

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2009-263232

(P2009-263232A)

(43) 公開日 平成21年11月12日(2009.11.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 36/18 (2006.01)	A 6 1 K 35/78	C 4 B 0 1 8
A 6 1 P 19/06 (2006.01)	A 6 1 P 19/06	4 C 0 8 3
A 6 1 P 19/10 (2006.01)	A 6 1 P 19/10	4 C 0 8 8
A 6 1 P 25/24 (2006.01)	A 6 1 P 25/24	
A 6 1 P 25/18 (2006.01)	A 6 1 P 25/18	

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-105337 (P2008-105337)	(71) 出願人	707000691
(22) 出願日	平成20年4月15日 (2008.4.15)		辻堂化学株式会社
(31) 優先権主張番号	特願2008-95841 (P2008-95841)		神奈川県藤沢市辻堂五丁目8番20号サニ
(32) 優先日	平成20年4月2日 (2008.4.2)		ーハイツ202
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(72) 発明者	山田 さおり
			神奈川県藤沢市辻堂五丁目8番20号サニ
			ーハイツ202 辻堂化学株式会社内
		Fターム(参考)	4B018 MD59 ME04 ME05 ME14 MF01
			4C083 AA111 AA112 AA122 AB032 AB362
			AC012 AC022 AC072 AC102 AC122
			AC242 AC422 AC442 AD092 CC05
			DD23 DD27 DD31 EE06 EE12
			EE14 EE16
			4C088 AB45 AC03 BA10 CA08 NA14
			ZA12 ZA18 ZA42 ZA89 ZA97
			ZB21 ZC31 ZC33 ZC37

(54) 【発明の名称】 治療剤

(57) 【要約】

【課題】 茶の花部の抽出物は、抗アレルギー作用、中性脂肪吸収抑制作用、糖吸収抑制作用、胃粘膜保護作用等の機能が知られている。本発明の課題は、これら以外の種々の疾病に、とりわけ顕著な効果でもって有効である、茶の花部の抽出物を有効成分として用いる治療剤の提供にある。

【解決手段】 茶の花部の抽出物を有効成分とする、高尿酸血症の予防または改善剤、抗骨粗鬆症剤、抗鬱・抗ストレス剤、アディポネクチン産生促進剤、コレステロール低下剤、血圧降下剤、二日酔い予防又は改善剤、皮膚外用剤。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

茶の花部の抽出物を有効成分とする高尿酸血症の予防または改善剤。

【請求項 2】

茶の花部の抽出物を有効成分とする抗骨粗鬆症剤。

【請求項 3】

茶の花部の抽出物を有効成分とする抗鬱・抗ストレス剤。

【請求項 4】

茶の花部の抽出物を有効成分とするアディポネクチン産生促進剤。

【請求項 5】

茶の花部の抽出物を有効成分とするコレステロール低下剤。

【請求項 6】

茶の花部の抽出物を有効成分とする血圧降下剤。

【請求項 7】

茶の花部の抽出物を有効成分とする二日酔い予防又は改善剤。

【請求項 8】

茶の花部の抽出物を有効成分とする皮膚外用剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とする各種疾病に有用な治療剤に関する。

【背景技術】

【0002】

茶の花部の抽出物は、抗アレルギー作用（特許文献1）、中性脂肪吸収抑制作用、糖吸収抑制作用、胃粘膜保護作用（特許文献2）等の機能が知られている。

しかしながら、茶の花部の抽出物が、下記で説明する本発明で適用される種々の疾病に、顕著な効果をもって有効であるとの見地はない。

【特許文献1】特開2008-24654号公報

【特許文献2】特開2006-70018号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

本発明の目的は、下記で説明する本発明で適用される種々の疾病に、とりわけ顕著な効果をもって有効である各種治療剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0004】

請求項1に記載の発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とする高尿酸血症の予防または改善剤である。

請求項2に記載の発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とする抗骨粗鬆症剤である。

請求項3に記載の発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とする抗鬱・抗ストレス剤である。

請求項4に記載の発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とするアディポネクチン産生促進剤である。

請求項5に記載の発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とするコレステロール低下剤である。

請求項6に記載の発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とする血圧降下剤である。

請求項7に記載の発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とする二日酔い予防又は改善剤である。

請求項8に記載の発明は、茶の花部の抽出物を有効成分とする皮膚外用剤である。

【発明の効果】

10

20

30

40

50

【0005】

本発明によれば、下記で説明する本発明で適用される種々の疾病に、とりわけ顕著な効果をもって有効である各種治療剤が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0006】

