

(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2006-169236

(P2006-169236A)

(43) 公開日 平成18年6月29日(2006.6.29)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/56 (2006.01)	A 6 1 K 31/56	4 C O 8 6
A 6 1 P 3/08 (2006.01)	A 6 1 P 3/08	4 C O 9 1
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
C O 7 J 63/00 (2006.01)	C O 7 J 63/00	

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 25 頁)

(21) 出願番号	特願2005-332012 (P2005-332012)	(71) 出願人	598169491 株式会社ユース・テクノコーポレーション
(22) 出願日	平成17年11月16日 (2005.11.16)		京都府福知山市篠尾新町4丁目27番地
(31) 優先権主張番号	特願2004-332083 (P2004-332083)	(74) 代理人	100088155 弁理士 長谷川 芳樹
(32) 優先日	平成16年11月16日 (2004.11.16)	(74) 代理人	100092657 弁理士 寺崎 史朗
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(72) 発明者	松山 太 京都府福知山市字天田117-7
		(72) 発明者	清野 裕 兵庫県尼崎市富松町4丁目8-20
		(72) 発明者	山田 祐一郎 大阪府枚方市楠葉野田一丁目43-34
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 糖新生抑制剤

(57) 【要約】

【課題】 ビグアナイド系薬物とナテグリニド系薬物との両方の性質を併せ持ち、かつこれらの薬物よりも副作用が低減された新たな糖尿病治療薬を提供すること。

【解決手段】 コロソリン酸、コロソリン酸類縁体又はこれらの薬学的に許容される塩を有効成分として含有する糖新生抑制剤。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

コロソリン酸、コロソリン酸類縁体又はこれらの薬学的に許容される塩を有効成分として含有する糖新生抑制剤。

【請求項 2】

前記コロソリン酸類縁体が、マスリン酸、トルメンティック酸、ウルソール酸、アシアチン酸、オレアノール酸及び $2\alpha, 19\alpha$ -ジヒドロキシ-3-オキソ-ウルス-12-エン-28-酸 ($2\alpha, 19\alpha$ -dihydroxy-3-oxo-urs-12-en-28-oic acid) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、請求項 1 に記載の糖新生抑制剤。

【請求項 3】

空腹時における糖新生を抑制する、請求項 1 又は 2 に記載の糖新生抑制剤。

【請求項 4】

食後 90～180 分における糖新生を抑制する、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の糖新生抑制剤。

【請求項 5】

インスリン感受性を増強する、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の糖新生抑制剤。

【請求項 6】

肝障害の発生頻度が低減されている、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の糖新生抑制剤。

【請求項 7】

経口投与により糖新生を抑制する、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の糖新生抑制剤。

【請求項 8】

次の (i) 又は (i i) の条件を満たす被験者に投与する、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の糖新生抑制剤。

(i) 空腹時血糖値が 110 mg/dL 以上

(i i) OGT T (経口グルコース負荷試験) 2 時間値が 140 mg/dL 以上

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、糖新生抑制剤に関する。

【背景技術】

【0002】

乾燥したバナバ葉を熱水抽出又はアルコール抽出することにより、コロソリン酸を所定量含有し、血糖値上昇抑制作用又は血糖値下降作用を有するバナバエキスが得られることが知られている (特許文献 1)。

【特許文献 1】特開 2000-169384 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

コロソリン酸を始めとするテルペン類は広く植物に含有されている。しかし、その種類が余りに多く、また、活性成分を特定して有効利用するには、その都度単離精製を行って、分子レベルの実験、非臨床試験、臨床試験の手順を踏まなければならないため、活性成分の特定及び有効利用には大きな費用を要する。一方、テルペン類の活性に関わる部位、官能基、立体構造等を特定することができれば、テルペン類を容易に有効利用することが可能になる。

ところで、従来、糖新生抑制作用及び血糖値上昇抑制作用を有するビグアナイド系薬物と、インスリン初期分泌促進作用を有するナテグリニド系薬物との両方の性質を併せ持ち、かつこれらの薬物よりも副作用が低減された糖尿病治療薬は知られていなかった。このような糖尿病治療薬が提供されれば、糖尿病の治療における選択肢が増え、糖尿病の治療

10

20

30

40

50

にも有用である。

そこで、本発明は、ビグアナイド系薬物とナテグリニド系薬物との両方の性質を併せ持ち、かつこれらの薬物よりも副作用が低減された新たな糖尿病治療薬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】

【0004】

本発明者らは、上記目的を達成すべく鋭意研究した結果、コロソリン酸及びこの類縁体（コロソリン酸に類似した構造活性連関を有するトリテルペン）が糖新生を抑制することを見出し、本発明を完成させた。

【0005】

すなわち、本発明は、コロソリン酸、コロソリン酸類縁体又はこれらの薬学的に許容される塩を有効成分として含有する糖新生抑制剤を提供する。

【0006】

上記糖新生抑制剤は次のような特徴を有する。

- (1) 空腹時における糖新生を顕著に抑制する。
- (2) 食後90～180分における糖新生を顕著に抑制する。
- (3) インスリン感受性を増強する。
- (4) 肝臓における副作用（肝障害）の発生頻度が顕著に低減されている。
- (5) 経口投与が特に適している。

【0007】

このような特徴を有する上記糖新生抑制剤は、糖新生を抑制することによって血糖値の上昇を抑制する。また、上記糖新生抑制剤では、低血糖、肝障害等の副作用が顕著に低減されている（コロソリン酸は、1000mg/kgを投与しても副作用が生じないことが確認されている）。更に、上記糖新生抑制剤は、血糖値の上昇を抑制することによって、高血圧、肥満、高脂血症（高コレステロール血症、高トリグリセリド血症）、動脈硬化等を予防する。

【0008】

上記コロソリン酸類縁体の好適な例としては、マスリン酸、トルメンティック酸、ウルソール酸、アシアチン酸、オレアノール酸及び2 α , 19 α -ジヒドロキシー-3-オキソ-ウルス-12-エン-28-酸（2 α , 19 α -dihydroxy-3-oxo-urs-12-en-28-oic acid）が挙げられる。これらの化合物は、コロソリン酸と同じ基本骨格を有し、コロソリン酸と同様に顕著な糖新生抑制作用及び血糖値上昇抑制作用を示す。

【0009】

上記糖新生抑制剤の投与対象としては、血糖値が正常値を超えている、すなわち、次の(i)又は(ii)の条件を満たす被験者が好適である。

- (i) 空腹時血糖値が110mg/dL以上
- (ii) OGTT（経口グルコース負荷試験）2時間値が140mg/dL以上

【発明の効果】

【0010】

本発明によれば、ビグアナイド系薬物とナテグリニド系薬物との両方の性質を併せ持ち、かつこれらの薬物よりも副作用が低減された新たな糖尿病治療薬が得られる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

本発明の糖新生抑制剤は、コロソリン酸、コロソリン酸類縁体又はこれらの薬学的に許容される塩を有効成分として含有する。ここで、コロソリン酸類縁体とは、コロソリン酸に類似した構造活性連関を有するトリテルペンを意味する。

【0012】

コロソリン酸は、下記式で表されるトリテルペン（C₃₀H₄₈O₄；分子量472）である。

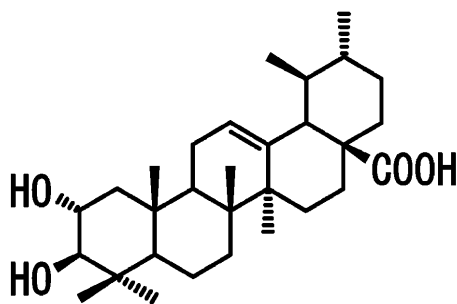
10

20

30

40

【化 1】



10

【0013】

コロソリン酸類縁体としては、マスリン酸、トルメンティック酸、ウルソール酸、アシアチン酸、オレアノール酸又は $2\alpha, 19\alpha$ -ジヒドロキシ-3-オキソ-ウルス-12-エン-28-酸 ($2\alpha, 19\alpha$ -dihydroxy-3-oxo-urs-12-en-28-oic acid) が好ましい。また、2位及び3位のうち少なくとも一方に水酸基を有するトリテルペンが好ましく、更に、29位及び30位のうち少なくとも一方に水酸基を、28位にカルボキシル基を有するトリテルペンがより好ましい。このようなトリテルペンとしては、ウルサン型ペンタサイクリックトリテルペン及びオレアナン型ペンタサイクリックトリテルペンが挙げられる。

【0014】

20

下記化合物1)～40)は、ウルサン型ペンタサイクリックトリテルペンの例である。

- 1) Desfontainic acid
- 2) $2, 19\alpha$ -Dihydroxy-3-oxo-1,12-ursadien-28-oic acid
- 3) $2\alpha, 20\beta$ -Dihydroxy-3-oxo-12-ursen-28-oic acid
- 4) $2\alpha, 3\alpha$ -Dihydroxy-12,20(30)-ursadien-28-oic acid
- 5) $2\alpha, 3\beta$ -Dihydroxy-12,20(30)-ursadien-28-oic acid
- 6) $2\beta, 3\beta$ -Dihydroxy-12-ursen-23-oic acid
- 7) $2\alpha, 3\alpha$ -Dihydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 8) $1\alpha, 2\alpha, 3\beta, 19\alpha, 23$ -Pentahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 9) $2\alpha, 3\beta, 7\alpha, 19\alpha, 23$ -Pentahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 10) $1\beta, 2\alpha, 3\alpha, 19\alpha$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 11) $1\beta, 2\alpha, 3\beta, 19\alpha$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 12) $1\beta, 2\beta, 3\beta, 19\alpha$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 13) $2\alpha, 3\beta, 6\beta, 19\alpha$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 14) $2\alpha, 3\beta, 6\beta, 23$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 15) $2\alpha, 3\beta, 7\alpha, 19\alpha$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 16) $2\alpha, 3\alpha, 7\beta, 19\alpha$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 17) $2\alpha, 3\beta, 13\beta, 23$ -Tetrahydroxy-11-ursen-28-oic acid
- 18) $2\alpha, 3\alpha, 19\alpha, 23$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 19) $2\alpha, 3\beta, 19\alpha, 23$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 20) $2\alpha, 3\alpha, 19\alpha, 24$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 21) $2\alpha, 3\beta, 19\alpha, 24$ -Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 22) $2\alpha, 3\beta, 23$ -Trihydroxy-11-oxo-12-ursen-28-oic acid
- 23) $2\alpha, 3\beta, 24$ -Trihydroxy-12,20(30)-ursadien-28-oic acid
- 24) $2\alpha, 3\beta, 27$ -Trihydroxy-28-ursanoic acid
- 25) $2\alpha, 3\beta, 19\alpha$ -Trihydroxy-12-ursene-23,28-dioic acid
- 26) $2\alpha, 3\beta, 19\alpha$ -Trihydroxy-12-ursene-24,28-dioic acid
- 27) $1\beta, 2\beta, 3\beta$ -Trihydroxy-12-ursen-23-oic acid
- 28) $2\alpha, 3\beta, 6\beta$ -Trihydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 29) $2\alpha, 3\alpha, 19\alpha$ -Trihydroxy-12-ursen-28-oic acid

