

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年10月1日(01.10.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/195774 A1

(51) 国際特許分類:

A61P 1/04 (2006.01) *A61K 31/215* (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01) *A61K 31/704* (2006.01)

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.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2020/010214

(22) 国際出願日: 2020年3月10日(10.03.2020)

(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 2019-058508 2019年3月26日(26.03.2019) JP

(71) 出願人: サントリーホールディングス株式会社(SUNTORY HOLDINGS LIMITED) [JP/JP]; 〒5308203 大阪府大阪市北区堂島浜二丁目1番40号 Osaka (JP).

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告(条約第21条(3))

(72) 発明者: 有江 秀行(ARIE, Hideyuki); 〒6190284 京都府相楽郡精華町精華台8-1-1 サントリーワールドリサーチセンター内 Kyoto (JP). 八木田 友紀(YAGITA, Yuki); 〒6190284 京都府相楽郡精華町精華台8-1-1 サントリーワールドリサーチセンター内 Kyoto (JP). 小野 佳子(ONO, Yoshiko); 〒6190284 京都府相楽郡精華町精華台8-1-1 サントリーワールドリサーチセンター内 Kyoto (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人 安富国際特許事務所(YASUTOMI & ASSOCIATES); 〒5320003 大阪府大阪市淀川区宮原3丁目5番36号 Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,

(54) Title: COMPOSITION FOR INTESTINAL BARRIER FUNCTION IMPROVEMENT

(54) 発明の名称: 腸管バリア機能改善用組成物

(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a novel composition for intestinal barrier function improvement that is capable of improving intestinal barrier function. This invention relates to a composition for intestinal barrier function improvement containing, as an active ingredient, at least one compound selected from the group consisting of a ursane-type triterpene, a derivative thereof, and salts thereof.

(57) 要約: 本発明は、腸管バリア機能を改善することができる新規な腸管バリア機能改善用組成物等を提供することを目的とする。本発明は、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含む腸管バリア機能改善用組成物等に関する。



WO 2020/195774 A1

明 細 書

発明の名称：腸管バリア機能改善用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、腸管バリア機能改善用組成物に関する。本発明はまた、腸管バリア機能を改善する方法等に関する。

背景技術

[0002] 近年、腸の健康に関する意識が高まっており、腸関連の機能性食品も多数販売されている。腸の機能としては、栄養素の吸収機能と、有害物質の侵入（透過）を防ぐバリア機能（腸管バリア機能）とが主である。その中で、腸管バリア機能が加齢とともに増加する慢性炎症疾患と深い関わりがあることが明らかとなってきた。

[0003] 腸管上皮細胞の下には、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、B細胞のような免疫系の細胞が多数存在している。通常、腸管上皮細胞はタイトジャンクションと呼ばれる構造によって互いに強固に接着されており、高分子量物質は細胞間隙を透過しないよう厳密に制御されている。また、腸管上皮細胞には疎水性の異物を細胞から排出するためのトランスポーターも存在する。これらのタイトジャンクション構造やトランスポーターなどが、異物の侵入を防ぐ腸管バリア機能を担っている。しかし、加齢、生活の不摂生、ストレス等の原因によって腸管バリアが傷害されて腸管透過性が上昇すると、腸管内に存在する腸内細菌やその菌体成分等の高分子量物質が、細胞間隙を介して生体内へ移行し、免疫系細胞を刺激するなどして炎症性サイトカインの放出を促し、炎症を誘発する。その結果、腸では炎症性腸疾患、肝臓では非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、血管では動脈硬化に起因する症状、全身性では糖尿病、脂質代謝異常、自己免疫疾患など慢性炎症に起因する様々な病態が誘発されると考えられている。また、未消化な物質が腸管内から侵入することによりアレルギーを誘導することが想定されている。

[0004] 上記のように、腸管バリア機能の低下は様々な疾患等の原因となり得る。こ

のような観点から、腸管バリア機能を改善できる物質の探索が試みられている。上皮細胞成長因子（EGF）は、腸管上皮細胞の成熟化を促進しバリア機能を高めることが知られている。しかし、サイトカインであるEGFは生体内に微量しか存在しないため、腸管バリア機能を改善する素材として使用するには経済性や安全性の面で好ましくない。非特許文献1には、ケルセチン等のフラボノイドがタイトジャンクションなどの形成を促進し慢性炎症を予防すると記載されている。

先行技術文献

非特許文献

- [0005] 非特許文献1: Suzuki T. et al, The Journal of Nutritional Biochemistry, 2011 May, Vol. 22 (5), p. 401-408

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明は、腸管バリア機能を改善することができる新規な腸管バリア機能改善用組成物等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

- [0007] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究し、ヒト腸管細胞培養株 Caco-2 を用いた腸管透過モデルに炎症性サイトカインを添加して、ヒトで腸管バリア機能を破綻させ得る状態を作り出し、この状態を改善し得る物質を見出すことにより上記課題を解決することを試みた。その結果、ウルサン型トリテルペン及びその誘導体が、腸管バリア機能改善に有用であることを見出した。