以下、本発明をさらに詳しく説明する。

【0007】

本発明で用いられる茶の花部は、ツバキ科ツバキ属に属する茶の花部であればとくに制限されないが、好ましくは、チャ (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) またはアッサムチャ (*C. sinensis* var. *assamica*) である。また、花部とは、花卉、萼、おしべ、めしべ、芽、蕾等を指す。

10

【0008】

茶の花部の抽出物を調製する方法について説明する。

茶の花部の抽出物を調製する前段階として、茶の花部は、好ましくは、乾燥し、粉碎するのがよい。

続いて茶の花部は、溶剤と接触させ抽出物を得る。

【0009】

用いる溶剤としては、例えば、水、有機溶剤、水と有機溶媒との混合液等が使用できる。有機溶媒としては例えば、エタノール、メタノール、プロパノール、ブタノールに代表される低級アルコール類、ジメチルエーテル、ジエチルエーテルに代表されるエーテル類、クロロホルム、四塩化炭素等に代表されるハロゲン化炭化水素、アセトニトリル、酢酸エチル、アセトン等が挙げられる。中でも、水、エタノール水溶液、ブタノール、酢酸エチルが好ましい。

20

【0010】

得られた抽出物は、さらに精製することもできる。精製方法としては、前述の特許文献1および2に記載されている。例えば、前記抽出物を水および水と非混和性有機溶媒（例えば酢酸エチル）を用いる分配抽出に単回または複数回付し、有機溶媒可溶画分と水溶性画分として分離し、得られる水溶性画分を、さらに水および水と非混和性有機溶媒（例えばn-ブタノール）を用いる分配抽出に付し、有機溶媒可溶画分と水溶性画分として分離することができる。特許文献1は、上記画分のいずれかに特定のサポニン成分が含有されてなることを開示している。本発明において、各種疾病に対する治療効果の原理は明らかにされていないが、当該特定のサポニン成分が影響を及ぼしている可能性がある。

30

なお、精製方法として、上記の溶媒による分配抽出以外に、当業者に公知の各種クロマトグラフ法を単独で、または組み合わせて採用することができる。

【0011】

抽出時間は、抽出原料から十分に可溶性成分が抽出される時間であればよく、抽出温度などに応じて適宜設定すればよい。好ましくは30分～48時間である。例えば、抽出温度が50未満の場合は、6時間～48時間、50以上の場合は、30分～24時間が適当である。。

【0012】

上記とは別に、茶の花部から抽出物を得る方法として、超臨界流体抽出法が挙げられる。

40

超臨界流体抽出法は、物質の気液の臨界点（臨界温度、臨界圧力）を超えた状態の流体である超臨界流体を用いて抽出を行う方法である。超臨界流体としては、二酸化炭素、エチレン、プロパン、亜酸化窒素（笑気ガス）などが用いられ、二酸化炭素が好適である。

【0013】

超臨界流体抽出法は、目的成分を超臨界流体によって抽出する抽出工程および目的成分と超臨界流体とを分離する分離工程からなる。分離工程は、圧力変化による抽出分離、温度変化による抽出分離、または吸着剤、吸収剤を用いた抽出分離のいずれを行ってもよい。

50

【0014】

抽出物は、必要に応じて濃縮して濃縮物としたり、凍結乾燥を行なって粉末化することもできる。

【0015】

茶の花部の抽出物の投与量は、患者の年齢、体重、適応症状などによって異なるが、例えば、凍結乾燥粉末として、成人1日1～数回、1回量約1mg～1g、好ましくは3mg～300mg程度投与するのがよい。

【0016】

また、茶の花部の抽出物を皮膚外用剤として用いる場合は、皮膚外溶剤中、凍結乾燥粉末として0.0001～10質量%の割合で含まれるのが好ましい。

10

【0017】

本発明の治療剤は、錠剤、ピル、カプセル、顆粒、粉末、散剤、液剤等の固形または溶液の形態（以下、製剤ともいう）に公知の方法により適宜調製することができる。即ち、本発明に有用な固形製剤または液状製剤は、従来十分に確立された公知の製剤製法を用いることにより製造される。添加剤としては、例えば賦形剤、pH調整剤、清涼化剤、懸濁化剤、希釈剤、消泡剤、粘稠剤、溶解補助剤、崩壊剤、結合剤、滑沢剤、抗酸化剤、コーティング剤、着色剤、矯味矯臭剤、界面活性剤、可塑剤または香料などが挙げられる。