30

40

50

- 30) 2 α , 3 β , 19 α -Trihydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 31) 2 α , 3 α , 23-Trihydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 32) 2 α , 3 β , 23-Trihydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 33) 2 α , 3 α , 24-Trihydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 34) 2 α , 3 β , 24-Trihydroxy-12-ursen-28-oic acid
- 35) 2 α , 3 β , 27-Ursanetriol
- 36) 12-Ursene-1 β , 2 α , 3 β , 11 α , 20 β -pentol
- 37) 12-Ursene-1 β , 2 α , 3 β , 11 α -tetrol
- 38) 12-Ursene-2 α , 3 β , 11 α , 20 β -tetrol
- 39) 12-Ursene-2 α , 3 β , 11 α -triol 10
- 40) 12-Ursene-2 α , 3 β , 28-triol

【0015】

下記化合物 41) ~ 100) は、オレアナン型ペンタサイクリックトリテルペンの例である。

- 41) 2 α , 3 β -Dihydroxy-12,18-oleanadiene-24,28-dioic acid
- 42) 2 α , 3 β -Dihydroxy-12-oleanene-23,28-dioic acid
- 43) 2 β , 3 β -Dihydroxy-12-oleanene-23,28-dioic acid
- 44) 2 β , 3 β -Dihydroxy-12-oleanene-28,30-dioic acid
- 45) 2 β , 3 β -Dihydroxy-12-oleanen-23-oic acid
- 46) 2 β , 3 β -Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid 20
- 47) 2 α , 3 α -Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid
- 48) 2 α , 3 β -Dihydroxy-12-oleanen-28-oic acid
- 49) 2 α , 3 β -Dihydroxy-13(18)-oleanen-28-oic acid
- 50) 12 β , 13 β -Epoxy-2 α , 3 β , 21 β , 22 β -tetrahydroxy-30-oleananoic acid
- 51) 13,28-Epoxy-2 α , 3 β , 16 α , 22 β -tetrahydroxy-30-oleananoic acid
- 52) 13 β , 28-Epoxy-2 α , 3 β , 16 α , 22 β -tetrahydroxy-30-oleananoic acid
- 53) 12-Oleanene-2 α , 3 α -diol
- 54) 12-Oleanene-2 α , 3 β -diol
- 55) 13(18)-Oleanene-2 α , 3 α -diol
- 56) 13(18)-Oleanene-2 β , 3 β -diol 30
- 57) 18-Oleanene-2 α , 3 β -diol
- 58) 18-Oleanene-2 α , 3 α -diol
- 59) 12-Oleanene-2 α , 3 β , 16 β , 21 β , 22 α , 28-hexol
- 60) 12-Oleanene-1 β , 2 α , 3 β , 11 α -tetrol
- 61) 12-Oleanene-2 β , 3 β , 23,28-tetrol
- 62) 12-Oleanene-2 α , 3 β , 11 α -triol
- 63) 12-Oleanene-2 β , 3 β , 28-triol
- 64) 12-Oleanene-2 α , 3 β , 23-triol
- 65) 13(18)-Oleanene-2 α , 3 β , 11 α -triol
- 66) 2 β , 3 β , 6 β , 16 α , 23-Pentahydroxy-12-oleanen-28-oic acid 40
- 67) 2 β , 3 β , 16 β , 21 β , 23-Pentahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
- 68) 2 β , 3 β , 16 α , 23,24-Pentahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
- 69) 2 β , 3 β , 13 β , 16 α -Tetrahydroxy-23,28-oleananedioic acid
- 70) 2 β , 3 β , 16 β , 21 β -Tetrahydroxy-12-oleanen-24,28-dioic acid
- 71) 2 β , 3 β , 16 α , 23-Tetrahydroxy-12-oleanen-24,28-dioic acid
- 72) 2 β , 3 β , 22 β , 27-Tetrahydroxy-12-oleanen-23,28-dioic acid
- 73) 2 α , 3 β , 6 β , 23-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
- 74) 2 β , 3 β , 6 α , 23-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
- 75) 2 β , 3 β , 6 β , 23-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
- 76) 2 β , 3 β , 16 β , 21 β -Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid 50

- 77) 2 β , 3 β , 16 α , 23-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 78) 2 α , 3 β , 19 α , 23-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 79) 2 α , 3 β , 19 β , 23-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 80) 2 α , 3 β , 19 α , 24-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 81) 2 α , 3 β , 21 β , 23-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 82) 2 α , 3 β , 23, 24-Tetrahydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 83) 2 β , 3 β , 23-Trihydroxy-5, 12-oleanadien-28-oic acid
 84) 2 α , 3 α , 24-Trihydroxy-11, 13(18)-oleanadien-28-oic acid
 85) 2 α , 3 β , 13 β -Trihydroxy-28-oleananoic acid
 86) 2 β , 3 β , 16 α -Trihydroxy-12-oleanene-23, 28-dioic acid 10
 87) 2 α , 3 β , 18 β -Trihydroxy-12-oleanene-23, 28-dioic acid
 88) 2 α , 3 β , 19 α -Trihydroxy-12-oleanene-23, 28-dioic acid
 89) 2 α , 3 β , 19 β -Trihydroxy-12-oleanene-23, 28-dioic acid
 90) 2 α , 3 β , 19 α -Trihydroxy-12-oleanene-24, 28-dioic acid
 91) 2 α , 3 β , 19 β -Trihydroxy-12-oleanene-24, 28-dioic acid
 92) 2 β , 3 β , 23-Trihydroxy-12-oleanene-28, 30-dioic acid
 93) 2 β , 3 β , 27-Trihydroxy-12-oleanene-23, 28-dioic acid
 94) 2 α , 3 β , 18 β -Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 95) 2 α , 3 β , 19 α -Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 96) 2 α , 3 β , 19 α -Trihydroxy-12-oleanen-29-oic acid 20
 97) 2 α , 3 β , 21 β -Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 98) 2 α , 3 α , 23-Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 99) 2 α , 3 α , 24-Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid
 100) 2 α , 3 β , 30-Trihydroxy-12-oleanen-28-oic acid

【0016】

コロソリン酸類縁体としてはまた、コロソリン酸、マスリン酸等のエーテル体（配糖体を含む）やケトン体が挙げられる。例えば、コロソリン酸は、コロソリン酸の水酸基とハロゲン化アルキル（ CH_3Br , $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{Br}$ 等）とを反応させることによってエーテル体とすることができ、また、コロソリン酸の2位及び3位の一方又は両方の水酸基を酸化することによってケトン体とすることができる。

30

【0017】

コロソリン酸又はその類縁体の薬学的に許容される塩としては、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、アンモニウム塩等が挙げられ、具体的には、コロソリン酸又はその類縁体と、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニア、ジメチルアミン、ジエチルアミン、トリメチルアミン、テトラメチルアンモニウム、モノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン等とで形成される塩が好適である。

【0018】

（トリテルペンの抽出・精製）

本発明の糖新生抑制剤の有効成分であるトリテルペンは、バナバ（*Lagerstroemia Speciosa* Linn. 又は *Pers.*）、ビワ、ムクロジ、シソ、グアバ等から抽出することによって得ることができるが、バナバ葉から抽出するのが好ましい。

40

【0019】

バナバ葉からトリテルペンを得る場合は、バナバ葉を水、アルコール等で抽出してバナバエキスを得ればよい。バナバエキスは、必要により更に濃縮してもよい。

【0020】

抽出の際、バナバ葉は刻んでも刻まなくてもよいが、刻んだ方が、抽出効率が向上する。刻み方は、その後の抽出工程の設備に応じて勘案する。1mm角以上が好ましく、目詰まりを起こさない程度の細かさが最適である。短冊上の刻みも同様である。

【0021】

バナバ葉を水に浸漬させる場合は、バナバ葉1kg当たり2L以上の水に浸すのがよい

50

。常温又は10～60℃の水に24時間以上浸漬させる。これを1回ごとに水を入れ替えて3回以上繰り返す。その後、熱湯、煮沸、蒸気にて熱水抽出する。これも1回ごとに水を入れ替えて3～5回繰り返す。更に加圧し熱水抽出工程を経て、水50％／アルコール50％の溶媒にて抽出する。その際の温度は0～100℃が好ましい。

【0022】

加圧条件は次のように設定する。1～3 atmの加圧下で行い、内部温度を100℃以上に上げる。抽出時間は3～10分程度が最適である。内部圧力が1.5 atmを超える場合は、抽出時間を1～5分に短縮する。その場合、最初は1.1～1.3 atmで2分間抽出し、その後1.3～1.6 atmで2回繰り返すのが理想的である。トリテルペンが湧出するのを防ぐため、長時間の抽出は避ける。タンニン類、葉緑素類でも加圧条件、溶媒、時間、温度により湧出する種類が異なるため、このような条件が必要となる。最後に水とアルコールの混合溶媒を用いるのも同じ理由からである。

10

【0023】

このような抽出工程を経たバナバ葉は水分を切りながら濾し、天日若しくは乾燥機にて乾燥させる。この場合、遠心分離で水分を取り除いた後、乾燥させるのが好ましい。30～60℃の温風又は冷風で乾燥させるのが好ましく、できるだけ湿度の低い空気風で乾燥させるのが更に好ましい。乾燥させたバナバ葉はヘキサン、又はヘキサン及び水の混合溶媒で抽出する。その際、前処理として樹脂や活性炭を用いてタンニン類や葉緑素類を取り除いておくのが好ましい。最後は、エタノール又はエタノール水溶液（エタノール含量90％以上）で抽出する。

20

【0024】

一連の作業工程において、熱水抽出は蒸気で、加圧は圧力釜で、水切りは遠心分離機で行うのが好ましい。また、加圧時において、内部圧力が1.5 atmを超える場合は、加圧時間を10分以内に留めるのが好ましい。また、熱風乾燥時において、熱風の温度が100℃を超える場合は、乾燥時間を10分以内に留める。

【0025】

抽出後の濃縮は、濃縮物が高い温度で長時間保持されると活性成分が劣化するので、比較的短時間で、かつ減圧下で行うのが好ましい。上記の方法で得られた抽出液を濾過して60℃以下の温度で減圧下濃縮し、得られた固形状物を50～70℃の温度で、減圧下（濃縮時よりも高い減圧下）で乾燥する。こうして得られた固形物を粉碎すると、粉末状濃縮物を得られる。

