

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2009年5月7日 (07.05.2009)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2009/057724 A1

- (51) 国際特許分類:  
 A61K 36/18 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)  
 A23L 1/30 (2006.01) A61P 9/12 (2006.01)  
 A23L 2/00 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2008/069817 (74) 代理人: 大東 輝雄 (DAITO, Teruo); 〒1080074 東京都港区高輪2丁目17番12号 ニューシティレジデンス高輪411 Tokyo (JP).
- (22) 国際出願日: 2008年10月24日 (24.10.2008)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
 特願 2007-284627  
 2007年10月31日 (31.10.2007) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社伊藤園 (ITO EN, LTD.) [JP/JP]; 〒1518550 東京都渋谷区本町三丁目47番10号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 久保田裕司 (KUBOTA, Yuji) [JP/JP]; 〒4210516 静岡県牧之原市女神21番地 株式会社伊藤園内 Shizuoka (JP). 叶英樹 (KANO, Hideki) [JP/JP]; 〒4210516 静岡県牧之原市女神21番地 株式会社伊藤園内 Shizuoka (JP). 瀧原孝宜 (TAKIHARA, Takanobu) [JP/JP]; 〒4210516 静岡県牧之原市女神21番地 株式会社伊藤園内 Shizuoka (JP). 三富敦浩 (MITOMI, Atsuhiko) [JP/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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
 — 国際調査報告書

(54) Title: JEW'S MALLOW-DERIVED SYNTHETIC-RESIN-ADSORBED FRACTION COMPOSITION HAVING VASODEPRESSING ACTIVITY, VASODEPRESSING AGENT OR FOOD/BEVERAGE COMPRISING THE ADSORBED FRACTION COMPOSITION, AND METHOD FOR PRODUCING THE ADSORBED FRACTION COMPOSITION

(54) 発明の名称: 血管弛緩作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物、該吸着画分組成物を含む血管弛緩剤又は飲食物及び該吸着画分組成物の製造方法

(57) Abstract: A Jew's mallow (*Corchorus oitorius* L.)-derived synthetic-resin-adsorbed fraction composition having an excellent vasodepressing activity, particularly an excellent anti-hypertensive activity, can be produced by subjecting a Jew's mallow extract solution to the adsorption treatment with a synthetic resin adsorbent, eluting the adsorbed fraction with an elution solvent, and collecting the adsorbed fraction. The Jew's mallow-derived synthetic-resin-adsorbed fraction composition enables to provide: a vasodepressing agent that is effective for a patient suffering from hypertension, produces no adverse side effect and is highly safe; a food such as a health food, a health supplement and a food for specified health uses each comprising the composition; or a beverage comprising the adsorbed fraction composition.

(57) 要約: モロヘイヤエキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶出溶媒により溶出処理して回収することにより、優れた血管弛緩作用、特に血圧降下作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を得ることができる。本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は、高血圧患者に対して効果的で、副作用が無く、安全性の高い血管弛緩剤、それら組成物を含んでなる健康食品、健康補助食品、特定保健用食品等の食品類、あるいはそれらを含んでなる飲料を提供することができる。

WO 2009/057724 A1

## 明細書

血管弛緩作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物、該吸着画分組成物を含む血管弛緩剤又は飲食物及び該吸着画分組成物の製造方法

### 5 技術分野

本発明は、モロヘイヤエキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理してその吸着画分を溶出溶媒により溶出処理することによって回収される血管弛緩作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物、該モロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を有効成分として含有する血管弛緩剤、該モロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を含有してなる飲食物、及び該  
10 モロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法に関する。

### 背景技術

#### 1. 高血圧症について

現在日本では、約3500万人の人が高血圧症にかかっていると言われている。わ  
15 が国の死亡原因の2位は心疾患、3位は脳血管疾患であるが、これらの疾患の原因には高血圧症が深く関わっている。高血圧症には自覚症状がないため、気がつかないうちに、動脈硬化を促し、この動脈硬化によって、心疾患、狭心症、脳出血、脳梗塞、腎臓病その他の様々な合併症を引き起こす。特に、血管収縮が継続すると血管の機能が低下し、動脈硬化の発生・進展につながる。また、血管機能の低下は、高血圧などのリスクを高  
20 め、脳卒中発症などの確率を高める。

ところで、血管内皮は、一酸化窒素(NO)などの血管調節因子を産出して、血管の拡張や筋肉の弛緩、血液の線溶、血流のコントロールをすることで血管機能を維持し調節することが知られている。血管内皮細胞の出す各種血管調節因子のうち一酸化窒素(N  
25 O)は、強い血管拡張作用を有するのみならず、動脈硬化の進行や血栓の形成を抑制する働きもある。したがって、血管内皮機能の低下は、血管全体の機能低下のみならず、

動脈硬化やその他循環器系疾患を招く恐れがある。しかし、高血圧は血管内皮に悪影響を及ぼし、血管内皮機能を低下させる。この様な観点から、血管内皮機能に依存しない血管弛緩剤や血圧降下剤が望まれる。

5 従来、高血圧症の予防及び治療方法としては、一般療法と薬物療法が用いられている。

一般療法は減量、節酒、好氣的運動等の運動療法、減塩等の食事療法を行うことにより治療する方法であって、本態性高血圧症の治療の基本である。一般療法は、薬物を使用しないため、副作用の懸念あるいは経済的負担という点では利点があるものの、個人の意欲と周囲の協力態勢に依存し、必ずしも一定の高血圧改善効果を得られない等の  
10 問題点がある。

一方、薬物療法は、食事療法や運動療法の効果が不十分な場合等、一般療法で血圧が正常化しない場合や、症状が重い高血圧に対し用いる療法であり、確実な降圧が期待できる。薬物療法において使用される薬物は、カルシウム拮抗薬、アンジオテンシン転換酵素（Angiotensin I Converting Enzyme;以下ACE）阻害薬、アンジオテンシン I  
15 I 受容体拮抗薬、利尿薬、交感神経抑制薬等多岐にわたる。しかしこれらの血圧降下剤として用いられる薬物は、長期的な服用を必要とするため、一般的に消化器症状、起立性低血圧、代謝機能の変化等の副作用を伴う。特にACE阻害薬は副作用として空咳、めまい、立ちくらみ、悪心、口渇、過度の鎮静等が広く知られており、QOLを低下させ、コンプライアンスの低下にもつながる要因となっている。また、血管弛緩を目的と  
20 した医薬品には反射性頻脈、動悸、空咳、顔面紅潮、ほてり、頭痛などの副作用が発生する可能性がある。これら薬物は、一度服薬を開始した場合には継続する必要がある、患者の判断によって途中で服薬を中止したり量を変えたりすることができない為、経済的及び精神的な負担も多くなる。その為、副作用の恐れがなく、経済的精神的負担も軽く、安全で長期間継続することが可能であり、かつ効果的な療法が望まれてきた。

## 2. 健康食品、機能性食品、健康補助食品等

そこで、上記課題を解決するために注目されるものが、血圧降下剤による薬物療法と一般療法の間中に位置するともいえる食品による治療又は予防方法である。このような食品は、健康食品、機能性食品、健康補助食品、特定保健用食品と呼ばれることもあり、日常的に摂取する食品中に、血圧降下作用を有する物質を添加したもの等がある。例えば、血圧が高めの人に適した飲料として、植物由来のペプチドを含む茶飲料が販売されている。一例としては、ゴマを脱脂した後、蛋白質を抽出し分解酵素を作用させて得られるゴマ蛋白質分解物（ゴマペプチド含有）のLeu—Val—Tyr（LVY）を関与成分とするものがあり、ACE阻害作用を有し、血圧降下作用を示す。また、乳製品乳酸菌飲料中にγ-アミノ酪酸（GABA）を添加したものが販売されている。GABAはアミノ酸の一種で、代表的な抑制系の神経伝達物質であり、血圧降下作用を有することが古くから知られているものである。杜仲茶葉に含まれる杜仲葉配糖体の主成分ゲニポシド酸を有効成分として含んだ特定保健用食品の茶飲料も市販されている。ゲニポシド酸は、副交感神経に作用し、血流をスムーズにすることにより血圧を下げるものである。また、山本直之等は、「乳酸菌及び発酵乳製品」の表題の下に、乳を原料として乳酸菌発酵により製造されたヨーグルトが血圧降下作用を有することを報告している（特許文献1参照）。

しかし、その血圧降下作用の原因物質に関しては、明らかではない。その他にも、血圧降下作用を謳った多くの健康食品、飲料等が販売されているが、さらに効き目のある商品、安心して長期に渡って服用できる商品、経済的負担がより少ない商品が、常に求められている。

その他、天然物成分としては、乳蛋白質、大豆蛋白質あるいは魚肉蛋白質に、様々なACE阻害ペプチドが含まれていることが報告されており、これら天然物由来のACE阻害物質は低毒性で安全性の高い降圧剤として実用化が検討されている。しかし、これらの天然物由来ペプチド群に含まれる血圧降下ペプチドは微量であり、現実的な経口

での摂食量では大きい効果が期待出来ないものや、ACE阻害活性は強いが血圧降下作用はあまり強くないものが多い。

また、近年、乳酸菌発酵乳から強いACE阻害活性を有する2種のトリペプチド、即ちVal-Pro-ProとIle-Pro-Proとが報告されている（例えば、  
5 非特許文献1参照）。更に、これらのトリペプチドの強い血圧降下作用が自然発症高血圧ラット（SHR）にて確認された報告がある（例えば、非特許文献2参照）。しかしながら、乳酸菌発酵乳中に産生されるトリペプチドは、乳酸発酵の進行と共に乳酸菌が産生する蛋白質分解酵素により生じるために、発酵条件によりトリペプチド量は変動しやすく、一定の含有量で得ることが困難である。

10 以上のように、血管弛緩作用、特に血圧降下作用の原因物質が明らかで、工業的に安定した生産が可能であり、従来品以上に有効性、安全性の高い天然物由来の血管弛緩物質およびそれらを含有した健康食品、健康飲料等が求められている。

### 3. モロヘイヤ

15 モロヘイヤ（学名：Corchorus oitorius L.）はエジプトを中心とした地中海地方を原産地とする黄麻の一種であり、その栄養価の高さから、近年特に注目されてきた食品素材のひとつである。モロヘイヤは、細かく刻んだり茹でたりすると、オクラやヤマモの様に独特のヌメリを生じ、このヌメリは植物ゴム（Plant gum）及び粘質多糖（ムコ多糖）を含んでいる。また栄養学的にはビタミン類やミネラル類が豊富で、特に総カロチン及びカルシウム含量が多い等の特徴を有する。カロチンはブロッコリーの約12  
20 倍、ビタミンB1はトマトの約3倍、ビタミンB2はピーマンの約14倍、カルシウムは牛乳の約2.4倍、食物繊維はレタスの約20倍と言われている。そのため、最近、我が国でも栽培され、生葉と共にその乾燥粉末が食品素材として注目を集めつつある。

現在までに、モロヘイヤに関してはモロヘイヤ抽出物やそれを乾燥粉末化したモロ  
25 ヘイヤ粉末、所謂モロヘイヤエキス、それらを含有する食品や組成物、或いはその製造

方法が多数提案されている。

例えば、山本隆士等は、モロヘイヤエキスを飲料に使用するためにその粘性を低下させることを目的として、有機酸を添加してモロヘイヤエキスを抽出する製造方法について報告している（特許文献2参照）。また、印南敏等は、モロヘイヤ葉の水溶性画分の  
5 エタノール析出物を有効性成分として含有する組成物について報告している（特許文献3参照）。しかしながら、この有効性成分は食物繊維である。

また、吉川雅之等は、「モロヘイヤの水性エキスを含有する組成物」の表題の下、モロヘイヤを精製水で加熱抽出し、抽出物を濃縮後、凍結乾燥させることにより得る、胃粘膜保護作用を有するモロヘイヤの水性エキスを必須成分として含有することからなる  
10 組成物に関して報告している（特許文献4参照）。さらに、吉川雅之等は、モロヘイヤに含まれる新規な脂肪酸又はその塩、脂肪酸抽出物、その単離法及び該脂肪酸を有効成分として含有する一酸化窒素（NO）産生抑制作用を有する医薬組成物に関して報告している（特許文献5参照）。

#### 15 4. モロヘイヤの血圧降下作用

モロヘイヤの血圧降下作用についてはそのエキスを試験管レベルのACE阻害活性が確認されている。更に、モロヘイヤエキスのACE阻害活性成分としてニコチアナミンが単離されている（非特許文献3, 4, 5参照）。また、山口典男らは、大豆の水抽出液から効率よくニコチアナミンを製造する方法を提案している（特許文献6参照）。しか  
20 し、ニコチアナミンはモロヘイヤに極微量しか含まれておらず、実際に血管弛緩剤乃至血圧降下剤として利用するには大量の原料と複雑な精製工程が必要であり現実的ではないという問題点が指摘されている。

[特許文献1] 特開平7-123977号公報

[特許文献2] 特開平10-191922号公報

25 [特許文献3] 特開平7-69910号公報

[特許文献4] 特開2000-26305号公報

[特許文献5] 特開平11-322667号公報

[特許文献6] 特開2003-231675号公報

[非特許文献1] J. Dairy Sci. 78 : p.777-783

5 [非特許文献2] J. Dairy Sci. 78 : 1253-1257

[非特許文献3] 食品の試験と研究, 31号, 78-79, 1996 「モロヘイヤの栄養成分とアンジオテンシンI変換酵素阻害活性」、荒川彰彦

[非特許文献4] 東京家政大学研究紀要, 第38集(2), 59-63, 1998 「食品中のACE阻害物質に関する研究」、木元幸一、清水恵美子、黒田裕子

10 [非特許文献5] 日本食生活学会誌, 10巻, 3号, 20-25, 1999 「食品中の高血圧抑制物質について」、木元幸一

## 発明の開示

### 発明が解決しようとする課題

15 上記のように、高血圧症の改善のために、副作用の恐れがなく、経済的精神的負担も軽く、安全でかつ効果的な療法が望まれてきた。特に薬物療法と一般療法の間位置するような、健康食品、機能性食品、健康補助食品等として、血管弛緩作用、特に血圧降下作用を有するものが強く求められていた。

従って、本発明の目的は、高血圧患者、特に、その90%を占めるといわれている  
20 本態性高血圧患者に対して効果的で、副作用の無い、長期間服用に適した安全な食物由来の血管弛緩剤(血管拡張剤)、それら組成物を含んでなる飲食品、特に健康食品、健康補助食品等の食品類、あるいはそれらを含んでなる飲料を提供することである。更には、それら組成物の製造方法を提供することである。

25 課題を解決するための手段

本発明者等は、上記課題を解決するべく、近年栄養価の高い食品素材として注目されてきているモロヘイヤに着目し、その血管弛緩作用、特に血圧降下作用について鋭意検討を重ねた結果、モロヘイヤエキス溶液、より好ましくはモロヘイヤをプロテアーゼ処理して得られるモロヘイヤ酵素処理エキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶出溶媒により溶出処理して回収することにより、より優れた血管拡張乃至血管弛緩作用、即ち血圧降下作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を製造することが可能であることを見出し、本発明を完成した。

血管弛緩作用を有する薬剤は、高血圧症、心不全症、狭心症、心臓弁膜症、虚血性心疾患若しくは心筋梗塞症の治療剤又は予防剤、特に血圧降下剤として有効である。

10

本発明は、具体的には以下のとおりである。

1. モロヘイヤエキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶出溶媒により溶出処理して回収される血管弛緩作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
- 15 2. モロヘイヤエキス溶液がモロヘイヤをプロテアーゼ処理して得られるモロヘイヤ酵素処理エキス溶液である上記1に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
3. プロテアーゼが、エンドペプチダーゼである上記2に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
4. エンドペプチダーゼが、*Bacillus* 由来のエンドペプチダーゼである上記3に記載の  
20 モロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
5. 合成樹脂吸着剤が芳香族重合体を母体とする合成樹脂吸着剤である上記1乃至4のいずれか1項に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
6. 下記式(A)で算出されるアミノ酸を含有し、かつ各アミノ酸濃度が下記式(1)から(3)の要件を全て満たすことを特徴とする上記1乃至5のいずれか1項に記載  
25 のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。

(A) アミノ酸増分＝酸加水分解後のアミノ酸量－酸加水分解前のアミノ酸量

ここで、アミノ酸増分は、任意の濃度のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物溶液 2 mL に対し、0.5 mL の 6 N 塩酸を添加してオートクレーブにて 121°C で 3 時間の処理を行った場合のアミノ酸増分を意味する。

- 5 (1) Gly が Val の 3 重量倍以上、かつ Gly が Ile の 3 重量倍以上；
- (2) Ser、Ala 及び Leu から選ばれる少なくとも 1 つのアミノ酸が Val の 2 重量倍以上、かつ Ser、Ala 及び Leu から選ばれる少なくとも 1 つのアミノ酸が Ile の 2 重量倍以上；
- (3) Arg が Val の 1 重量倍以上、かつ Arg が Ile の 1 重量倍以上；
- 10 7. モロヘイヤエキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶出溶媒により溶出処理して回収することを特徴とする血管弛緩作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
8. モロヘイヤエキス溶液がモロヘイヤをプロテアーゼ処理して得られるモロヘイヤ酵素処理エキス溶液である上記 7 に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
- 15 9. プロテアーゼが、エンドペプチダーゼである上記 8 に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
10. エンドペプチダーゼが *Bacillus* 由来のエンドペプチダーゼである上記 9 に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
- 20 11. 合成樹脂吸着剤が芳香族重合体を母体とする合成樹脂吸着剤である上記 7 に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
12. 上記 1 乃至 6 のいずれか 1 項に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を含んでなる血管弛緩剤。
13. 上記 1 乃至 6 のいずれか 1 項に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を含んでなる飲食物。
- 25