- [0008] すなわち本発明は、以下の腸管バリア機能改善用組成物等に関する。

〔1〕ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含む腸管バリア機能改善用組成物。

〔２〕上記化合物が、アセチルウルソル酸、ウルソル酸、ウルソル酸配糖体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも１種の化合物である上記〔１〕に記載の腸管バリア機能改善用組成物。

〔３〕上記化合物が、アセチルウルソル酸及び／又はその塩である上記〔１〕又は〔２〕に記載の腸管バリア機能改善用組成物。

〔４〕上記アセチルウルソル酸が、３－アセチルウルソル酸である上記〔２〕又は〔３〕に記載の腸管バリア機能改善用組成物。

〔５〕経口用組成物である、上記〔１〕～〔４〕のいずれかに記載の腸管バリア機能改善用組成物。

〔６〕上記経口用組成物が、飲食品、医薬品又は医薬部外品である上記〔５〕に記載の腸管バリア機能改善用組成物。

〔７〕整腸のために使用される上記〔１〕～〔６〕のいずれかに記載の腸管バリア機能改善用組成物。

〔８〕整腸作用を有する旨の表示を付した、上記〔１〕～〔７〕のいずれかに記載の腸管バリア機能改善用組成物。

〔９〕ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも１種の化合物の、腸管バリア機能を改善するための使用。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、腸管バリア機能を改善することができる新規な腸管バリア機能改善用組成物等を提供することができる。本発明によれば、腸管バリア機能を改善することができる。本発明は、腸管バリア機能を改善することにより、腸管バリア機能の異常に関連する状態又は疾患の予防又は改善にも寄与し得る。

発明を実施するための形態

[0010] 以下、本発明を詳細に説明する。以下の実施の形態は、本発明を説明するための例示であり、本発明をこの実施の形態のみに限定する趣旨ではない。本発明は、その要旨を逸脱しない限り、様々な形態で実施をすることができる。

。

[0011] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含む。

本明細書中、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を、本発明における有効成分の化合物ともいう。本発明においては、上記の化合物の1種又は2種以上を有効成分として使用することができる。

[0012] ウルサン型トリテルペンとして、ウルソル酸、コロソリン酸、トルメンチック酸が挙げられる。ウルサン型トリテルペンの誘導体として、ウルサン型トリテルペン配糖体、アセチル基を有するウルサン型トリテルペンが挙げられる。

ウルサン型トリテルペン配糖体は、ウルサン型トリテルペンをアグリコンとする配糖体である。例えばウルソル酸配糖体は、ウルソル酸をアグリコンとする配糖体である。

アセチル基を有するウルサン型トリテルペンとして、アセチルウルソル酸、アセチルコロソリン酸、アセチルトルメンチック酸が挙げられる。本発明におけるウルサン型トリテルペン又はその誘導体として、アセチルウルソル酸、ウルソル酸、ウルソル酸配糖体が好ましい。ウルサン型トリテルペン配糖体を構成する糖として、単糖、二糖等が好ましい。単糖として、グルコース、ガラクトース、ラムノース、フルクトース、マンノース、アラビノース等が挙げられる。二糖として、マルトース、スクロース、ラクトース等が挙げられる。

[0013] ウルサン型トリテルペン及びその誘導体の塩としては、特に限定されないが、経口摂取可能なものであることが好ましい。このような塩としては、例えば、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属塩；カルシウム等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩等が挙げられる。

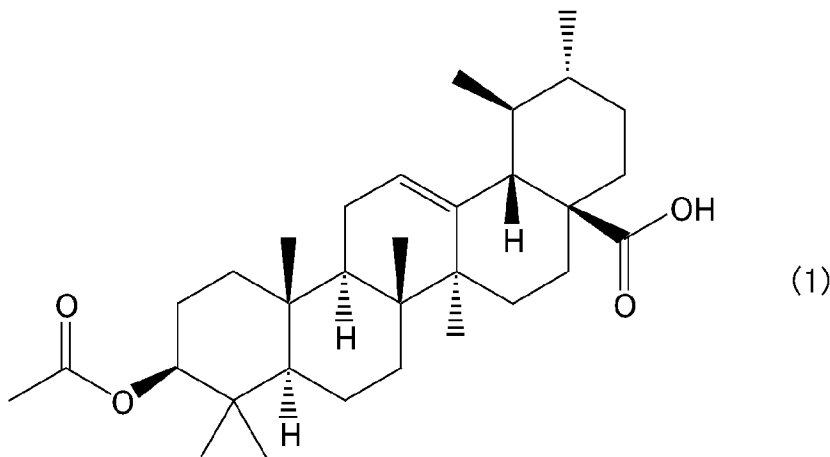
[0014] 本発明における有効成分の化合物として、アセチルウルソル酸、ウルソル酸

、ウルソル酸配糖体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも 1 種の化合物が好ましい。中でも、腸管バリア機能改善作用が高い観点から、アセチルウルソル酸及び／又はその塩を有効成分として含むことがより好ましい。