【0018】

また本発明の治療剤は、各種健康食品および機能性食品として摂取可能である。これらの例としては、各種のものをあげることができるが、健康食品および機能性食品の製造に関しては、通常用いられる、食品素材、食品添加物に加え、賦形剤、増量剤、結合剤、崩壊剤、潤滑剤、分散剤、保存剤、湿潤化剤、溶解補助剤、防腐剤、安定化材、カプセル基剤等の補助剤を用いた飲食品製剤形態で利用することができる。該補助剤の具体的な例示をすれば、乳糖、果糖、ブドウ糖、でん粉、ゼラチン、炭酸マグネシウム、合成ケイ酸マグネシウム、タルク、ステアリン酸マグネシウム、炭酸カルシウム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、またはその塩、アラビアガム、ポリエチレングルコール、シロップ、ワセリン、グリセリン、エタノール、プロピレングリコール、クエン酸、塩化ナトリウム、亜硫酸ソーダ、リン酸ナトリウム、プルラン、カラギーナン、デキストリン、還元パラチノース、ソルビトール、キシリトール、ステビア、合成甘味料、クエン酸、アスコルビン酸、酸味料、重曹、ショ糖エステル、植物硬化油脂、塩化カリウム、サフラワー油、ミツロウ、大豆レシチン、香料等が配合できる。このような健康食品、機能性食品の製造に関しては、医薬品製剤の参考書、例えば「日本薬局方解説書（製剤総則）」（廣川書店）等を参考にすることができる。

20

30

【0019】

上記以外にも本発明の治療剤は飲食品として摂取することができる。具体的には、納豆、厚揚げ、豆腐、こんにゃく、団子、漬物、佃煮、コロッケ、サンドイッチ、ピザ、ハンバーガー、餃子、シューマイ、サラダ等の各種総菜や、各種粉末（ビーフ、ポーク、チキン等畜産物、海老、帆立、蛸、昆布等水産物、野菜・果実類、植物、酵母、藻類等）や、プリン、クッキー、クラッカー、パン、ケーキ、チョコレート、ポテトチップス、ビスケット、ドーナツ、ゼリーなどの洋菓子、煎餅、羊羹、大福、おはぎ、その他の饅頭、カステラなどの和菓子、冷菓（飴等）、チューインガム等のパン・菓子類や、うどん、そば、きしめん等の麺類や、かまぼこ、ハム、魚肉ソーセージ等の魚肉練り製品や、ハム、ソーセージ、ハンバーグ、コーンビーフ等の畜肉製品や、塩、胡椒、みそ、しょう油、ソース、ドレッシング、マヨネーズ、ケチャップ、甘味料、辛味料等の調味料類や、明石焼き、たこ焼き、もんじゃ焼き、お好み焼き、焼きそば、焼きうどん等の鉄板焼き食品や、チーズ、ハードタイプのヨーグルト等の乳製品や、油脂類・香料類（バニラ、柑橘類、かつお等）を粉末固形化したものや、粉末飲食品（インスタントコーヒー、インスタント紅茶、インスタントミルク、インスタントスープ、味噌汁等）等の各種食品が挙げることができるが、これらに特に制限されない。

40

【0020】

50

さらに本発明においては、例えば、ローヤルゼリー、プロポリス、ビタミン類（A、C、D、E、K、葉酸、パントテン酸、ビオチン、これらの誘導体等）、ミネラル（鉄、マグネシウム、カルシウム、亜鉛等）、セレン、レシチン、カロテノイド（リコピン、アスタキサンチン、ゼアキサンチン、ルテイン等）、サポニン（ギムネマ酸、大豆サポニン、人参サポニン等）、脂肪酸、タンパク質（コラーゲン、エラスチン等）、オリゴ糖（イソマルトオリゴ糖、環状オリゴ糖等）、リン脂質及びその誘導体（フォスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、セラミド等）、含硫化合物（アリイン、セバエン、タウリン、グルタチオン、メチルスルホニルメタン等）、糖アルコール、リグナン類（セサミン等）、これらを含む動物植物抽出物、根菜類（ウコン、ショウガ等）、などを併用することもできる。