## 発明の効果

本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は、食物として安全性が確認されているモロヘイヤ由来であるので、副作用もなく極めて安全な上、日常的に摂取することが可能である。また、その製造方法も、モロヘイヤエキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶出溶媒により溶出処理して回収するだけであるので、極めて容易である。

また、野菜としてのモロヘイヤそれ自体は勿論のこと、合成樹脂吸着剤処理していない従来のモロヘイヤエキスと比較して、その血管弛緩作用、特に血圧降下作用は格段に優れており、かつ持続性に優れている。特に、モロヘイヤをプロテアーゼ処理して得られるモロヘイヤ酵素処理エキス溶液を使用して吸着処理した場合には、より優れた血管弛緩作用、特に血圧降下作用を有する合成樹脂吸着画分組成物が得られる。

そして、本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は、従来の単に抽出したモロヘイヤエキスと比較して、その血管弛緩作用が優れており、かつ持続性に優れているだけでなく、血管内皮に作用することなく血管を弛緩するので、動脈硬化やその他循環器系疾患により低下した血管内皮機能に依存せず、血管を弛緩し、血圧を降下させることができる。

更に、モロヘイヤはビタミン類やミネラル類、食物繊維が豊富で栄養価が高い植物であるため、血管弛緩作用や血圧降下作用のある単一の成分を分離精製した従来のものと比較した場合、本発明の合成樹脂吸着画分組成物を摂取した場合には、複数の成分を同時に摂取することが可能であり、さらなる効果が期待できる。加えて、天然の植物であるモロヘイヤを原料としているので、安価で、安全性も高いため、医薬品、食品、特に特定保健用食品、健康食品、野菜ジュース等の飲料、特に容器詰飲料等に好適である。

25 図面の簡単な説明

図1は、モロヘイヤエキス（A、B、B'。吸着処理なし）投与による収縮期血圧変動を示した図である。（試験例1）

図2は、モロヘイヤエキス（A、B、B'。吸着処理なし）投与による拡張期血圧変動を示した図である。（試験例1）

5 図3は、モロヘイヤエキス（A、B、B'。吸着処理なし）投与による心拍数変動を示した図である。（試験例1）

図4は、モロヘイヤエキス（A、B、B'。吸着処理なし）投与による平均血圧変動を示した図である。（試験例1）

図5は、SHRラットの収縮期血圧の日内変動を示した図である。（試験例1）

10 図6は、モロヘイヤピューレより調製した酵素処理モロヘイヤエキス（C。吸着処理なし）の血圧変動に対する効果を示した図である。（試験例1）

図7は、モロヘイヤのプロテアーゼ未処理抽出物の合成樹脂吸着画分エキス Ae2 の血圧変動に対する効果を示した図である。（試験例2）

15 図8は、合成樹脂吸着画分エキス（素通り画分 Be1 及び吸着画分 Be2）の血圧変動に対する効果の比較を示した図である。（試験例3）

図9は、吸着剤による精製前のモロヘイヤ酵素処理エキス（B）の血圧変動に対する効果を示した図である。（試験例3）

図10は、モロヘイヤ葉のプロテアーゼ処理による吸着画分エキスの増加を示した図である。（試験例4）

20 図11は、モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキス Be2 の単回投与による血圧降下作用を示した図である。（試験例5）

図12は、モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキス Be2 の長期投与による血圧上昇抑制効果を示した図である。（試験例6）

25 図13は、モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキス Be2 のACE阻害活性を測定した結果を示した図である。（試験例7）

図14は、モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキスBe2の血管弛緩作用を示した図である。(試験例7)

図15は、精製モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキスの血管弛緩作用を示した図である。(試験例7)

5 図16は、精製モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキス投与後の心拍数の変化を示した図である。(試験例8)

図17は、精製モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキスBe2の各画分の血管弛緩作用を示した図である。

10 図18は、モロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物中の蛋白質のアミノ酸構成について確認試験結果を示す図である。(試験9)

図19は、モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキスBe2が血管内皮に依存することなく血管を弛緩する作用を有することを示した図である。

### 発明を実施するための最良の形態

15 本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は、モロヘイヤエキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶出溶媒により溶出処理することによって得ることができる。

20 原材料としてのモロヘイヤエキス溶液は、例えば、モロヘイヤ葉に水又は温水を加えて抽出することによって得ることができる。具体的には、硬い茎の部分を除去したモロヘイヤ葉に水又は温水を加水した後、スチーム加熱し、これを破碎処理し、次いで、破碎処理したモロヘイヤ葉を熱風乾燥することによって得られたモロヘイヤ乾燥葉に10乃至40倍重量、好ましくは20乃至30倍重量程度の蒸留水熱水を加水して抽出することによって得ることができる。

25 モロヘイヤとしては、種子を除く地上部のどの部分を用いてもよいが、硬い茎の部分を除去した葉の部分が特に好ましい。これらをスチーム加熱後、破碎し、熱風乾燥を

行う等して得られる乾燥葉を材料とするのが好ましいが、乾燥葉の調製方法は特に限定されるものではなく、必要に応じて、市販品を用いることもできる。また、乾燥葉以外でも、例えば、モロヘイヤの生葉やピューレ等の未乾燥物も用いることも可能である。

また、簡便には市販のモロヘイヤエキス粉末を水乃至温水に溶解させることによって得ることもできるし、モロヘイヤピューレからエキス抽出してもよい。

ここで、モロヘイヤエキス溶液とは、モロヘイヤの抽出成分を含有する水溶液のことであり、モロヘイヤ加水液即ち水又は温水にモロヘイヤ葉を混合したモロヘイヤ葉溶液からのモロヘイヤ抽出液それ自体、モロヘイヤエキス粉末を水に溶解させたモロヘイヤエキス溶液又はモロヘイヤピューレ水溶液を意味する。好適にはプロテアーゼ処理を施したモロヘイヤ酵素処理エキス溶液である。プロテアーゼ処理は、前記のごときモロヘイヤ抽出液、モロヘイヤエキス粉末を水に溶解させたモロヘイヤエキス溶液又はモロヘイヤピューレ溶液に蛋白質分解酵素即ちプロテアーゼを作用させることによって得ることができる。

次いで、このようにして得られたモロヘイヤエキス溶液又はモロヘイヤ酵素処理エキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、合成樹脂吸着剤へ通液し水押し後、例えば60%エタノールを通液して回収することにより樹脂吸着画分として回収することによって目的とするモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を得ることができる。溶媒による溶出処理は、使用する合成樹脂吸着剤に適した溶出溶媒を選定することができる。

例えば、芳香族系の合成樹脂吸着剤を用いた場合には、多量の水や温水を用いても良いし、より効率を上げるために50~70%、好ましくは55~65%濃度に水で希釈したエタノールを用いることができる。より具体的には、モロヘイヤエキス溶液又はモロヘイヤ酵素処理エキス溶液を、合成樹脂吸着剤充填カラムに通液後、カラム排出液がBrix測定値でBrix 1%以下、好ましくはBrix 0.5%以下になるように純水等にて十分に洗浄し、適当な濃度のエタノール等の溶出バッファーにて溶出して吸着画分を回収すればよい。吸着画分の回収は、例えば60%エタノール溶液であれば、樹脂

容量の1～10倍量、より好ましくは1～5倍量、さらに好ましくは1～2.5倍量を  
通液することにより効率よく吸着物を回収できる。また水を用いる場合は純水による洗  
浄後、樹脂容量の3倍量以上を通液することにより吸着物を回収することができる。

5 必要に応じて、ろ過操作は、目の開き850 $\mu$ mのふるいでろ過後、No.2のろ紙を用  
いて吸引ろ過を行えばよい。また、更に精製された吸着画分組成物を望む場合は、陽イ  
オン交換カラムクロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーを用いて更に精製し  
てもよい。画分から回収された溶液は、適当な濃度まで減圧濃縮し、あるいは、これを  
凍結乾燥し粉末として保存することもできる。

10 限定されるものではないが、本発明の画分処理組成物の製造方法は下記表のとおり  
である。

表1

モロヘイヤ生葉摘採→カット・トリミング→水洗い→スチームブランチング→脱水→熱風乾燥→粉碎→加水  
→加熱→必要により微生物由来プロテアーゼ酵素処理(→酵素失活)→固液分離→ろ過→合成吸着剤カラ  
ム通液→水押し→60%エタノール通液(同時に排出液を吸着画分として回収)→減圧濃縮→凍結乾燥

15 このようにして得られたモロヘイヤ合成樹脂吸着画分は、アルコール分を除去して  
そのまま飲料として、あるいは他の果汁や野菜ジュース、ミックスジュースに配合して  
利用することが可能である。また、適当な濃度まで減圧濃縮することによって濃厚な液  
状組成物とすることも可能であり、目的に応じて凍結乾燥して粉末状とすることも可能  
である。これら濃厚な液状組成物及び粉末状の合成樹脂吸着画分組成物は、食品、飲料  
等に添加して用いることが可能である。

20 使用する合成樹脂吸着剤は、親水性合成樹脂吸着剤、疎水性合成樹脂吸着剤の何れ  
であってもよいが、効果的な血管弛緩作用、特に血圧降下作用を有する組成物を回収す  
るために好ましい吸着剤は、疎水性合成樹脂吸着剤である。疎水性合成樹脂吸着剤の樹  
脂母体として、例えば、スチレン重合体、スチレンージビニルベンゼン共重合体、スチ  
レンーアクリル酸アミドの共重合体、フェノール樹脂等が挙げられる。本発明において

好ましい合成樹脂吸着剤は、水溶性低分子物質を吸着するのに適した多孔性の吸着剤、  
具体的には、多孔性修飾ポリスチレン系合成吸着剤、即ち、スチレン等の芳香族系の樹  
脂母体に臭素等の極性基を化学的に修飾結合させてなる多孔性修飾ポリスチレン系合成  
吸着剤である。これら吸着剤としては、表面積の大きい多孔性の合成樹脂吸着剤が好ま  
5 しい。合成樹脂吸着剤の比表面積としては、 $100\sim 1200\text{ m}^2/\text{g}$ 、好ましくは $250\sim 900\text{ m}^2/\text{g}$ 程度である。また、合成樹脂吸着剤の好ましい細孔容積、粒度分布、  
最頻度半径は、それぞれ $0.9\sim 1.6\text{ mL/g}$ であり、 $250\text{ }\mu\text{m}$ 以上が $90\%$ 以上、  
 $30\sim 260$ オングストロームである。より具体的には、セパビーズ（登録商標；三菱  
化学株式会社）、特にセパビーズSP70、SP700、SP850、SP207、さら  
10 に好ましくはSP207（比表面積、細孔容積、粒度分布、最頻度半径は、それぞれ $590\text{ m}^2/\text{g}$ 、 $1.1\text{ mL/g}$ 、 $250\text{ }\mu\text{m}$ 以上が $90\%$ 以上、 $120$ オングストローム）  
を挙げることができる。

これら合成樹脂吸着剤は、吸着処理に先立って予め前処理しておいてもよい。例え  
ば、吸着剤をメタノールなどの溶媒で洗浄して不純物を除去した後、さらに水で洗浄し  
15 てメタノールなどの溶媒を除去することにより行うことができる。

また、これら吸着剤による処理は、バッチ法、カラム法の何れで行ってもよいが、  
比較的少量の吸着剤により効率よく処理できるカラム法が好ましい。吸着剤による処理  
は、少なくとも一回行えばよい。吸着剤と抽出液の割合は、使用する吸着剤の種類など  
に応じて選択できる。

20 合成樹脂吸着処理の対象としてのモロヘイヤエキス溶液は、モロヘイヤ抽出成分を  
含有する溶液、特に水溶液であればよく、特に限定されるものではない。例えば、モロ  
ヘイヤ葉を温水に浸し、またはモロヘイヤピューレに温水を加えて、その含有成分を浸  
出させることにより、あるいは、市販のモロヘイヤエキス粉末を水に溶解させることによ  
って得ることができる。好ましくは、蛋白質分解酵素即ちプロテアーゼ処理を施した  
25 モロヘイヤ酵素処理エキス溶液を用いることにより、より一層優れた血管拡張乃至血管

弛緩作用、即ち血圧降下作用をもたらすことが可能である。

このようなプロテアーゼ処理を施したモロヘイヤ酵素処理エキス溶液は次のようにして得ることができる。

モロヘイヤ酵素処理エキス溶液は、モロヘイヤ加水液、即ち水又は温水にモロヘイヤ葉を混合したモロヘイヤ葉溶液からのモロヘイヤ抽出液、モロヘイヤエキス粉末を水に溶解させたモロヘイヤエキス水溶液又はモロヘイヤピュール溶液等のモロヘイヤエキス溶液に蛋白質分解酵素即ちプロテアーゼを作用させることによって得ることができる。例えば、モロヘイヤ葉の場合、硬い茎の部分除去したモロヘイヤ葉に水又は温水を加水した後、スチーム加熱し、これを破砕処理する。次いで、破砕処理したモロヘイヤ葉を熱風乾燥することによって得られたモロヘイヤ乾燥葉に10倍乃至40倍、好ましくは20倍乃至30倍重量程度の蒸留水熱水を加水する。その後、95℃以上の温度で加熱殺菌処理を施した後、適当な温度まで冷却し、ウォーターバス中で液温を保ったまま、少量の水に溶解した適量のプロテアーゼを原料の乾燥葉重量乃至乾燥葉相当重量に対して適量添加する。プロテアーゼを添加した後、10分おきに攪拌を行い、プロテアーゼ添加から30分乃至2時間、好ましくは45分乃至90分経過後、95℃乃至沸騰状態で5分から10分間保持することによりプロテアーゼを失活させ、目の開き850 $\mu$ mのふるいでろ過後、No. 2のろ紙を用いて吸引ろ過することにより、モロヘイヤ酵素処理エキス溶液を得ることができる。合成樹脂による吸着処理は、好ましくはろ過後の溶液、少なくとも固液分離してモロヘイヤ葉等を除去した溶液を用いる。プロテアーゼ処理のための液温、酵素濃度、pH等の処理条件は、使用するプロテアーゼが最適に作用するように調整すればよい。

モロヘイヤ酵素処理エキス溶液を作成するための使用酵素としてはプロテアーゼ酵素であれば特に制限はないが、好適にはエンドペプチダーゼもしくはエンドペプチダーゼを主体とする複合酵素である。また複数の酵素を組み合わせ使用することもできる。

本発明に用いられる蛋白質分解酵素即ちプロテアーゼは、ペプチド結合の加水分解

反応に対して触媒作用をする酵素である。特に限定されるものではないが、エンド型の酵素もしくはエンド型の複合酵素であることが好ましい。中でも *Bacillus* 属の産生する蛋白質分解酵素がより好ましい。さらに好適には *Bacillus subtilis* 及び *Bacillus thermoproteolyticus* の産生する蛋白質分解酵素である。また複数の酵素を組み合わせ

5 使用することもできる。

プロテアーゼ処理する際の pH、処理温度、処理時間、処理濃度は、特に限定されるものではないが、使用酵素によって適宜選択し得る。好ましくは、pH 5.0~8.5、より好ましくは pH 5.5~7.0、処理温度 40℃乃至 70℃、好ましくは、50℃乃至 65℃、そして処理時間 15分乃至 2時間、好ましくは 45分乃至 90分、また、

10 好ましい酵素濃度はモロヘイヤの乾燥重量に換算して 0.01乃至 3重量%、好適には 0.05~2重量%、更に好適には 0.1~1.5重量%である。しかしながら、酵素の種類により、これら条件を変更してもよいことは勿論である。例えば、*Bacillus subtilis* 由来のプロテアーゼを使用する場合には、pH 6.0乃至 7.0、処理温度 55℃乃至 60℃、処理時間 1時間乃至 2時間、処理濃度はモロヘイヤの乾燥重量の 0.1乃至 1.

