dに比べて、* P < 0.05で、U A C R値が有意に低下し、有意差があった。腎指数D K D (N=5)、H K (N=5)、H T (N=6) に有意差がなかった。腎指数D K D (N=5)、H K (N=5)、H T (N=6) とし、* P < 0.05で、腎指数が有意に増加し、有意差があった。図2に示すように、D K D群では一部の糸球体が小葉化し、基底膜が有意に肥厚し、糸球体の毛細血管が有意に圧迫された。メサンギウム領域ではメサンギウム細胞の増殖がみられ、メサンギウム間質の明らかな拡大がみられ、H K群では糸球体基底膜の肥厚は有意に改善し、糸球体毛細血管は無傷で、メサンギウム細胞およびメサンギウムマトリックス増殖は有意に改善し、H T群では糸球体基底膜は有意に薄くなり、糸球体は増殖せず糸球体毛細血管間質は増殖せず、メサンギウム細胞およびメサンギウムマトリックスの増殖は増加しなかった。図3に示すように、I H C - Pによる定量結果は、D K D群 (N=5) に比べて、アベルモスクH K群 (N=5)、H T群 (N=6) では、S L C 5 A 2タンパク質の発現レベルが有意に低下したことを検証した。R T - P C R結果、免疫組織化学の結果から、D K D群 (N=5) に比べて、アベルモスクH K群 (N=5)、H T群 (N=6) では、S L C 5 A 2のmRNA 発現レベルが有意に低下した。D K D群 (N=5) に比べて、アベルモスクH K組 (N=5)、H T組 (N=6) では、S L C 5 A 2 I H C - P 定量発現量と糸球体数の比が有意に低下し、I H C - P 定量結果と一致した。

30

40

【0113】

したがって、アベルモスクカプセルと総フラボノイドは、d b / d bマウスの微量アルブミン尿を効果的に減少させることができる。アベルモスクカプセルと総フラボノイドは、近位尿細管細胞の細胞膜上のS L C 5 A 2タンパク質の発現を阻害することができ、D K Dマウスの腎臓におけるS L C 5 A 2タンパク質の発現を低下させることができ、S L C 5 A 2タンパク質の活性を効果的に阻害することができ、したがって、D K Dマウスの

50

腎臓におけるグルコースの再吸収を効果的に低下させることができる。

【0114】

上記の実施例は本発明のいくつかの実施形態を具体的かつ詳細に表現したものに過ぎず、本発明の特許範囲を限定するものとして解釈されるものではない。なお、当業者であれば、本発明の概念から逸脱することなく、様々な変形および改良が可能であり、これらの変形および改良はすべて本発明の保護範囲に含まれることに留意すべきである。したがって、本発明の特許の保護範囲は添付の特許請求の範囲に従うものとする。

【0115】

(付記)

(付記1)

以下の質量比でフラボノイド成分を含有し、

ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシン：イソクエルシトリン：ミリセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシドの質量比は、10：3.0～20：4.0～18：1.9～6.0：6.0～20である、

ことを特徴とするアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位。

【0116】

(付記2)

ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシン：イソクエルシトリン：ミリセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシドの質量比は、10：4.0～17：4.50～16：1.9～5.5：7.0～16であり、好ましくは、10：6.0～15：5.0～13：2.0～5.0：8.0～14であり、

さらにケルセチンを含有し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ケルセチンは10：1.0～10.0であり、好ましくは10：1.0～6.0であり、好ましくは10：1.5～5.0であり、

またさらにルチンを含有し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ルチンは10：0.05～0.6であり、好ましくは10：0.1～0.4であり、より好ましくは10：0.1～0.3であり、

さらに好ましくはケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドを含有し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドは10：0.1～2.5、10：0.1～0.9であり、好ましくは10：0.15～0.5である、

ことを特徴とする付記1に記載の有効部位。

【0117】

(付記3)

以下の質量比

【表18】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.05～1.6
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.2～4.6
ミリセチン	0.05～1.2
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.2～3.5
ハイペリシン	0.25～3.6

でフラボノイド成分を含有することを特徴とするフラボノイド有効部位。

【0118】

(付記4)

以下の質量比

10

20

30

40

50

【表 19】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.1 ~ 1.2
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.4 ~ 3.1
ミリセチン	0.10 ~ 0.9
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.4 ~ 3.1
ハイペリシン	0.5 ~ 3.0

10

、好ましくは、

【表 20】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.16 ~ 1.0
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.6 ~ 2.4
ミリセチン	0.14 ~ 0.75
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.6 ~ 2.5
ハイペリシン	0.6 ~ 2.4

20

、より好ましくは、

【表 21】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.2 ~ 0.8
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.8 ~ 2.1
ミリセチン	0.18 ~ 0.6
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.8 ~ 2.0
ハイペリシン	0.7 ~ 2.0

30

、より好ましくは、

【表 22】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.2 ~ 0.7
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.8 ~ 1.6
ミリセチン	0.2 ~ 0.5
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.8 ~ 1.8
ハイペリシン	0.8 ~ 1.4

40

、より好ましくは、

50

【表 2 3】

イソクエルシトリン	0. 8 ~ 1. 2
ケルセチン	0. 2 ~ 0. 6
ケルセチン-3'-0-グルコシド	1. 0 ~ 1. 2
ミリセチン	0. 2 ~ 0. 4
ケルセチン-8-0-β-D-グルクロニド	0. 9 ~ 1. 7
ハイペリシン	1. 0 ~ 1. 3

10

、または

【表 2 4】

イソクエルシトリン	0. 8 ~ 1. 2
ケルセチン	0. 0 9 ~ 1. 6
ケルセチン-3'-0-グルコシド	0. 2 ~ 2. 0
ミリセチン	0. 0 5 ~ 1. 2
ケルセチン-8-0-β-D-グルクロニド	0. 5 ~ 3. 0
ハイペリシン	0. 2 5 ~ 3. 6

20

、または

【表 2 5】

イソクエルシトリン	0. 8 ~ 1. 2
ケルセチン	0. 1 2 ~ 0. 7
ケルセチン-3'-0-グルコシド	0. 8 ~ 1. 6
ミリセチン	0. 2 ~ 0. 5
ケルセチン-8-0-β-D-グルクロニド	0. 8 5 ~ 1. 7
ハイペリシン	1. 0 ~ 1. 4

