

(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7月2日(02.07.2020)



(10) 国際公開番号

**WO 2020/137706 A1**

(51) 国際特許分類:

*A61K 31/58* (2006.01) *C07H 15/26* (2006.01)  
*A61K 31/7048* (2006.01) *C12P 17/04* (2006.01)  
*A61P 9/00* (2006.01) *C12P 19/56* (2006.01)  
*C07J 17/00* (2006.01) *C12P 33/20* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/049408

(22) 国際出願日: 2019年12月17日(17.12.2019)

(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 2018-247700 2018年12月28日(28.12.2018) JP

(71) 出願人: 小林製薬株式会社(KOBAYASHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5410045  
大阪府大阪市中央区道修町四丁目4番10号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 小川 順(OGAWA, Jun); 〒6068317 京都府京都市左京区吉田本町3番地1  
Kyoto (JP). 岸野 重信(KISHINO, Shigenobu); 〒6068317 京都府京都市左京区吉田本町3  
番地1 Kyoto (JP). 深見 裕之(FUKAMI, Hiroyuki); 〒5670057 大阪府茨木市豊川一丁目3  
番3号 Osaka (JP). 比嘉 悠貴(HIGA, Yuuki); 〒5670057 大阪府茨木市豊川一丁目3  
番3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, 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, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(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))

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING CYCLOASTRAGENOL ANALOG

(54) 発明の名称: シクロアストラゲノール類縁体を生産する方法

(57) Abstract: [Problem] The purpose of the present invention is to provide a new method for producing a cycloastragenol analog from astragaloside IV. {Solution} A method for producing a cycloastragenol analog that includes a contact step that brings astragaloside IV into contact with bacteria.

(57) 要約: 【課題】 アストラガロシドIVからシクロアストラゲノール類縁体を製造する新たな方法を提供することを目的とする。【解決手段】 アストラガロシドIVと、細菌と、を接触する接触工程を含む、シクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。



**WO 2020/137706 A1**

## 明 細 書

発明の名称： シクロアストラゲノール類縁体を生産する方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、シクロアストラゲノール類縁体を生産する方法に関する。

### 背景技術

[0002] オウギ (*Astragalus membranaceus* Bge.) に含まれるアストラガロシドIV (Astragaloside IV) は、心臓血管に対する薬理活性等を有するが、溶解性に乏しく、生体利用効率が低い (非特許文献1)。これまでの研究から、アストラガロシドIVを加水分解して得られるシクロアストラゲノール-6-O- $\beta$ -D-グルコシド (cycloastragenol-6-O- $\beta$ -D-glucoside) が、アストラガロシドIVと同種の薬理活性を有し、溶解性に優れることが知られている。

[0003] 特許文献1には、このシクロアストラゲノール-6-O- $\beta$ -D-グルコシドを工業的に生産する方法として、加水分解酵素によりアストラガロシドIVを加水分解し、これを多孔性樹脂により分離する方法が開示されている。

[0004] 非特許文献1には、アストラガロシドIVをラットの腸内細菌とともに嫌気条件下で培養した際に、5つの代謝物が得られることが示されている。また、非特許文献2には、バシラス属のLG-502を用いて、生体内変換によってシクロアストラゲノールを効率的に生産する方法が開示されている。しかしながら、LG-502以外の菌体についてシクロアストラゲノールの製造には、成功していない。

### 先行技術文献

#### 非特許文献

[0005] 非特許文献1: "Pharmacokinetic Evidence on the Contribution of Intestinal Bacterial Conversion to Beneficial Effects of Astragaloside IV, a Marker Compound of Astragali Radix, in Traditional Oral Use of the Herb" *Drug Metab. Pharmacokinet.* 27(6): 586-597 (2012), Ru Yan et al.

非特許文献2: "Efficient Biotransformation of Astragaloside IV to Cycloastragenol by *Bacillus* sp. LG-502" Appl Biochem Biotechnol. 07 June 2017, Liming Wang, Yan Chen.