15 0重量%が好ましい。また、*Bacillus thermoproteolyticus* 由来のプロテアーゼのひとつを使用する場合には、pH 6.0乃至 7.0、処理温度 60℃乃至 70℃、処理時間 1時間乃至 2時間、処理濃度はモロヘイヤの乾燥重量の 0.1乃至 1.0重量%が好ましい。

酵素処理後は、加熱により酵素を失活させ、濾過等任意の方法で固液分離を行い、

20 抽出液を回収する。酵素の失活方法は、使用酵素によって適宜選択されるが、加熱によって行うことが可能で、例えば 95℃乃至沸騰状態で 5~10分間程度放置すればよい。

「モロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物」とは、モロヘイヤエキス溶液好ましくはモロヘイヤ蛋白質分解酵素処理エキス溶液を合成樹脂吸着剤で処理し、吸着画分を溶液分離によって得られる合成樹脂吸着画分組成物を意味し、具体的には、モロヘイヤ加水液、

25 即ち水又は温水にモロヘイヤ葉を混合したモロヘイヤ葉溶液から得られるモロヘイヤ抽

出液、モロヘイヤエキス粉末を水に溶解させたモロヘイヤエキス水溶液又はモロヘイヤ  
ピュール溶液等のモロヘイヤエキス溶液、又はこれらをプロテアーゼ処理してなるモロ  
ヘイヤ酵素処理エキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、合成樹脂吸着剤へ通液し水  
押し後、例えば 60%エタノールを通液して回収することにより溶出処理して得られる合  
5 成樹脂吸着画分組成物を意味する。これら合成樹脂吸着画分組成物は、液状又は固体状  
であってもよく、合成樹脂吸着画分液それ自体、それを濃縮した濃厚な濃縮液、さら  
にはそれらを凍結乾燥した粉体、或いは該粉体を固めてなる錠剤であってもよい。

なお、本明細書中では、モロヘイヤエキス溶液又はこれらをプロテアーゼ処理して  
なるモロヘイヤ酵素処理エキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶  
10 出溶媒により溶出処理して得られる液状の合成樹脂吸着画分組成物及びそれを乾燥して  
粉末化したものをモロヘイヤ分画処理エキス又は分画処理エキス、あるいは吸着処理エ  
キス又は吸着画分エキスと呼ぶこともある。溶出処理は、使用する合成樹脂吸着剤に適  
した溶出溶媒を選定することができる。芳香族系の合成樹脂吸着剤を用いた場合には、  
多量の水を用いても良いし、より効率を上げるために 50~70%、好ましくは 55~  
15 65%濃度に水で希釈したエタノールを用いることができる。

このようにして得られたモロヘイヤ分画処理溶液及びそれを濃縮した濃縮液は脱ア  
ルコールしてそのまま、或いは果汁や野菜ジュース等の他の清涼飲料水に混合して飲料  
として使用できる。また、それを凍結乾燥した粉体又は固形錠剤からなるモロヘイヤ合  
成樹脂吸着画分組成物は、それ自体、健康食品、機能性食品、健康補助食品等として利  
20 用できる他、清涼飲料水や食品の配合剤として使用することができる。このように本発  
明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は、医薬品の他、食品や食品用配合剤、ある  
いは容器詰飲料として有効に利用することができる。本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着  
画分組成物を含有してなる飲食物の好ましい形態は、該合成樹脂吸着画分組成物を含有  
してなる飴、ゼリー、錠菓、飲料、スープ、麺、煎餅、和菓子、冷菓、焼き菓子等の食品  
25 や飲料であり、特に好ましくは、該合成樹脂吸着画分組成物を含有してなる果汁飲料、

野菜ジュース、果物野菜ジュース、茶飲料、コーヒー飲料、スポーツドリンク等の容器詰飲料である。

本発明で得られるモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は、味・臭いに特異な厭味が少ないことから液状又は固形形態で経口投与により摂取することが可能であり、それ自体または適宜製剤上の都合で賦形剤などと混合して粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤などの形態で投与することができる。摂取量は、年齢、血圧の程度により異なるが、粉体換算で通常1回10mg～2000mgであり、好ましくは1回50mg～1000mg、さらに好ましくは1回100mg～500mgである。また1日1～3回の摂取回数で効果が得られるが、必要に応じて回数を増やすこともできる。また、飲料に含有させる場合は、500mL 当り50mg～2500mg、さらに好ましくは100mg～800mgである。

また、本発明で得られたモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物はそれ自体または適宜製剤上の都合で賦形剤などと混合して粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤などの形態で投与することができる。また、上記のとおり、飴、ゼリー、錠菓、飲料、スープ、麺、煎餅、和菓子、冷菓、焼き菓子など各種の食品に配合・添加して摂取することも可能である。好ましくは、他の飲食物、特に好ましくは、野菜ジュース、果汁ジュース、野菜果汁ミックスジュース、茶飲料、コーヒー飲料、スポーツドリンク等の飲料に適量配合して使用するのがよい。このようにすることにより、野菜ジュース等に含まれる栄養素を日常的に摂取できるばかりでなく、高血圧症の消費者にとっても極自然に血圧上昇抑制剤を摂取することができる。

本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の血圧降下作用の検討は、自然発症性高血圧ラットに本発明のモロヘイヤエキスを経口投与し、投与前、投与後経時的に血圧を測定することにより行った。

さらに本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物が有する血管拡張乃至弛緩作用、即ち血圧降下作用のメカニズムは、従来から報告されているモロヘイヤ葉が含むニコチ

アナミンが有すると考えられているACE阻害活性によるものではなく、血管弛緩作用・血管拡張作用によるものであることも確認した。すなわち本発明のモロヘイヤ酵素処理エキスが有する血圧降下作用は、モロヘイヤ葉が含有するニコチアナミンによるものではないことを確認した。本発明はこれら新しい知見に基づいて完成されたものである。

更に、本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物について詳細にその作用と効果を検討したところ、特に高い血圧に対しては良好に低下させ、やや高めの血圧に対しては軽度に血圧降下の効果を示し、高血圧の病状の程度に即した効き目を示すことが判明した。また、長期投与することで、血圧の上昇を抑制することができること、投与を中止しても急激に血圧が上昇することがなく、摂取のし忘れによる急激なりバウンドがないことが確認された。このように、本発明の合成樹脂吸着画分組成物は、有効性だけでなく、安全性が極めて高いものである。

本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は、モロヘイヤエキス溶液好ましくはモロヘイヤ蛋白質分解酵素処理エキス溶液を合成樹脂吸着剤で処理し、有効成分を含有する吸着画分を溶液分離によって容易に分離精製し取得することができる上、モロヘイヤ葉それ自体や合成樹脂吸着剤処理を施さない従来のモロヘイヤエキスと比較して、その血管弛緩作用、特に血圧降下作用はより強化されることが確認された。本発明の血管弛緩剤は、高血圧症、心不全症、狭心症、心臓弁膜症、虚血性心疾患症若しくは心筋梗塞の治療剤又は予防剤、特に血圧降下剤として有益である。また、モロヘイヤはビタミン類やミネラル類、食物繊維が豊富で栄養価が高い植物であるため、血圧降下作用のある単一の成分を分離精製したものと比較した場合、本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は複数の成分を含有しているため、さらなる効果も期待できる。また、本発明のモロヘイヤ分画処理エキスは、有効性だけでなく、安全性が高いことが確認されていることから、医薬品、食品、特に特定保健用食品、健康食品、野菜ジュース等の飲料、特に容器詰飲料等に好適である。

なお、本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物をさらに詳細に分析した結果、分子量の大きさによって、4つの画分に分けられ ( $R > S_1 > S_2 > T$ )、そのうち分子量が小さな画分 ( $S_2$ および  $T$ ) により強い血圧降下作用があることが明らかになった。また、その画分にアデニンが含まれることが判明した。同じプリン塩基であるグアノシンとアデノシンは本発明のモロヘイヤ分画処理エキス中に極微量しか含まれていない。

以下、本発明を実施例により具体的に説明する。なお、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

#### [実施例1]

##### 10 1. モロヘイヤエキスA (プロテアーゼ処理なし) の調製;

硬い茎を除去したモロヘイヤ葉をスチーム加熱後、破碎し熱風乾燥を行い、モロヘイヤ乾燥葉を得た。このモロヘイヤ乾燥葉50gに20倍重量の60℃前後の蒸留水熱水を加水し、95℃以上に加熱して殺菌処理を施した後60℃まで冷却し、ウォーターバス中で液温60℃に保ったまま10分おきに攪拌を行った。1時間後に、95℃達温  
15 で5分間保持し、目の開き850 $\mu$ mのふるいでろ過後、次いでNo. 2のろ紙を使用し吸引ろ過を行い、モロヘイヤエキス溶液を得た。このエキス溶液を適当な濃度まで減圧濃縮した後、凍結乾燥を行い6.8gの褐色の粉末を得た。所謂、従来のモロヘイヤエキスである。以下、この粉末を「A」と称する。

##### 20 2. モロヘイヤ吸着画分エキスAe (プロテアーゼ処理なし。SP207吸着処理あり) の調製;

プロテアーゼ未処理のモロヘイヤ葉から得られた上記エキスAの吸着画分を調製した。

純水に湿潤状態の合成吸着剤SP207 (三菱化学社製) 80ccをガラスカラムへ充填し、十分な純水を通液してSP207充填カラムとした。

25 15gの乾燥葉を使用し30倍加水で処理する以外は上記「1. モロヘイヤエキス

A (プロテアーゼ処理なし。吸着処理なし) の調製」と同様の処理を実施し、得られた  
モロヘイヤエキス溶液 300 mL (B r i x 0. 9、p H 6. 0) を前記ガラスカラム  
へ S V = 4 の速度で通液後、1 0 b e d 容量の純水にて十分にモロヘイヤエキス溶液を  
洗い出した。モロヘイヤエキス溶液通液開始直後からカラム排出液を回収し、素通り画  
5 分とした。次いで、60%濃度に調整したエタノールを 5 b e d 容量通液し、通液開始  
から 1 / 2 b e d 容量のカラム排出液を廃棄した後、カラム排出液の回収を開始しエタ  
ノール通液終了まで回収した。これを吸着画分とした。素通り画分、吸着画分をそれぞ  
れ減圧濃縮した後、凍結乾燥して、粉末状の素通り画分エキス (Ae1) 1. 9 g および  
吸着画分エキス (Ae2) 0. 29 g を得た。なお、「b e d」とは、吸着剤の充填容積  
10 (=かさ) を示す。

#### [実施例 2]

##### 1. モロヘイヤ酵素処理エキス B (プロテアーゼ処理あり) の調製;

硬い茎を除去したモロヘイヤ葉をスチーム加熱後、破碎し熱風乾燥を行い、モロヘ  
15 イヤ乾燥葉を得た。このモロヘイヤ乾燥葉 50 g に 20 倍重量の 60°C 前後の蒸留水熱  
水を加水し、95°C 以上に加熱して殺菌処理を施した後 60°C まで冷却し、ウォーター  
バス中で液温 60°C に保ち、原料の乾燥モロヘイヤ葉に対して 0. 7% 重量のプロテア  
ーゼ N アマノ G (株式会社天野エンザイム社製) を少量の水に溶解して添加した。その  
後、液温 60°C に保ったまま 10 分おきに攪拌を行った。酵素添加から 1 時間経過後、  
20 96°C 達温で 5 分間保持し、目の開き 850 μ m のふるいでろ過後、次いで No. 2 の  
ろ紙を使用し吸引ろ過を行い、モロヘイヤ酵素処理エキス溶液を得た。この酵素処理エ  
キス溶液を適当な濃度まで減圧濃縮した後、凍結乾燥を行い 15. 75 g の褐色のモロ  
ヘイヤ酵素処理エキスの粉末を得た。以下、この粉末を「B」と称する。

##### 2. モロヘイヤ吸着画分エキス Be (プロテアーゼ処理あり。S P 2 0 7 吸着処理あり)

25 の調製;

実施例1と同様に、純水に湿潤状態の合成吸着剤SP207（三菱化学社製）80ccをガラスカラムへ充填し、十分な純水を通液してSP207充填カラムとした。

15gの乾燥葉を使用し30倍加水で処理する以外は上記「1. モロヘイヤ酵素処理エキスB（プロテアーゼ処理あり）の調製；」と同様の処理を実施し、得られたモロヘイヤ酵素処理エキス溶液300mL（Brix1.2, pH6.0）を前記ガラスカラムへSV=4の速度で通液後、10bed容量の純水にて十分にモロヘイヤエキスを洗い出した。モロヘイヤ酵素処理エキス溶液通液開始直後からカラム排出液を回収し、素通り画分とした。次いで、60%濃度に調整したエタノールを5bed容量通液し、通液開始から1/2bed容量のカラム排出液を廃棄した後、カラム排出液の回収を開始しエタノール通液終了まで回収した。これを吸着画分とした。素通り画分、吸着画分をそれぞれ減圧濃縮した後、凍結乾燥して、粉末状の素通り画分エキス（Be1）2.1gおよび吸着画分エキス（Be2）0.8gを得た。なお、「bed」とは、吸着剤の充填容積（=かさ）を示す。

3. モロヘイヤ吸着画分エキスB'e2（プロテアーゼ処理あり。SP70吸着処理あり）の調製；

純水に湿潤状態の合成吸着剤SP70（三菱化学社製、芳香族系合成吸着剤）80ccをガラスカラムへ充填し、十分な純水を通液してSP70充填カラムとする。

上記「1. モロヘイヤ酵素処理エキスB（プロテアーゼ処理あり）の調製」と同様の処理を実施して得られたモロヘイヤ酵素処理エキス溶液300mL（Brix1.2, pH6.0）を前記ガラスカラムへSV=4の速度で通液後、10bed容量の純水にて十分にモロヘイヤエキスを洗い出した。モロヘイヤエキス溶液通液開始直後からカラム排出液を回収し、素通り画分とした。次いで、60%濃度に調整したエタノールを5bed容量通液し、通液開始から1/2bed容量のカラム排出液を廃棄した後、カラム排出液の回収を開始しエタノール通液終了まで回収した。これを吸着画分とした。素通り画分は廃棄し、吸着画分を減圧濃縮した後、凍結乾燥して吸着画分エキス（B'e2）

0. 57 gを得た。ここで用いる「b e d」とは、吸着剤の充填容積（=かさ）を示す。

[実施例3]

1. モロヘイヤ酵素処理エキスB'（プロテアーゼ処理あり）の調製；

5 硬い茎を除去したモロヘイヤ葉をスチーム加熱後、破碎し熱風乾燥を行い、モロヘイヤ乾燥葉を得た。このモロヘイヤ乾燥葉50gに20倍重量の60℃前後の蒸留水熱水を加水し、95℃以上に加熱して殺菌処理を施した後60℃まで冷却し、ウォーターバス中で液温60℃に保ち、原料の乾燥モロヘイヤ葉に対して0.7%重量のサモアーゼY10（大和化成製）を少量の水に溶解して添加した。その後、液温60℃に保った  
10 まま10分おきに攪拌を行った。酵素添加から1時間経過後、95℃達温で5分間保持し、目の開き850 $\mu$ mのふるいでろ過後、次いでNo. 2のろ紙を使用し吸引ろ過を行い、モロヘイヤ酵素処理エキス溶液を得た。この酵素処理エキス溶液を適当な濃度まで減圧濃縮した後、凍結乾燥を行い7gの褐色の酵素処理エキス粉末を得た。以下、この粉末を「B'」と称する。

15 2. モロヘイヤ吸着画分エキスB'' e（プロテアーゼ処理あり。SP207吸着処理あり）の調製；

純水に湿潤状態の合成吸着剤SP207（三菱化学社製）1500ccをガラスカラムへ充填し、十分な純水を通液してSP207充填カラムとする。

500gの乾燥葉を使用し20倍加水で用いる酵素はPC10F（大和化成製，  
20 *Bacillus thermoproteolyticus* Rokko 由来）で処理する以外は実施例2の2と同様の処理を実施し得られたモロヘイヤエキス溶液10000mL（B r i x 1. 2, pH6.1）を前記ガラスカラムへSV=4の速度で通液後、10bed容量の純水にて十分にモロヘイヤエキスを洗い出す。モロヘイヤエキス溶液通液開始直後からカラム排出液を回収し、素通り画分とする。次いで、60%濃度に調整したエタノールを5bed容量  
25 通液し、通液開始から1/2bed容量のカラム排出液を廃棄した後、カラム排出液の

回収を開始しエタノール通液終了まで回収する。これを吸着画分とする。素通り画分は廃棄し、吸着画分を減圧濃縮した後、凍結乾燥して吸着画分エキス (B' e2) 23.

1 gを得た。ここで用いる「b e d」とは、吸着剤の充填容積 (=かさ) を示す。

5 [実施例 4]

1. モロヘイヤピューレからのモロヘイヤエキス C' (プロテアーゼ処理なし) の調製 ;

硬い茎を除去したモロヘイヤ葉茎をスチームブランチング後、破碎しピューレ状にした状態で凍結保管した。この凍結ピューレを流水中で解凍し、ピューレ重量に対し 1.5 倍重量の蒸留水を加水し、ジューサーミキサーにて均一に混合した。これを 95℃以上  
10 に加熱殺菌後 60℃まで冷却し、ウォーターバス中で液温 60℃に保ち、その後、10 分おきに攪拌を行った。

1 時間経過後、95℃達温で 5 分間保持し、遠心分離器にて処理しピューレ分を除去した。これを目の開き 850 μm のふるいでろ過後、次いで No. 2 のろ紙を使用し吸引ろ過を行い、モロヘイヤエキス (C') を得た。

15 2. モロヘイヤ吸着画分エキス C' e (プロテアーゼ処理なし。SP207 吸着処理あり) の調製 ;

次に純水に湿潤状態の合成吸着剤 SP207 (三菱化学社製) 80 cc をガラスカラムへ充填し、十分な純水を通液して SP207 充填カラムとする。上記操作により得られたピューレ由来のモロヘイヤエキス溶液 300 mL (B r i x 0. 8, p H 7. 0)  
20 を前記ガラスカラムへ SV=4 の速度で通液後、10 b e d 容量の純水にて十分にモロヘイヤエキス溶液を洗い出す。モロヘイヤエキス溶液通液開始直後からカラム排出液を回収し、素通り画分とする。次いで、60%濃度に調整したエタノールを 5 b e d 容量通液し、通液開始から 1 / 2 b e d 容量のカラム排出液を廃棄した後、カラム排出液の  
25 回収を開始しエタノール通液終了まで回収する。これを吸着画分とする。素通り画分、吸着画分をそれぞれ減圧濃縮した後、凍結乾燥して素通り画分エキス (C' e1) 1. 8

9 g および吸着画分エキス (C' e2) 0. 1 4 g を得た。ここで用いる「b e d」とは、吸着剤の充填容積 (=かさ) を示す。

[実施例 5]

5 1. モロヘイヤピューレからのモロヘイヤ酵素処理エキスC (プロテアーゼ処理あり) の調整 ;

硬い茎を除去したモロヘイヤ葉茎をスチームブランチング後、破碎しピューレ状にした状態で凍結保管した。この凍結ピューレを流水中で解凍し、ピューレ1000 g に対し1. 5倍重量の蒸留水(1500 g)を加し、ジューサーミキサーにて均一に混  
10 合した。これを95℃以上に加熱殺菌後60℃まで冷却し、ウォーターバス中で液温60℃に保ち初期ピューレ重量(1000 g)に対し0. 05%重量のプロテアーゼNア  
マノG(株式会社天野エンザイム社製)を少量の水に溶解して添加した。その後、10  
分おきに攪拌を行った。酵素添加から1時間経過後、95℃達温で5分間保持し、遠心  
15 分離器にて処理しピューレ分を除去した。これを目の開き850 μmのふるいでろ過後、  
次いでNo. 2のろ紙を使用し吸引ろ過を行い、ピューレ由来のモロヘイヤ酵素処理エ  
キス溶液を得た。このエキス溶液を適当な濃度まで減圧濃縮後、凍結乾燥を行い23 g  
の褐色の粉末を得た。この酵素処理エキス粉末を以下「C」と称する。