30

でフラボノイド分を含有することを特徴とする付記 3 に記載の有効部位。

【0 1 1 9】

(付記 5)

イソクエルシトリンの質量比の値は 1. 2 または 1. 0 である、ことを特徴とする付記 3 ~ 5 のいずれか 1 つに記載の有効部位。

【0 1 2 0】

(付記 6)

ルチンをさらに含有し、イソクエルシトリンとルチンの質量比は 1 : 0. 0 0 1 ~ 0. 0 8 であり、好ましくは 1 : 0. 0 0 5 ~ 0. 0 6 であり、好ましくは 1 : 0. 0 0 6 ~ 0. 0 5 であり、好ましくは 1 : 0. 0 0 7 ~ 0. 0 4 であり、好ましくは 1 : 0. 0 0 9 ~ 0. 0 4、または好ましくは 1 : 0. 0 0 8 ~ 0. 0 3 であり、好ましくは 1 : 0. 0 0 9 ~ 0. 0 3 であり、

40

さらに、ケルセチン-3-0-ロビノビオサイドを含有し、イソクエルシトリンとケルセチン-3-0-ロビノビオサイドの質量比は 1 0 : 0. 1 ~ 2. 5、1 0 : 0. 1 ~ 0. 9 であり、好ましくは 1 0 : 0. 1 5 ~ 0. 5 である、

ことを特徴とする付記 3 ~ 5 のいずれか 1 つに記載の有効部位。

【0 1 2 1】

(付記 7)

50

ケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65~85%であり、好ましくは69~82%であり、

さらに、ケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.1~25%であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.6~23%または13~20%、13~20%、または14~25%であり、

またはさらに、ケルセチンの含有量は0.7%を超え、さらに1.0%を超え、さらに1.0%~10%であり、さらに1.5%~5%であり、

またはまたさらに、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニドは8.5~30%であり、さらに12%~23%である、

ことを特徴とする付記1~5のいずれか1つに記載の有効部位。

【0122】

(付記8)

前記有効部位が含有するケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65~85%または66~84%であり、好ましくは69~82%、または69~90%であり、

さらに、ケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.1~25%であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.6~23%または13~20%である、

ことを特徴とする付記7に記載の有効部位。

【0123】

(付記9)

フラボノイド成分を含有する植物抽出物であって、以下の質量含有量の成分を含有し：ハイペリシン10~25%、イソクエルシトリン8~19%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド5~30%、ケルセチン-3'-O-グルコシド12.1~25%であり、さらにハイペリシン12~23%、イソクエルシトリン10~17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド8.5~25%、ケルセチン-3'-O-グルコシド12.6~23%であり、さらにハイペリシン13~22%、イソクエルシトリン11~17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド12~21%、ケルセチン-3'-O-グルコシド13~20%である、

ことを特徴とする植物抽出物。

【0124】

(付記10)

ケルセチン2~10%を含有し、好ましくはケルセチン2.5~9%を含有し、好ましくはケルセチン3~8.5%、さらに1.5%~5%を含有し、またさらに、ミリセチン2~11%を含有し、好ましくはミリセチン3~7%を含有し、好ましくはミリセチン3~5%を含有し、さらに、ケルセチン-3-O-ロビノビオサイド0.08~2.5%を含有し、好ましくは0.1~1.5%、さらに0.1~0.9%、さらに好ましくは0.1~0.5%を含有し、さらに、前記植物はアベルモスカスマニホットまたはオクラの花であり、好ましくはアベルモスカスマニホット花である、ことを特徴とする付記9に記載の抽出物。

【0125】

(付記11)

フラボノイド成分を含有するアベルモスカスマニホット花抽出物であって、以下の質量含有量の成分を含有し、

ハイペリシン8~26%、イソクエルシトリン12.0~19.8%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド8.5~30%、ミリセチン3.0~4.9%または5.1

10

20

30

40

50

～6.0%、ケルセチン-3'-o-グルコシド14～25%、ケルセチン1.6～4.9%であり、さらにハイペリシン11～22%、イソクエルシトリン12.0～17%、ケルセチン-8-o-β-D-グルクロニド12～23%、ミリセチン1.6～4.9%または5.1～9.0%、ケルセチン-3'-o-グルコシド13～22%、ケルセチン1.4～8%または1.4～7.8%である、

ことを特徴とするアベルモスカスマニホット花抽出物。

【0126】

(付記12)

質量含有量0.01～1.0%のルチンをさらに含有し、さらに0.05～0.8%、さらに0.09～0.8%、さらに0.1～0.6%であり、

さらに、ケルセチン-3-o-ロビノバイオサイド0.08～2.5%を含有し、好ましくは0.1～1.5%、さらに0.1～0.9%、さらに好ましくは0.1～0.5%である、

ことを特徴とする付記11に記載のアベルモスカスマニホット花抽出物。

【0127】

(付記13)

前記アベルモスカスマニホット花抽出物中のフラボノイド成分の質量含有量は55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65～85%または66～84%であり、好ましくは69～82%または69～90%である、ことを特徴とする付記12に記載のアベルモスカスマニホット花抽出物。

【0128】

(付記14)

以下の質量比でフラボノイド成分を含有し、

イソクエルシトリン：ケルセチン：ケルセチン-3'-o-グルコシド：ミリセチン：ケルセチン-8-o-β-D-グルクロニド：ハイペリシンの質量比は、1：0.05～1.6：0.2～4.6：0.05～1.2：0.2～3.5：0.25～3.6、さらに1：0.1～1.2：0.4～3.1：0.10～0.9：0.4～3.1：0.5～3.0、さらに1：0.16～1.0：0.6～2.4：0.14～0.75：0.6～2.5：0.6～2.4、さらに1：0.2～0.8：0.8～2.1：0.18～0.6：0.8～2.0：0.7～2.0、さらに1：0.2～0.7：0.8～1.6：0.2～0.5：0.8～1.8：0.8～1.4、さらに1：0.2～0.6：1.0～1.2：0.2～0.4：0.9～1.7：1.0～1.3または1.2：0.05～1.6：0.2～4.6：0.05～1.2：0.2～3.5：0.25～3.6、さらに1：0.1～1.2：0.4～3.1：0.10～0.9：0.4～3.1：0.5～3.0、さらに1：0.16～1.0：0.6～2.4：0.14～0.75：0.6～2.5：0.6～2.4、さらに1：0.2～0.8：0.8～2.1：0.18～0.6：0.8～2.0：0.7～2.0、さらに1：0.2～0.7：0.8～1.6：0.2～0.5：0.8～1.8：0.8～1.4、さらに1：0.2～0.6：1.0～1.2：0.2～0.4：0.9～1.7：1.0～1.3である、組成物。