10

【0021】

また、茶の花部の抽出物を皮膚外用剤として用いる場合は、皮膚外用剤として通常使用される公知の材料、例えば色素、香料、防腐剤、界面活性剤、顔料、抗酸化剤、保湿剤、紫外線吸収剤などを適宜配合することができる。

本発明の皮膚外用剤は、クリーム、乳液、化粧水、パック等、公知の形態で使用され得る。

【実施例】

【0022】

以下、本発明を実施例によりさらに説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。本発明の治療剤は、高尿酸血症の予防または改善剤、抗骨粗鬆症剤、抗鬱・抗ストレス剤、アディポネクチン産生促進剤、コレステロール低下剤、血圧降下剤、二日酔い予防又は改善剤としてきわめて有用である。また本発明の皮膚外用剤は、美白剤、シワ形成抑制剤、にきび治療剤としてきわめて有用である。以下、上記各種薬効について実施例をもって説明する。

20

【0023】

実施例1（高尿酸血症の改善効果）

乾燥した茶（*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze）の花部1kgを粉碎し、これに約10倍量の60%エタノール水溶液（10リットル）を加え、加熱還流下5時間抽出し、濾過し、濾液を採取した。濾液を濃縮し、さらに凍結乾燥し、茶の花部の抽出物の凍結乾燥の粉末1を得た。

30

【0024】

実験方法

供試動物はWistar系ラット雌（8週令、体重約180g）を1群6匹で用いた。

試験飼料に0.75%の濃度でアデニンを加えてラットに給与し、腎臓からの尿中への尿酸排泄阻害を起こさせて高尿酸血症のモデル動物とした。

対照群は、上記の0.75%アデニン飼料のみ、薬剤投与群は、0.75%アデニンと上記粉末1含有飼料とした。飼料は自由摂取としたが、薬剤投与群の試験飼料中の上記粉末1の濃度を、摂取量が1mg/kg体重となるように調整した。試験開始日及び24日目に血中の尿酸値を測定した。

その結果、対照群の試験開始日の血中尿酸濃度は、0.57mg/mlであり、24日目が2.33mg/mlであったのに対し、薬剤投与群の24日目の血中尿酸濃度は0.77mg/mlであった。

40

この結果から明らかなように、対照群では血中尿酸濃度が大幅に増加するのに対し、薬剤投与群ではいずれもその濃度は増加しなかった。したがって、茶の花部の抽出物は、高尿酸血症の予防または改善剤として有用であることが示された。

【0025】

実施例2（抗骨粗鬆症効果）

骨粗鬆症改善効果試験

SD系ラット（22週齢）メスの卵巣を外科的に取り除き、骨粗鬆症のモデルラットを作成した。卵巣摘出ラットを7匹ずつ6群に分け、35日間の試験期間中、1日置きに（

50

計 17 回)、前記実施例 1 の粉末 1 の摂取量が $1 \text{ mg} / \text{kg}$ となるように、生理食塩水溶解した液体を 2 ml 経口投与した。飼料はオリエンタル酵母株式会社のマウス・ラット・ハムスター用固形飼料 C R F - 1 を用い、給餌および給水方法は自由摂取とした。試験期間中、各群間で、餌の摂取量に差は認められなかった。試験開始後 35 日目にラットの体重を測定した後、大腿骨を取り出した。大腿骨は、接着組織および筋肉を取り除いて分析に使用した。大腿骨の体積を測定した後、エタノールで 3 回洗浄し、次にアセトンで 3 回洗浄したのち、一晚乾燥し、その後、重量を測定して大腿骨の乾燥重量を求めた。体積および乾燥重量から、骨密度(乾燥重量 $\text{g} / \text{体積} \text{mm}^3$)を測定した。なお対照実験として、前記粉末 1 を含まない生理食塩水をラットに投与したこと以外は、上記実験を繰り返した例(比較例)も併せて、その結果を表 1 に示す。

10

【0026】

【表 1】

	体積(mm^3)	重量(mg)	骨密度(mg/mm^3)
比較例 (control)	326 ± 4	329 ± 6	1.009 ± 0.008
実施例 2	328 ± 5	360 ± 4	1.097 ± 0.007

20

【0027】

実施例 2 と比較例とを対比したところ、実施例 2 は $p < 0.05$ の危険率で有意差が認められた。

【0028】

実施例 3 (抗鬱・抗ストレス効果)