[0015] アセチルウルソル酸として、ウルソル酸の 3 位の水酸基にアセチル基が結合した 3-アセチルウルソル酸が好ましい。本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、3-アセチルウルソル酸及び／又はその塩を有効成分として含むことがより好ましい。

[0016] 3-アセチルウルソル酸とは、以下の式（1）で示される化合物である。

[0017] [化1]



[0018] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物に含まれるウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩は、その由来や製造方法によって特に限定されるものではない。例えば、植物から抽出した植物由来のものを用いてもよく、合成によって得られたものでもよい。また、市販品を用いることもできる。例えば、植物由来のアセチルウルソル酸、ウルソル酸、ウルソル酸配糖体及びこれらの塩の由来は、バラ科アロニア属（*Aronia*）、バラ科キイチゴ属（*Rubus*）、バラ科ボケ属（*Chaenomeles*）、バラ科リンゴ属（*Malus*）、バラ科ナシ属（*Pyrus*）、ツツジ科クマコケモモ属（*Arctostaphylos*）、ツツジ科スノキ属（*Vaccinium*）、フトモモ科フトモモ属（*Syzygium*）、リンドウ科センブリ

リ属 (*S w e r t i a*)、モッコク科モッコク属 (*T e r n s t r o e m i a*)、モチノキ科モチノキ属 (*I l e x*)、クワ科イチジク属 (*F i c u s*)、モクセイ科オリーブ属 (*O l e a*) 及びトチュウ科トチュウ属 (*E u c o m m i a*) からなる群から選択される少なくとも1種の植物であることが好ましい。

[0019] また本発明において、3-アセチルウルソル酸及びその塩の由来は、バラ科アロニア属 (*A r o n i a*)、バラ科キイチゴ属 (*R u b u s*)、バラ科ボケ属 (*C h a e n o m e l e s*)、モッコク科モッコク属 (*T e r n s t r o e m i a*)、モチノキ科モチノキ属 (*I l e x*)、クワ科イチジク属 (*F i c u s*) 及びトチュウ科トチュウ属 (*E u c o m m i a*) からなる群から選択される少なくとも1種の植物であることが好ましい。

[0020] さらに、3-アセチルウルソル酸及びその塩の由来が、バラ科アロニア属 (*A r o n i a*) の植物である場合、バラ科アロニア属の植物は、アロニア・アルブティフォリア (*A r o n i a a r b u t i f o l i a*)、アロニア・メラノカルパ (*A r o n i a m e l a n o c a r p a*) 及びアロニア・プルニフォリア (*A r o n i a x p r u n i f o l i a*) からなる群から選択される少なくとも1種であることが好ましい。

なお、アロニア・メラノカルパ (*A r o n i a m e l a n o c a r p a*) は、別名称として、チョークベリー (*C h o k e b e r r y*) や、ブラックチョークベリー (*B l a c k C h o k e b e r r y*) とも呼ばれる。植物から抽出する場合、例えば、本発明における有効成分の化合物を含む原料を含水エタノールで抽出し、抽出液を濃縮したのち、カラム精製を行うことで、本発明における有効成分の化合物を得ることができる。

[0021] 本発明における有効成分の化合物は、上記の植物に含まれる成分であり、長期間摂取しても副作用が少なく安全性が高いものである。本発明によれば、長期間摂取しても副作用が少なく安全性が高い物質を有効成分として含む腸管バリア機能改善用組成物を提供することができる。

[0022] 本発明において、腸管バリア機能とは、腸管上皮細胞外（腸管内）から体内

への異物（例えば、エンドトキシン等の毒素、起炎物質、未消化物等）の侵入（透過）を防ぐ機能をいう。腸管には、大腸及び小腸が含まれる。正常な状態と比べて腸管上皮細胞外から体内への異物の侵入が促進されている状態を、腸管上皮細胞における異物の透過性が上昇（亢進）した状態と呼ぶ。腸管バリア機能改善とは、腸管上皮細胞における異物の透過性の上昇を抑制すること、及び、腸管上皮細胞における異物の透過性を低下させることのいずれをも意味する。また、本発明において、腸管バリア機能改善は、腸管バリア機能の低下を抑制すること、低下した腸管バリア機能を高めることを含む意味でも用いられる。例えば、腸管上皮細胞を互いに接着するタイトジャンクションを正常化又は強化することによって、腸管バリア機能が改善される。一態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、腸管上皮細胞におけるタイトジャンクションを正常化又は強化することによって腸管バリア機能を改善するために使用され得る。

[0023] 腸管バリア機能改善効果は、例えば、腸管上皮細胞の電気抵抗値（経上皮膜抵抗値（*trans epithelial electric resistance*: TEER））が上昇することによって、又は、TEERの低下を抑制することによって示される。上記TEERを上昇させる又はその低下を抑制する物質は、腸管上皮細胞におけるタイトジャンクションを正常化又は強化する作用を有する。また、腸管バリア機能改善効果は、腸管上皮細胞の腸管側から体内側へ透過する物質の量が減少することによっても示される。