【0129】

(付記15)

前記組成物は、ルチンをさらに含有し、前記イソクエルシトリンとルチンの質量比は1：0.001～0.08であり、好ましくは1：0.005～0.06であり、好ましくは1：0.006～0.05であり、好ましくは1：0.007～0.04であり、好ましくは1：0.008～0.03であり、好ましくは1：0.009～0.03であり、

さらに、フラボノイド成分におけるケルセチン-3'-o-グルコシドの含有量は12.1～25%であり、またさらにケルセチン-3'-o-グルコシドの含有量は12.6～23%または13～20%であり、

さらに、ケルセチン-3-o-ロビノバイオサイド0.08～2.5%を含有し、好ましくは0.1～1.5%、さらに0.1～0.9%、さらに好ましくは0.1～0.5%で

ある、

ことを特徴とする付記 1 4 に記載の組成物。

【0130】

(付記 1 6)

前記組成物が含有するケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が 55% 以上であり、好ましくは 60% 以上であり、好ましくは 65~85% であり、好ましくは 69~82% である、ことを特徴とする付記 1 5 に記載の組成物。

【0131】

(付記 1 7)

付記 1~8 のいずれか 1 つに記載の有効部位、付記 9~13 のいずれか 1 つに記載のアベルモスカスマニホット抽出物、または付記 1 4~1 6 のいずれか 1 つに記載の組成物を含み、薬学的に許容される担体をさらに含む、ことを特徴とする医薬組成物。

【0132】

(付記 1 8)

前記薬学的に許容される担体は、溶媒、乳化剤、崩壊剤、充填剤、可溶化剤、酸化防止剤、pH 調整剤、浸透圧調整剤、静菌剤、希釈剤、潤滑剤、結調合薬および／またはフィルム形成剤を含み、前記潤滑剤はステアリン酸マグネシウムを含まない、ことを特徴とする付記 1 7 に記載の医薬組成物。

【0133】

(付記 1 9)

前記医薬組成物の剤形は、注射剤、錠剤、坐剤、軟膏剤、ゲル剤、丸薬、錠剤、顆粒剤、カプセル剤または調合薬、懸濁剤、散剤である、ことを特徴とする付記 1 8 に記載の医薬組成物。

【0134】

(付記 2 0)

腎症、好ましくは糖尿病性腎症または腎線維症を伴う糖尿病性腎症または腎炎薬物の調製における、付記 1~8 のいずれか 1 つに記載の有効部位、付記 9~13 のいずれか 1 つに記載のアベルモスカスマニホット抽出物、付記 1 4~1 6 のいずれか 1 つに記載の組成物、または付記 1 7~1 9 のいずれか 1 つに記載の医薬組成物の用途。

【0135】

(付記 2 1)

眼科疾患薬物、好ましくは黄斑変性症、視覚疲労または白内障、糖尿病性網膜症、加齢性黄斑変性症、中心性滲出性脈絡膜網膜炎、強度近視による黄斑変性症の調製における、付記 1~8 のいずれか 1 つに記載の有効部位、付記 9~13 のいずれか 1 つに記載のアベルモスカスマニホット抽出物、付記 1 4~1 6 のいずれか 1 つに記載の組成物、または付記 1 7~1 9 のいずれか 1 つに記載の薬物の組み合わせの用途。

【0136】

(付記 2 2)

エリテマトーデス性狼瘡腎炎、または造影剤誘発腎障害、または肺線維症、または心不全、または尿酸低下のための薬物の調製における、付記 1~8 のいずれか 1 つに記載の有効部位、付記 9~13 のいずれか 1 つに記載のアベルモスカスマニホット抽出物、付記 1 4~1 6 のいずれか 1 つに記載の組成物、または付記 1 7~1 9 のいずれか 1 つに記載の薬物の組み合わせの用途。

【0137】

(付記 2 3)

付記 1~8 のいずれか 1 つに記載の有効部位または付記 9~13 のいずれか 1 つに記載のアベルモスカスマニホット抽出物の調製方法であって、

(1) アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタ

10

20

30

40

50

ことを特徴とする付記 27 に記載の調製方法。

50

【 0 1 4 3 】

(付 記 2 9)

付記 1 ～ 8 のいずれか 1 つに記載の有効部位または付記 9 ～ 1 3 のいずれか 1 つに記載のアベルモスカスマニホット抽出物の調製方法であって、

(1) アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタノールで抽出して抽出液を調製するステップ、

(2) 前記抽出液の pH 値を 2 . 0 ～ 3 . 0 に調整し、冷蔵し、濾過して沈殿を取り、水を加えて溶解するステップ、

(3) 溶解液をエキスしてエキス液を調製するステップ、

(4) 前記エキス液から溶媒を除去した後ポリアミド樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップ、

を含み、好ましくは抽出方法は還流である、調製方法。

10

【 0 1 4 4 】

(付 記 3 0)

ステップ (1) における前記エタノールの使用量はアベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホット薬効部位の 1 0 ～ 2 5 倍であり、前記エタノールは 6 0 ～ 9 5 % のエタノール溶液であり、

ステップ (2) における pH 調整剤は塩酸、硫酸、酢酸、リン酸、クエン酸、酒石酸またはマレイン酸であり、

ステップ (3) における前記エキス用のエキス剤は n - ブタノール、石油エーテルまたは酢酸エチルであり、前記エキスの方法は連続向流エキスであり、前記エキスの材料液体比は 0 . 8 ～ 4 : 1 であり、前記エキスのエキス段数は 1 段 ～ 5 段であり、