2. モロヘイヤ吸着画分エキスC e (プロテアーゼ処理あり。SP207吸着処理あり) の調製 ;

20 次に純水に湿潤状態の合成吸着剤SP207(三菱化学社製)80ccをガラスカ  
ラムへ充填し、十分な純水を通液してSP207充填カラムとする。上記操作により得  
られたピューレ由来のモロヘイヤ酵素処理エキス溶液300mL(Brix1. 6, p  
H6. 5)を前記ガラスカラムへSV=4の速度で通液後、10bed容量の純水にて  
十分にモロヘイヤエキスを洗い出す。モロヘイヤ酵素処理エキス溶液通液開始直後から  
25 カラム排出液を回収し、素通り画分とする。次いで、60%濃度に調整したエタノール

を 5 b e d 容量通液し、通液開始から 1 / 2 b e d 容量のカラム排出液を廃棄した後、カラム排出液の回収を開始しエタノール通液終了まで回収する。これを吸着画分とする。素通り画分、吸着画分をそれぞれ減圧濃縮した後、凍結乾燥して素通り画分エキス (C e 1) 2. 1 g および吸着画分エキス (C e 2) 0. 9 g を得た。ここで用いる「b e d」  
5 d」とは、吸着剤の充填容積 (=かさ) を示す。

[実施例 6]

モロヘイヤ吸着画分エキス De2 の調製 (酵素処理あり。S P 8 5 0 吸着処理あり) ;

純水に湿潤状態の合成樹脂吸着剤 S P 8 5 0 (三菱化学社製, 芳香族系合成吸着剤)  
10 8 0 c c をガラスカラムへ充填し、十分な純水を通液して S P 8 5 0 充填カラムとする。  
実施例 2 のモロヘイヤ酵素処理エキス B と同様の処理を実施し得られたモロヘイヤエキス  
溶液 3 0 0 m L (B r i x 1. 0, p H 6. 0) を前記ガラスカラムへ S V = 4 の速  
度で通液後、1 0 b e d 容量の純水にて十分にモロヘイヤエキスを洗い出す。モロヘイ  
ヤエキス溶液通液開始直後からカラム排出液を回収し、素通り画分とする。次いで、6  
15 0 % 濃度に調整したエタノールを 5 b e d 容量通液し、通液開始から 1 / 2 b e d 容量  
のカラム排出液を廃棄した後、カラム排出液の回収を開始しエタノール通液終了まで回  
収する。これを吸着画分とする。素通り画分は廃棄し、吸着画分を減圧濃縮した後、凍  
結乾燥して吸着画分エキス (D e 2) 0. 4 7 g を得た。ここで用いる「b e d」とは、  
吸着剤の充填容積 (=かさ) を示す。

20 上記実施例で使用した酵素は下記表のとおりである。

表 2

## &lt;使用酵素&gt;

			使用酵素	使用樹脂	原料
実施例 1	1	A	なし	なし	乾燥葉
	2	Ae (Ae1, Ae2)	なし	SP207	乾燥葉
実施例 2	1	B	プロテアーゼ N7M/G	なし	乾燥葉
	2	Be (Be1, Be2)	プロテアーゼ N7M/G	SP207	乾燥葉
	3	B' e2	プロテアーゼ N7M/G	SP70	乾燥葉
実施例 3	1	B'	サモラーゼ Y-10	なし	乾燥葉
	2	B'' e2	サモラーゼ PC10F	SP207	乾燥葉
実施例 4	1	C'	なし	なし	ピューレ
	2	C' e (C' e1, C' e2)	なし	SP207	ピューレ
実施例 5	1	G	プロテアーゼ N7M/G	なし	ピューレ
	2	Ce (Ce1, Ce2)	プロテアーゼ N7M/G	SP207	ピューレ
実施例 6		De2	プロテアーゼ N7M/G	SP850	乾燥葉

## [試験例 1]

## 1. モロヘイヤエキス溶液（吸着処理なし）の血圧降下評価試験；

## 5 自然発症性高血圧ラット（SHR）への単回投与時の降圧効果；

自然発症性高血圧ラット（以下、SHR）を用いて単回投与時の降圧効果を調べた。

上記実施例 1、2、3 及び 5 で得られた吸着処理を行う前段階の粉末状のモロヘイヤエキス A、酵素処理エキス B、酵素処理エキス B'、酵素処理エキス C を 1000 mg / kg（SHR の体重）となるように注射用水に溶解し、粉末 A、B、B' については 10 17 週齢（雄性）、粉末 C については 18 週齢（雄性）の高血圧自然発症ラット（SHR / Hos、SPF）へ胃ゾンデを用いて単回経口投与を行った。投与前、投与後 4 時間後、8 時間後及び 24 時間後に非観血的に血圧を測定した。試験に用いた動物数は下記表のとおりである。なお、各群 7 匹で行ったが、明らかに異常な血圧変動を示した個体のデータは削除した。

## 15 表 3

## &lt;試験群&gt;

サンプル	投与量	動物数
実施例 1 エキス A	1000mg/kg	7
実施例 2 エキス B	1000mg/kg	6
実施例 3 エキス B'	1000mg/kg	5
実施例 5 エキス C	1000mg/kg	6

結果 (粉末A、B、B') ;

投与 2 4 時間後までの収縮期血圧の変動を図 1 に示す。投与 2 4 時間後までの拡張  
5 期血圧の変動を図 2 に示す。投与 2 4 時間後までの心拍数の変動を図 3 に示す。投与 2  
4 時間後までの平均血圧の変動を図 4 に示す。投与 2 4 時間後までのSHRの収縮期血  
圧の日内変動を図 5 に示す。

結果 (粉末B、B' の粉末Aとの比較) ;

モロヘイヤエキスAの血圧変動は日内変動幅であると判断できる。一方、酵素処理  
10 エキスBおよび酵素処理エキスB' は、投与 4 時間後にそれぞれ強い血圧降下を示した。  
また、平均血圧においても B および B' は投与後 4 時間後にそれぞれ強い血圧降下を示  
した。

上記実施例 2 (B) 及び実施例 3 (B') の試験結果から明らかなように、モロヘイ  
ヤ葉を蛋白分解酵素で処理することによって得られた酵素処理エキスは、酵素処理を行  
15 わない葉から得られた従来のエキスよりも、より強い血圧降下作用を示した。各図にお  
いて、各値は平均値を示す。

結果 (粉末C) ;

投与 2 4 時間後までの収縮期血圧および拡張期血圧の変動を図 6 に示す。

収縮期血圧および拡張期血圧ともに投与 8 時間後において投与前の測定値と比較して統

計学的に有意な低下が確認された。モロヘイヤピューレ原料においてもプロテアーゼ酵素処理により、その血圧降下作用が増強されることが確認された。

[試験例 2]

5 モロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキス（吸着処理あり）の血圧降下評価試験；

自然発症性高血圧ラット（SHR）への単回投与時の降圧効果；

合成樹脂吸着画分エキスAe2（プロテアーゼ処理なし。吸着処理あり）とモロヘイヤ

エキスA（プロテアーゼ処理なし。吸着処理なし）の比較；

17週齢の雄性SHR/Hos（n=8）に実施例1で得られた吸着画分エキス  
10（Ae2）を1000mg/kg（SHRの体重）となるように単回経口投与し、その効果を確認した。投与24時間後までの収縮期血圧の変動を図7に示す。

結果（粉末Ae2とAの比較）；；

吸着画分エキスAe2（プロテアーゼ処理なし。吸着処理あり）は、同実施例1の  
モロヘイヤエキスA（プロテアーゼ処理なし。吸着処理なし）に関する結果（図1のA  
15 参照）と比較して24時間後で強い血圧降下作用を示した。これにより、吸着画分エキスが持続性の優れた血圧効果作用を有することが明らかとなった。

[試験例 3]

20 合成樹脂吸着画分エキスBe（プロテアーゼ処理あり。吸着処理あり）の単回投与時の降圧効果；

上記試験例2と同様に、実施例2で得られた吸着画分（Be1、Be2）の各粉末を用いて雄SHR/Hosラットへの単回投与試験を実施した。投与ボリュームは10mL/kgとした。試験に用いた動物数は下記表のとおりである。

表4

	投与量	動物数
素通り画分 (Be1)	1000mg/kg	7
吸着画分 (Be2)	1000mg/kg	7

結果 (粉末Be1、Be2) ;

上記実施例2で得られた合成樹脂吸着画分エキス (Be1及びBe2) の投与24  
 5 時間後までの平均血圧の変動を図8に示す。実施例2で得られたプロテアーゼ処理粉末  
 B (酵素処理あり。樹脂吸着処理なし。) の投与24時間後までの平均血圧の変動を図9  
 に示す。 図8より、素通り画分よりも吸着画分の方がより強い血圧降下作用を示して  
 おり、またその効果は24時間後まで持続していることが示された。図9の結果と比較  
 して、吸着画分は血圧降下作用が継続的であり、血圧降下作用の強さも優れている。

10

[試験例4]

前処理としてのプロテアーゼ処理の効果試験 ;

次にプロテアーゼ未処理のモロヘイヤ吸着画分エキスAe2 (実施例1) と、プロ  
 テアーゼ処理を施したモロヘイヤ吸着画分エキスBe2 (実施例2) の比較を行った。

15 その結果を図10及び表5に示す。

表5

	Brix 測定値より算出さ れる可溶性固形分量	吸着画分	吸着画分 / (Brix 測定値より算出され る可溶性固形分量) ×100
実施例1 Ae2	300mL × 0.009 = 2.7 (g)	0.29 (g)	10.7%
実施例2-2 Be2	300mL × 0.012 = 3.6 (g)	0.8 (g)	22.2%

また、実施例4のC'e2と実施例5のCe2吸着画分収量の比較を行ったところ、

20 モロヘイヤピューレを固液分離して得られる溶液に関して、酵素処理を行った実施例で

は酵素処理を行わない実施例と比較して6.4倍収量が多かった。

このことからピューレ状態の場合においても酵素加水分解処理後に吸着処理を行うことで（実施例）より強い血圧降下作用を示す吸着画分を効率よく得ることができることが確認された。

- 5       ところで、それぞれの吸着処理へ供した溶液のB r i x測定値より算出される可溶性固形分量（溶液ボリューム×B r i x測定値÷100）に対する吸着画分の割合は次式で算出される。

$$\text{吸着画分} / (\text{B r i x測定値より算出される可溶性固形分量}) \times 100 (\%)$$

- 本実施例におけるこれら吸着画分の割合は、測定の結果、酵素処理を行わない場合、
- 10 実施例1では10.7%、実施例4では5.8%であった。一方、酵素処理を行ったエキスの合成樹脂吸着を行った場合は、実施例2-3は19%、実施例2-2では22.2%、実施例3-2では19.3%、実施例5では18.8%、実施例6では15.7%であった。

- 以上のことから、モロヘイヤをプロテアーゼ処理したエキスはその状態に関らず固
- 15 液分離後、No. 2のろ紙でろ過した溶液が本特許製法で得られる吸着画分をその溶液のB r i x測定値より算出される可溶性固形分量（溶液ボリューム×B r i x測定値÷100）に対して15%以上含有する組成であると定義することができる。

- 使用する合成吸着剤の量は通液する溶液中の吸着成分を十分に吸着できる量であればよく、好ましくは通液する溶液をB r i x 1%にしたときの容積に対しその1/8倍
- 20 量以上の合成吸着剤を使用する。

#### 結果；

- 図10から明らかなおおり、血圧降下作用の面で優れている吸着画分は、プロテアーゼ処理を施していない実施例1の画分エキスA eでは0.29gであったが、予めプロテアーゼ処理を施した実施例2では0.8gであり、酵素処理を行わないものと比べて
- 25 て酵素処理を行ったものの方がおよそ2.8倍多かった。また上記表5から明らかなお

おり、各例の全体の固形分量（素通り画分+吸着画分）に対する吸着画分の割合は、実施例1の画分エキスA e 2で10.7%であり実施例2の画分エキスB e 2では22.2%であり、酵素処理を行った場合は、酵素処理を行わなかった場合に比べておよそ2.1倍多かった。以上の結果から、分画処理を施すに先立ってプロテアーゼによる酵素処理を行うことで、より強い血圧降下作用を示す吸着画分エキスを効率よく得ることができることが確認できた。

#### [試験例5]

##### 単回投与による有効性と安全性の確認試験；

10 実施例2で得られたモロヘイヤ吸着画分エキスB e 2の有効性と安全性を確認する目的で、異なる週齢のSHR/Ho sにエキスを単回経口投与し、その血圧変動を比較した。試験に用いたSHR/Ho sは加齢に伴い血圧が上昇する。そのため、週齢が異なるラットでの比較は、高血圧の重症度の違いに対する効果を比較することとなる。また、投与24時間後の血圧変動を確認することで、翌日の飲み忘れなどの場合に有害事  
15 象が起こらないかを確認した。

試験は、14週齢、あるいは23週齢の雄性SHR/Ho sに実施例2で得られたモロヘイヤ合成樹脂吸着画分エキスB e 2を1000mg/kg単回経口投与し、その効果を確認した。結果を図11に示す。各値は平均値+あるいは-標準誤差を示す（n=7）。異なる文字（アルファベット）間では統計学的に有意な差があることを示す。

##### 20 結果；

14週齢のSHR/Ho sは投与前の血圧が203.80mmHgであったが、投与24時間後には196.63mmHgまで低下した。一方、23週齢のSHR/Ho sは投与前の血圧が226.81mmHgであったが、投与24時間後には202.43mmHgまで低下した。すなわち、投与前の血圧測定値に関係なく、投与24時間後には200mmHg前後にまで低下した。投与28時間後の血圧測定の結果、201.7

5 mmHg を示した。

#### 考察；

投与 2 8 時間後の血圧測定の結果、投与 2 4 時間後までに低下した血圧を維持され、  
5 急激なりバウンドはないことも確認された。実施例 2 で得られたモロヘイヤ合成樹脂吸  
着画分エキス Be2 は高い血圧に対しては良好に低下させ、低い血圧に対しては軽度に低  
下させることが確認された。すなわち、正常な血圧の人が摂取しても異常な低血圧を呈  
示しないことが示唆された。また、投与を中止しても急激に血圧が上昇しなかった。すな  
わち、摂取し忘れても低下した血圧が急激に上昇せず、それによる副作用が生じないこ  
10 とが示唆された。よって、当該エキスは有効性だけでなく、安全性が高い素材であるこ  
とが確認された。

#### [試験例 6]

#### 長期投与による血圧上昇抑制効果の確認試験；

15 5 週齢の雄性 SHR/Ho s に実施例 2 の吸着画分エキス Be 2 を 9 0 0 m g / k  
g (SHR の体重) で 1 日 1 回、5 6 日間反復経口投与した。対照群には注射用水を同  
様に投与した。結果を図 1 2 に示す。各値は平均値を示す。また、図中、「\*」は対照群  
と比較して危険率 5 % 以下で統計学的に有意な差があったことを示す。「\*\*」は対照群と  
比較して危険率 1 % 以下で統計学的に有意な差があったことを示す。

#### 20 結果；

対照群では加齢とともに血圧は上昇した。しかし、モロヘイヤ吸着画分エキス投与  
群では投与 4 週目より、対照群と比較して統計学的に有意な血圧上昇抑制が確認された。  
この結果から、モロヘイヤ吸着画分エキスは継続摂取することで血圧の上昇を抑制でき  
ることが確認された。

## [試験例 7]

## I. 血圧降下作用機序の確認;

## 1. ACE 阻害活性の有無について;

モロヘイヤ中に極めて微量に含まれるニコチアミンが ACE 阻害活性を有することが知られている。そこで、本発明のモロヘイヤ分画処理エキスの血圧降下の機序を検討する為に、すでに報告されている ACE 阻害活性に関して検討した。

雄性 SD ラット 7~10 週齢をペントバルビタール (50 mg/kg, ip) で麻酔後、体表面心電図 (II 誘導) を記録した。大腿動脈にカニューレを挿入して全身血圧を測定した。大腿静脈には昇圧物質投与用のカニューレを挿入し、十二指腸内には検  
10 体注入用のカテーテルを留置した。麻酔状態は、ペントバルビタールを適宜皮下投与 (目安: 10~15 mg/kg/hr) して維持した。循環動態が安定した時点で、アンジオテンシン I (1 µg/kg, iv) を静脈内投与した。すると、アンジオテンシン I は生体内のアンジオテンシン変換酵素 (ACE) の働きでアンジオテンシン II に変わり、血圧を上昇させた。血圧が回復したら実施例 2 のモロヘイヤ吸着画分エキス Be2 を更に  
15 陽イオン交換処理し、その吸着画分として得られるさらに精製したエキス (実施例 7 参照) を十二指腸内に投与し (500 mg/kg)、投与 30 分および 60 分の時点で同用量のアンジオテンシン I を静脈内投与して昇圧反応を確認した。結果を図 13 に示す。各値は平均値 + 標準誤差を示す (N=6)。

## 結果;

20 エキス投与時 (Control) におけるアンジオテンシン I 投与による昇圧反応は +56.2 mmHg であった。投与 30 分後および 60 分後にアンジオテンシン I を投与した場合、昇圧反応はそれぞれ +57.7 mmHg、+58.2 mmHg であり、変化は認められなかった。すなわち、モロヘイヤ吸着画分エキス投与によりアンジオテンシン I からアンジオテンシン II への変換を阻害する作用は確認できなかった。よって、モロヘ  
25 イヤ吸着画分エキスには、すでに報告されているような ACE 阻害作用は無いことが確

認された。

## 2. 血管弛緩作用に関する試験；

本発明のモロヘイヤ吸着画分エキスは従来から報告されているACE阻害活性がないことが上記試験例で確認された。そこで、血圧降下のメカニズムを解明する為にさらなる試験を実施した。