上記実施例 1 の粉末 1 の治療効果を調べた。

マウス強制水泳試験による精神安定作用の評価

本発明の治療剤の評価は、1977年にPorsoltにより開発されたマウス強制水泳試験を採用した。本試験は鬱病の動物モデル実験として最も多用される方法のひとつである。本試験では、マウスをある限られたスペースの中で強制的に泳がせて「無動状態」を惹起させる。この無動状態は、ストレスを負荷された動物が水からの逃避を放棄した一種の「絶望状態」を反映するものと考えられ、ヒトにおける鬱状態、ストレス状態と関連づけられている。事実、抗鬱薬は特異的にこの状況下における無動状態の持続時間を短縮させることがわかっており、この短縮作用は臨床力価との間に有意な相関を有することが認められている。

30

【0029】

本試験方法は次のとおりである。

25 の水を深さ 15 cm まで入れたプラスチック円筒中でマウスを強制水泳させる。5 分間の強制水泳後、30 の乾燥機中で 15 分間乾燥し、ホームケージに戻す。翌日マウスに試験試料を腹腔内投与して、その 1 時間後に再び 5 分間の強制水泳を課し、現れた無動状態の持続時間をストップウォッチを用いて測定する。マウスが水に浮かんで静止している状態を無動状態と判定する。無動状態持続時間については有意差検定を行い、統計学的に有意差を検定する。実験には雄の ddY マウスを使用し、1 群 6 匹とする。なお、試験は全て午後 1 時から午後 6 時の間に行う。また、ポジティブコントロールとして抗鬱薬であるイミプラミンを用いた試験も行う。

40

【0030】

その結果、粉末 1 を $30 \text{ mg} / \text{kg}$ 投与したマウスの無動状態持続時間は、 174.4 ± 2.9 秒であった。コントロール(生理食塩水のみ)は 220.0 ± 2.2 秒であった。ポジティブコントロール($30 \text{ mg} / \text{kg}$ 投与)のマウスの無動状態持続時間は、17

50

6.5 ± 4.0 秒であった。本実施例およびポジティブコントロールの無動状態持続時間は、危険率 1% で有意差を有する。なお、粉末 1 を 2 ~ 3 倍量使用しても、同様の結果を得た。

【0031】

実施例 4

アディポネクチン産生上昇確認試験

正常ヒト前駆脂肪細胞を使用し、 1.0×10^4 個となるように 96 ウェルマイクロプレートに播種した。播種培地にはヒト前駆脂肪細胞基礎培地を用いた。24 時間後に分化誘導添加剤と実施例 1 の粉末 1 を加えた増殖培地に交換し、さらに 1 週間培養した。その後、培養上清中に産生されたアディポネクチン量を ELISA 法により定量した。各試料の評価結果を、ブランク（試料未添加）のアディポネクチン量を 100 とした場合の相対値にて下記に示す。なお、添加した粉末 1 濃度は、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

10

【0032】

上記試験結果：相対値 = 371。この数値は、危険率 1% で有意差を有する。

【0033】

実施例 5（コレステロール低下作用）

体重 20 g 前後の ICR 系雄性マウス（1 群 5 匹）に、高コレステロール - コール酸食餌（71.9% 標準餌、15% ショ糖、2% 食塩、10% ココナッツオイル、0.6% コレステロール、0.2% コール酸、0.3% 塩化コリン）を試験第 1 日目から第 7 日目まで給餌（自由摂取）した。試験第 6 日目と第 7 日目に、上記実施例 1 の粉末 1 の 5 mg を蒸留水に溶解し、経口投与した。その後、24 時間の絶食を行い、試験第 8 日目にマウスから血液を採取し、血清を分離した。

20

【0034】

また、採取した血清の一部にヘパリンを添加し沈降させ、低比重リポタンパク（LDL）としてヘパリン沈降リポタンパクを得た。血清中の総コレステロール値及び LDL 中のコレステロール値を、シー・シー・アライン（C. C. Allain et al.）らの報告（クリニカル ケミストリー（Clinical Chemistry）、1974 年、20 巻、470 - 475 頁）に従って、測定した。

【0035】

血清中の総コレステロール値から LDL コレステロール値を引いた値を、高比重リポタンパク（HDL）コレステロール値として算出した。なお対照群は、上記粉末 1 を投与していない群である。

30

【0036】

その結果を表 2 に示した。表 2 から明らかのように、血清中総コレステロールを低下させる明らかな作用が認められた。

【0037】

【表 2】

	対照群	本発明
血清総コレステロール	315 ± 32 mg/dl	266 ± 22 mg/dl
LDLコレステロール	255 ± 38 mg/dl	158 ± 19 mg/dl
HDLコレステロール	60 ± 4 mg/dl	108 ± 8 mg/dl