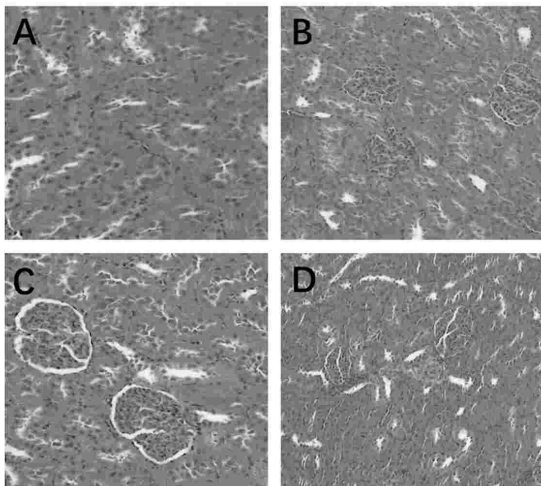
20

ステップ (4) における前記樹脂の直径対高さ比は 1 : 4 ～ 1 : 9 であり、ローディングバッファー濃度は 0 . 1 0 ～ 0 . 6 0 g 原料 / m L であり、ローディングバッファー体積は 4 ～ 1 2 B V であり、 4 ～ 8 B V の純水と 4 ～ 8 B V の 6 0 ～ 9 5 % エタノールを用いて溶出する、

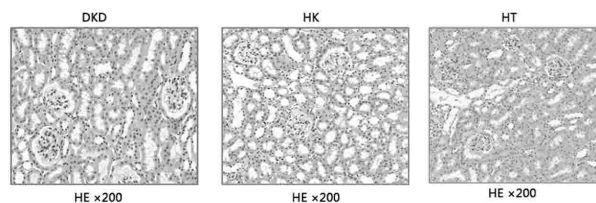
ことを特徴とする付記 2 9 に記載の調製方法。

【 図 面 】

【 図 1 】



【 図 2 】

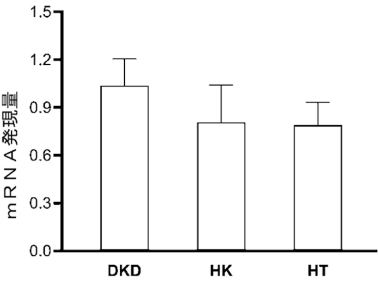


30

40

50

【図 3】



10

20

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】 令和6年10月16日(2024.10.16)

【手続補正1】

【補正対象書類名】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】 全文

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の質量比でフラボノイド成分を含有し、

ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシン：イソクエルシトリン：ミ
リセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシドの質量比は、10：3.0～20：4.0
～18：1.9～6.0：6.0～20である、

ことを特徴とするアベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位。

【請求項2】

ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシン：イソクエルシトリン：ミ
リセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシドの質量比は、10：4.0～17：4.5
0～16：1.9～5.5：7.0～16であり、好ましくは、10：6.0～15：5
.0～13：2.0～5.0：8.0～14であり、

さらにケルセチンを含有し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ケルセチン
は10：1.0～10.0であり、好ましくは10：1.0～6.0であり、好ましくは
10：1.5～5.0であり、

またさらにルチンを含有し、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ルチンは1
0：0.05～0.6であり、好ましくは10：0.1～0.4であり、より好ましくは
10：0.1～0.3であり、

さらに好ましくはケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドを含有し、ケルセチン-8-
O-β-D-グルクロニド：ケルセチン-3-O-ロビノバイオサイドは10：0.1～2
.5、10：0.1～0.9であり、好ましくは10：0.15～0.5である、

ことを特徴とする請求項1に記載の有効部位。

【請求項3】

以下の質量比

【表1】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.05～1.6
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.2～4.6
ミリセチン	0.05～1.2
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.2～3.5
ハイペリシン	0.25～3.6

、好ましくは、

【表2】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.1～1.2
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.4～3.1
ミリセチン	0.10～0.9
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.4～3.1
ハイペリシン	0.5～3.0

、好ましくは、

【表 3】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.16 ~ 1.0
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.6 ~ 2.4
ミリセチン	0.14 ~ 0.75
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.6 ~ 2.5
ハイペリシン	0.6 ~ 2.4

10

、より好ましくは、

【表 4】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.2 ~ 0.8
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.8 ~ 2.1
ミリセチン	0.18 ~ 0.6
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.8 ~ 2.0
ハイペリシン	0.7 ~ 2.0

20

、より好ましくは、

【表 5】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.2 ~ 0.7
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.8 ~ 1.6
ミリセチン	0.2 ~ 0.5
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.8 ~ 1.8
ハイペリシン	0.8 ~ 1.4

30

、より好ましくは、

【表 6】

イソクエルシトリン	0.8 ~ 1.2
ケルセチン	0.2 ~ 0.6
ケルセチン-3'-O-グルコシド	1.0 ~ 1.2
ミリセチン	0.2 ~ 0.4
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.9 ~ 1.7
ハイペリシン	1.0 ~ 1.3

40

、または

【表 7】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.09～1.6
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.2～2.0
ミリセチン	0.05～1.2
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.5～3.0
ハイペリシン	0.25～3.6

10

、または

【表 8】

イソクエルシトリン	0.8～1.2
ケルセチン	0.12～0.7
ケルセチン-3'-O-グルコシド	0.8～1.6
ミリセチン	0.2～0.5
ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド	0.85～1.7
ハイペリシン	1.0～1.4

20

でフラボノイド成分を含有することを特徴とするフラボノイド有効部位。

【請求項 4】

イソクエルシトリンの質量比の値は 1.2 または 1.0 であるか、または、
ルチンをさらに含有し、イソクエルシトリンとルチンの質量比は 1 : 0.001～0.08 であり、好ましくは 1 : 0.005～0.06 であり、好ましくは 1 : 0.006～0.05 であり、好ましくは 1 : 0.007～0.04 であり、好ましくは 1 : 0.009～0.04、または好ましくは 1 : 0.008～0.03 であり、好ましくは 1 : 0.009～0.03 であり、

さらに、ケルセチン-3-O-ロビノビオサイドを含有し、イソクエルシトリンとケルセチン-3-O-ロビノビオサイドの質量比は 10 : 0.1～2.5、10 : 0.1～0.9 であり、好ましくは 10 : 0.15～0.5 である、

30

ことを特徴とする請求項 3 に記載の有効部位。

【請求項 5】

ケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリンおよびハイペリシンの含有量の合計が 55% 以上であり、好ましくは 60% 以上であり、好ましくは 65～85% であり、好ましくは 69～82% であり、