当業者は、目的に応じて腸管バリア機能改善効果の具体的な評価方法を選択することができる。例えば後述する実施例に示したように、ヒト腸管上皮細胞（Caco-2細胞）を用いた腸管透過モデルを用いて、TEERを測定する方法を用いることができる。具体的には、Caco-2単層培養細胞に炎症性サイトカイン（TNF α 、IL-1 β 、IFN γ 等）を添加してヒトで腸管バリア機能を破綻させ得る状態を作り出し、被験物質の添加により、該物質を添加しない場合と比べてTEERの低下が抑制されれば、その被験

物質には腸管バリア機能改善効果があると評価することができる。

実施例に示されるように、アセチルウルソル酸及びウルソル酸は、Caco-2を用いた腸管透過モデルにおいて、炎症性サイトカインの添加によるTEERの低下を抑制し、優れた腸管バリア機能改善効果を有することが示された。また、実施例に示されるように、アセチルウルソル酸は、アセチル基を有さないウルソル酸と比較してより優れた腸管バリア機能改善効果を示した。

[0024] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含むことにより腸管バリア機能改善効果を奏する。このため本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、腸管バリア機能の改善がその予防又は改善等に有効な状態又は疾患、例えば腸管バリア機能の異常に関連する状態又は疾患の予防又は改善に有用である。腸管バリア機能の異常には、腸管バリア機能の低下が含まれる。腸管バリア機能の異常に関連する状態又は疾患としては、腸管バリア機能の異常に起因する状態若しくは疾患、又は、腸管バリア機能の異常を伴う状態若しくは疾患が挙げられる。このような腸管バリア機能の異常に関連する状態又は疾患として、例えば、炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、全身性自己免疫疾患（関節リウマチ、エリテマトーデス等）、アレルギー（食物アレルギー、花粉症等）、生活習慣病（肥満、1型又は2型糖尿病、高血圧、高脂血症、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、動脈硬化等）等が挙げられる（例えば、Camilleri et al., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 303: G775-G785, 2012; Muet al., Front. Immunol., Vol. 8, Article 598, 2017; Bischoff et al., BMC Gastroenterology 2014 14:189）。

[0025] 腸管バリア機能の異常に関連する状態又は疾患のより具体的な症状の一例と

して、下痢、便秘、おなか（腹部）の不快感（膨満感、ごろごろ感、腹痛等）等の症状が挙げられる。本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、腸管バリア機能を改善することにより、腸の状態を改善する作用を有する。従って本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、腸管バリア機能改善により腸の調子を整えることができ、上記のような腸の症状の予防又は改善のために有用である。一態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、整腸のため（例えば、下痢、便秘、腹部の不快感等を予防又は改善するため）に使用され得る。また、腸管バリア機能の異常は、生活習慣病等とも関連する（例えば上記の *Bischoff et al., BMC Gastroenterology 2014 14:189*）。腸管バリア機能を改善することは、生活習慣病の予防又は改善にも有効である。生活習慣病の症状として、糖代謝異常、脂質代謝異常、体脂肪増加、内臓脂肪増加、腹囲脂肪増加、高めの血圧等が挙げられる。従って本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、腸管バリア機能を改善することにより、糖代謝の改善、脂質代謝の改善、体脂肪、内臓脂肪、腹囲脂肪等の脂肪の減少又は増加抑制、高めの血圧の改善等にも寄与し得る。

[0026] 本明細書で「状態又は疾患の予防」というときは、状態又は疾患に対する対象の抵抗性を高めること、状態又は疾患の発症を遅延させること、防止すること等を指す。また、本明細書で「状態又は疾患の改善」というときは、対象を状態又は疾患から回復させること、状態又は疾患の症状を軽減すること、状態又は疾患の進行を遅延させること、防止すること等を指す。回復は、少なくとも部分的に回復させることを含む。

[0027] 本発明の組成物は、治療用途（医療用途）又は非治療用途（非医療用途）のいずれにも適用することができる。

本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、例えば、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等の形態で提供することができるが、これらに限定されるものではない。本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、それ自体が飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等であってもよく、これらに使用される添加剤等の製

剤、素材であってもよい。本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、一例として、剤の形態で提供することができるが、本形態に限定されるものではない。当該剤をそのまま組成物として、又は、当該剤を含む組成物として提供することもできる。一態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、腸管バリア機能改善剤ということもできる。

一態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、好ましくは経口用組成物である。本発明によれば、優れた腸管バリア機能改善作用を有する経口用組成物を提供することができる。経口用組成物として、飲食品、医薬品、医薬部外品が挙げられ、好ましくは飲食品である。

[0028] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、本発明の効果を損なわない限り、上述した本発明における有効成分の化合物以外の成分（他の成分）1又は2以上を含有していてもよい。

一態様において、他の成分として、例えば、乳酸菌、ビフィズス菌、食物繊維、多糖類等を含有していてもよい。乳酸菌及びビフィズス菌は、経口的に摂取することができる菌であることが好ましい。