雄性SDラットから摘出した胸部大動脈を用いてリング状標本を作成し、酸素化した37℃のTyrode液中で血管の張力を計測した。血管収縮物質(phenylephrine)で血管を収縮させた後(Ph e 0.1 μM)に、実施例2のモロヘイヤ吸着画分エキスBe 2を、100、300、1000、3000 μg/mL添加し、血管弛緩作用の有無を観察した。その結果を図14に示す。また、上記試験例7の1で使用したエキスをさらに精製したものについても、同様の実験を行った。その結果を図15に示す。なお、Phenylephrineを添加した際の張力を100%とし、それより低下した場合を血管が弛緩した状態とした。

なお、精製は下記実施例7のようにして行った。

## 15 結果；

図14に示すように、本発明のモロヘイヤエキスは1000 μg/mL以上で統計学的に有意な弛緩作用を示した。よって、本発明のモロヘイヤ吸着画分エキスの血圧降下作用の作用機序が、血管弛緩作用に基づくことが明らかとなった。これは、モロヘイヤに関する、新たな知見である。本発明のモロヘイヤ吸着画分エキスは1000 μg/mLより統計学的に有意な弛緩作用を示した。また、図15から明らかなおり、さらに精製したものについては、500 μg/mLより統計学的に有意な弛緩作用を示した。各値は平均値±標準誤差を示す。

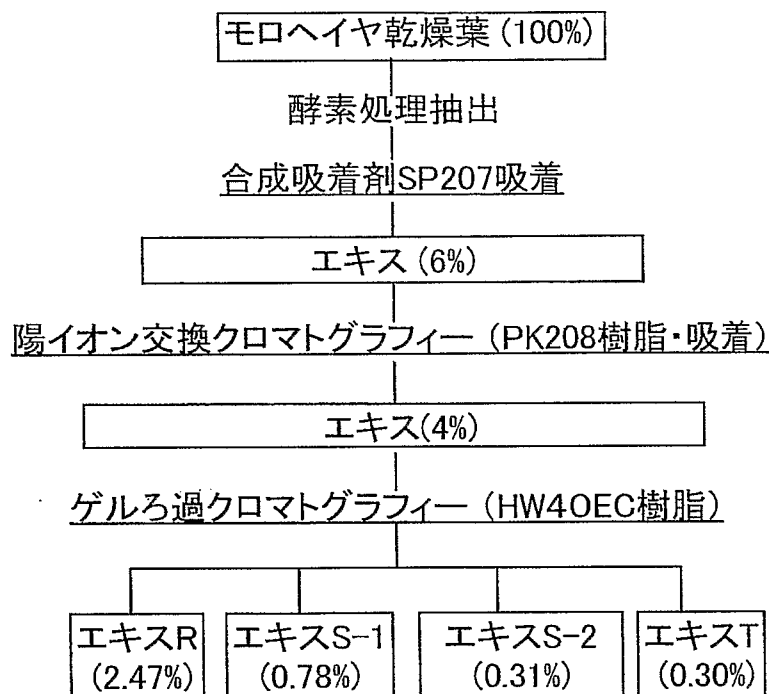
各値は平均値±標準誤差を示す(N=4)。「\*」は、phenylephrine添加時の張力と比較して統計学的に有意な差があったことを示す。

## [実施例 7]

モロヘイヤエキスからの血圧降下活性画分の精製；

試験例 7 の 2 におけるモロヘイヤ吸着画分エキス B e 2 の精製は以下のよう  
行った。

## 5 表 6



実施例 2 の方法により、モロヘイヤ吸着画分エキス Be2 を調製した。その後、前記  
吸着剤画分 28.4 g を使用し、PK208 樹脂を用いた陽イオン交換カラムクロマト  
10 グラフィー、HW40EC 樹脂を用いたゲルろ過クロマトグラフィーにより、分子量の  
大きい画分からエキス R (11.12 g)、エキス S-1 (3.48 g)、エキス S-2  
(1.39 g)、エキス T (1.36 g) を得た。それぞれの画分について、血管弛緩作  
用を比較したところ、S-2 及び T に強い血管弛緩作用が観察された。結果を図 17 に  
示す。

15 T からは、イソケルシトリン、ヒドロペリリン等のフラボノイド誘導体がピーク

として検出された。S-2画分からはアデニンが検出された。

[試験例8]

反射性頻脈発生の確認試験；

- 5 ヒドララジン等の血管を拡張する医薬品には、血管抵抗減少に伴う反射性の心拍数の増加が知られている。反射性の心拍数の増加は、頻脈、心悸亢進、胸内苦悶、逆説的  
10 血圧上昇、動悸などにつながり、患者のQOLや医薬品服用に対するコンプライアンス低下につながる。モロヘイヤには試験例7で確認されたように、過剰に収縮した血管を弛緩させる作用がある。そこで、試験例7で使用したさらに精製したエキスの投与時の  
10 心拍数の変化を確認した。

- 雄性SDラット7~10週齢をペントバルビタール(10mg/kg、ip)で麻酔後、体表面心電図(II誘導)を記録した。大腿動脈にカニューレを挿入して全身血圧を測定した。大腿静脈には昇圧物質投与用のカニューレを挿入し、十二指腸内には検体  
15 注入用のカテーテルを留置した。麻酔状態は、ペントバルビタールを適宜皮下投与(目安：10~15mg/kg/hr)して維持した。循環動態が安定した時点で検体(500mg/kg)を十二指腸内に投与し、30分および60分の時点で心拍数を測定した。結果を図16に示す。各値は平均値を示す(N=6)。「\*\*」は投与直後と比較して危険率1%以下で統計学的に有意な差があったことを示す。

結果；

- 20 試験例7で使用したさらに精製したエキスの投与時点の心拍数は426.33B.P.M(非麻酔下での参考値は372~419B.P.M)であった。しかし、エキスを投与60分後において心拍数には有意な低下(394.17B.P.M P<0.01)が認められた。よって、モロヘイヤエキス投与により反射性頻脈は起こらなかった。また、麻酔時に起こった心拍数の増加をむしろ低下させ、正常な心拍数に近づける効果  
25 が確認された。

## [試験例 9]

モロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物中の蛋白質のアミノ酸構成について確認試験；

実施例 2 で得た粉末状の素通り画分エキス (Be 1) および吸着画分エキス (Be 2) を 100 mg/L 濃度になるように調製し、遊離アミノ酸および酸加水分解後のアミノ酸について HPLC 分析を行った。HPLC 分析の条件は下表のとおりである。なお、酸加水分解処理は、サンプル 100~1000 ppm に調整し、その 2 mL を採取し、そこに 6 mol/L 塩酸 0.5 mL を添加してオートクレーブで 121°C 3 時間処理をして行った。結果を図 18 に示す。

10 表 7

カラム	Wakosil-Ⅱ 5C18HG 3.0mm I.D. ×150mm		
容離液 A	50mM 酢酸ナトリウム		
容離液 B	100%エタノール		
流速	0.43mL/min		
試料量	5μL		
検出器	蛍光検出器 励起波長 340nm 検出波長 455nm		
グラジエントプログラム	時間(分)	A	B
	0.01	91	9
	30	91	9
	75	60	40
	75.5	40	60
	80.5	40	60
	81	91	9
	85	91	9

結果；

上記試験結果から、遊離のアミノ酸の大部分は素通り画分へ移行していることが判明した。

15 また、アミノ酸増分つまり水溶性蛋白質構成アミノ酸量はそれぞれで確認できるが吸着画分でより多い。このことは水溶性蛋白質の多くが吸着画分へと分離されていると

言える。

よってモロヘイヤ葉の酵素加水分解処理により生成した水溶性蛋白質の多くは合成吸着剤処理により、その吸着面分へと分離されていると推測でき、本発明および本発明を利用して製造されたモロヘイヤ由来組成物はこれら水溶性蛋白質やペプチドが有する機能性が期待できる素材である。

上記試験結果より、本発明のモロヘイヤ合成樹脂吸着面分組成物、特にモロヘイヤ酵素処理エキス溶液を合成樹脂吸着面分画して得られるモロヘイヤ合成樹脂吸着面分組成物は、下記式 (A) で算出されるアミノ酸を含有し、かつ各アミノ酸濃度が下記式 (1) から (3) の要件を全て満たしていることが明らかになった。

- 10 (A) アミノ酸増分 = 酸加水分解後のアミノ酸量 - 酸加水分解前のアミノ酸量
- ここで、アミノ酸増分は、任意の濃度のモロヘイヤ合成樹脂吸着面分組成物溶液 2 mL に対し、0.5 mL の 6 N 塩酸を添加してオートクレーブにて 121°C で 3 時間の処理を行った場合のアミノ酸増分を意味する。
- (1) Gly が Val の 3 重量倍以上、かつ Gly が Ile の 3 重量倍以上；
- 15 (2) Ser、Ala 及び Leu から選ばれる少なくとも 1 つのアミノ酸が Val の 2 重量倍以上、かつ Ser、Ala 及び Leu から選ばれる少なくとも 1 つのアミノ酸が Ile の 2 重量倍以上；
- (3) Arg が Val の 1 重量倍以上、かつ Arg が Ile の 1 重量倍以上；

20 [試験例 10] I. 血圧降下作用機序の確認；

II. 血管弛緩作用メカニズムに関する試験；

試験例 7 の第 2 項で血管弛緩作用に関する試験を行ったが、さらに血管弛緩作用のメカニズムを明らかにするために、ラットの胸部大動脈を用いてリング状標本を作成し、酸素化した栄養液中で血管の張力を計測することによって本発明の樹脂吸着面分エキスの血管弛緩作用について以下のとおり試験を行った。

栄養液中に血管収縮物質としてのフェニレフェリン (phenylephrine) を  $0.1 \mu\text{M}$  の濃度になるように加えて血管を収縮させた後、上記実施例 2 で得たモロヘイヤ吸着画分エキス B e 2 をそれぞれ  $0.5 \text{ mg/ml}$ 、 $1.0 \text{ mg/ml}$ 、 $2.5 \text{ mg/ml}$  及び  $5.0 \text{ mg/ml}$  となるように該栄養液中に添加して、血管拡張作用の有無を観察した ( $n=6$ )。

- 5 次に、血管拡張作用を抑制する L-NAME (一酸化窒素(NO) 産生抑制) を  $100 \mu\text{M}$ 、またはインドメタシン ( $\text{PGI}_2$  抑制剤)  $10 \mu\text{M}$  の濃度になるように予め栄養液中に添加した状態で、同様の操作、即ちフェニレフェリンとモロヘイヤ吸着画分エキス B e 2 を添加して血管弛緩作用における血管内皮細胞の関与について観察を行った。さらに内皮を除去した血管を用いて同様の操作を行うことにより 血管弛緩作用における
- 10 血管内皮細胞の関与について調べた (各  $n=6$ )。結果を図 19 に示す。

図中の「L-NAME」は、L-NAME+フェニレフェリン+モロヘイヤエキス B e 2 を意味し、「Indomethacin」は、インドメタシン+フェニレフェリン+モロヘイヤエキス B e 2 を意味する。

- 図中の\*印から明らかなおおり、フェニレフェリン添加時の張力と比較して危険率
- 15 5%以下で統計学的に有意な差があった

また、図中の\*\*印から明らかなおおり、フェニレフェリン添加時の張力と比較して危険率 1%以下で統計学的に有意な差があった。

結果；

- 図 19 から明らかなおおり、モロヘイヤ吸着画分エキス B e 2 は  $0.5 \text{ mg/ml}$  より統計学的に有意に、かつ濃度依存的に血管弛緩作用を示した。インドメタシン ( $\text{PGI}_2$  抑制剤) で前処置したものは、モロヘイヤ吸着画分エキス B e 2 による血管弛緩反応に影響を与えなかった。一方、L-NAME (NO 産生抑制) で前処置した場合は、モロヘイヤ吸着画分エキス B e 2 による血管弛緩の濃度-反応曲線の右方への移動は僅かであった。
- 20

- 25 内皮を除去した血管を用いて同様の操作を行った場合、モロヘイヤ吸着画分エキス B

e 2による血管弛緩の濃度-反応曲線の変化は、L-NAME を前処置した場合と同様であった。

このことから、本発明の合成樹脂吸着画分組成物は、血管内皮に作用するものではないことが明らかとなった。

5 上記の試験結果から明らかなどおり、本発明のモロヘイヤ吸着画分エキスは血管内皮機能が低下した状態でも効果を発揮して血管を弛緩するので、血管全体の機能低下に依存せずに、動脈硬化等の循環器系疾患を有する高血圧症患者に対しても安心して投与することが可能である。

## 10 産業上の利用可能性

本発明のモロヘイヤ吸着画分エキス、即ちモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物は、優れた血管弛緩作用、特に血圧降下作用を有し、味・臭いに特異な厭味が少ないことから経口投与により摂取することが可能であり、健康食品、健康飲料、特定保健用食品等に有効に利用できるものである。さらに副作用の恐れがなく、経済的精神的負担も軽い

15 ため、安全に長期間継続して摂取することが可能であり、高血圧の予防、改善、治療に適している。また、本発明のモロヘイヤ吸着画分エキスは、モロヘイヤに含まれていることが従来から知られていたACE阻害活性を有するニコチアナミンを有効成分とするものではなく、血管弛緩作用を作用機序とする従来品とは全く異なったものであり、その効果が期待されるものである。

## 請求の範囲

1. モロヘイヤエキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶出溶媒により溶出処理して回収される血管弛緩作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
- 5 2. モロヘイヤエキス溶液がモロヘイヤをプロテアーゼ処理して得られるモロヘイヤ酵素処理エキス溶液である請求項1に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
3. プロテアーゼが、エンドペプチダーゼである請求項2に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
4. エンドペプチダーゼが、*Bacillus* 由来のエンドペプチダーゼである請求項3に記載  
10 のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
5. 合成樹脂吸着剤が芳香族重合体を母体とする合成樹脂吸着剤である請求項1乃至4のいずれか1項に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。
6. 下記式(A)で算出されるアミノ酸を含有し、かつ各アミノ酸濃度が下記式(1)から(3)の要件を全て満たすことを特徴とする請求項1乃至5のいずれか1項に記載  
15 のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物。  

(A) アミノ酸増分=酸加水分解後のアミノ酸量-酸加水分解前のアミノ酸量；  
ここで、アミノ酸増分は、任意の濃度のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物溶液  
2 mLに対し、0.5 mLの6 N塩酸を添加してオートクレーブにて121°Cで  
3時間の処理を行った場合のアミノ酸増分を意味する。
- 20 (1) GlyがValの3重量倍以上、かつGlyがIleの3重量倍以上；  
(2) Ser、Ala及びLeuから選ばれる少なくとも1つのアミノ酸がValの  
2重量倍以上、かつSer、Ala及びLeuから選ばれる少なくとも1つのア  
ミノ酸がIleの2重量倍以上；  
(3) ArgがValの1重量倍以上、かつArgがIleの1重量倍以上；
- 25 7. モロヘイヤエキス溶液を合成樹脂吸着剤で吸着処理し、その吸着画分を溶出溶媒に

より溶出処理して回収することを特徴とする血管弛緩作用を有するモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。

8. モロヘイヤエキス溶液がモロヘイヤをプロテアーゼ処理して得られるモロヘイヤ酵素処理エキス溶液である請求項7に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
- 5 9. プロテアーゼが、エンドペプチダーゼである請求項8に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
10. エンドペプチダーゼが *Bacillus* 由来のエンドペプチダーゼである請求項9に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
- 10 11. 合成樹脂吸着剤が芳香族重合体を母体とする合成樹脂吸着剤である請求項7に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物の製造方法。
12. 請求項1乃至6のいずれか1項に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を含んでなる血管弛緩剤。
13. 請求項1乃至6のいずれか1項に記載のモロヘイヤ合成樹脂吸着画分組成物を含んでなる飲食物。
- 15