さらに、ケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は 12.1～25% であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は 12.6～23% または 13～20%、13～20%、または 14～25% であり、

40

またはさらに、ケルセチンの含有量は 0.7% を超え、さらに 1.0% を超え、さらに 1.0%～10% であり、さらに 1.5%～5% であり、

またはまたさらに、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニドは 8.5～30% であり、さらに 12%～23% であり、

好ましくは、前記有効部位が含有するケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が 55% 以上であり、好ましくは 60% 以上であり、好ましくは 65～85% または 66～84% であり、好ましくは 69～82%、または 69～90% であり、

50

さらに、ケルセチン-3'-o-グルコシド含有量は12.1~25%であり、またさらにケルセチン-3'-o-グルコシド含有量は12.6~23%または13~20%である、

ことを特徴とする請求項1~4のいずれか1項に記載の有効部位。

【請求項6】

フラボノイド成分を含有する植物抽出物であって、以下の質量含有量の成分を含有し、
ハイペリシン10~25%、イソクエルシトリン8~19%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド5~30%、ケルセチン-3'-o-グルコシド12.1~25%であり、さらにハイペリシン12~23%、イソクエルシトリン10~17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド8.5~25%、ケルセチン-3'-o-グルコシド12.6~23%であり、さらにハイペリシン13~22%、イソクエルシトリン11~17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド12~21%、ケルセチン-3'-o-グルコシド13~20%であり、

10

好ましくは、ケルセチン2~10%を含有し、好ましくはケルセチン2.5~9%を含有し、好ましくはケルセチン3~8.5%、さらに1.5%~5%を含有し、またさらに、ミリセチン2~11%を含有し、好ましくはミリセチン3~7%を含有し、好ましくはミリセチン3~5%を含有し、さらに、ケルセチン-3-O-ロビノビオサイド0.08~2.5%を含有し、好ましくは0.1~1.5%、さらに0.1~0.9%、さらに好ましくは0.1~0.5%を含有し、さらに、前記植物はアベルモスカスマニホットまたはオクラの花であり、好ましくはアベルモスカスマニホット花である、

20

ことを特徴とする植物抽出物。

【請求項7】

フラボノイド成分を含有するアベルモスカスマニホット花抽出物であって、以下の質量含有量の成分を含有し、

ハイペリシン8~26%、イソクエルシトリン12.0~19.8%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド8.5~30%、ミリセチン3.0~4.9%または5.1~6.0%、ケルセチン-3'-o-グルコシド14~25%、ケルセチン1.6~4.9%であり、さらにハイペリシン11~22%、イソクエルシトリン12.0~17%、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド12~23%、ミリセチン1.6~4.9%または5.1~9.0%、ケルセチン-3'-o-グルコシド13~22%、ケルセチン1.4~8%または1.4~7.8%であり、さらに、

30

質量含有量0.01~1.0%のルチンをさらに含有し、さらに0.05~0.8%、さらに0.09~0.8%、さらに0.1~0.6%であり、

さらに、ケルセチン-3-O-ロビノビオサイド0.08~2.5%を含有し、好ましくは0.1~1.5%、さらに0.1~0.9%、さらに好ましくは0.1~0.5%であり、

前記アベルモスカスマニホット花抽出物中のフラボノイド成分の質量含有量は55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65~85%または66~84%であり、好ましくは69~82%または69~90%である、

ことを特徴とするアベルモスカスマニホット花抽出物。

40

【請求項8】

以下の質量比でフラボノイド成分を含有する組成物であって、

イソクエルシトリン：ケルセチン：ケルセチン-3'-O-グルコシド：ミリセチン：ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド：ハイペリシンの質量比は、1：0.05~1.6：0.2~4.6：0.05~1.2：0.2~3.5：0.25~3.6、さらに1：0.1~1.2：0.4~3.1：0.10~0.9：0.4~3.1：0.5~3.0、さらに1：0.16~1.0：0.6~2.4：0.14~0.75：0.6~2.5：0.6~2.4、さらに1：0.2~0.8：0.8~2.1：0.18~0.6：0.8~2.0：0.7~2.0、さらに1：0.2~0.7：0.8~1.6：0.2~0.5：0.8~1.8：0.8~1.4、さらに1：0.2~0.6：1.0~

50

1. 2 : 0. 2 ~ 0. 4 : 0. 9 ~ 1. 7 : 1. 0 ~ 1. 3 または 1. 2 : 0. 05 ~ 1. 6 : 0. 2 ~ 4. 6 : 0. 05 ~ 1. 2 : 0. 2 ~ 3. 5 : 0. 25 ~ 3. 6、さらに 1 : 0. 1 ~ 1. 2 : 0. 4 ~ 3. 1 : 0. 10 ~ 0. 9 : 0. 4 ~ 3. 1 : 0. 5 ~ 3. 0、さらに 1 : 0. 16 ~ 1. 0 : 0. 6 ~ 2. 4 : 0. 14 ~ 0. 75 : 0. 6 ~ 2. 5 : 0. 6 ~ 2. 4、さらに 1 : 0. 2 ~ 0. 8 : 0. 8 ~ 2. 1 : 0. 18 ~ 0. 6 : 0. 8 ~ 2. 0 : 0. 7 ~ 2. 0、さらに 1 : 0. 2 ~ 0. 7 : 0. 8 ~ 1. 6 : 0. 2 ~ 0. 5 : 0. 8 ~ 1. 8 : 0. 8 ~ 1. 4、さらに 1 : 0. 2 ~ 0. 6 : 1. 0 ~ 1. 2 : 0. 2 ~ 0. 4 : 0. 9 ~ 1. 7 : 1. 0 ~ 1. 3 であり、

前記組成物は、ルチンをさらに含有し、前記イソクエルシトリンとルチンの質量比は 1 : 0. 001 ~ 0. 08 であり、好ましくは 1 : 0. 005 ~ 0. 06 であり、好ましくは 1 : 0. 006 ~ 0. 05 であり、好ましくは 1 : 0. 007 ~ 0. 04 であり、好ましくは 1 : 0. 008 ~ 0. 03 であり、好ましくは 1 : 0. 009 ~ 0. 03 であり、さらに、フラボノイド成分におけるケルセチン-3'-o-グルコシドの含有量は 12. 1 ~ 25 % であり、またさらにケルセチン-3'-o-グルコシドの含有量は 12. 6 ~ 23 % または 13 ~ 20 % であり、