[0029] 上記食物繊維は、水に不溶性の食物繊維、水溶性の食物繊維のいずれであってもよい。水に不溶性の食物繊維としては、セルロース、リグニン、ヘミセルロース、小麦ふすま、アップルファイバー、さつまいもファイバー、キチンなどが例示される。水溶性食物繊維は、高粘性物と低粘性物とに大別され、高粘性物としては、ペクチン、コンニャクマンナン、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、グアーガム、寒天などが挙げられる。日本国内で一般に知られている食物繊維のうち、低粘性物の水溶性食物繊維とは、50重量%以上の食物繊維を含有し、常温水に溶解して低粘性の溶液、おおむね5重量%水溶液で20 mPa・s以下の粘度を示す溶液となる食物繊維素材を指称する。水溶性食物繊維の低粘性物としては、難消化性デキストリン、ポリデキストロース、グアーガム分解物、ライテス（ポリデキストロース）などが挙げられる。この他にも低粘性、水溶性の条件を満たす食物繊維素材は何れも包含される。食物繊維は1種用いてもよく、2種以上用いてもよい。

[0030] 上記多糖類としては、ガラクトオリゴ糖、キシロオリゴ糖、マンノオリゴ糖、アガロオリゴ糖、フラクトオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖、ラフィノース等のオリゴ糖が挙げられる。これらは1種用いてもよく、2種以上用いてもよい。

[0031] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、上記以外にも、任意の添加剤、任意の成分を含有することができる。これらの添加剤及び成分は、腸管バリア機能改善用組成物の形態等に応じて選択することができ、一般的に飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等に使用可能なものが使用できる。例えば、経口投与剤として飲食品に又は薬学的に許容される各種の添加剤、例えば賦形剤、滑沢剤、安定剤、分散剤、結合剤、希釈剤、香味料、甘味料、風味剤、着色剤などを例示することができる。例えば、本発明の腸管バリア機能改善用組成物を経口用組成物とする場合は、本発明の効果を損なわない範囲で、上記の他にビタミン、ビタミン様物質、タンパク質、アミノ酸、油脂、有機酸、炭水化物、植物由来原料、動物由来原料、微生物、飲食品用添加物、医薬品用添加物等、経口摂取可能な成分を適宜含有させることができる。上記以外にも、その用途に応じて、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等を使用される素材等の成分を適宜配合することができる。

[0032] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物の形態は、本発明の効果を有するものである限り特に制限されない。

一態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物を飲食品とする場合、本発明における有効成分の化合物に、飲食品に使用可能な成分（例えば、飲食品素材、必要に応じて使用される添加剤等）を配合して、種々の飲食品（飲食品組成物）とすることができる。飲食品は特に限定されず、例えば、一般的な飲食品、健康食品、機能性表示食品、特定保健用食品、病者用食品、食品添加剤、これらの原料等が挙げられる。飲食品の形態も特に限定されず、錠剤、被覆錠剤、細粒剤、顆粒剤、散剤、丸剤、カプセル剤（ソフトカプセル剤、ハードカプセル剤を含む）、ドライシロップ剤、チュアブル剤等の経口用固形製剤；内服液剤、シロップ剤等の経口用液体製剤の各種製剤形

態とすることもできる。

[0033] 一態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、本発明における有効成分の化合物に、薬学的に許容される賦形剤等の添加剤を配合して、各種剤形の医薬品（医薬組成物）又は医薬部外品（医薬部外品組成物）とすることができる。医薬品又は医薬部外品の投与形態は、経口投与が好ましい。医薬品又は医薬部外品の剤形は、投与形態に適した剤形とすればよい。経口用医薬品又は医薬部外品の剤形として、例えば、錠剤、被覆錠剤、細粒剤、顆粒剤、散剤、丸剤、カプセル剤（ソフトカプセル剤、ハードカプセル剤を含む）、ドライシロップ剤、チュアブル剤等の経口用固形製剤；内服液剤、シロップ剤等の経口用液体製剤が挙げられる。

[0034] 錠剤、丸剤及び顆粒剤の場合、必要に応じて慣用的な剤皮を施した剤形、例えば糖衣錠、ゼラチン被包剤、腸溶被包剤、フィルムコーティング剤等とすることもでき、また錠剤は二重錠等の多層錠とすることもできる。

[0035] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物を、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等とする場合、その製造方法は特に限定されず、本発明における有効成分の化合物を用いて、一般的な方法により製造することができる。本発明は、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物の、腸管バリア機能改善用組成物を製造するための使用、も包含する。

[0036] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物には、包装、容器又は説明書等に用途、有効成分の種類、上述した効果、使用方法（例えば、摂取方法、投与方法）等の1又は2以上を表示してもよい。本発明の腸管バリア機能改善用組成物には、腸管バリア機能改善作用又は腸管バリア機能改善作用に基づく作用を有する旨の表示が付されていてもよい。このような表示として、例えば、整腸作用を有する旨の表示が付されていてもよい。