10

コレステロール値 (mg/dl) は、平均±標準誤差 (n=5) を示す。

【0038】

20

実施例 6 (血圧降下効果)

実施例 1 の粉末 1 を一般市販飼料 (船橋農場製、船橋 SP) に添加し、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHR - SP) を用いて最高血圧値、体重の変化を比較した。対照区は、粉末 1 を添加しない一般試料を用いた。A 区を対照区、B 区を本発明区とし、それぞれの飼料で 5 週齢の雄性 SHR - SP を各区 6 匹ずつ 7 週間飼育し、12 週齢に達した時の血圧値と体重の変化について調べた。表 3 に示すように血圧の変化においては、本発明区に有意な血圧上昇の抑制が認められた。なお、本発明区においては、粉末 1 の 1 日あたりの粉末 1 の摂取量が、50 mg / kg 体重となるように飼料中の粉末 1 の濃度を調整した。

【0039】

【表 3】

実験区	血圧 ⁽¹⁾ (mmHg)	成長率 ⁽²⁾ (倍)
A区	270±16	3.40
B区	229±11	3.44

10

(1) 血圧はラットを40°C5分間加温後尾動脈圧を測定

(2) 成長率 = $\frac{12\text{週齡時平均体重}}{5\text{週齡時平均体重}}$ で計算

開始時の平均体重 60.8g

20

【0040】

参考例 1

〔動物実験〕

4週令のフィッシャー344系雄ラット(日本クレア(株))を標準飼料で6日間予備飼育した後、1群25匹ずつ2群に分け、表4に示したごとくの実験飼料を給与して6カ月間飼育した。なお、飼料は自由に摂取させた。発癌物質(1,2-ジメチルヒドラジン)は試験開始後1週目より20週目まで計20回、20mg/kg体重となるようにラットの腹腔内に投与した。大腸癌の有無は、ラットを解剖して大腸を摘出して数を調べた。動物実験に用いた飼料の成分組成を表4に、大腸癌の発生頻度を表5にそれぞれ示す。なお、本発明区においては、実施例1の粉末1のラットの1日あたりの摂取量が、50mg/kg体重となるように飼料中の粉末1の濃度を調整した。

30

【0041】

【表4】

動物実験に用いた飼料の成分組成

重量比

成分	対照区	本発明区	
カゼイン	20	19.6	10
牛脂	9	9	
コーン油	1	1	
塩類混合	3.5	3.5	
ビタミン混合	1	1	
塩化コリン	0.2	0.2	
セルロース	4	0	20
粉末1	0	適当量	
α -コーンスターチ	50	50	
ショ糖	11	11.4	

【0042】

【表 5】

食餌群 腫瘍の 1 匹当りの大腸腫瘍数
発生数 (平均値±標準偏差)

対照区	22	1.8±1.2
本発明区	16	1.0±1.1 *

* 有意差あり (p<0.05)

【0043】

実施例 7 (二日酔い予防又は改善効果)

ウイスター (Wister) 系雄性ラット (7~8 週齢) 一群 6 匹を一夜絶食後、翌朝、実施例 1 の粉末 1 (10 ml / kg) を経口投与し、20 分後に 15% (W/V) エタノール水溶液 20 ml / kg を経口投与した。エタノール水溶液投与後、1、3、5 の各時間後に尾の先端から採血し、血中アルコール測定キット (シグマ社製) を用いて血中アルコール濃度を測定した。

【0044】

その結果、ラットの血中アルコール濃度は、エタノール水溶液投与直後が 150 mg / dl であったのに対し、1 時間後は 108 mg / dl、3 時間後は 88 mg / dl、5 時間後は 37 mg / dl であった (平均)。これに対し、粉末 1 を投与しない対照群は、エタノール水溶液投与直後が 150 mg / dl であったのに対し、1 時間後は 140 mg / dl、3 時間後は 107 mg / dl、5 時間後は 88 mg / dl であった。