さらに、ケルセチン-3-o-ロビノビオサイド 0. 08 ~ 2. 5 % を含有し、好ましくは 0. 1 ~ 1. 5 %、さらに 0. 1 ~ 0. 9 %、さらに好ましくは 0. 1 ~ 0. 5 % であり、

好ましくは、前記組成物が含有するケルセチン、ケルセチン-3'-o-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-o-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が 55 % 以上であり、好ましくは 60 % 以上であり、好ましくは 65 ~ 85 % であり、好ましくは 69 ~ 82 % である、

ことを特徴とする、組成物。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の有効部位、請求項 6 に記載の植物抽出物、請求項 7 に記載のアベルモスカスマニホット花抽出物、または請求項 8 に記載の組成物を含有する医薬組成物であって、

薬学的に許容される担体をさらに含み、

前記薬学的に許容される担体は、溶媒、乳化剤、崩壊剤、充填剤、可溶化剤、酸化防止剤、pH 調整剤、浸透圧調整剤、静菌剤、希釈剤、潤滑剤、結調合薬および／またはフィルム形成剤を含み、前記潤滑剤はステアリン酸マグネシウムを含まない、

前記医薬組成物の剤形は、注射剤、錠剤、坐剤、軟膏剤、ゲル剤、丸薬、錠剤、顆粒剤、カプセル剤または調合薬、懸濁剤、散剤である、

ことを特徴とする医薬組成物。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の医薬組成物の、下記のいずれか 1 つまたは複数の用途。

(1) 腎症、好ましくは糖尿病性腎症または腎線維症を伴う糖尿病性腎症または腎炎薬物の調製における用途、

(2) 眼科疾患薬物、好ましくは黄斑変性症、視覚疲労または白内障、糖尿病性網膜症、加齢性黄斑変性症、中心性滲出性脈絡膜網膜炎、強度近視による黄斑変性症の調製における用途、

(3) エリテマトーデス性狼瘡腎炎、または造影剤誘発腎障害、または肺線維症、または心不全、または尿酸低下のための薬物の調製における用途。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の有効部位、請求項 6 に記載の植物抽出物、請求項 7 に記載のアベルモスカスマニホット花抽出物、または請求項 8 に記載の組成物の、下記のいずれか 1 つまたは複数の用途。

(1) 腎症、好ましくは糖尿病性腎症または腎線維症を伴う糖尿病性腎症または腎炎薬物の調製における用途、

(2) 眼科疾患薬物、好ましくは黄斑変性症、視覚疲労または白内障、糖尿病性網膜症、

10

20

30

40

50

加齢性黄斑変性症、中心性滲出性脈絡膜網膜炎、強度近視による黄斑変性症の調製における用途、

(3) エリテマトーデス性狼瘡腎炎、または造影剤誘発腎障害、または肺線維症、または心不全、または尿酸低下のための薬物の調製における用途。

【請求項 12】

請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の有効部位、請求項 6 に記載の植物抽出物、請求項 7 に記載のアベルモスカスマニホット花抽出物の調製方法であって、以下の調製方法 1～3 のいずれかから選択される、調製方法。

調製方法 1 は、以下のステップ

(1) アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタノールで抽出して抽出液を調製するステップ、

(2) 前記抽出液を濃縮した後エキスを抽出してエキスを調製するステップ、

(3) 前記エキス液から溶媒を除去した後、マクロポラス樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップ、

を含み、好ましくは抽出方法がパーコレーションである、調製方法であって、

ステップ (1) における前記エタノールの使用量は前記アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの前記薬効部位の 10～25 倍であり、前記エタノールは 60～95% のエタノール溶液であり、

ステップ (2) における前記エキス用のエキス剤は n-ブタノール、石油エーテルまたは酢酸エチルであり、前記エキスの方法は連続向流エキスであり、前記エキスの材料液体比は 0.8～4:1 であり、前記エキスのエキス段数は 1 段～5 段であり、

ステップ (3) における前記マクロポラス樹脂の型式は D101、HPD100 または AB-8 である、かつ／または、

ステップ (2) は、前記エキスの前に、前記抽出液に対して活性炭吸着、アルコール沈殿または酸沈殿処理を行うことをさらに含む、かつ／または、

前記マクロポラス樹脂の溶出工程は以下のとおりであり、前記マクロポラス樹脂の直径対高さ比は 1:4～1:9 であり、ローディングバッファー濃度は 0.10～0.30 g 原料/mL であり、ローディングバッファー体積は 4～12 BV であり、流速 1～4 BV/h でローディングし、4～8 BV の純水と 1～5 BV の 3～15% エタノールを用いて流速 0.5～4 BV/h で不純物を除去し、2～8 BV の 50～80% エタノールを用いて流速 1～5 BV/h で溶出する、

調製方法、

調製方法 2 は、以下のステップ

(1) アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタノールで抽出して抽出液を調製するステップ、

(2) 前記抽出液に清澄剤を加え、水浴処理し、濾過して上澄を除去するステップ、

(3) 上澄液をポリアミド樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップ、

を含み、好ましくは抽出方法はパーコレーションである、調製方法であって、

ステップ (1) における前記エタノールの使用量は前記アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの前記薬効部位の 10～25 倍であり、前記エタノールは 60～95% のエタノール溶液であり、

ステップ (2) における水浴温度は 50～70℃ であり、水浴時間は 30～90 分間であり、

ステップ (3) における前記樹脂の直径対高さ比は 1:4～1:9 であり、ローディングバッファー濃度は 0.10～0.60 g 原料/mL であり、ローディングバッファー体積は 4～12 BV であり、4～8 BV の純水と 4～8 BV の 60～95% エタノールを用いて溶出する、