整腸作用は、腸管バリア機能の改善に基づく整腸作用であればよく、特に限定されない。上記整腸作用を有する旨の表示の一例として、「便秘又は下痢

気味な方に」、「おなかの調子が気になる方に」、「おなかの不快感を感じやすい方に」、「便通を改善」、「便の状態を改善」、「排便回数を改善」、「排便量を改善」、「おなかすっきり」、「おなかの調子を整える」、「腸の調子を整える」、「おなかの不快感を改善」、「ガスの発生を和らげる」、「おなかの張りを和らげる」、「おなかのごろごろ感を和らげる」等が挙げられる。本発明の腸管バリア機能改善用組成物には、このような表示の1又は2以上が付されていてもよい。

[0037] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物中の有効成分の化合物の含有量は、該組成物の形態等に応じて適宜設定することができる。一態様において、腸管バリア機能改善用組成物を、飲食品、医薬、医薬部外品等の経口用組成物とする場合、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩の総含有量が、該組成物中に0.0001重量%以上が好ましく、0.01重量%以上がより好ましく、また、80重量%以下が好ましく、20重量%以下がより好ましい。一態様において、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩の総含有量は、腸管バリア機能改善用組成物中に0.0001～80重量%が好ましく、0.01～20重量%がより好ましい。

ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩の含有量は、公知の方法に従って測定することができ、例えば、HPLC法等を用いることができる。

[0038] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、その形態に応じた適当な方法で摂取又は投与することができる。本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、好ましくは、経口投与又は経口摂取される。

本発明の腸管バリア機能改善用組成物の摂取量（投与量ということもできる）は特に限定されず、腸管バリア機能改善効果が得られるような量であればよく、投与形態、投与方法等に応じて適宜設定すればよい。一態様として、ヒト（成人）を対象に経口で投与する又は摂取させる場合、腸管バリア機能改善用組成物の摂取量は、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩の総摂取量として、1日あたり、0.01～5000mgであってよく

、0.1～3000mgが好ましく、1～1500mgがより好ましく、1～1000mgがさらに好ましい。上記量を、例えば1日1回で又は2～3回に分けて経口投与又は摂取することが好ましい。一態様において、ヒト（成人）を対象に腸管バリア機能改善効果を得ることを目的として腸管バリア機能改善用組成物を摂取させる場合は、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩の総摂取量が上記範囲となるように、腸管バリア機能改善用組成物を対象に経口で摂取させる又は投与することができる。上記摂取量は、体重60kgあたり、1日あたりの摂取量であってよい。一態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、成人に、体重60kgあたり、1日当たり上記量の本発明における有効成分の化合物を摂取させる又は投与するための経口用組成物であってよい。

[0039] 一態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、その投与形態、投与方法等を考慮して、本発明の所望の効果が得られるような量、すなわち有効量の本発明における有効成分の化合物を含有することが好ましい。一態様として例えば、腸管バリア機能改善用組成物が飲食品、経口用医薬品等の経口用組成物である場合、該組成物の成人1人1日当たりの摂取量中に、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩の総含有量として、1日あたり、0.01～5000mgであってよく、0.1～3000mgが好ましく、1～1500mgがより好ましく、1～1000mgがさらに好ましい。

[0040] 本発明における有効成分の化合物は、継続的に摂取（投与）されることによって、腸管バリア機能改善効果が高まることが期待される。好ましい態様において、本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、継続して摂取されるものである。本発明の一実施態様において、腸管バリア機能改善用組成物は、1週間以上継続して摂取されることが好ましい。

[0041] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物を投与又は摂取させる対象（以下、単に投与対象ともいう）は、ヒト、ヒト以外の動物が好ましく、ヒト、非ヒト哺乳動物がより好ましく、ヒトがさらに好ましい。また、本発明における投

与対象として、腸管バリア機能改善を必要とする又は希望する対象が好ましい。例えば、腸管バリア機能が低下した対象、上述した腸管バリア機能の異常が関連する状態又は疾患の予防又は改善を希望する対象、当該状態又は疾患の予防又は改善を必要とする対象等が好適な対象として挙げられる。

[0042] 本発明は、以下の腸管バリア機能改善方法等も包含する。

ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を対象に投与する、腸管バリア機能改善方法。
ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物の、腸管バリア機能を改善するための使用。
上記方法及び使用は、治療的な方法及び使用であってもよく、非治療的な方法及び使用であってもよい。「非治療的」とは、医療行為、すなわち手術、治療又は診断を含まない概念である。本発明における有効成分の化合物は、対象の腸管バリア機能を改善するために、対象に投与して（又は摂取させて）使用することができる。一態様において、上記の本発明における有効成分の化合物は、腸管上皮細胞におけるタイトジャンクションを正常化又は強化することによって腸管バリア機能を改善するために好適に使用される。

[0043] ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物の投与量は、腸管バリア機能改善効果が得られる量、すなわち有効量であればよく、特に限定されず、例えば上述した量を投与することが好ましい。投与経路は、好ましくは経口投与である。上記化合物は、そのまま投与してもよいし、それを含む組成物を投与してもよい。例えば、上述した本発明の腸管バリア機能改善用組成物を投与することができる。本発明における有効成分の化合物、対象（投与対象）、投与方法、投与量及びそれらの好ましい態様等は、上述した腸管バリア機能改善用組成物におけるものと同じである。一態様において、例えば、ヒト（成人）を対象に経口投与する場合、ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩の総投与量が、1日あたり、0.01～5000mgであってよく、0.1～3000mgが好ましく、1～1500mgがより好ましく、1～100