30

【0026】

得られたバナバエキス（白色エキス）又はその濃縮物に含まれる組成物として、コロソリン酸、マスリン酸、トルメンティック酸、ウルソール酸、オレアノール酸、 α -アミリン、 β -アミリン、アシアチン酸、18 β -グリチルレチン酸、タンニン類、葉緑素、ヘミセルロース等が上げられる。コロソリン酸は3～50％以上含まれる。バナバエキス又はその濃縮物の形状は液体状、ペースト状又は固体状である。バナバエキス又はその濃縮物の保管は、室温下又は冷蔵庫中で遮光・乾燥状態下で行うのが好ましい。

【0027】

トリテルペンの抽出・濃縮は次のように行ってもよい。まず、バナバ乾燥葉をn-ヘキサンで1時間熱環流抽出を行う。次に、バナバ乾燥葉を精製水で1時間熱環流抽出を行う。その後、煮出したバナバ葉をエタノールで1時間熱還流抽出を行う。抽出物を濾過し、減圧濃縮を行って濃縮乾固させる。

40

【0028】

得られたバナバエキス又はその濃縮物はそのまま糖新生抑制剤として用いることもできるが、できるだけタンニン類、葉緑素、繊維素等を取り除いて、活性成分（トリテルペン）を単離精製するのが好ましい。単離精製は公知の方法に従えばよい。例えば、コロソリン酸の単離精製は次のように行うことができる。

【0029】

バナバエキスを水に懸濁した後、エーテル、ヘキサン等に分配してまず低極性成分を除

50

く。水層をダイアイオンH P - 2 0 カラムクロマトグラフィー等を用いて、水、メタノール及びアセトンで順次溶出する。更に、コロソリン酸が含まれているメタノール溶出画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィー及び高速液体クロマトグラフィー（H P L C）で分離精製を行い、コロソリン酸を単離する。なお、抽出エキスを直接シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、H P L Cで精製してもよい。

【0030】

コロソリン酸の単離精製は次のように行ってもよい。抽出物（バナバエキス又はバナバエキス濃縮物）を水で懸濁しヘキサン又はエーテルを用いて溶媒分画を行う。吸引濾過を行い、可溶水画分、可溶有機溶媒画分及び不溶画分のうち不溶画分を用いる。不溶画分をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ、溶媒はジクロロメタン及びメタノールの混合溶媒を用いる。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより得られたコロソリン酸含有フラクションをイオン交換樹脂に通す。H P L Cを用いてコロソリン酸を分取する。H P L C条件は、カラム：逆層O D S；溶離液：8 5 % M e O H（メタノール）／0 . 0 5 % T F A（トリフルオロ酢酸）；流速：6 m L / m i n；波長：2 1 0 n mである。

10

【0031】

バナバエキス又はバナバエキス濃縮物から単離精製したトリテルペンはそのまま用いても良いが、アシル化（例えばアセチル化）して用いてもよく、その後脱アシル化（例えば脱アセチル化）して用いてもよい。例えば、コロソリン酸の場合、アシル化（例えばアセチル化）した後脱アシル化して用いるのが好ましい。アシル化（例えばアセチル化）した後脱アシル化すると、非常に純度の高い（ほぼ1 0 0 %）コロソリン酸を得ることができる。

20

【0032】

コロソリン酸をアセチル化するには、例えば、まず、バナバエキスから単離精製したコロソリン酸を無水ピリジンに溶解し、無水酢酸を加えて、室温にて1 2 時間程度放置した後、反応溶液に氷水を加え、クロロホルムにて複数回（3 回程度）抽出する。そして、クロロホルム層を硫酸ナトリウムにて脱水し、ろ過して硫酸ナトリウムを除いた後、クロロホルムを減圧下留去して、ヘキサンにて再結晶することによりアセチルコロソリン酸を得ることができる。また、コロソリン酸を脱アシル化する方法としては、例えば、水酸化カリウム、水酸化ナトリウム等のアルカリで加水分解する方法が挙げられる。

【0033】

（トリテルペンの体内動態の解析）

薬物動態、すなわち生体内における薬物の吸収・分布・代謝・排泄の様子を知るには、その薬物の血液中濃度や尿中濃度を経時的に測定する必要がある。

30

【0034】

トリテルペンの血液中濃度や尿中濃度は、L C / M S / M S（liquid chromatography / mass spectrometry / mass spectrometry）で測定することができる。L CにはH P L C装置を、M Sには四重極型質量分析計を用いる。また、L C / M S / M Sにおけるイオン化法としては、E S I（electrospray ionization）法が好ましい。

【0035】

例えば、L C / M S / M Sによる血液中のコロソリン酸の微量定量は次のように行う。まず、コロソリン酸の標準溶液をL C / M S / M Sで分析してマススペクトルを得、コロソリン酸がL C / M S / M Sで分析できるかどうかを判定する。次に、コロソリン酸の標準溶液のクロマトグラムから検量線を作成し、コロソリン酸の濃度が測定可能かどうかを判定する。次に、コロソリン酸を添加した血液に対して前処理（除タンパク、脱塩、抽出等）を行い、抽出物中のコロソリン酸のみがある時間に単独で溶出するようなH P L Cの条件を決定する。そして、前処理を行った血液を上記のH P L C条件の下で分析し、得られたクロマトグラムから検量線を作成して、血液中のコロソリン酸濃度が測定可能かどうかを判定する。最後に、測定対象とする試料（血液）に対して上述と同様の前処理を行い、上記のH P L C条件の下で、試料中のコロソリン酸濃度をL C / M S / M Sで測定する。

40

50

【0036】

(糖新生抑制剤の使用方法)

トリテルペンを有効成分として含有する本発明の糖新生抑制剤は、薬剤、飲食用添加剤、喫煙材料（例えばタバコ）等として用いることができる。また、固体状、液体状、ペースト状、噴霧状及び気体状のいずれの形状で用いてもよい。単離精製したトリテルペンの粉末は、ナノ粉碎機で粉碎することにより更に微細な粉末にすることができる。例えば、コロソリン酸の場合、HPLCによる単離精製で得られる粉末の粒径は約 $10\mu\text{m}$ であるが、ナノ粉碎機で粉碎することにより粒径 $10\text{nm}\sim 100\text{nm}$ の微細粉末が得られる。ナノ粒子化によって、より少量で高い効果を得ることが可能になる。

【0037】

トリテルペンの溶液を調製する場合は、トリテルペンの脂溶性又は水溶性に応じて適宜溶媒を選択する。例えば、コロソリン酸の場合は、溶媒として、油脂（ドコサヘキサエン酸）及びアルコールが好適である。トリテルペンの水溶性が低い場合は、配糖体化して水溶性を高めてもよい。

【0038】

本発明の糖新生抑制剤を薬剤として用いる場合は、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、注射剤等として用いることができる。顆粒剤や錠剤は、例えば、粉末状のコロソリン酸又はバナバエクス濃縮物を乳糖、デンプン等の賦形剤と混和することにより製造することができる。

【0039】

また、本発明の糖新生抑制剤は、難消化性デキストリンやスクラーゼ阻害剤（ L-アラビノース 、 1-デオキシノジリマイシン 等）とともに用いてもよい。難消化性デキストリンやスクラーゼ阻害剤は糖の吸収・消化を阻害するので、難消化性デキストリン又はスクラーゼ阻害剤と、糖新生抑制剤と、スクロースとを組み合わせることにより、血糖値抑制作用を併せ持つ甘味料を得ることができる。本発明の糖新生抑制剤は、単独で、又は上記のような甘味料の形で、飲食用添加剤として、水、清涼飲料水、果汁飲料、乳飲料、アルコール飲料等の飲料や、パン類、麺類、米類、豆腐、乳製品、醤油、味噌、菓子類等の食品に添加して用いることができる。

【0040】

本発明の糖新生抑制剤を投与する方法としては、経口投与及び静脈投与が好ましく、経口投与が特に好ましい。

【0041】

本発明の糖新生抑制剤を投与する対象としては、ヒトの場合、血糖値が正常値（空腹時血糖値： 110mg/dL 未満；OGTT 2時間値： 140mg/dL 未満）を超えている者が好適である。ヒト以外の動物に投与する場合は、糖新生抑制剤を飼料に混合し、飼料とともに摂取させればよい。

【実施例】

【0042】

以下、実施例を挙げて本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によって何ら限定されるものではない。

【0043】

(実施例1：コロソリン酸の糖新生抑制作用の確認)

以下の実験により、肝臓のグルコース新生に対するコロソリン酸の影響を確認した。

【0044】

24時間絶食後の Wistar rat（雄性、体重約 200g ）を用いて、ペントバルビタール麻酔下で肝臓灌流実験を行った。門脈より酸素化した 37°C の灌流液を毎分 10mL/min の速度で灌流し、下大静脈より回収した。まず20分間の前灌流を行い、次に 2mM 乳酸を灌流液に加えた。更に30分後、コロソリン酸の DMSO （dimethyl sulfoxide）溶液（ $200\mu\text{M}$ ）を10分間灌流液中に加えた。他方、コントロールとして、コロソリン酸が溶解していない DMSO を灌流させた。

10

20

30

40

50

【0045】

図1は、ラットの肝臓におけるグルコース産生量の経時変化を示すグラフである。図1に示されるように、前灌流の時点では肝臓におけるグルコース産生量はゼロであったが、2 mM乳酸を灌流液に加えると、糖新生が速やかに惹起され、30分後には $8.3 \mu\text{mol/g/h}$ に達した。その後、200 μM のコロソリン酸を加えると、糖新生が約30%抑制された。他方、コロソリン酸を加えない場合は、糖新生量は不変であった。これらの結果より、コロソリン酸が肝臓におけるグルコース新生を抑制することが判明した。なお、図1において、「CRA」はコロソリン酸を表す。また、「時間」は、灌流開始後の経過時間を表す。

【0046】

10

(実施例2：血中コロソリン酸濃度の測定)

以下のように、ESI法と四重極型質量分析計を用いたLC/MS/MSによって、血中コロソリン酸濃度を測定した。

【0047】

まず、コロソリン酸の標準溶液をLC/MS/MSで分析した。

【0048】

図2は、コロソリン酸の標準溶液を分析して得られたマススペクトルである。図2に示されるように m/z 値472の位置にイオンピークが現れたことから、コロソリン酸(分子量472)はLC/MS/MSで分析できることが判明した。

【0049】

20

図3は、コロソリン酸の標準溶液のクロマトグラムから作成した検量線である。図3より、コロソリン酸濃度が、少なくとも $1 \text{ ng/mL} \sim 100 \text{ ng/mL}$ の範囲で測定可能であることが判明した。