調製方法、

調製方法 3 は、以下のステップ

10

20

30

40

50

(a) アベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホットの薬効部位をエタノールで抽出して抽出液を調製するステップ、
(b) 前記抽出液のpH値を2.0～3.0に調整し、冷蔵し、濾過して沈殿を取り、水を加えて溶解するステップ、
(c) 溶解液をエキスを抽出してエキスを調製するステップ、
(d) 前記エキス液から溶媒を除去した後ポリアミド樹脂で溶出し、アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位または抽出物を調製するステップ、
を含み、好ましくは抽出方法は還流である、調製方法であって、
ステップ(a)における前記エタノールの使用量はアベルモスカスマニホット花またはアベルモスカスマニホット薬効部位の10～25倍であり、前記エタノールは60～95%のエタノール溶液であり、
ステップ(b)におけるpH調整剤は塩酸、硫酸、酢酸、リン酸、クエン酸、酒石酸またはマレイン酸であり、
ステップ(c)における前記エキス用のエキス剤はn-ブタノール、石油エーテルまたは酢酸エチルであり、前記エキスの方法は連続向流エキスであり、前記エキスの材料液体比は0.8～4:1であり、前記エキスのエキス段数は1段～5段であり、
ステップ(d)における前記樹脂の直径対高さ比は1:4～1:9であり、ローディングバッファ濃度は0.10～0.60g原料/mLであり、ローディングバッファ体積は4～12BVであり、4～8BVの純水と4～8BVの60～95%エタノールを用いて溶出する、
調製方法。

10

20

30

40

【請求項13】

前記有効部位が含有するケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65～85%であり、好ましくは69～82%であり、
さらに、ケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.1～25%であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.6～23%または13～20%、13～20%、または14～25%であり、
またはさらに、ケルセチンの含有量は0.7%を超え、さらに1.0%を超え、さらに1.0%～10%であり、さらに1.5%～5%であり、
またはまたさらに、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニドは8.5～30%であり、さらに12%～23%であり、
好ましくは前記有効部位が含有するケルセチン、ケルセチン-3'-O-グルコシド、ミリセチン、ケルセチン-8-O-β-D-グルクロニド、イソクエルシトリン、ルチンおよびハイペリシンの含有量の合計が55%以上であり、好ましくは60%以上であり、好ましくは65～85%または66～84%であり、好ましくは69～82%、または69～90%であり、
さらに、ケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.1～25%であり、またさらにケルセチン-3'-O-グルコシド含有量は12.6～23%または13～20%である、
ことを特徴とする請求項11に記載の調製方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0053

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0053】

実施例1. アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の調製

100gのアベルモスカスマニホット花を粗粉末に粉碎し、15倍の60%エタノール

50

でパーコレーションを用いて抽出し、アベルモスカスマニホット花抽出液を得、アベルモスカスマニホット花抽出液からエタノールを除去し、水で希釈し、活性炭で吸着した後、n-ブタノールで連続向流抽出し、エキスの材料液体比（すなわちエキス剤：抽出液）は1.5：1であり、エキスのローディング速度は40 mL／分であり、エキスの抽出機の回転速度は40 Hzであり、エキスのエキス段数は2段であり、エキス液を40℃下で減圧して溶媒を回収した後、D101マクロポラス樹脂で処理し、マクロポラス樹脂の処理工程は以下のとおりであり：マクロポラス樹脂の直径対高さ比は1：6であり、ローディングバッファー（水溶液）濃度は0.15 g 原料／mLであり、ローディングバッファー体積は7 BVであり、流速2 BV／hでローディングし、6 BVの純水と3 BVの5%エタノールを用いて流速2 BV／hで順次除染し、4 BVの60%エタノールを用いて流速2 BV／hで溶出して溶出液を得、その後該溶出液を50℃下で減圧してエタノールを回収した後アベルモスカスマニホット花のフラボノイド抽出物を得、含有量を測定し、含有量測定結果に応じてアクセシオン法により7つの成分の含有量を調整した。各成分の含有量は以下の表に示される。アベルモスカスマニホット花のフラボノイド有効部位の総固形分は2.23 gであり、7つの成分は合計1769 mgであり、総固形分の79.32%を占めた。

10

20

30

40

50

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/080818

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61K 36/185(2006.01)i; A61K 31/7048(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i; A61P 13/12(2006.01)i; A61P 9/00(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; 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)		
CNABS, CNMED, CNTXT, DWPL, VEN, EPTXT, WOTXT, USTXT, JPTXT, CNKI, MEDNPL, CJFD, STN, 超星读秀, DUXIU, 中国药物专利数据库(网页), China Medicine Patent Database (webpage), 药品标准数据库, Drug Standard Database, 百度, BAIDU: 黄蜀葵, 黄蜀葵花, 黄酮, 有效部位, 槲皮素, 槲皮素-3'-O-葡萄糖苷, 杨梅素, 槲皮素-8-O-β-D-葡萄糖苷, 异槲皮苷, 芦丁, 金丝桃苷, 肾病, 眼病, 肺纤维化, 心力衰竭, 尿酸, 制备, abelmoschus manihot, abelmoschus manihot flower, flavonoid, effective part, quercetin, quercetin-3'-O-glucoside, myricetin, gossypoin-8-O-beta-D-glucuronide, isoquercitrin, rutin, hyperoside, Nephropathy, Ocular disease, Lung Fibrosis, Heart failure, Uric acid, preparing +		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 112870236 A (JIANGSU SZYY GROUP PHARMACEUTICAL LIMITED et al.) 01 June 2021 (2021-06-01) claims 1-10, and description, paragraph 3	1-20, 22-30
Y	CN 112870236 A (JIANGSU SZYY GROUP PHARMACEUTICAL LIMITED et al.) 01 June 2021 (2021-06-01) claims 1-10, and description, paragraph 3	21
Y	周静波 等 (ZHOU, Jingbo et al.). "黄蜀葵花半浸膏片剂治疗非增殖期2型糖尿病视网膜病变的临床研究 (Clinical Study of Abelmoschus Manihot Semi-extracted Tablets in Treating Non-proliferative Type 2 Diabetic Retinopathy)" 中国中西医结合杂志 (Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine), Vol. 40, No. 08, 31 August 2020 (2020-08-31), abstract	21
X	CN 108567802 A (JIANGSU SZYY GROUP PHARMACEUTICAL LTD.) 25 September 2018 (2018-09-25) claims 1-9	1-20, 23-30
☒ 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		Date of mailing of the international search report
25 November 2022		15 December 2022
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China		
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/080818