0 mg がさらに好ましい。上記方法及び使用においては、本発明における有効成分の化合物を 1 週間以上継続して投与することが好ましい。

実施例

[0044] 以下、本発明をより具体的に説明する実施例を示す。なお、本発明はこれらの実施例のみに限定されるものではない。

[0045] <実施例 1>

腸管バリア機能改善の比較評価を行った。

(腸管バリア機能改善作用の評価方法)

DMEM (ダルベッコ改変イーグル培地) を用いて、トランズウェル (Millipore 社製) で Caco-2 細胞を 37℃ で 3 週間培養した。培養した Caco-2 細胞のプレートから培地を除去し、血清不含 DMEM でウェルをそれぞれ 3 回洗浄し、その培地でウェルを満たした。その後、Millipore-ERS (ミリポア社製) により Caco-2 単層細胞の経上皮電気抵抗 (TEER) を測定し、十分なタイトジャンクションが形成されていると判断される細胞 ($TEER \geq 1000 \Omega \cdot cm^2$) を選抜して、次のスクリーニングに用いた。次いで、粘膜側、基底膜側両方の試験液 (培地) に後記するサンプルと $TNF\alpha$ (40 ng/mL)、 $IL-1\beta$ (20 ng/mL) 及び $IFN\gamma$ (10 ng/mL) とを添加し、48 時間培養した。なお、サンプルは、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解後、試験液に添加した。この際に、炎症性サイトカイン ($TNF\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 及び $IFN\gamma$) 及びサンプルを添加しないウェルをノーマルとして設けた。また、炎症性サイトカインを添加し、サンプルを添加しないウェルをコントロールとして設けた。培養後、再び TEER を測定し、炎症性サイトカインによる TEER の低下 (減少) をサンプルが抑制するかを評価した。

[0046] サンプルを添加したウェル、ノーマル及びコントロールの TEER 値から、下記式により、サンプルによる TEER 低下抑制率 (%) を求めた。

(TEER 低下抑制率の計算式)

$TEER \text{ 低下抑制率 (\%)} = 100 \times \left(\left(\text{サンプルを添加したウェルの TEER} \right) \right)$

$$\frac{\text{E R} - (\text{コントロールのTEER})}{((\text{ノーマルのTEER}) - (\text{コントロールのTEER}))}$$

この評価系では、TEER低下抑制率(%)が高いほど、腸管バリア機能改善作用が高い。

[0047] サンプルとして、3-アセチルウルソル酸(Ark Pharm社製)、3-アセチルオレアノール酸(Ark Pharm社製)、ウルソル酸(United States Pharmacopeial Convention社製)、オレアノール酸(ChromaDex社製)の市販の標品を用いた。試験液中のサンプル濃度が $5 \mu\text{g/mL}$ となるように各サンプルを添加した。また陽性対照としてケルセチンを評価した。ケルセチンは、市販の標品(フナコシ(株)製)を用いた。ケルセチンは $9 \mu\text{g/mL}$ となるように試験液に添加した。

[0048] 結果を表1に示す。3-アセチルウルソル酸及びウルソル酸は、腸管バリア機能改善作用を有した。3-アセチルウルソル酸はアセチル基を有さないウルソル酸と比較して、より高い腸管バリア機能改善作用を有することが判明した。3-アセチルウルソル酸は、腸管バリア保護剤として知られているケルセチンよりも低い濃度で、ケルセチンと同程度の腸管バリア機能改善作用を有した。

[0049] [表1]

サンプル	濃度($\mu\text{g/mL}$)	TEER低下抑制率(%)
3-アセチルウルソル酸	5	24
ウルソル酸	5	18
3-アセチルオレアノール酸	5	-13
オレアノール酸	5	-23
ケルセチン	9	25

産業上の利用可能性

[0050] 本発明の腸管バリア機能改善用組成物は、飲食品分野、医薬分野等で有用である。

請求の範囲

- [請求項1] ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物を有効成分として含む腸管バリア機能改善用組成物。
- [請求項2] 前記化合物が、アセチルウルソル酸、ウルソル酸、ウルソル酸配糖体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物である請求項1に記載の腸管バリア機能改善用組成物。
- [請求項3] 前記化合物が、アセチルウルソル酸及び／又はその塩である請求項1又は2に記載の腸管バリア機能改善用組成物。
- [請求項4] 前記アセチルウルソル酸が、3-アセチルウルソル酸である請求項2又は3に記載の腸管バリア機能改善用組成物。
- [請求項5] 経口用組成物である、請求項1～4のいずれか一項に記載の腸管バリア機能改善用組成物。
- [請求項6] 前記経口用組成物が、飲食品、医薬品又は医薬部外品である請求項5に記載の腸管バリア機能改善用組成物。
- [請求項7] 整腸のために使用される請求項1～6のいずれか一項に記載の腸管バリア機能改善用組成物。
- [請求項8] 整腸作用を有する旨の表示を付した、請求項1～7のいずれか一項に記載の腸管バリア機能改善用組成物。
- [請求項9] ウルサン型トリテルペン、その誘導体及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の化合物の、腸管バリア機能を改善するための使用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/010214