【0045】

実施例 8

以下の処方にてジュースを調製した。

冷凍濃縮オレンジ果汁 5.0 質量部

果糖ブドウ糖液糖 1.0 質量部

クエン酸 0.10 質量部

L-アスコルビン酸 0.09 質量部

実施例 1 の粉末 1 0.05 質量部

【0046】

エタノールパッチテストでアルデヒド脱水素酵素欠損型と判定された健常人 5 名 (年齢 25~32 才、男性 3 名、女性 2 名) をパネルとし、上記ジュースおよび上記ジュースから粉末 1 を除いた対照ジュースを用いた。なお、上記ジュースにおける粉末 1 の量は、下記の試験において摂取量が 150 mg となるようにした。

【0047】

ジュースおよび対照ジュース服用後 20 分にビール (アルコール濃度約 5.5%) 1

35 ml を飲酒させて、飲酒後 20 分での自覚症状を質問票で回答させた。

パネルテストは順序効果を考慮し、ブラインドで行い、同一時間帯に日を変えて実施した。

自覚症状の評価は 1 ~ 5 (1 : 症状なし、 2 : やや症状あり、 3 : 症状あり、 4 : ややひどい、 5 : ひどい) の 5 段階で行い、Paired-t 検定により有意差を検定した。

【 0 0 4 8 】

結果を以下に示す。実施例 8 のジュースは、危険率 5 % で酔いの程度および顔のほてりを改善し、悪酔いを予防することが明らかになった。

【 0 0 4 9 】

ジュースおよび対照ジュースの悪酔い予防効果 (平均値)

10

実施例 8 のジュース :

酔いの程度 2 . 3 *

顔のほてり 2 . 1 *

心臓の鼓動 2 . 5

眠気の程度 3 . 3

対照ジュース :

酔いの程度 3 . 5

顔のほてり 3 . 7

心臓の鼓動 3 . 3

眠気の程度 3 . 4

20

* : 対照ジュースに比べて有意差あり (P < 0.05)

【 0 0 5 0 】

実施例 9 (メラニン抑制効果)

メラニンを生成する細胞として、マウス由来の培養 B16 メラノーマ細胞を用いてウシ胎児血清を終濃度 10 % になるように添加したイーグル MEM 培地で培養し、該細胞を 3×10^3 cell/ml の濃度で 6 ウェルプレートの各ウェルに 6 ml 播種し、5 日間 CO₂ インキュベーター内で培養後、実施例 1 の粉末 1 を添加した培地に交換し、さらに 3 日間同条件で培養する。細胞を洗浄後、細胞をスクレーパー処理により剥がし、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) により可溶化して 475 nm、260 nm の吸光度を測定し、S₄₇₅、S₂₆₀ とする。メラニン抑制率は被検試料を添加しない培地で培養した細胞の 475 nm、260 nm における吸光度を C₄₇₅、C₂₆₀ として式 1 により計算した。ポジティブコントロールとしてコウジ酸 (Kojic acid) を用いた。

30

【 0 0 5 1 】

【 数 1 】

$$\text{メラニン抑制率 (\%)} = \left[1 - \frac{S_{475}/S_{260}}{C_{475}/C_{260}} \right] \times 100 \quad \text{式 1}$$

【 0 0 5 2 】

40

その結果、ポジティブコントロール (培地中にコウジ酸 3 mM 添加) のメラニン抑制率は約 56 % であり、実施例 1 の粉末 1 を添加した被検試料 (培地中に粉末 1 を 500 μg/ml 添加) のメラニン抑制率は約 57 % であった。

【 0 0 5 3 】

実施例 10 (シワ形成抑制効果)

5 匹ずつ 2 群のヘアレスマウスの背部に、UVB (長波長紫外線) を 10 週間照射してシワ形成モデルを作製した。その後、このシワ形成モデルの 1 群には上記実施例 1 で調製した粉末 1 を 0.5 質量 % の割合で 10 % エタノール水溶液に溶解した液体を (実施例 1)、もう 1 群には 10 % エタノール水溶液のみを (比較例)、シワが形成された背部に 1 日 1 回、週に 5 日の割合で 4 週間塗布し続けた。4 週間の塗布期間終了後、各モデルの背

50

部からレプリカを採取し、得られたレプリカのそれぞれについて、次の基準に従ってシワスコアを付した。

(シワスコア基準)

- 0 : 方向性のある構造は認められない。
- 1 : 繊維状の細い構造が方向性をもって認められる。
- 2 : 方向性をもった繊維状の細い構造とともに太い棒状の構造が認められる。
- 3 : 方向性をもった太い棒状の構造が認められる。