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 112972508 A (JIANGSU SZYY GROUP PHARMACEUTICAL LIMITED et al.) 18 June 2021 (2021-06-18) claims 1-10	22
Y	CN 102319275 A (JIANGSU SZYY GROUP PHARMACEUTICAL LTD.) 18 January 2012 (2012-01-18) description, page 1	22
X	CN 1994337 A (ZHOU YAQIU et al.) 11 July 2007 (2007-07-11) claims 1-6	1-20, 23-30
Y	CN 108567802 A (JIANGSU SZYY GROUP PHARMACEUTICAL LTD.) 25 September 2018 (2018-09-25) claims 1-9	21-22
A	CN 107519220 A (JIANGSU SZYY GROUP PHARMACEUTICAL LTD.) 29 December 2017 (2017-12-29) claims 1-10	1-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/080818

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	112870236	A	01 June 2021	CN	112870236	B	06 September 2022
CN	108567802	A	25 September 2018	CN	108567802	B	31 August 2021
CN	112972508	A	18 June 2021	None			
CN	102319275	A	18 January 2012	CN	102319275	B	21 November 2012
CN	1994337	A	11 July 2007	CN	1994337	B	09 January 2013
CN	107519220	A	29 December 2017	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/080818

A. 主题的分类 A61K 36/185(2006.01)i; A61K 31/7048(2006.01)i; A61P 25/00(2006.01)i; A61P 13/12(2006.01)i; A61P 9/00(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; 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)) CNABS, CNMED, CNTXT, DWPI, VEN, EPTXT, WOTXT, USTXT, JPTXT, CNKI, MEDNPL, CJFD, STN, 超星读秀, 中国药物专利数据库(网页), 药品标准数据库, 百度: 黄蜀葵, 黄蜀葵花, 黄酮, 有效部位, 槲皮素, 槲皮素-3'-O-葡萄糖苷, 杨梅素, 棉皮素-8-O-β-D-葡萄糖苷, 异槲皮苷, 芦丁, 金丝桃苷, 肾病, 眼病, 肺纤维化, 心力衰竭, 尿酸, 制备, abelmoschus manihot, abelmoschus manihot flower, flavonoid, effective part, quercetin, quercetin-3'-O-glucoside, myricetin, gossypoin-8-O-beta-D-glucuronide, isoquercitrin, rutin, hyperoside, Nephropathy, Ocular disease, Lung Fibrosis, Heart failure, Uric acid, preparing +		
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 112870236 A (江苏苏中药业集团股份有限公司等) 2021年6月1日 (2021 - 06 - 01) 权利要求1-10, 说明书第3段	1-20、22-30
Y	CN 112870236 A (江苏苏中药业集团股份有限公司等) 2021年6月1日 (2021 - 06 - 01) 权利要求1-10, 说明书第3段	21
Y	周静波等. “黄蜀葵花半浸膏片剂治疗非增殖期2型糖尿病视网膜膜病变的临床研究” 中国中西医结合杂志, 第40卷, 第08期, 2020年8月31日 (2020 - 08 - 31), 摘要	21
X	CN 108567802 A (江苏苏中药业集团股份有限公司) 2018年9月25日 (2018 - 09 - 25) 权利要求1-9	1-20、23-30
Y	CN 112972508 A (江苏苏中药业集团股份有限公司等) 2021年6月18日 (2021 - 06 - 18) 权利要求1-10	22
Y	CN 102319275 A (江苏苏中药业集团股份有限公司) 2012年1月18日 (2012 - 01 - 18) 说明书第1页	22
☒ 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
2022年11月25日		2022年12月15日
ISA/CN的名称和邮寄地址		受权官员
中国国家知识产权局(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		许鑫 电话号码 86-010-62411052

PCT/ISA/210 表(第2页) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2022/080818
G. 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 1994337 A (周亚球等) 2007年7月11日 (2007 - 07 - 11) 权利要求1-6	1-20、23-30
Y	CN 108567802 A (江苏苏中药业集团股份有限公司) 2018年9月25日 (2018 - 09 - 25) 权利要求1-9	21-22
A	CN 107519220 A (江苏苏中药业集团股份有限公司) 2017年12月29日 (2017 - 12 - 29) 权利要求1-10	1-30

国际检索报告 关于同族专利的信息				国际申请号 PCT/CN2022/080818			
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	112870236	A	2021年6月1日	CN	112870236	B	2022年9月6日
CN	108567802	A	2018年9月25日	CN	108567802	B	2021年8月31日
CN	112972508	A	2021年6月18日	无			
CN	102319275	A	2012年1月18日	CN	102319275	B	2012年11月21日
CN	1994337	A	2007年7月11日	CN	1994337	B	2013年1月9日
CN	107519220	A	2017年12月29日	无			

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K	9/48 (2006.01)	A 6 1 K	9/48
A 6 1 P	9/04 (2006.01)	A 6 1 P	9/04
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12
A 6 1 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P	27/02
A 6 1 P	27/12 (2006.01)	A 6 1 P	27/12
A 6 1 P	3/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/00
A 6 1 K	31/7048(2006.01)	A 6 1 K	31/7048

B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,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,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100147924

弁理士 美恵 英樹

(72)発明者 唐 海濤

中華人民共和国 2 2 5 5 0 0 江蘇省泰州市蘇中路 1 号

(72)発明者 王 丹丹

中華人民共和国 2 2 5 5 0 0 江蘇省泰州市蘇中路 1 号

(72)発明者 葛 海濤

中華人民共和国 2 2 5 5 0 0 江蘇省泰州市蘇中路 1 号

(72)発明者 王 殿広

中華人民共和国 2 2 5 5 0 0 江蘇省泰州市蘇中路 1 号

(72)発明者 彭 小蘭

中華人民共和国 2 2 5 5 0 0 江蘇省泰州市蘇中路 1 号

(72)発明者 梁 慧

中華人民共和国 2 2 5 5 0 0 江蘇省泰州市蘇中路 1 号

(72)発明者 王 富江

中華人民共和国 2 2 5 5 0 0 江蘇省泰州市蘇中路 1 号

F ターム (参考) 4C076 AA06 AA09 AA11 AA31 AA36 AA53 BB01 CC10 CC11 CC15
CC17 CC214C086 AA01 AA02 EA11 MA03 MA04 MA52 NA05 NA14 ZA33 ZA59
ZA66 ZA81 ZC214C088 AB13 BA08 BA10 BA32 MA17 MA27 MA28 MA31 MA35 MA37
MA41 MA52 NA05 NA14 ZA33 ZA36 ZA59 ZA81 ZC21