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61P1/04(2006.01)i, A61K31/19(2006.01)i, A61K31/215(2006.01)i, A61K31/704(2006.01)i

FI: A61K31/215, A61P1/04, A61K31/19, A61K31/704

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)

Int.Cl. A61P1/04, A61K31/19, A61K31/215, A61K31/704

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2020

Registered utility model specifications of Japan 1996-2020

Published registered utility model applications of Japan 1994-2020

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII),

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2017/0298090 A1 (KULING THERAPEUTICS)	1-9
Y	19.10.2017 (2017-10-19), paragraphs [0125], [0131]	1-9
X	CHUN, J. Y. et al., Ursolic acid inhibits nuclear factor- κ B signaling in intestinal epithelial cells and macrophages, and attenuates experimental colitis in mice, Life Sciences, 2014, vol. 110, no. 1, pp. 23-34, ISSN. 0024-3205, abstract, fig. 2, 6-8	1-9
Y	CLAUDIO, T. R. et al., Lipopolysaccharide primes bile duct epithelial monolayers for tumor necrosis factor- α -induced tight junction disruption by an Nf kappa B-dependent mechanism, Gastroenterology, 2012, vol. 142, no. 5, suppl. 1, p. S174, ISSN. 0016-5085, particularly, p. S174, right column, 988	1-9

☒ 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
20.05.2020

Date of mailing of the international search report
02.06.2020

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2020/010214

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	QI, L. et al., Amelioration of hypoxia and LPS-induced intestinal epithelial barrier dysfunction by emodin through the suppression of the NF- κ B and HIF-1 α signaling pathways, International Journal of Molecular Medicine, 2014, vol. 34, no. 6, pp. 1629-1639, ISSN. 1107-3756, abstract, fig. 2, 7, 8	1-9
Y	LEE, J. Y. et al., Anti-inflammatory effects of ursolic acid-3-acetate on human synovial fibroblasts and a murine model of rheumatoid arthritis, International Immunopharmacology, 2017, vol. 49, pp. 118-125, ISSN. 1567-5769, abstract, fig. 3, 4	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2020/010214

US 2017/0298090 A1 19.10.2017 (Family: none)

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61P 1/04(2006.01)i; A61K 31/19(2006.01)i; A61K 31/215(2006.01)i; A61K 31/704(2006.01)i FI: A61K31/215; A61P1/04; A61K31/19; A61K31/704										
B. 調査を行った分野										
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61P1/04; A61K31/19; A61K31/215; A61K31/704										
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2020年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2020年	日本国実用新案登録公報	1996-2020年	日本国登録実用新案公報	1994-2020年
日本国実用新案公報	1922-1996年									
日本国公開実用新案公報	1971-2020年									
日本国実用新案登録公報	1996-2020年									
日本国登録実用新案公報	1994-2020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） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)										
C. 関連すると認められる文献										
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号								
X	US 2017/0298090 A1 (KULING THERAPEUTICS) 19.10.2017 (2017-10-19) [0125], [0131]	1-9								
Y		1-9								
X	CHUN Jaeyoung et al., Ursolic acid inhibits nuclear factor- κ B signaling in intestinal epithelial cells and macrophages, and attenuates experimental colitis in mice, Life Sciences, 2014, Vol.110, No.1, pp.23-34, ISSN.0024-3205 ABSTRACT, Figs. 2, 6-8	1-9								
Y		1-9								
Y	CLAUDIO, Tombazzi R. et al., Lipopolysaccharide Primes Bile Duct Epithelial Monolayers for Tumor Necrosis Factor- α -Induced Tight Junction Disruption by an Nf kappa B-Dependent Mechanism, Gastroenterology, 2012, Vol.142, No.5, Suppl.1, p.S174, ISSN. 0016-5085 特にp. S174右欄988	1-9								
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。										
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願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抵触するものではなく、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 20.05.2020	国際調査報告の発送日 02.06.2020									
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 鶴見 秀紀 4C 8415 電話番号 03-3581-1101 内線 3452									

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	QI Lei et al., Amelioration of hypoxia and LPS-induced intestinal epithelial barrier dysfunction by emodin through the suppression of the NF- κ B and HIF-1 α signaling pathways, International Journal of Molecular Medicine, 2014, Vol.34, No.6, pp.1629-1639, ISSN.1107-3756 Abstract, Figs. 2, 7, 8	1-9
Y	LEE, Jong Yeong et al., Anti-inflammatory effects of ursolic acid-3-acetate on human synovial fibroblasts and a murine model of rheumatoid arthritis, International Immunopharmacology, 2017, Vol.49, pp.118-125, ISSN.1567-5769 ABSTRACT, Figs. 3, 4	1-9

PCT/JP2020/010214

様式 PCT/ISA/210 (パテントファミリー用別紙) (2015年1月)