図1

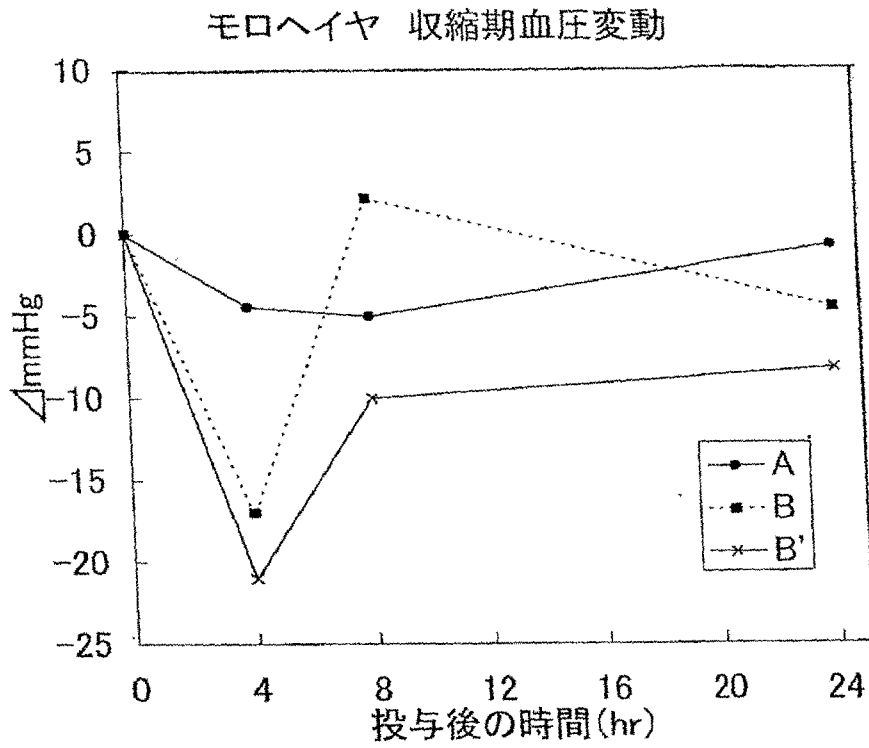


図2

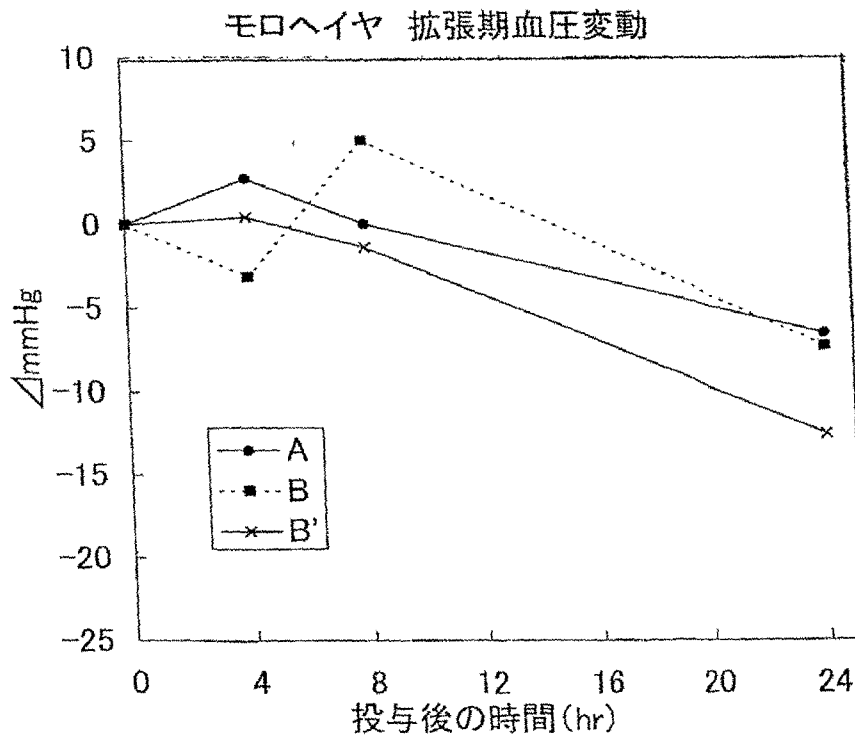


図 3

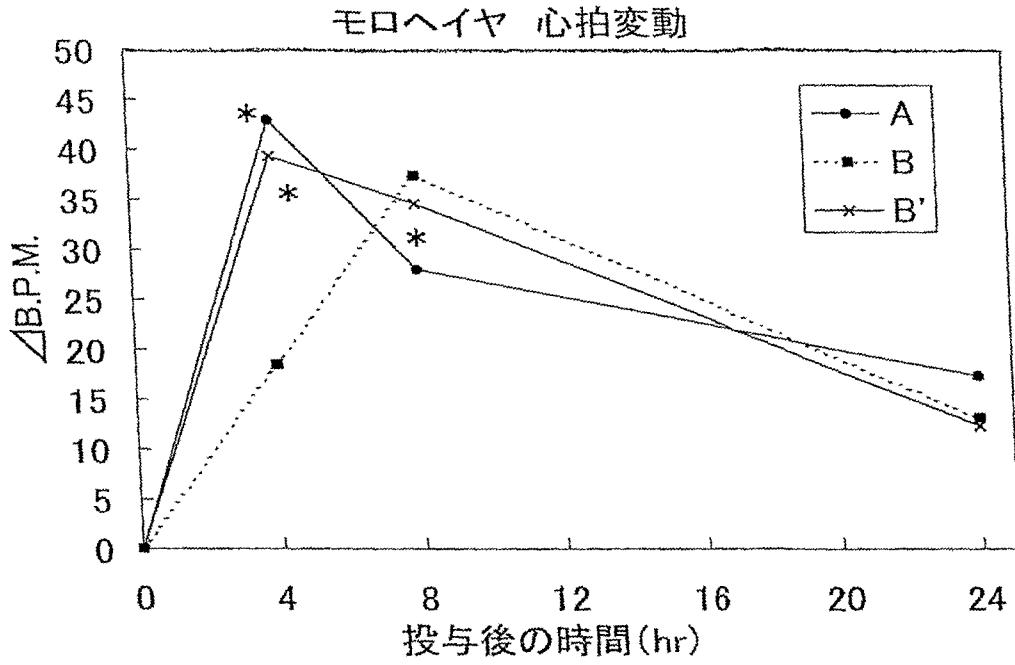


図 4

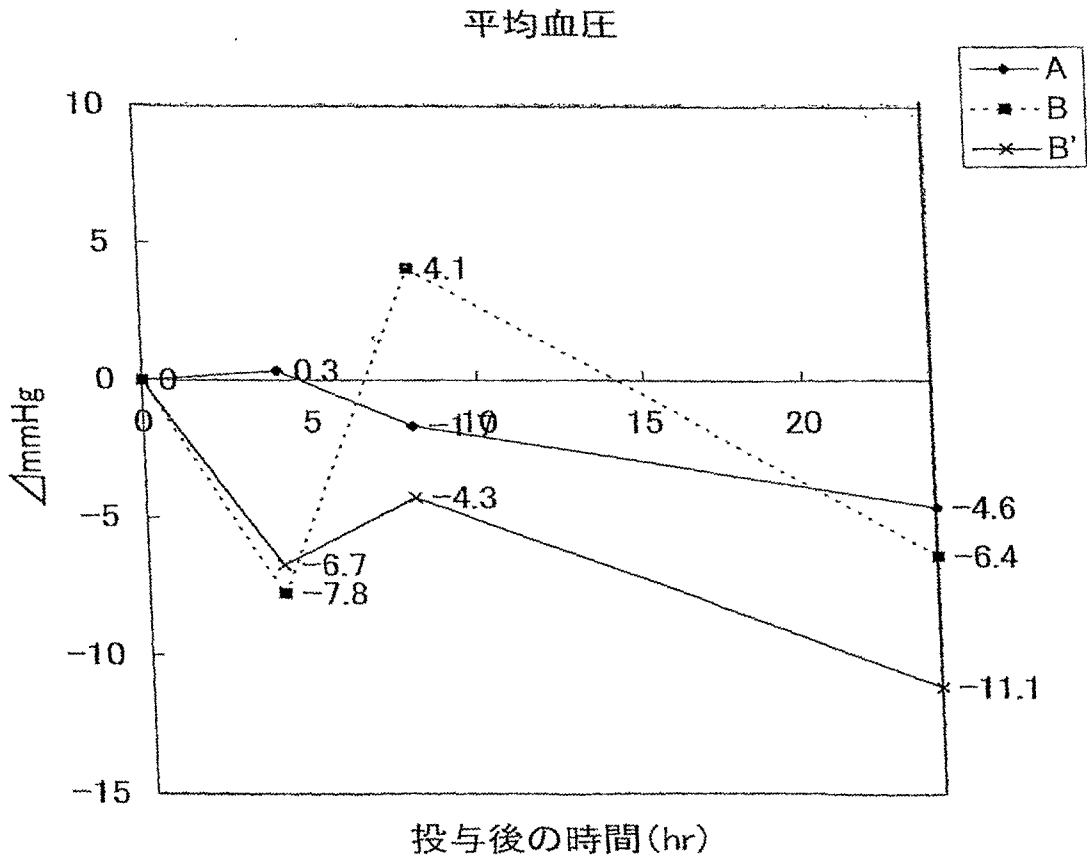


図 5

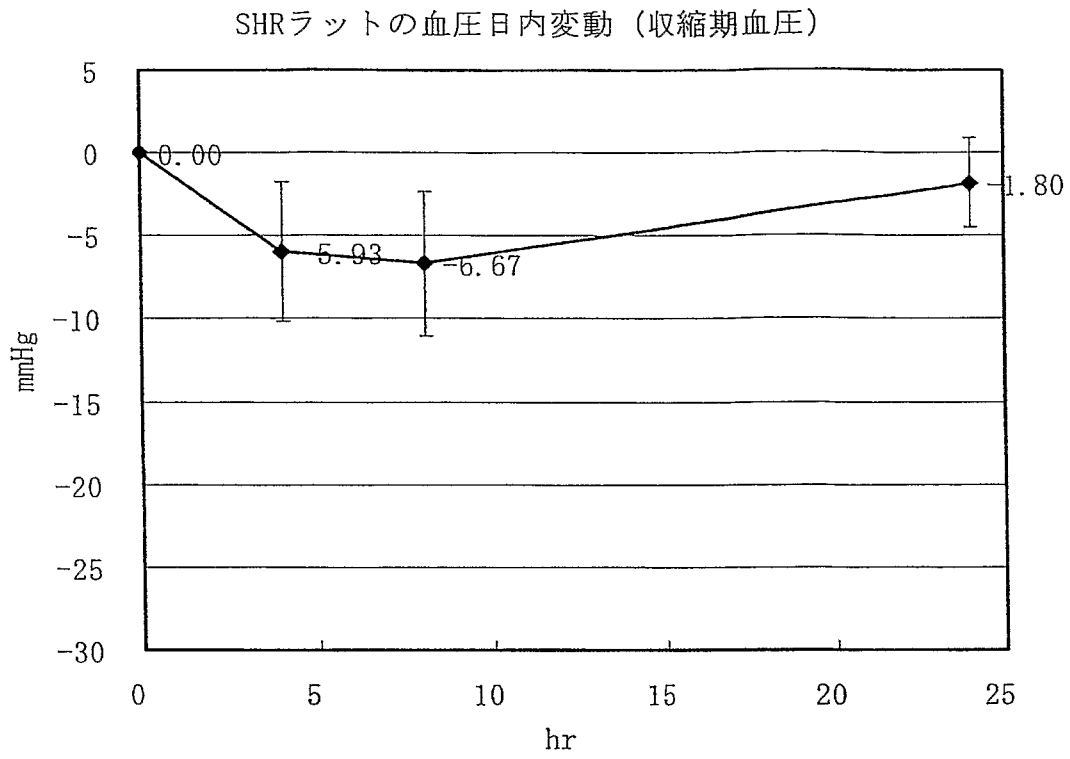


図 6

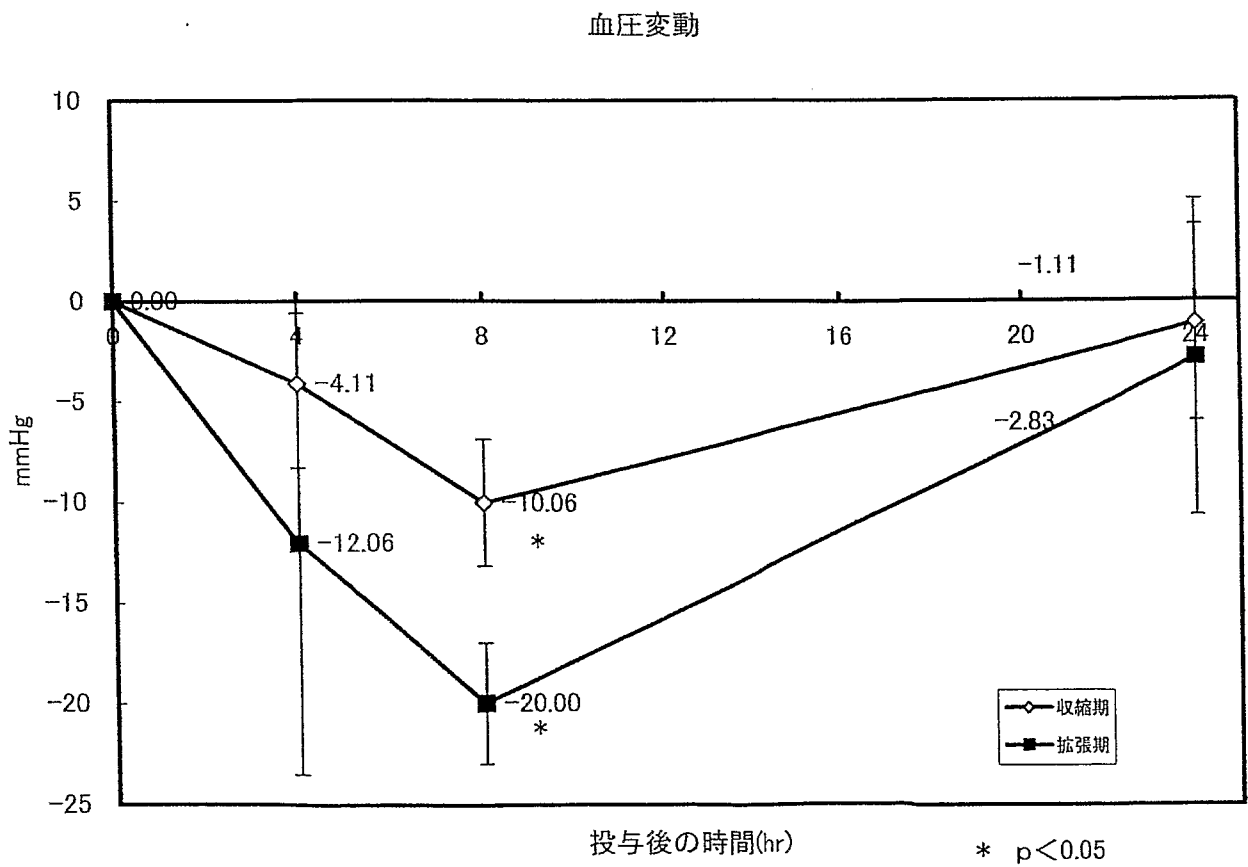


図 7