【0050】

次に、コロソリン酸を添加した血液をLC/MS/MSで分析した。

【0051】

前処理として、まず、コロソリン酸を添加した血液500 μL を遠心分離機で遠心し(3000 rpm、20分)、得られた血清100 μL にアセトニトリルを400 μL 加えてボルテックスで攪拌した後、更に遠心し(15000 rpm、10分)、除タンパクを行った。更に、アセトニトリル層を窒素ガスで濃縮し、酢酸エチル300 μL を加えて液液抽出した後、酢酸エチル層を濃縮乾固し、溶出溶媒(95%メタノール水溶液)100 μL に溶かしてLC/MS/MS用サンプルとした。なお、HPLCの条件は、抽出物中のコロソリン酸のみがある時間に単独で溶出するように設定した。

【0052】

図4は、コロソリン酸を添加した血液のクロマトグラムから作成した検量線である。図4より、血液中のコロソリン酸濃度が、少なくとも $10 \text{ ng/mL} \sim 100 \text{ ng/mL}$ の範囲で測定可能であることが判明した。

【0053】

最後に、コロソリン酸を経口投与したイヌの血液をLC/MS/MSで分析した。前日より絶食させたイヌにコロソリン酸(20 mg/kg)とグルコース(2 g/kg)を経口投与し、投与直前、投与後30分、60分、90分、120分、180分及び240分に血液を採取した。それらの血液を前述と同様に前処理してLC/MS/MS用サンプルとし、LC/MS/MSで分析した。HPLCの条件は前述と同様である。

【0054】

図5は、コロソリン酸標準溶液、及びコロソリン酸を経口投与したイヌの血液のクロマトグラムである。図5において、(a)はコロソリン酸の標準溶液のクロマトグラムであり、(b)～(h)は順に投与直前、投与後30分、60分、90分、120分、180分及び240分の血液のクロマトグラムである。図5に示されるように、コロソリン酸投与後90分よりコロソリン酸が血中に検出され、投与後180分に血中コロソリン酸濃度が最大値($0.4 \mu\text{g/mL}$)を示した。なお、図5において、「CRA」はコロソリン酸を表す

50

。

【0055】

以上の結果より、コロソリン酸を始めとするテルペン類の血中濃度がLC/MS/MSで測定できることが判明した。また、コロソリン酸が、分解又は修飾されることなくそのまま体内に取り込まれること、及びコロソリン酸が経口投与可能であることが示された。

【0056】

(実施例3：非臨床試験)

コロソリン酸を始めとするテルペン類の生体反応及び薬効を解析するために以下の動物実験を行った。

【0057】

実験には、2型糖尿病モデル動物であるGKラット、及びインスリン抵抗性モデル動物であるZucker fatty rat (fa/fa) を用いた。また、コントロールとして、Wistar rat及びZucker fatty rat (+/+) (7週齢) を用いた。餌は、0.0125%コロソリン酸入りの餌、又はコロソリン酸なしの餌を約2週間自由摂取させた。測定は、摂食量、摂水量、体重及び血糖値について行った。OGTTにおけるグルコース負荷量は2g/kgとした。血糖値の測定は、動物の血液を採取することにより行った。

【0058】

GKラットは、アジア人に特異的なインスリン分泌不全のモデル動物であり、インスリン分泌が十分に行われないことにより糖尿病を発症している。

【0059】

Zucker fatty rat は、インスリン抵抗性のモデル動物であり、インスリンを過剰に分泌する。病因遺伝子 (fa 遺伝子) をホモに持つ個体は Zucker fatty rat (fa/fa) と表記する。この個体のみが糖尿病を発症し、又は肥満を呈する。野生型は Zucker fatty rat (+/+) と表記する。この個体は、糖尿病を発症せず、また、肥満を示さない。

【0060】

糖尿病発症の初期症状として、水分の異常摂取が上げられる。そこで、一日当たりの摂食量と摂水量を測定した。結果を表1及び表2に示す。表1及び表2において、「CRA」はコロソリン酸を表す。

【0061】

【表1】

パラメータ	Wister rat		GK rat	
	CRA 非投与群	CRA 投与群	CRA 非投与群	CRA 投与群
摂食量 (g/rat/day)	20.4	19.7	16.8	16.7
摂水量 (mL/rat/day)	40.2	40.1	26.7	23.3

【0062】

10

20

30

40

【表 2】

パラメータ	Zucker fatty rat (fa/fa)		Zucker fatty rat (+/+)	
	CRA 非投与群	CRA 投与群	CRA 非投与群	CRA 投与群
摂食量 (g/rat/day)	22.3	23.1	15.6	14.8
摂水量 (mL/rat/day)	26.2	31.8	26.1	24.0

10

【0063】

表1及び表2に示されるように、Wistar rat、GKラット及び Zucker fatty rat (+/+) では、コロソリン酸投与群・非投与群間で摂食量及び摂水量に有意差が見られなかった。一方、Zucker fatty rat (fa/fa) では、コロソリン酸投与群の方が、非投与群と比較して摂水量が有意に多かった。これは、コロソリン酸及びこれと構造活性連関を有するテルペン類が利尿作用・腎機能改善作用・抗高血圧作用を有することを示唆している。

【0064】

図6は、GKラットの随時血糖値の経時変化を示すグラフである。図6に示されるように、コロソリン酸投与群の随時血糖値は、非投与群と比較して、コロソリン酸投与開始後8日以降有意に抑制された。なお、図6において、「CRA」はコロソリン酸を表す。また、「日数」は、コロソリン酸投与群に対するコロソリン酸投与開始後の経過日数を表す。

20

【0065】

図7は、OGTTにおけるGKラットの血糖値の経時変化を示すグラフである。図7に示されるように、GKラットに対するOGTTでは、コロソリン酸投与群の血糖値の上昇は、非投与群と比較して、グルコース負荷後90分に有意に抑制された。なお、図7において、「CRA」はコロソリン酸を表す。また、「時間」は、グルコース負荷後の経過時間を表す。

30

【0066】

図8は、Zucker fatty rat (fa/fa) の体重の経時変化を示すグラフである。図8に示されるように、Zucker fatty rat (fa/fa) では、コロソリン酸投与群の体重は、非投与群と比較して、コロソリン酸投与開始後6日以降有意に抑制された。このことは、インスリン抵抗性に起因する、肥満を伴う西洋人型の糖尿病に対しても、コロソリン酸が有効であることを示している。なお、図8において、「CRA」はコロソリン酸を表す。また、「日数」は、コロソリン酸投与群に対するコロソリン酸投与開始後の経過日数を表す。

【0067】

なお、図6、図7及び図8において、「*」で示したプロットは、コロソリン酸非投与群に対して有意差が認められたデータである。また、「CRA」はコロソリン酸を表す。

40

【0068】

Zucker fatty rat (fa/fa) の随時血糖値にはコロソリン酸の影響が見られなかったが、Zucker fatty rat (fa/fa) に対するOGTTでは、コロソリン酸投与群の血糖値の上昇は、非投与群と比較して、グルコース負荷後30分に有意に抑制された。

【0069】

(実施例4：非臨床試験)

2型糖尿病モデル動物であるKK-A^yマウス(8週齢、血糖値300mg/100mL)に種々のトリテルペンを投与し、血糖値を経時的に測定した。実験期間中、餌と水は自由摂取させた。

【0070】

50

コロソリン酸、アシアチン酸、 $2\alpha, 19\alpha$ -ジヒドロキシ-3-オキソウルス-12-エン-28-酸 ($2\alpha, 19\alpha$ -dihydroxy-3-oxo-urs-12-en-28-oic acid) 及びトルメンティック酸については有意な血糖降下が見られた。マスリン酸については、有意な血糖降下は見られなかったものの、血糖値は明らかな減少傾向を示した。これらの結果は、コロソリン酸及びその類縁体が血糖値上昇抑制作用を有することを示している。

【0071】

(実施例5：臨床試験)

3名の境界型糖尿病患者(A、B及びC)を午後8時から絶食させ(糖負荷なし)、翌日の午前9時に、偽薬(プラセボ)又は実薬(コロソリン酸)を1回投与し、その後の血糖値と血中インスリン値の変化を測定した。投与直前(投与後0分)、投与後30分、60分、90分、120分、180分及び240分に血液を採取した。被験者には、偽薬か実薬かの情報は与えなかった(クロスオーバー、ダブルブラインド)。また、コロソリン酸は1回(単回)で10mg投与され、試験は偽薬及び実薬の各々につき2回行われた。なお、試験は医事法倫理規定に従い、インフォームドコンセントに基づいて行われた。

【0072】

試験の結果を表3に示す。表3において、「PCB」はプラセボ偽薬を、「CRA」はコロソリン酸を表し、「G」は血糖値を、「I」は血中インスリン値を表す。時間(分)は、投与後の経過時間を示す。

【0073】

【表3】

被験者	身長 (cm)	体重 (kg)	年齢		0 分	30 分	60 分	90 分	120 分	180 分	P-C
A(男性)	168	76	55	G	111	111	110	112	108	106	PCB
				I	10.5	7.9	7.8	11.2	9.7	8.2	PCB
				G	110	104	107	104	104	102	CRA
				I	9.0	6.9	6.6	5.9	6.6	5.1	CRA
B(男性)	167	60	54	G	15.0	14.7	14.9	15.7	16.5	17.1	PCB
				I	3.3	4.5	2.4	2.6	2.4	2.1	PCB
				G	144	143	147	149	150	146	CRA
				I	2.5	2.6	3.0	2.0	3.4	2.4	CRA
C(男性)	166	65	45	G	100	105	101	101	100	94	PCB
				I	8.7	5.8	9.0	6.3	6.6	5.3	PCB
				G	90	90	88	86	86	81	CRA
				I	4.5	4.1	3.9	4.9	4.0	4.0	CRA

【0074】

図9は、被験者の血糖値の経時変化を示すグラフである。図10は、被験者の血中インスリン値の経時変化を示すグラフである。図9及び図10において、「PCB」及び「CRA」は、それぞれプラセボ偽薬及びコロソリン酸を、カッコ内の「A」、「B」又は「C」は被験者名を表す。また、「時間」は、プラセボ偽薬又はコロソリン酸投与後の経過時間を表す。

【0075】

表3、図9及び図10に示されるように、糖負荷がない状態では、いずれの時点においても、コロソリン酸を投与した場合とプラセボを投与した場合とで血糖値及び血中インスリン値の有意差は見られなかった。

【0076】

なお、上記試験と同じ被験者3名に対するOGTTにおいては、コロソリン酸を投与した場合に、グルコース負荷後30分に血中インスリン値の上昇、及び血糖値上昇の抑制が見られた。

【0077】

以上の結果より、コロソリン酸が糖に依存してインスリン分泌を促進することが示された。

【0078】

(実施例6：臨床試験)

被験者11名に対して75g OGTTを行い、血中インスリン値を経時的に測定した。その後、同じ被験者11名に、コロソリン酸を含有するバナバ抽出エキスを1年間継続摂取させて、再度75g OGTTを行い、血中インスリン値を経時的に測定した。図11は、被験者の血中インスリン値(平均値)の経時変化を示すグラフである。なお、図11において、「時間」は、グルコース負荷後の経過時間を表す。