【0054】

上記シワスコアを用いた評価は、レプリカ上の方向性をもった線状の構造をシワとして定義して評価したものである。したがって、上記シワスコア基準に従えば、スコアが高いほどシワ形成が進んだ皮膚状態と評価される。上記で得られたシワスコアについて各群の平均値を算出したところ、実施例10は0、比較例は1.0であった。両群のシワスコアについて、Mann-Whitney検定により有意差検定を行ったところ、実施例1のシワスコアは、比較例のシワスコアに比べ、危険率0.05以下で有意に小さかった。

10

【0055】

実施例11

実施例1で得た粉末1を含有する下記組成のクリームを常法により調製した。

粉末1 10重量部

グリセロールソルビタン脂肪酸エステル 60重量部

微結晶性ワックス 10重量部

20

オリーブオイル 30重量部

流動パラフィン 180重量部

ステアリン酸マグネシウム 10重量部

プロピレングリコール 37重量部

硫酸マグネシウム 7重量部

精製水 655重量部

【0056】

実施例12

上記実施例11のクリームについて、シワ形成抑制効果をしらべた。即ち、シワに悩むパネラーを用いて、1日朝・晩2回、毎日1カ月間、上記実施例11のクリームを顔面右側に塗布し、左側に対する右側のシワの改善を、++ : 非常に改善、+ : 明らかに改善、± : 僅かに改善、- : 改善せずの基準で評価した。その結果、パネラー全員とも、非常に改善、の評価であった。

30

【0057】

実施例13(にきび治療効果)

乳液:

以下に示す組成及び下記製法で乳液を調製し、にきび予防および改善効果を調べた。

【0058】

【表 6】

(処 方)	(%)	
(1) ポリオキシエチレン (10 E.O.)	1.0	
ソルピタンモノステアレート		
(2) ポリオキシエチレン (60 E.O.)	0.5	
ソルビットテトラオレエート		10
(3) グリセリルモノステアレート	1.0	
(4) ステアリン酸	0.5	
(5) ベヘニルアルコール	0.5	
(6) スクワラン	5.0	
(7) 防腐剤	0.1	
(8) カルボキシビニルポリマー	0.1	20
(9) 水酸化ナトリウム	0.05	
(10) エチルアルコール	5.0	
(11) 精製水	残 量	
(12) 香料	適 量	
(13) 実施例1の粉末1	1.0	30

【0059】

(製 法)

- A. 成分(1)～(6)を加熱混合し、70 に保つ。
 B. 成分(9)と(11)の一部を加熱混合し、70 に保つ。
 C. BにAを加えて混合し、均一に乳化する。
 D. Cを冷却後(11)の残部に溶かした(7)、(8)、(12)および(10)に溶かした(13)を加え、均一に混合して乳液を得た。

【0060】

(試 験 方 法)

被験乳液1品につき22歳から40歳の女性15名をパネルとし、毎日、朝と夜の2回、洗顔後に被験乳液の適量を顔面に塗布した。12週間塗布を行い、塗布によるきび改善効果の有効性を、以下の3ランクで判断し、下記評価基準によって評価した。 40

【0061】

(有 効 性 ラ ン ク)

有効：きびが出来にくくなった。きびが目立たなくなった。
 やや有効：きびがやや出来にくくなった。きびがあまり目立たなくなった。
 無効：使用前と変化なし。

【0062】

その結果、パネラー全員が「有効」と評価した。

【0063】

50

なお、上記各例において、実施例 1 の粉末 1 の調製の際に、エタノール水溶液を用いずに、熱水を用いて抽出物を調製した場合においても、上記と同様の結果を得た。また、実施例 1 の粉末 1 の調製の際に、原料としてアッサムチャ (*C. sinensis* var. *assamica*) の花部を使用した場合においても、上記と同様の結果を得た。本発明の治療剤は、飼料の形態としても有用である。

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1	
A 6 1 P 3/06	(2006.01)	A 6 1 P 3/06		
A 6 1 P 9/12	(2006.01)	A 6 1 P 9/12		
A 6 1 P 39/02	(2006.01)	A 6 1 P 39/02		
A 6 1 P 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00		
A 6 1 P 17/10	(2006.01)	A 6 1 P 17/10		
A 6 1 K 8/97	(2006.01)	A 6 1 K 8/97		
A 6 1 Q 19/00	(2006.01)	A 6 1 Q 19/00		
A 6 1 Q 19/08	(2006.01)	A 6 1 Q 19/08		
A 2 3 L 1/30	(2006.01)	A 2 3 L 1/30		B