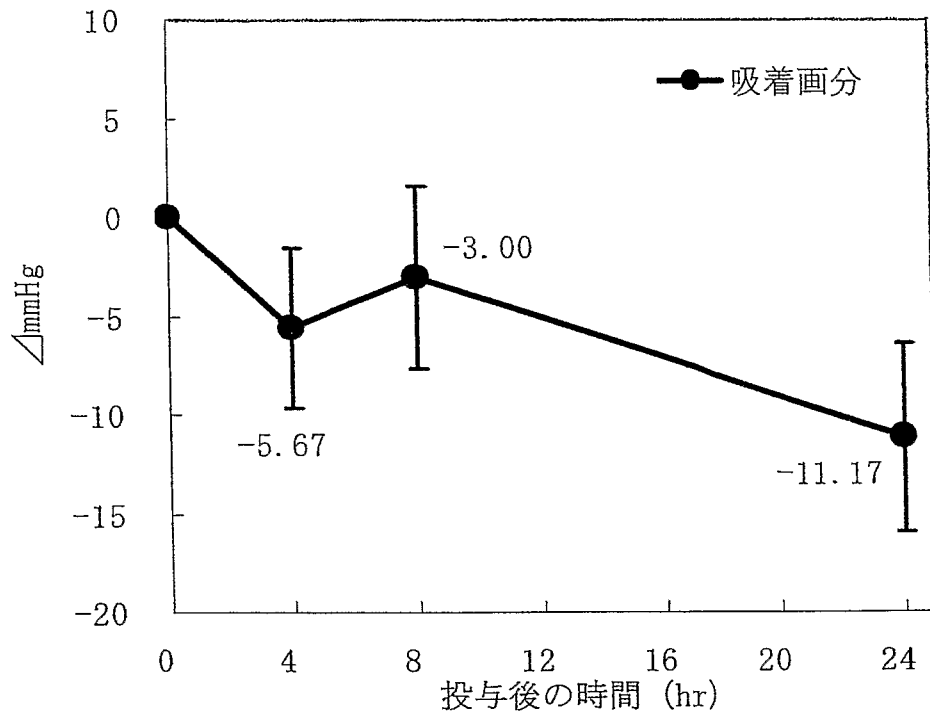


図 8

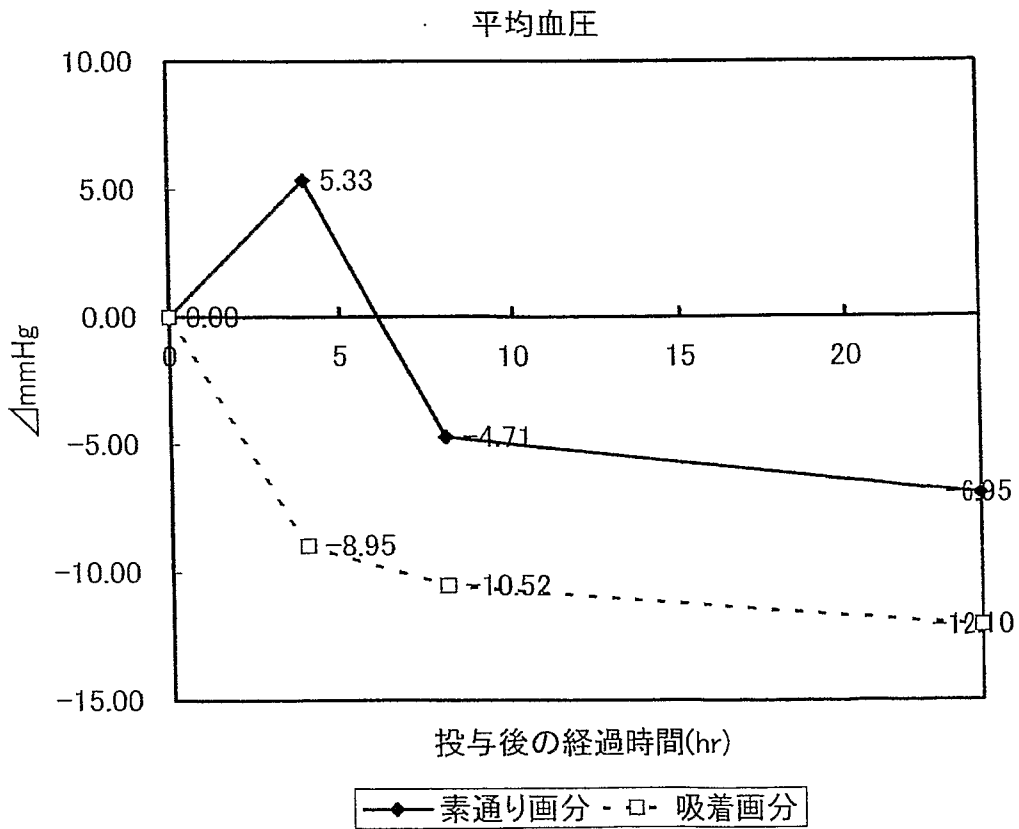


図 9

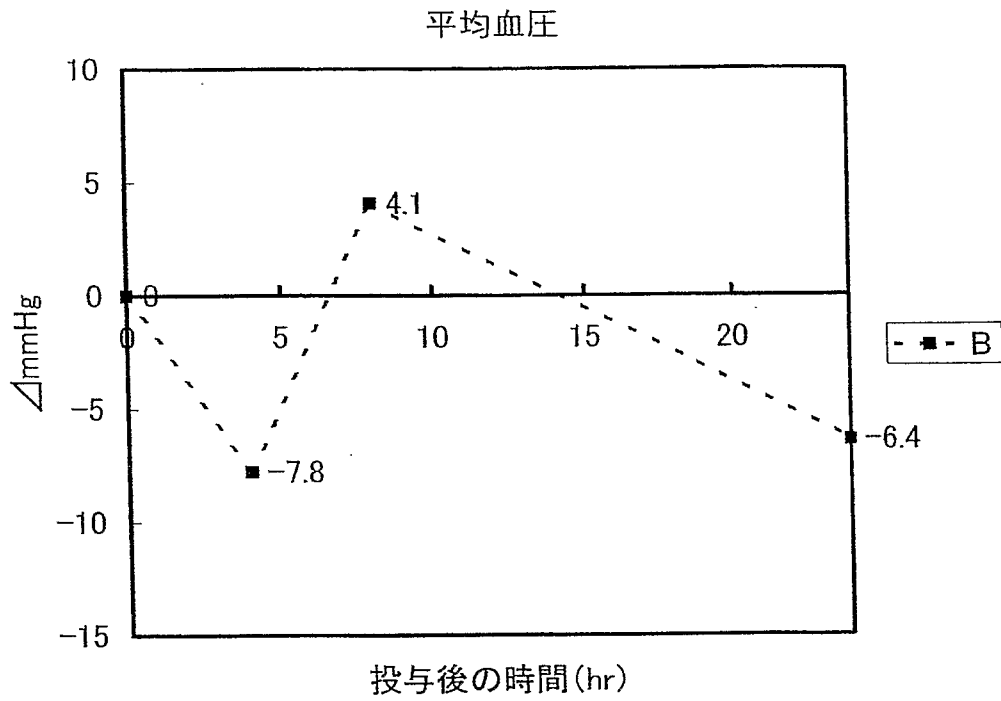


図 10

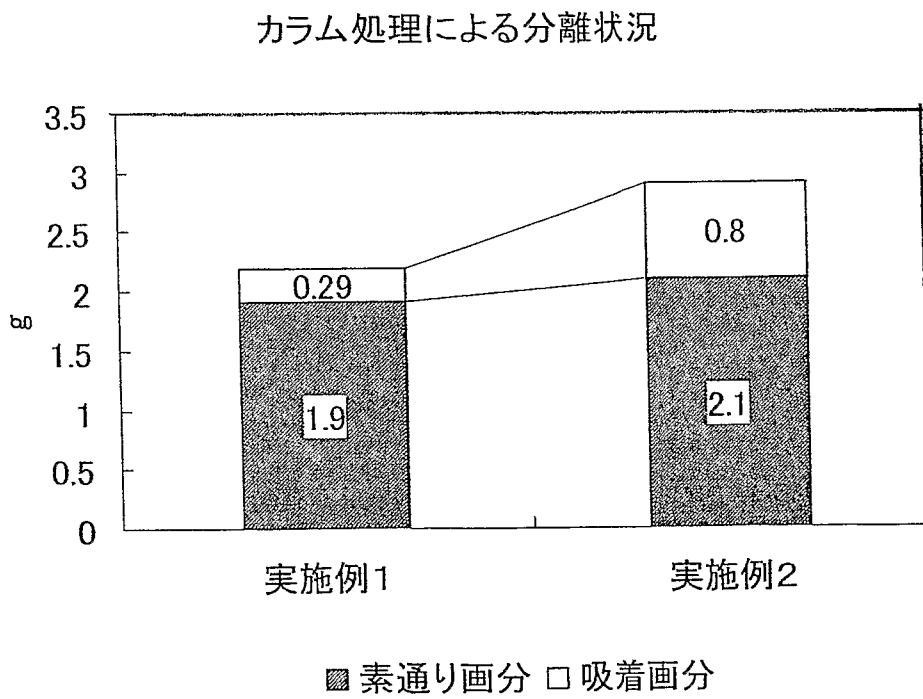


図 1 1

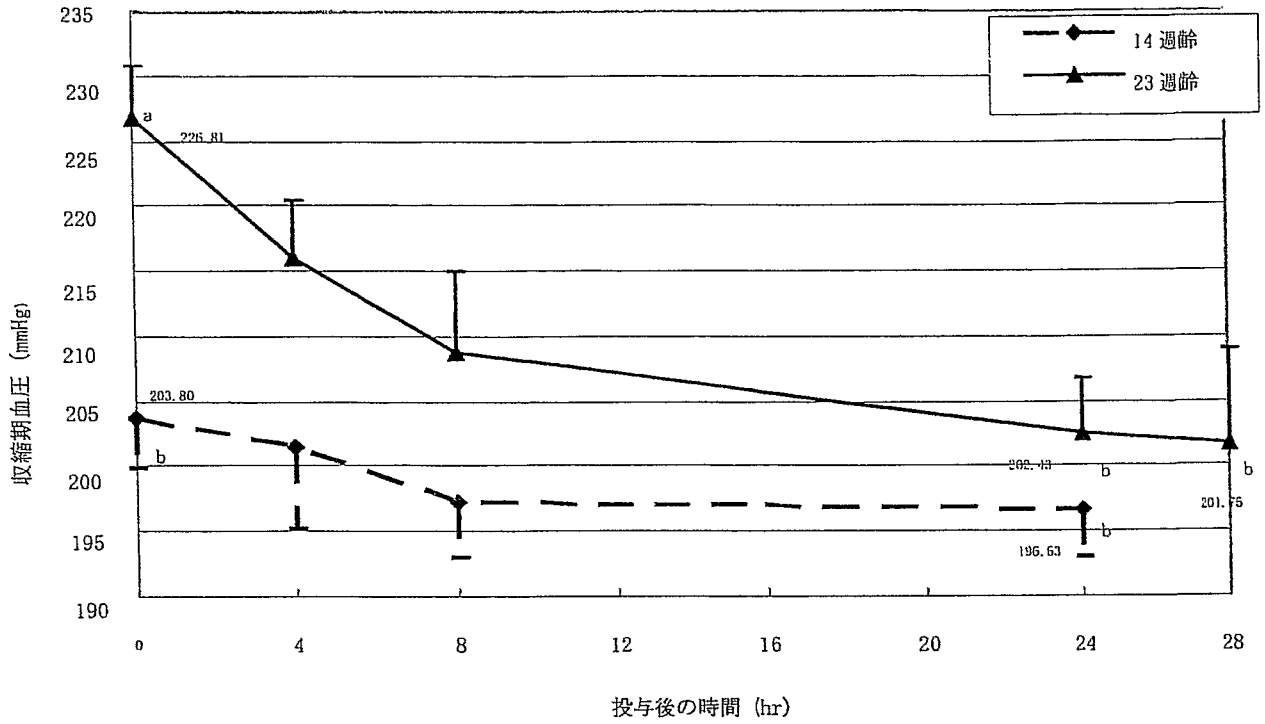
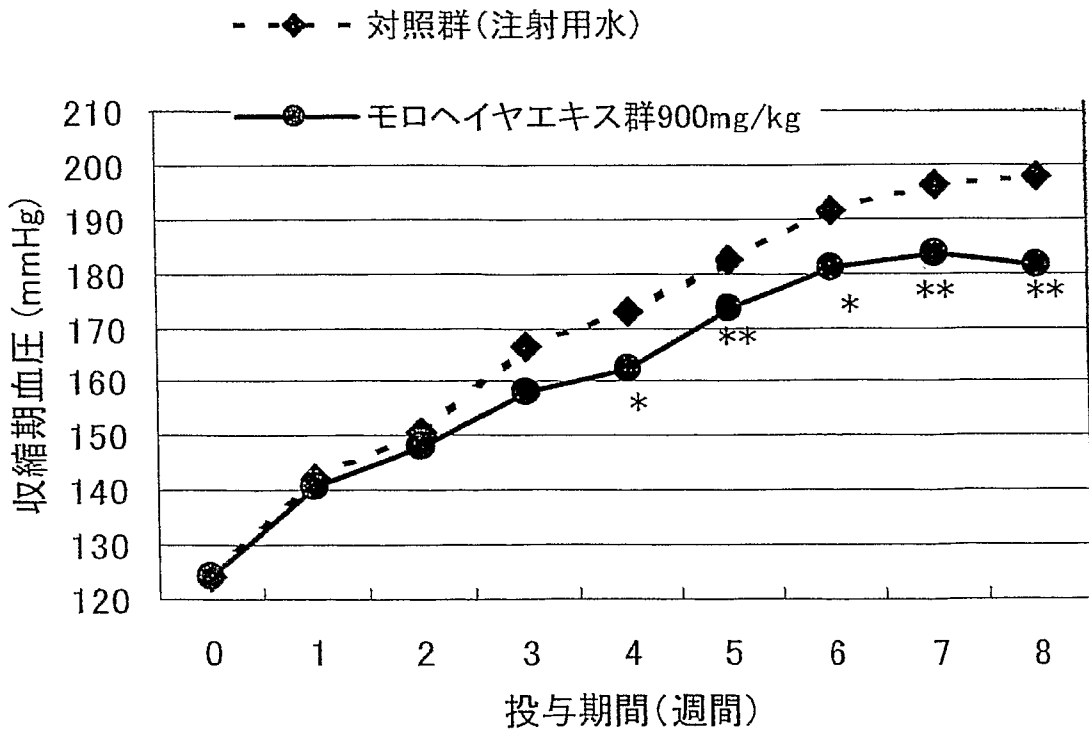
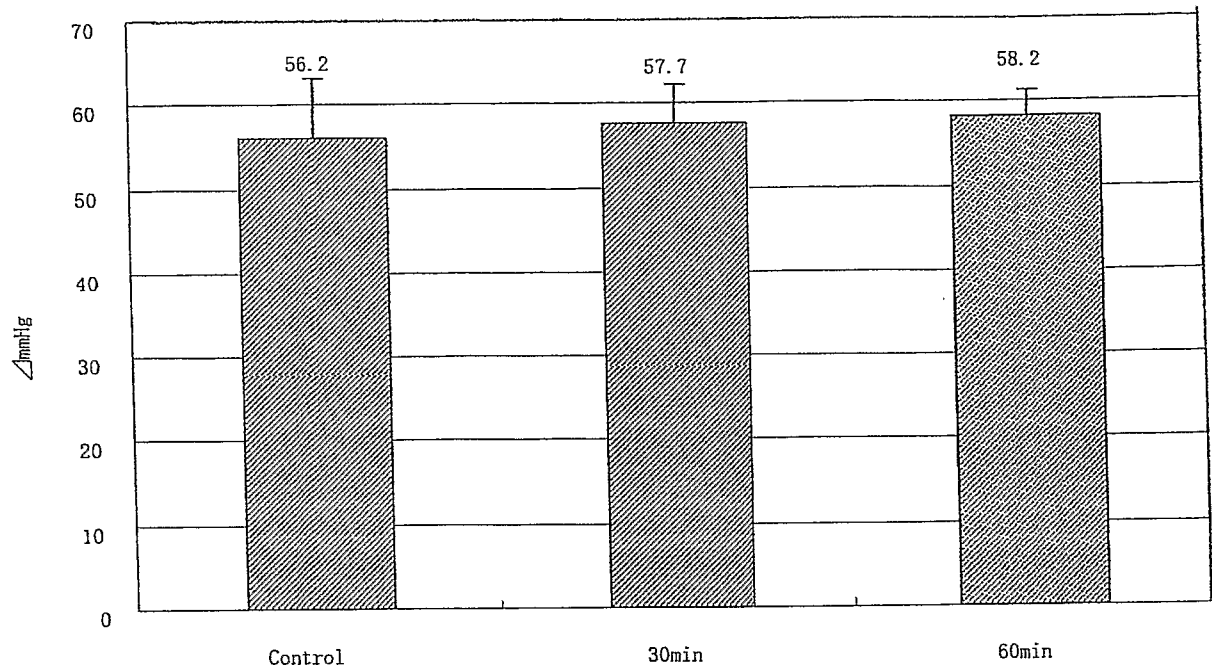