10

【0079】

また、空腹時血糖値が110mg/dL以上の被験者7名に対して75g OGTTを行い、血中インスリン値を経時的に測定した。その後、同じ被験者7名に、コロソリン酸を含有するバナバ抽出エキスを1年間継続摂取させて、再度75g OGTTを行い、血中インスリン値を経時的に測定した。図12は、被験者の血中インスリン値(平均値)の経時変化を示すグラフである。なお、図12において、「時間」は、グルコース負荷後の経過時間を表す。

20

【0080】

図11及び図12に示されるように、バナバ抽出エキスを1年間継続摂取させた後は、摂取前と比較して、グルコース負荷後30分に血中インスリン値が有意に上昇した。この結果より、コロソリン酸が糖に依存してインスリン分泌を促進することが示された。

【0081】

(実施例7：分析HPLCによるコロソリン酸溶液の分析)

コロソリン酸を始めとするテルペン類には、水に溶けない性質を持ったものが多い。例えば、コロソリン酸は無色透明の針状結晶であり、エタノール、アセトニトリル等の有機溶媒には可溶であるが、水にはほとんど溶解しない。水に溶解しにくいという性質は、テルペン類の生体反応や薬物動態を分析する際、大きな障害となる。

30

【0082】

そこで、従来用いられてきた分析HPLCによって、各種溶媒に対するコロソリン酸の溶解度を検討した(温度：25℃)。

【0083】

溶媒としては、バッファー(イオン強度：0.1)、有機溶媒、及び界面活性剤/有機溶媒混合液を用いた。用いたバッファーのpH及び溶質は次のとおりである。pH1：塩酸、pH2：HCl、pH3：クエン酸、pH4：クエン酸、pH5：クエン酸、pH6：クエン酸、pH7：リン酸、pH8：TRIS、pH9：ホウ酸、pH10：グリシン。用いた有機溶媒は、PG(propylene glycol)、PEG400(polyethylene glycol 400)、エタノール及び大豆油である。用いた界面活性剤は、Tween80及びBL9-EXである。なお、pH1~10のバッファーに対する溶解度が判明すると、コロソリン酸の pK_a を求めることができる。

40

【0084】

まず、溶離液(移動相)として75%、80%及び85%MeOH/0.05%TFAを用いて、コロソリン酸のメタノール溶液(1mg/mL)の保持時間及び検出波長を確認した。カラムとしてはShodex Asahipak ODP-506D(50×10.0mm I.D.)を用い、流速は1.0mL/minに設定し、検出はUVで行った。保持時間は約30分、約20分及び約12分であり、85%MeOH/0.05%TFAを用いた場合が最短だった。吸収は波長210nm付近で高ピークを示した。そこで、コロソリン酸の溶解度

50

の検討は、溶離液：85%MeOH/0.05%TFA；波長：210nmの条件の下で行うことにした。

【0085】

また、コロソリン酸を水に懸濁させて遠心分離を行い、遠心分離後の上澄みについて、コロソリン酸が分析HPLC（85%MeOH/0.05%TFA）で検出されるかどうか検討したところ、コロソリン酸は検出できなかった。

【0086】

また、検量線を作成するために、各種濃度のコロソリン酸の溶液を調製し、各溶液を分析HPLCで分析した。溶液中のコロソリン酸濃度は次のとおりである。0.1mg/mL、0.033mg/mL、0.01mg/mL、0.0033mg/mL、0.001mg/mL、0.00033mg/mL、0.0001mg/mL。濃度の高い方から4種の溶液については、コロソリン酸を検出することができた。

【0087】

pH5～8のバッファーに対するコロソリン酸の溶解度を検討した。pH5～8のバッファーを調製し、各バッファー10mLにコロソリン酸0.5mgを懸濁させて、約半日間振盪させた。その後、懸濁液を遠心分離機で遠心（5000rpm、5分、25℃）し、上澄みを分取して酢酸エチル10mLで抽出し、有機相を分取して濃縮させた。濃縮物を溶離液（85%MeOH/0.05%TFA）800μLに溶解させ、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。また、遠心前の懸濁液についても、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。コロソリン酸は遠心前の懸濁液からは検出されなかった。pH6、7及び8の懸濁液の濃縮物からは検出されたが、コロソリン酸ピーク面積にバラツキがあり、明らかに濃度が高すぎるサンプルがあった。これは、上澄みを分取する際に現物（コロソリン酸）が混ざってしまったことが原因と考えられる。比較的安定なpH8の懸濁液以外は、信頼できるデータとはならないことが判明した。

【0088】

有機溶媒（PG、PEG）をラットの大腿静脈から投与して反応状況を確認した（投与量：PG250μL；PEG500μL、投与時間：約2分）。投与後30分経過しても、呼吸停止状態になることはなかった。このことは、コロソリン酸が注射剤又は点滴剤の有効成分となりうることを示している。

【0089】

pH4～8のバッファーに対するコロソリン酸の溶解度を検討した。pH4～8のバッファーを調製し、各バッファー10mLにコロソリン酸0.5mgを懸濁させて、約半日間振盪させた。その後、懸濁液を遠心分離機で遠心（5000rpm、5分、25℃）し、上澄みを分取して酢酸エチル10mLで抽出し、有機相を分取して濃縮させた。濃縮物を溶離液（85%MeOH/0.05%TFA）800μLに溶解させ、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。また、遠心前の懸濁液についても、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。コロソリン酸は遠心前の懸濁液からは検出されなかった。pH4、7及び8の懸濁液の濃縮物からは検出されたが、pH6より酸性側については、加えるバッファー又は酢酸エチルの量を増やしたり、酢酸エチルの代わりにハロゲン系溶媒（ジクロロメタン等）を用いたりして、HPLC検出感度を上げる必要があることが判明した。

【0090】

コロソリン酸のPG溶液（4mg/mL）及びPEG溶液（5mg/mL）を調製し、これらの溶液（PG溶液200μL、PEG溶液400μL）をラット4匹の大腿静脈から投与し、頸動脈にカニューレーションを行って採血し、血液中のコロソリン酸が分析HPLCで検出されるかどうかを検討した。投与直前、投与後1分、5分、10分、30分及び60分に採血して得たサンプルを遠心（10000rpm、5分、4℃）して血漿150μLを分取し、アセトニトリルを4倍量加えて懸濁させた。懸濁液を遠心（10000rpm、5分、4℃）して除タンパクを行った後、上清を分析HPLCで分析した。PG溶液及びPEG溶液のいずれについても、検量線（メタノール溶液）で解析できる程度の

コロソリン酸ピークが得られた。また、60分間の血中濃度推移はほぼ同様であった。PEG溶液投与群の血中濃度は理論的にはPG溶液投与群の2倍になるはずであるが、そのようにはならなかった。原因としては、投与した溶液が飽和状態になっていなかったことや、ラットの個体差が考えられる。

【0091】

pH 6 及び 5 のバッファーに対するコロソリン酸の溶解度を検討した。pH 6 及び 5 のバッファーを調製し、各バッファー 20 mL にコロソリン酸 1.0 mg を懸濁させて、約半日間振盪させた。その後、懸濁液を遠心分離機で遠心 (5000 rpm、5 分、25℃) し、上澄みを分取して酢酸エチル 20 mL で抽出し、有機相を分取して濃縮させた。濃縮物を溶離液 (85% MeOH / 0.05% TFA) 800 µL に溶解させ、分析 HPLC でコロソリン酸濃度を検討した。また、遠心前の懸濁液についても、分析 HPLC でコロソリン酸濃度を検討した。コロソリン酸は遠心前の懸濁液からは検出されなかったが、pH 6 及び 5 の懸濁液の濃縮物からは、検量線で解析できる程度のコロソリン酸ピークが得られた。そこで、pH 4 及び 3 のバッファーについても、コロソリン酸をバッファー 30 ~ 50 mL 程度に懸濁させ、分析 HPLC を行った (後述)。

10

【0092】

コロソリン酸の DMSO 溶液 (8 mg/mL) を調製し、この溶液 (100 µL 及び 200 µL) をラット 4 匹の大腿静脈から投与し、頸動脈にカニュレーションを行って採血し、血液中のコロソリン酸が分析 HPLC で検出されるかどうかを検討した。投与直前、投与後 1 分、5 分、10 分、30 分及び 60 分に採血して得たサンプルを遠心 (1500 rpm、5 分、4℃) して血漿 150 µL を分取し、アセトニトリルを 4 倍量加えて懸濁させた。懸濁液を遠心 (15000 rpm、5 分、4℃) して除タンパクを行った後、上清を分析 HPLC で分析した。1 分後のサンプルについては、いずれも検量線 (メタノール溶液) で解析できる程度のコロソリン酸ピークが得られた。200 µL 投与した検体は、投与後 50 分に呼吸停止した。これは、カニュレーションに問題があったか、又は沈殿により血管が詰まったためと推察される。投与後 1 分及び 5 分の血中濃度で比較すると、200 µL 投与群の血中濃度は、理論どおり 100 µL 投与群の約 2 倍になっていた。60 分間の血中濃度推移は、PG 溶液及び PEG 溶液を投与した場合と比較して多少ずれがあった。原因としては、ラットの個体差、溶媒の種類、及び PG 溶液又は PEG 溶液が飽和状態になっていなかったことが考えられる。

20

30

【0093】

ラット血液中のコロソリン酸の溶解度を検討した。ラット (1 匹) の頸動脈にカニュレーションを行って採血し、遠心 (15000 rpm、5 分、4℃) して上清を分取し、この血漿 1 mL にコロソリン酸 1 mg を懸濁させて、約半日間振盪させた。遠心分離機で遠心 (15000 rpm、5 分、4℃) して上清を分取し、アセトニトリルを 4 倍量加えて懸濁させ、更に遠心 (15000 rpm、5 分、4℃) して除タンパクを行い、分析 HPLC でコロソリン酸濃度を検討した。検量線で解析できる程度のコロソリン酸ピークが得られ、ピークは比較的安定していた。コロソリン酸濃度は 0.035 mg/mL であり、コロソリン酸は、pH 7 のバッファーと比較して、血液 (pH 7.4) 中では数倍溶解していることが判明した。このことは、コロソリン酸が血液中でタンパク結合をしていることを示している。コロソリン酸は、ヒト (60 kg、成人) の血液 (2400 mL) 中にも十分な量溶解すると考えられる。

40

【0094】

エタノールに対するコロソリン酸の溶解度は高い (約 1 mg/mL) が、エタノールは毒性を無視できない。そこで、比較的毒性の低い PG / PEG 混合溶媒について、ソリュビリティパラメーター (水に対する親和性) がエタノールと一致するような PG / PEG の比率 (体積比) を求めた。PG : PEG = 1 : X とすると、エタノール (EtOH)、PG 及び PEG のソリュビリティパラメーター (EtOH : 12.55、PG : 14.00、PEG : 11.61) より、 $14.00X + 11.61(1 - X) = 12.55$ ($X = 0.39$) であるから、PG 40% / PEG 60% と求まった。