図 1 2



【図 1 3】



【図 1 4】

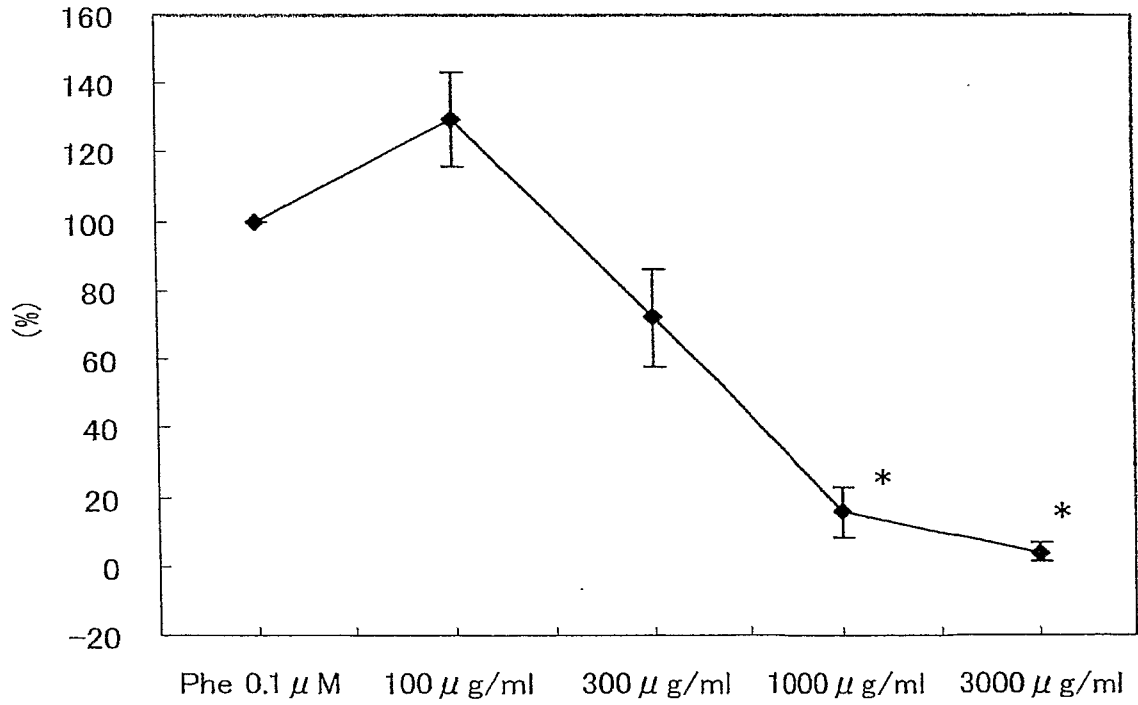


図 1 5

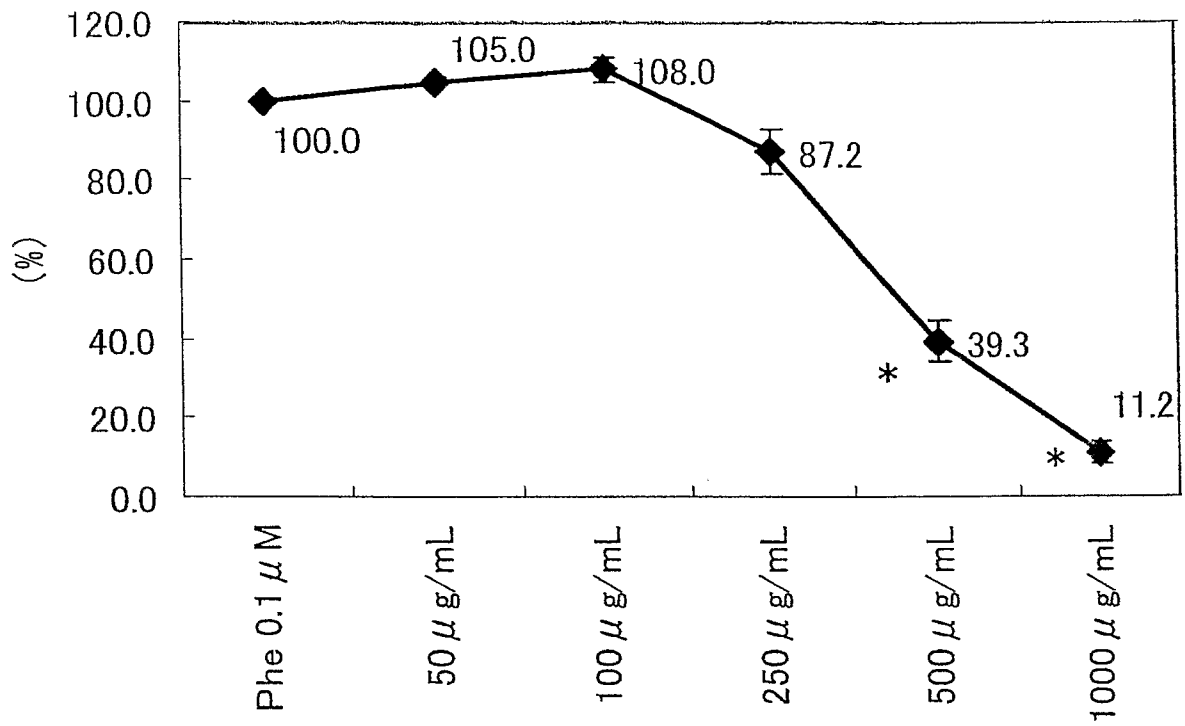


図 1 6

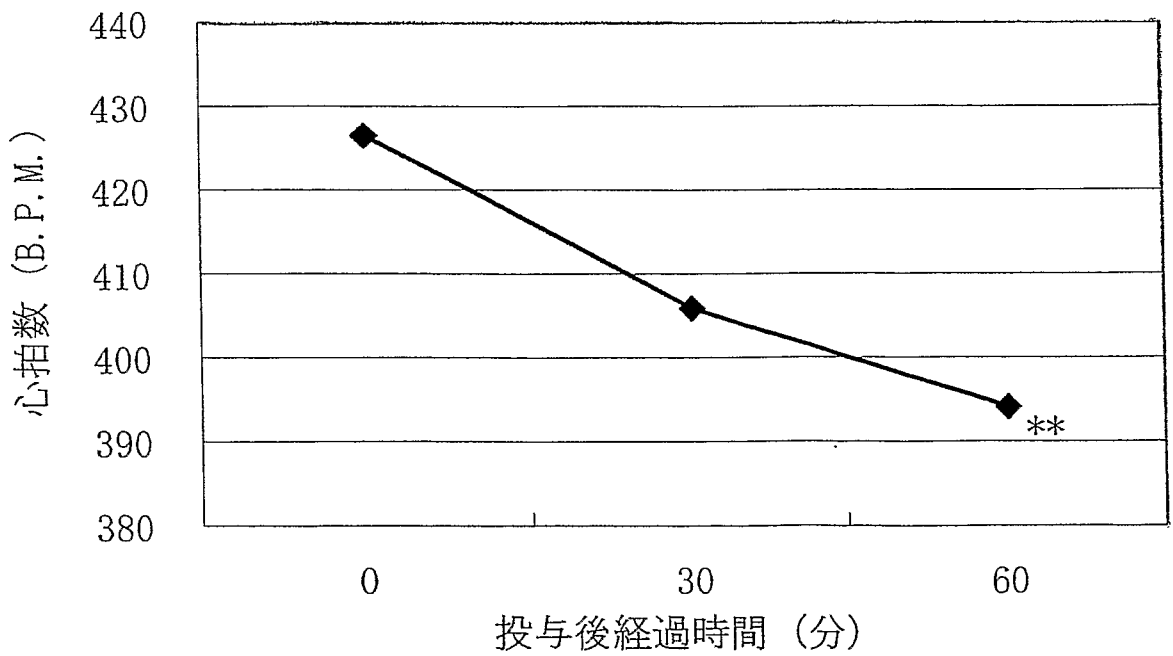


図 17

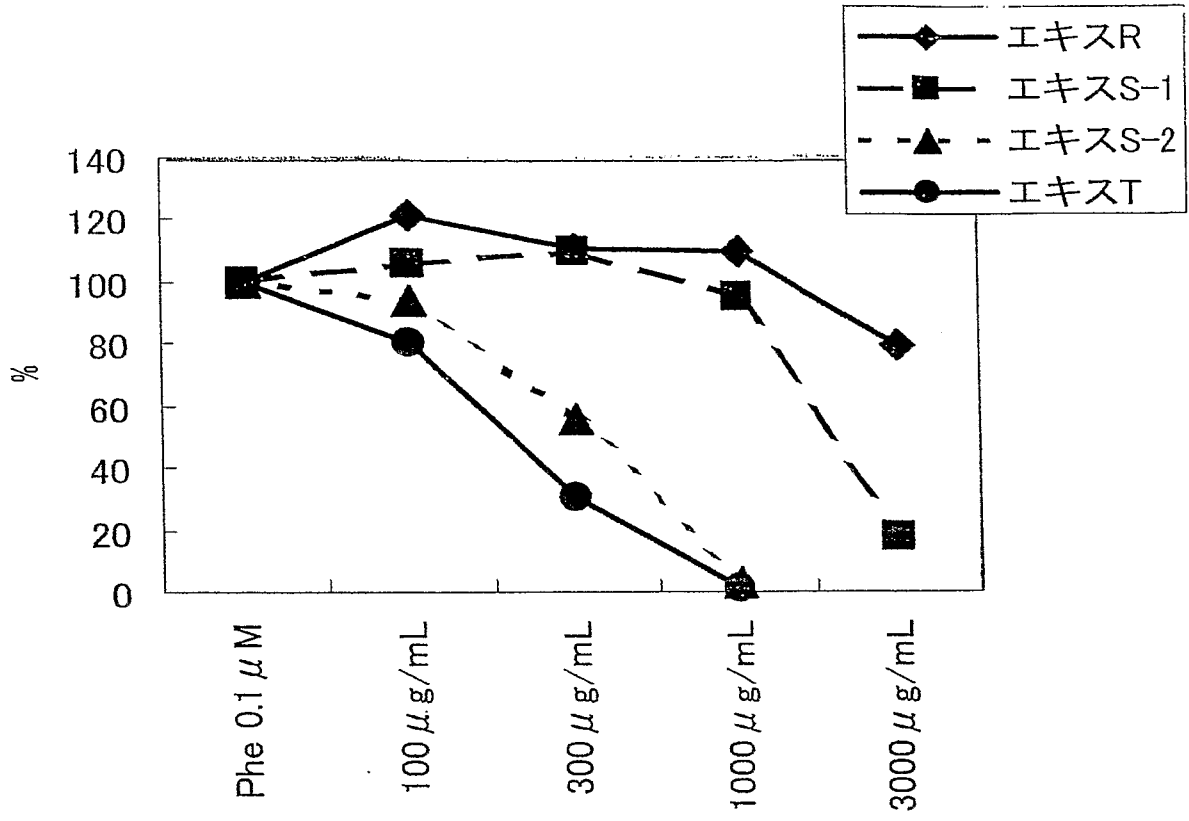
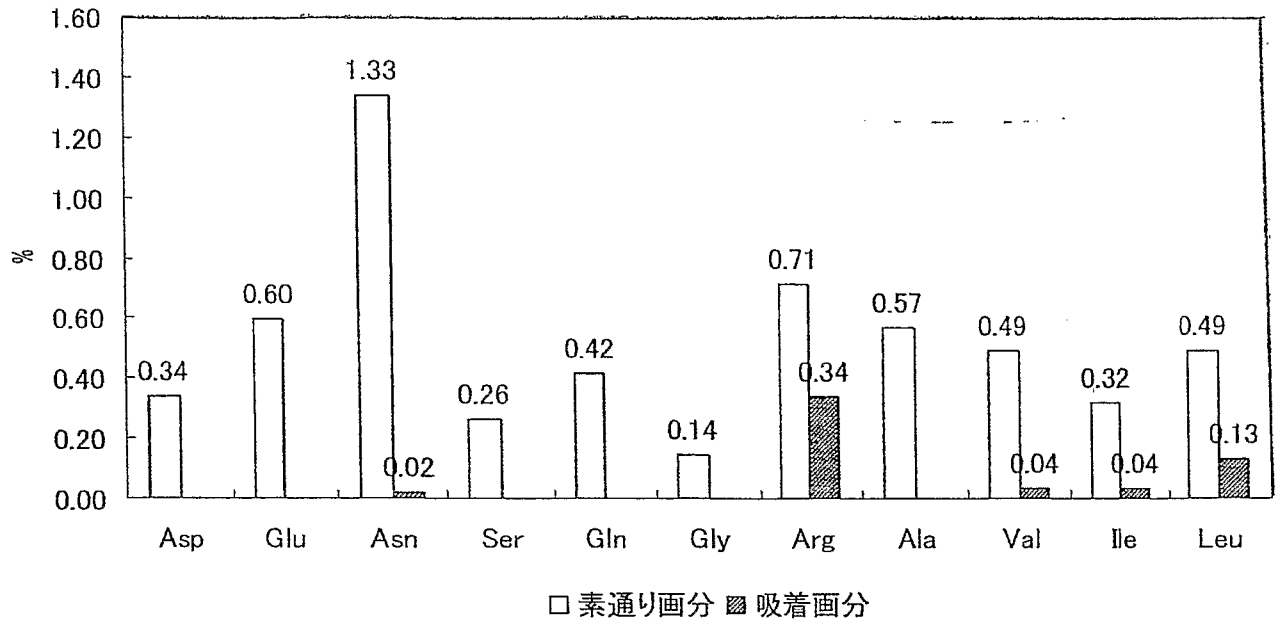


図 1 8

1 8 - 1

遊離アミノ酸量



1 8 - 2

アミノ酸増分

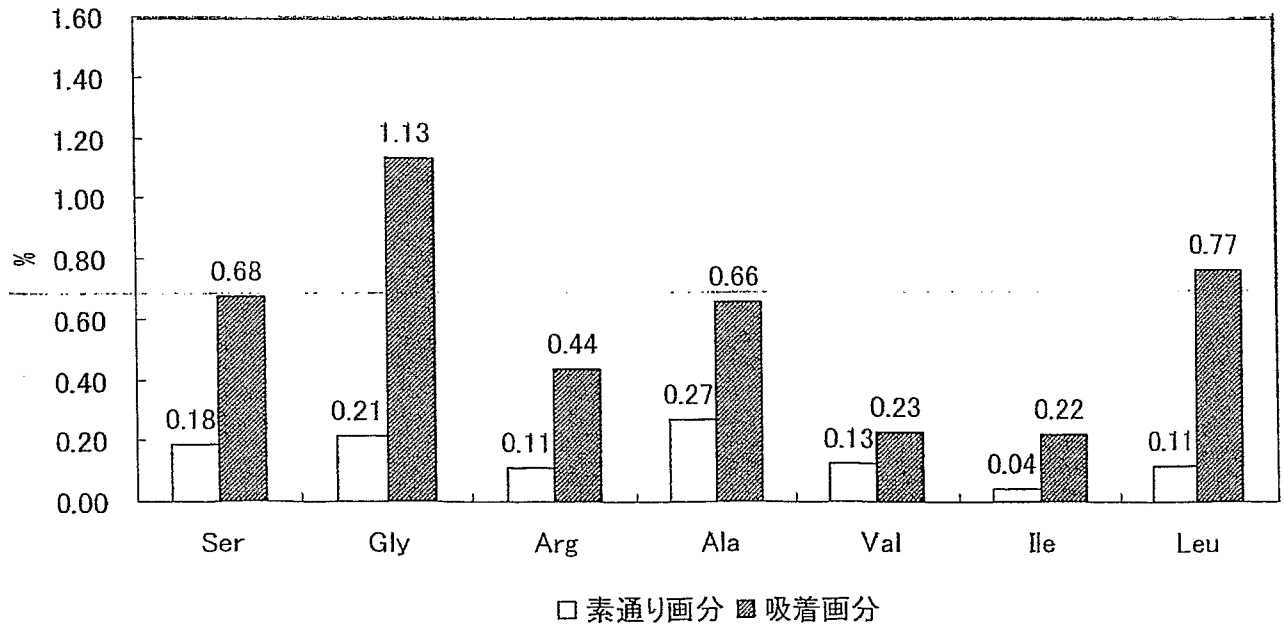
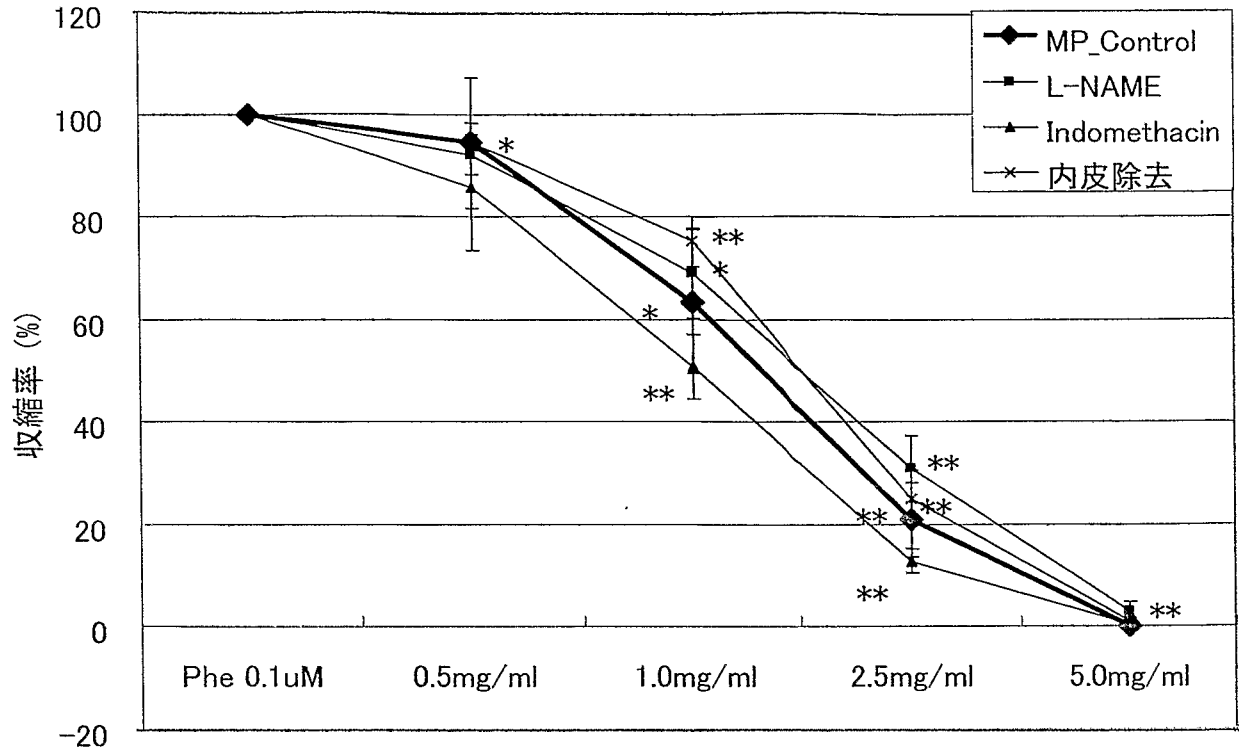


図 19



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/069817

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/18(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A23L2/00(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, A61P43/00(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)

A61K36/18, A23L1/30, A23L2/00, A61K38/00, A61P9/12, A61P43/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2008
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2008	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2008

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

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), CAPLUS (STN), JSTPLUS (JDreamII), JMEDPLUS (JDreamII), JST7580 (JDreamII)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2002-363075 A (Kao Corp.), 18 December, 2002 (18.12.02), Par. No. [0008] & US 2003/220398 A1 & US 2004/192773 A1 & US 2005/215632 A1 & EP 1264596 A2 & DE 60215256 A	1, 5, 7, 11-13
Y	Keiko AZUMA et al., "Yasairui no Kosanka Kassei no Hyoka Oyobi Moroheiya ni Okeru Kassei Seibun no Dotei", Yasai Chagyo Kenkyu Seika Joho, 1999, Vol.1998, pages 7 to 8	1, 5, 7, 11-13
Y	JP 2006-241006 A (Kao Corp.), 14 September, 2006 (14.09.06), & EP 1854780 A1 & WO 2006/93114 A1 & KR 1020070107086 A & CN 1133015 A	1, 5, 7, 11-13

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
25 December, 2008 (25.12.08)

Date of mailing of the international search report  
13 January, 2009 (13.01.09)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/069817

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LASKAR S et al, Extraction and chemical investigation of jute ( <i>Corchorus olitorius</i> , Linn.) seed protein, <i>Appl Biochem Biotechnol</i> , 1987, Vol.14, No.3, Page.253-257	1-13
A	KIMOTO K et al, Purification and Identification of Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitor from <i>Morokheiya</i> ( <i>Corchorus olitorius</i> )., <i>Food Sci Technol Int Tokyo</i> , 1998, Vol.4, No.3, Page. 223-226	1-13
A	Yasushi KOKEAN et al., "Kennai Norin Suisanbutsu Koso Bunkaibutsu no Nyusankin Seiiku eno Eikyo to sono Hakkoeki no ACE Kassei Sogai ni Tsuite", <i>Mie Prefectural Science and Technology Promotion Center Kogyo Kenkyubu Kenkyu Hokoku</i> , 15 October, 2007 (15.10.07), No.31, pages 152 to 154	1-13

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K36/18(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A23L2/00(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K36/18, A23L1/30, A23L2/00, A61K38/00, A61P9/12, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2008年
日本国実用新案登録公報	1996-2008年
日本国登録実用新案公報	1994-2008年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), Cplus (STN), JSTplus (JDreamII), JMEDplus (JDreamII), JST7580 (JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 2002-363075 A (花王株式会社) 2002.12.18, 【0008】 &US 2003/220398 A1&US 2004/192773 A1&US 2005/215632 A1&EP 1264596 A2&DE 60215256 A	1, 5, 7, 11-13
Y	東敬子 他, 野菜類の抗酸化活性の評価およびモロヘイヤにおける活性成分の同定, 野菜茶業研究成果情報, 1999, Vol.1998, Page.7-8	1, 5, 7, 11-13
Y	JP 2006-241006 A (花王株式会社) 2006.09.14, &EP 1854780 A1&WO 2006/93114 A1&KR 1020070107086 A&CN 1133015 A	1, 5, 7, 11-13

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

25.12.2008

国際調査報告の発送日

13.01.2009

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鶴見 秀紀

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

4C

8415

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	LASKAR S et al, Extraction and chemical investigation of jute (Corchorus olitorius, Linn.) seed protein, Appl Biochem Biotechnol, 1987, Vol.14, No. 3, Page. 253-257	1-13
A	KIMOTO K et al, Purification and Identification of Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitor from Morokheiya (Corchorus olitorius)., Food Sci Technol Int Tokyo, 1998, Vol. 4, No. 3, Page. 223-226	1-13
A	苔庵泰志 他, 県内農林水産物酵素分解物の乳酸菌生育への影響とその発酵液の ACE 活性阻害について, 三重県科学技術振興センター工業研究部研究報告, 2007. 10. 15, No. 31, Page. 152-154	1-13