50

【0095】

pH 4のバッファーに対するコロソリン酸の溶解度を検討した。pH 4のバッファーを調製し、バッファー30 mLにコロソリン酸1.0 mgを懸濁させて、約半日間振盪させた。その後、懸濁液を遠心分離機で遠心(5000 rpm、5分、25℃)し、上澄みを分取して酢酸エチル30 mLで抽出し、有機相を分取して濃縮させた。濃縮物を溶離液(85% MeOH/0.05% TFA) 800 µLに溶解させ、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。また、遠心前の懸濁液についても、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。

【0096】

コロソリン酸1 mgをPG 40%/PEG 60%混合溶媒100 µL及びPG 30%/PEG 70%混合溶媒100 µLに加えて振盪させた後、約半日放置し、遠心分離機で遠心(15000 rpm、5分、25℃)して上澄みを分取し、溶離液(85% MeOH/0.05% TFA)で1000倍希釈し、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。これらの混合溶媒に対するコロソリン酸の溶解度は、PG又はPEG単独の場合と比較して、改善は認められなかった。

【0097】

pH 4及び3のバッファーに対するコロソリン酸の溶解度を検討した。pH 4及び3のバッファーを調製し、バッファー30 mLにコロソリン酸1.0 mgを懸濁させて、約半日間振盪させた。その後、懸濁液を遠心分離機で遠心(5000 rpm、5分、25℃)し、上澄みを分取して酢酸エチル30 mLで抽出し、有機相を分取して濃縮させた。濃縮物を溶離液(85% MeOH/0.05% TFA) 800 µLに溶解させ、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。pH 4の懸濁液の濃縮物からはコロソリン酸が検出されたが、pH 3の懸濁液の濃縮物からは検出されなかった。HPLC検出感度を上げるため、バッファー又は酢酸エチルの量を増やす必要があることが判明した。

【0098】

コロソリン酸1 mgをPG 50%/PEG 50%混合溶媒100 µLに加えて振盪させた後、約半日放置し、遠心分離機で遠心(15000 rpm、5分、25℃)して上澄みを分取し、溶離液(85% MeOH/0.05% TFA)で1000倍希釈し、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。この混合溶媒に対するコロソリン酸の溶解度は、PG 40%/PEG 60%及びPG 30%/PEG 70%の場合と同様に、PG又はPEG単独の場合と比較して、改善は認められなかった。PG/PEG混合溶媒系では、商品(薬剤)に応用できる程度の溶解度改善は期待できないことが判明した。

【0099】

5% α-シクロデキストリン水溶液及び5% γ-シクロデキストリン水溶液を調製し、これらの溶液1 mLにコロソリン酸1 mgを懸濁させ、攪拌機で約半日間振盪させた後、懸濁液を遠心分離機で遠心(15000 rpm、5分、25℃)して上澄みを分取し、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。α-シクロデキストリン水溶液からはコロソリン酸が検出されなかったが、γ-シクロデキストリンからは、検量線で解析できる程度のコロソリン酸ピークが得られた。

【0100】

pH 4のバッファーに対するコロソリン酸の溶解度を検討した。pH 4のバッファーを調製し、バッファー50 mLにコロソリン酸1.0 mgを懸濁させて、約半日間振盪させた。その後、懸濁液を遠心分離機で遠心(5000 rpm、5分、25℃)し、上澄みを分取して酢酸エチル50 mLで抽出し、有機相を分取して濃縮させた。濃縮物を溶離液(85% MeOH/0.05% TFA) 800 µLに溶解させ、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。

【0101】

コロソリン酸1 mgをPG 80%/MCG 20%混合溶媒100 µLに加えて振盪させた後、約半日放置し、遠心分離機で遠心(15000 rpm、5分、25℃)して上澄みを分取し、溶離液(85% MeOH/0.05% TFA)で1000倍希釈し、分析H

10

20

30

40

50

P L Cでコロソリン酸濃度を検討した。この混合溶媒に対するコロソリン酸の溶解度は、P G / P E G混合溶媒の場合と同様に、P G、P E G又はM C G単独の場合と比較して、改善は認められなかった。P G / M C G混合溶媒系では、商品（薬剤）に応用できる程度の溶解度改善は期待できないことが判明した。

【0102】

1 % β -シクロデキストリン水溶液を調製し、これらの溶液1 m Lにコロソリン酸1 m gを懸濁させ、攪拌機で約半日間振盪させた後、懸濁液を遠心分離機で遠心（1 5 0 0 0 r p m、5 分、2 5 °C）して上澄みを分取し、分析H P L Cでコロソリン酸濃度を検討した。その結果、検量線で解析できる程度のコロソリン酸ピークが得られた。3サンプルとも安定していたので、信頼できるデータと判断した。しかし、 α -、 β -又は γ -シクロデキストリン水溶液はいずれも、商品（薬剤）に応用できる程度の溶解度改善は期待できないことが判明した。

10

【0103】

p H 5及び4のバッファーに対するコロソリン酸の溶解度を検討した。p H 5及び4のバッファーを調製し、p H 5のバッファー3 0 m Lにコロソリン酸1 . 5 m gを、p H 4のバッファー5 0 m Lにコロソリン酸2 . 5 m gを懸濁させて、約半日間振盪させた。その後、懸濁液を遠心分離機で遠心（5 0 0 0 r p m、5 分、2 5 °C）し、それぞれ上澄みを分取して酢酸エチル3 0 m L、5 0 m Lで抽出し、有機相を分取して濃縮させた。濃縮物を溶離液（8 5 % M e O H / 0 . 0 5 % T F A）8 0 0 μ Lに溶解させ、分析H P L Cでコロソリン酸濃度を検討した。コロソリン酸は、いずれからも検出されたが、検量線で解析できる程度のピークは得られなかった。しかし、p H 1 0 ~ 6のバッファーに対する溶解度のデータからプロットグラフ（縦軸： $\log C_{total}$ 、横軸：p H）を作成したところ、安定したデータが得られた。

20

【0104】

コロソリン酸1 m gをP G 4 0 % / P E G 4 0 % / M C G 2 0 %混合溶媒1 0 0 μ Lに加えて振盪させた後、約半日放置し、遠心分離機で遠心（1 5 0 0 0 r p m、5 分、2 5 °C）して上澄みを分取し、溶離液（8 5 % M e O H / 0 . 0 5 % T F A）で1 0 0 0 倍希釈し、分析H P L Cでコロソリン酸濃度を検討した。この混合溶媒に対するコロソリン酸の溶解度は、P G / P E G混合溶媒及びP G / M C G混合溶媒の場合と同様に、P G、P E G又はM C G単独の場合と比較して、改善は認められなかった。P G / P E G / M C G混合溶媒系では、商品（薬剤）に応用できる程度の溶解度改善は期待できないことが判明した。

30

【0105】

ラット2匹にS T Z（streptozotocin）を腹腔内投与して糖尿病モデル化操作を行った。一方のラットに0 . 5 % C M C（carboxy methyl cellulose）溶液（コントロール）を、他方のラットにコロソリン酸5 m gを0 . 5 % C M C溶液1 m Lに懸濁させて得られる懸濁液を、ディスポーザブル注射筒及びラット用経口ゾンデで強制的に単回投与した（2 m L / k g）。投与直前、投与後3 0 分、6 0 分、9 0 分、1 2 0 分及び1 8 0 分に、頸動脈にカニューレーションを行って採血した。採血して得たサンプルを遠心分離機で遠心（1 5 0 0 0 r p m、5 分、4 °C）し、血漿を2 0 μ L分取した。血糖値測定はグルコースC I I-テストワコー（和光純薬工業株式会社製）を用いてムタローゼ・G O D（glucose oxidase）法により行い、吸光度は分光光度計（5 0 5 n m）で測定した。標準溶液の検量線を用いて濃度計算を行ったところ、プレ値は約5 0 0 m g / d Lでやや高めだった。コントロール及びコロソリン酸懸濁液のいずれについても、血糖値が上がり続けていた。これは、オペしたことにより刺激が与えられ続けたためと考えられる。但し、コロソリン酸懸濁液の方が、上昇が緩やかだった。

40

【0106】

S T Zを腹腔内投与したラット4匹のうち、1匹に0 . 5 % C M C溶液（コントロール）を、3匹にコロソリン酸、ウルソール酸及びオレアノール酸各5 m gを0 . 5 % C M C溶液1 m Lに懸濁して得られる懸濁液を、ディスポーザブル注射筒及びラット用経口ゾン

50

デで強制的に単回投与した（2 mL/kg）。投与直前、投与後30分、60分、90分、120分及び180分に、頸動脈にカニュレーションを行って採血した。採血して得たサンプルを遠心分離機で遠心（15000 rpm、5分、4℃）し、血漿を20 µL分取した。血糖値測定はグルコースCII-テストワコーを用いてムタローゼ・GOD法により行い、吸光度は分光光度計（505 nm）で測定した。標準溶液の検量線を用いて濃度計算を行ったところ、プレ値は約300～500 mg/dLでバラツキが目立った。コントロール、コロソリン酸及びオレアノール酸懸濁液のいずれについても、血糖値が上がり続けていた。これは、オペしたことにより刺激が与えられ続けたためと考えられる。ウルソール酸懸濁液を投与したラットでは、90分から降下していた。これは、このラットが途中まで呼吸困難の状態にあったが、管で気道を確保したことにより刺激が少なくなったためと考えられる。 10

【0107】

コロソリン酸1 mgをPG40%／PEG50%／EtOH10%混合溶媒100 µLに加えて振盪させた後、約半日放置し、遠心分離機で遠心（15000 rpm、5分、25℃）して上澄みを分取し、溶離液（85% MeOH／0.05% TFA）で1000倍希釈し、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。この混合溶媒に対するコロソリン酸の溶解度は、PG／PEG混合溶媒及びPG／MCG混合溶媒の場合と同様に、PG、PEG又はEtOH単独の場合と比較して、改善は認められなかった。PG／PEG／EtOH混合溶媒系では、商品（薬剤）に応用できる程度の溶解度改善は期待できないことが判明した。 20

【0108】

pH10及び9のバッファー（グリシンバッファー（pH9.98、イオン強度0.1）、ホウ酸バッファー（pH9.02、イオン強度0.1））に対するコロソリアPBW（Lot No. = 020641）（バナバの水抽出エキス）、コロソリアPBA（Lot No. = 40722010）（バナバの熱水抽出エキス）及びコロソリアM（Lot No. = 40905005）（バナバの熱水抽出エキス及びアルコール抽出エキスの混合エキス）（いずれも株式会社ユース・テクノコーポレーション製）の溶解度を検討した（室温）。各種エキス粉末0.5 gに各バッファー20 mLを加え、VOLTEXにより1分間振盪させた後、30分放置した。懸濁液の状態をデジタルカメラで映像として保存した。PBAについては、pH10及び9のいずれのバッファーでも明らかな沈殿が確認された。コロソリン酸の溶解性は、アルカリ性側（pH10）の方が比較的高いように見えた。M及びPBWの溶解性はPBAより高いように見えたが、pH10及び9のいずれのバッファーでも、注視すると沈殿が確認された。エキス粉末の含量を0.5 g／20 mL（= 2.5%）より下げないと、より酸性側での検討の際に支障をきたすことが判明した。 30

【0109】

pH3のバッファーに対するコロソリン酸の溶解度を検討した。pH3のバッファーを調製し、バッファー300 mLにコロソリン酸15 mgを懸濁させて、約半日間振盪させた。その後、懸濁液を遠心分離機で遠心（5000 rpm、5分、25℃）し、上澄みを分取して酢酸エチル300 mLで抽出し、有機相を分取して濃縮させた。濃縮物を溶離液（85% MeOH／0.05% TFA）800 µLに溶解させ、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。検量線で解析できる程度のコロソリン酸ピークが得られた。得られたデータはプロットグラフ（縦軸：log C_{total}、横軸：pH）に合致していたので、信頼できるデータと判断した。 40

【0110】

pH8～5のバッファー（トリスバッファー（pH7.99、イオン強度0.1）、リン酸バッファー（pH7.04、イオン強度0.1）、クエン酸バッファー（pH5.96、イオン強度0.1）、クエン酸バッファー（pH4.98、イオン強度0.1））に対するコロソリアPBW、PBA及びMの溶解度を確認した（室温）。各種エキス粉末0.1 gに各バッファー20 mLを加え、VOLTEXにより1分間振盪させた後、30分間放置した。懸濁液の状態をデジタルカメラで映像として保存した。PBAについては、pH 50

8～5のいずれのバッファーでも明らかな沈殿が確認された。コロソリン酸の溶解性は、アルカリ性側の方が比較的高いように見えた。M及びPBWの溶解性はPBAより高いように見えたが、Mについては酸性側になる程沈殿が容易に確認でき、PBWについてはいずれのバッファーでも注視すると沈殿が確認できた。このことは、コロソリン酸を始めとするテルペン類を含む抽出エキスについても、生体反応や薬物動態を検討する際、溶解度が大きな問題となることを示している。

【0111】

コロソリン酸1mgを1%Tween-PG40%/PEG60%溶液100μLに、コロソリン酸2mgを1%Tween-EtOH溶液100μLに加えて振盪させた後、約半日放置し、遠心分離機で遠心(15000rpm、5分、25℃)して上澄みを分取し、溶離液(85%MeOH/0.05%TFA)で1000倍希釈し、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。この溶液に対するコロソリン酸の溶解度は、PG/PEG混合溶媒、PG/MCG混合溶媒、PG単独、PEG単独又はEtOH単独の場合と比較して、改善は認められなかった。この溶液では、商品(薬剤)に応用できる程度の溶解度改善は期待できないことが判明した。

【0112】

コロソリン酸5mgを1%BL-9EX-PG40%/PEG60%溶液100μL及び1%BL-9EX-EtOH溶液100μLに加えて振盪させた。1%BL-9EX-EtOH溶液についてはコロソリン酸が完全に溶解した。1%BL-9EX-PG40%/PEG60%溶液については、コロソリン酸懸濁液を約半日間放置し、遠心分離機で遠心(15000rpm、5分、25℃)して上澄みを分取し、溶離液(85%MeOH/0.05%TFA)で1000倍希釈し、分析HPLCでコロソリン酸濃度を検討した。この溶液に対するコロソリン酸の溶解度は、PG/PEG混合溶媒の場合と比較して、改善は認められなかった。1%Tween-PG40%/PEG60%溶液の場合と同様に、界面活性剤(Tween80、BL-9EX)を添加すると逆に溶解度が低くなることが判明した。また、この溶液では、商品(薬剤)に応用できる程度の溶解度改善は期待できないことが判明した。一方、1%BL-9EX-EtOH溶液については、実験操作(秤量等)にミスがなかったとすれば、理論上50mg/mL以上の溶解度を示すことになるが、経口投与の場合は毒性が懸念される。医薬品添加物として経口投与される場合、エタノールの最大使用量は1mL/dayである。カプセルにエタノール溶液を詰める形ではなく、シロップ剤等に混合する形で処方するのがよいことが判明した。

【0113】

pH4～1のバッファー溶液(クエン酸バッファー(pH3.98、イオン強度:0.1)、クエン酸バッファー(pH3.04、イオン強度:0.1)、塩酸バッファー(pH2.03、イオン強度:0.1)、塩酸バッファー(pH1.26、イオン強度:0.1))に対するコロソリン酸PBW、PBA及びMの溶解度を確認した(室温)。各種エキス粉末0.1gに各バッファー20mLを加え、VOLTEXにより1分間振盪させた後、30分間放置した。懸濁液の状態をデジタルカメラで映像として保存した。PBAについては、pH4～1のいずれのバッファーでも明らかな沈殿が確認された。コロソリン酸の溶解性は、アルカリ性側の方が比較的高いように見えた。M及びPBWについても沈殿が確認でき、沈殿の形成は酸性側になる程顕著になることが判明した。

【0114】

実験用に飼育していたビーグル犬にコロソリン酸を投与して、血清中のコロソリン酸濃度を分析HPLCで測定した。投与直前(ブランク)、投与後30分、60分、90分、120分及び180分後に採血し、各ポイントのサンプル(血清)2mLを200μLずつマイクロチューブに分けた。小分けした各サンプルにアセトニトリルを4倍量(800μL)加えて除タンパクを行い、遠心分離機で遠心(15000rpm、5分、4℃)して上清を分取し、ポイントごとにサンプル瓶にひとまとめにし、完全に濃縮させた。この濃縮物を溶離液(85%MeOH/0.05%TFA)500μLに溶解して分析HPLCを行い、現状のHPLC条件(標準溶液はコロソリン酸メタノール溶液)の下でコロソ

リン酸ピークが得られるかどうか（コロソリン酸濃度が測定可能かどうか）を確認した。コロソリン酸投与前（ネガティブコントロール）については、現状のHPLC条件の下で、コロソリン酸以外の血液成分の検出が確認されたが、コロソリン酸（保持時間12分付近）は検出されなかった。投与後のサンプルを分析HPLCで分析したところ、検量線（メタノール溶液）で解析できる程度のコロソリン酸ピークは検出されなかった。

【0115】

STZを腹腔内投与して糖尿病モデル化操作を行ったラットにバナバ透明エキスを噴霧液を投与し、血糖値に及ぼす影響を検討した。10匹中5匹には生理食塩水（大塚生食注）（コントロール）を、残りの5匹にはバナバ透明エキス（p-280：バナバ脱色エキス原液を10ppmの濃度で水に溶かしたもの）を単回噴霧吸入した。噴霧時間は5分間とした。投与直前、投与後30分、60分、90分、120分、180分及び360分に採血した。尾静脈にメスで切込みを入れ、採血後、小型血糖測定器（グルテストE）及び電極（グルテストセンサー）で血糖値を測定した。いずれのポイントにおいても、バナバエキス吸入群とコントロール吸入群との間に、血糖値の有意差は確認できなかった。

10

【産業上の利用可能性】

【0116】

本発明の糖新生抑制剤は、糖尿病の治療に利用することができる。

【0117】

また、従来、テルペン、特にトリテルペンは薬の宝庫とされてきたが、分子量が大きく、単離精製又は合成が困難であることから薬物や飲食用添加物として用いられた例は極めて少なかった。その点、本発明は、トリテルペンの一種であるコロソリン酸、コロソリン酸類縁体又はこれらの薬学的に許容される塩を、薬物や飲食用添加物として用いることを可能にする。また、本発明は、トリテルペンについて、活性と関連する部位、官能基、構造等を特定することにより、有用な新規化合物の発見又は合成を容易にし、より有効かつ安全な医薬品の開発を促進する。

20

【図面の簡単な説明】

【0118】

【図1】ラットの肝臓におけるグルコース産生量の経時変化を示すグラフである。

【図2】コロソリン酸の標準溶液を分析して得られたマススペクトルである。

【図3】コロソリン酸の標準溶液のクロマトグラムから作成した検量線である。

30

【図4】コロソリン酸を添加した血液のクロマトグラムから作成した検量線である。

【図5】コロソリン酸標準溶液、及びコロソリン酸を経口投与したイヌの血液のクロマトグラムである。

【図6】GKラットの随時血糖値の経時変化を示すグラフである。

【図7】OGTTにおけるGKラットの血糖値の経時変化を示すグラフである。

【図8】Zucker fatty rat (fa/fa) の体重の経時変化を示すグラフである。

【図9】被験者の血糖値の経時変化を示すグラフである。

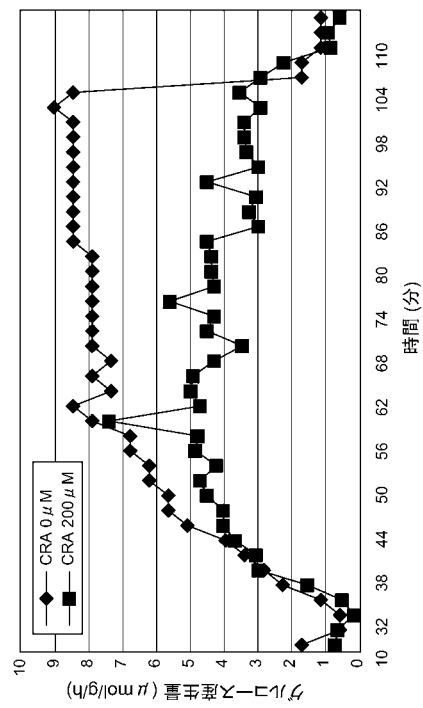
【図10】被験者の血中インスリン値の経時変化を示すグラフである。

【図11】被験者の血中インスリン値の経時変化を示すグラフである。

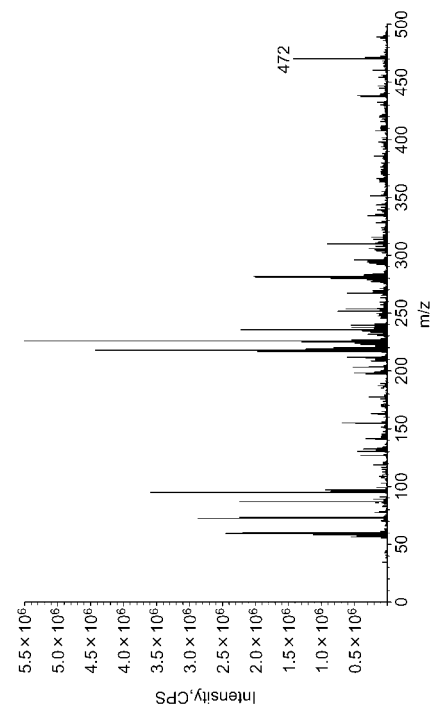
【図12】被験者の血中インスリン値の経時変化を示すグラフである。

40

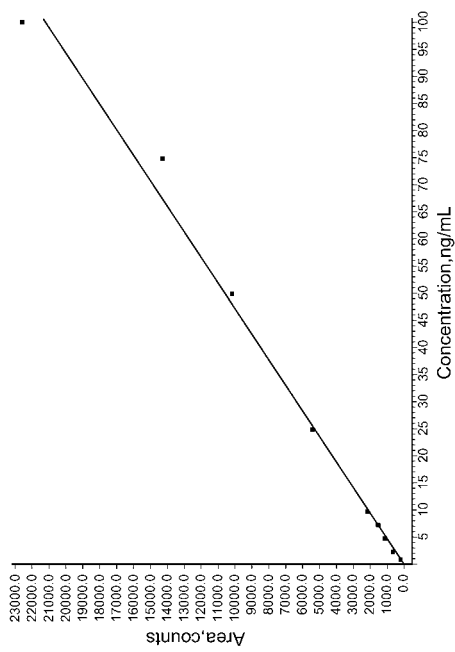
【図 1】



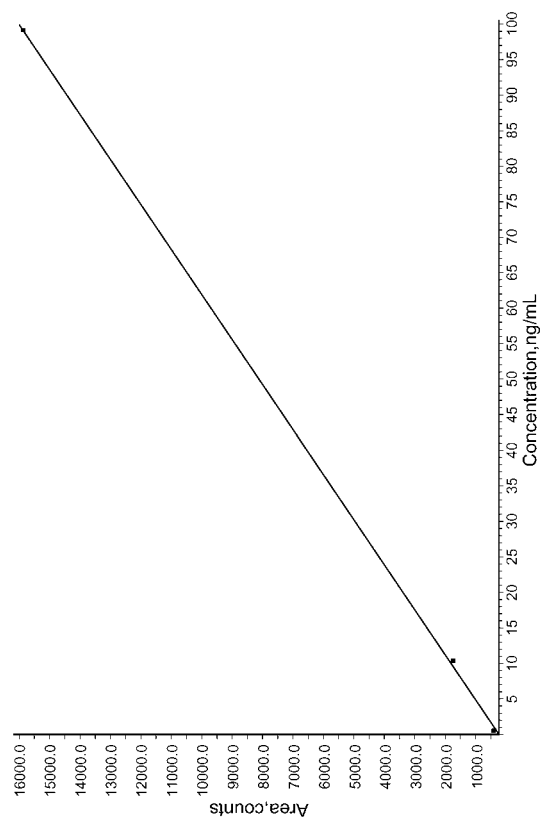
【図 2】



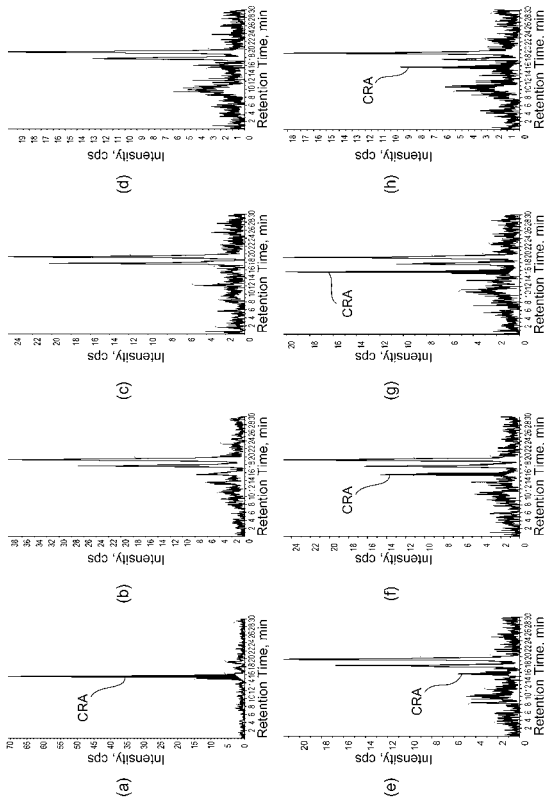
【図 3】



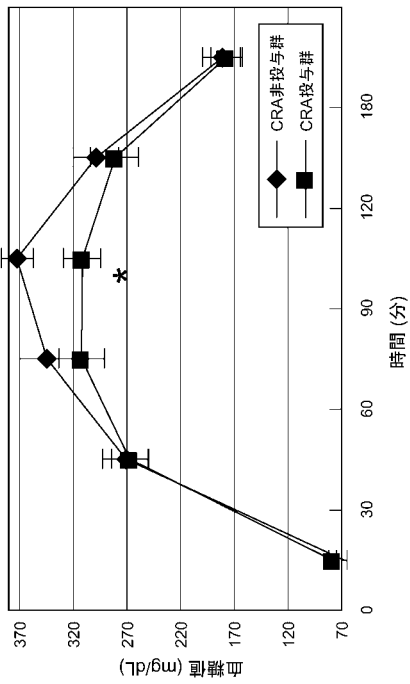
【図 4】



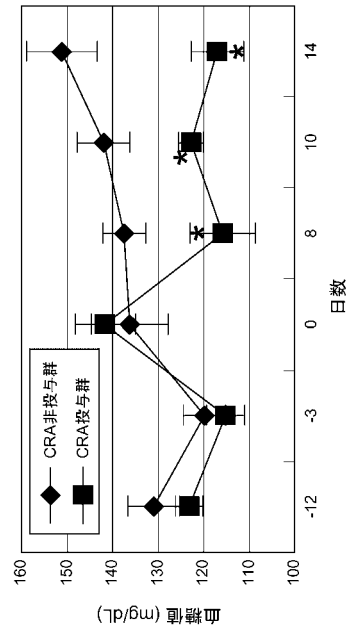
【図 5】



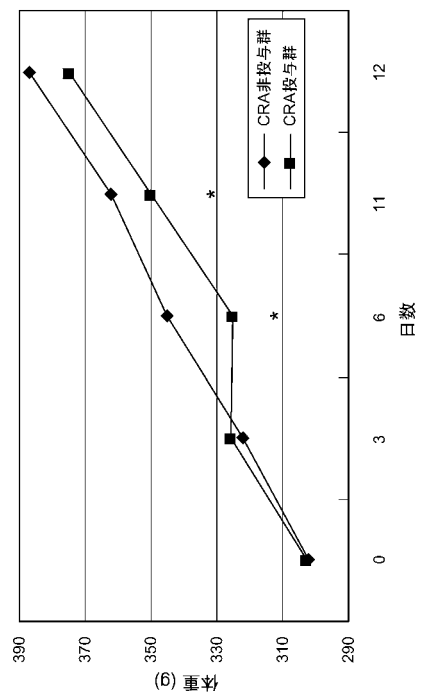
【図 7】



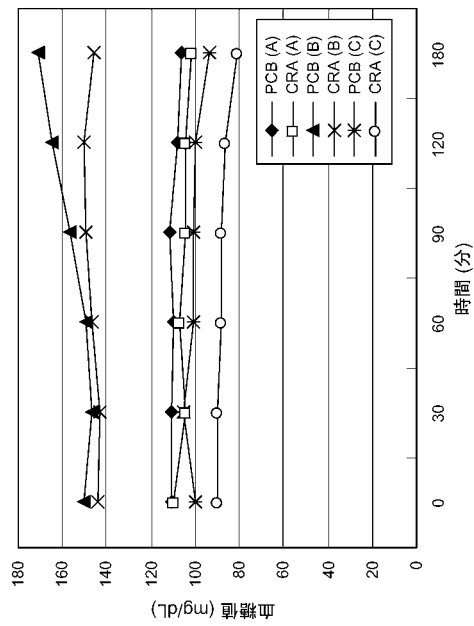
【図 6】



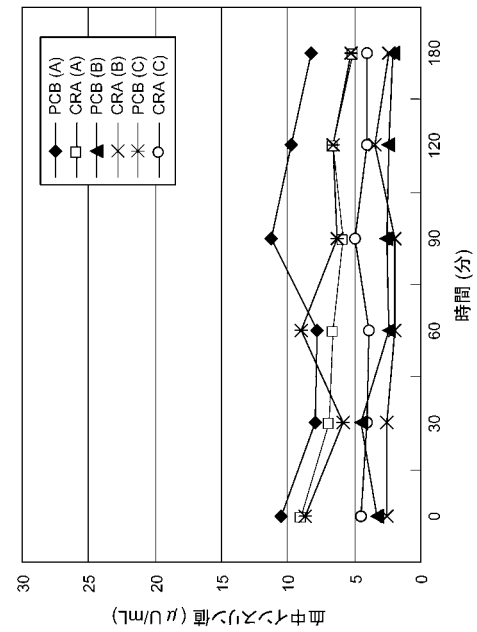
【図 8】



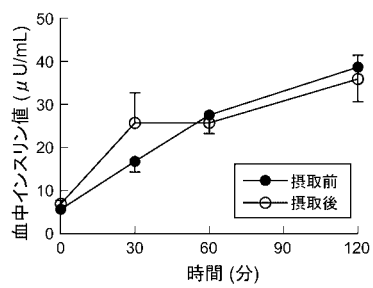
【図 9】



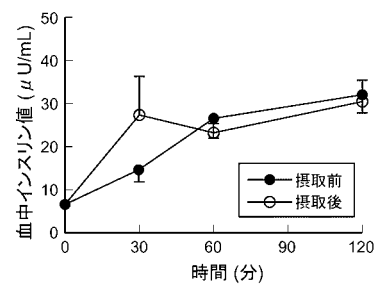
【図 10】



【図 11】



【図 12】



フロントページの続き

- (72)発明者 細川 雅也
京都府京都市左京区吉田河原町1-6 エーデルハイム鴨川210号
- (72)発明者 藤本 新平
京都府京都市左京区聖護院蓮華蔵町46 コープ鴨川A棟403
- (72)発明者 福島 光夫
京都府京都市北区小山中溝町31 アーバン紫園301
- (72)発明者 上田 直哉
京都府京都市左京区聖護院川原町1-8 リエール・オーツカ302号
- (72)発明者 山田 耕太郎
大阪府東大阪市東石切町5-9-5-103

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 DA08 MA01 MA04 MA52 NA14 ZC35
4C091 AA06 BB20 CC01 DD01 DD03 DD13 EE04 FF02 FF06 GG03
GG05 HH01 JJ03 KK01 LL02 LL03 LL06 MM01 QQ02 QQ05
QQ15