## 特許文献

[0006] 特許文献1: 特開 2010-538621 号公報

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、アストラガロシドIVからシクロアストラゲノール類縁体を製造する新たな方法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

[0008] 本発明者らが、鋭意検討した結果、細菌を用いることで、上記課題を解決しうることを見出して、本発明を完成した。

[0009] 本発明は、以下のとおりである。

[1]

アストラガロシドIVと、細菌と、を接触する接触工程を含む、シクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

[2]

前記細菌が、食品由来菌乃至はその同属種の菌、腸内細菌、農作物関連細菌、生薬関連細菌、及び花卉関連細菌からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

[1] に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

[3]

前記細菌が、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、エンテロコッカス属 (*Enterococcus* sp.)、ラクトコッカス属 (*Lactococcus* sp.)、リユーコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.)、オエノコッカス属 (*Oenococcus* sp.)、テトラジェ

ノコッカス属 (*Tetragenococcus* sp.)、バクテロイデス属 (*Bacteroides* sp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* sp.)、プロピオニバクテリウム属 (*Propionibacterium* sp.)、ルミノコッカス属 (*Ruminococcus* sp.)、フソバクテリウム属 (*Fusobacterium* sp.)、コリネバクテリウム属 (*Corynebacterium* sp.)、ハロアナエロビウム属 (*Haloanaerobium* sp.)、アセトバクター属 (*Acetobacter* sp.)、グルコノバクター属 (*Gluconobacter* sp.)、ミクロコッカス属 (*Micrococcus* sp.)、シュードモナス属 (*Pseudomonas* sp.)、スポロラクトバシラス属 (*Sporolactobacillus* sp.)、及びワイセラ属 (*Weissella* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔1〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔4〕

前記細菌が、バクテロイデス属 (*Bacteroides* sp.)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* sp.)、エンテロコッカス属 (*Enterococcus* sp.)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、ラクトコッカス属 (*Lactococcus* sp.)、リユーコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、ルミノコッカス属 (*Ruminococcus* sp.)、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.)、テトラジェノコッカス属 (*Tetragenococcus* sp.)、及びワイセラ属 (*Weissella* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔1〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔5〕

前記細菌が、バクテロイデス属 (*Bacteroides* sp.)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* sp.)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、リユーコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、ルミノコッカス属 (*Ruminococcus* sp.)、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.)、テトラジェノコッカス属 (*Tetragenococcus* sp.)、及びワイセラ属 (*Weissella* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔６〕

前記細菌が、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニユレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・ファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・マリ (*Lactobacillus mali*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ポブジヒイ (*Lactobacillus pobuzihii*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、リユーコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、リユーコノストック・ラクティス (*Leuconostoc lactis*)、リユーコノストック・メゼンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ペディオコッカス・アシディラクティシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ルミノコッカス・プロダクタス (*Ruminococcus productus*)、ストレプトコッカス・シトロボラム (*Streptococcus citrovorum*)、ストレプトコッカス・フェカリスR (*Streptococcus faecalis* R)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリヤ (*Weissella cibaria*)、及びワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*) からなる群より選ばれる少な

くとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔７〕

前記細菌が、バクテロイデス属 (*Bacteroides* sp.)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* sp.)、エンテロコッカス属 (*Enterococcus* sp.)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、ラクトコッカス属 (*Lactococcus* sp.)、リユーコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、ルミノコッカス属 (*Ruminococcus* sp.)、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.)、テトラジェノコッカス属 (*Tetragenococcus* sp.)、及びワイセラ属 (*Weissella* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔８〕

前記細菌が、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニユレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、エンテロコッカス・タイランドィカス (*Enterococcus thailandicus*)、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ラクトバシラス・ブフネリ (*Lactobacillus buchneri*)、ラクトバシラス・ブルガリクス (*Lactobacillus bulgaricus*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・コリニフォルミス (*Lactobacillus coryniformis*)、ラクトバシラス・クラストラム (*Lactobacillus crustorum*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・ファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・ハメシイ (*Lactobacillus hammesii*)、ラクトバシラス・ヘルベティカス (*Lactobacillus helvericus*)、ラクト

バシラス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*)、ラクトバシラス・マリ (*Lactobacillus mali*)、ラクトバシラス・パラブフネリ (*Lactobacillus parabuchneri*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・パラプランタラム (*Lactobacillus paraplantarum*)、ラクトバシラス・ペントーサス (*Lactobacillus pentosus*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ポブジヒイ (*Lactobacillus pobuzihii*)、ラクトバシラス・ラピ (*Lactobacillus rapi*)、ラクトバシラス・ラムノサス (*Lactobacillus rhamnosus*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、ラクトバシラス・バースモルデンシス (*Lactobacillus versmoldensis*)、ラクトコッカス・ラクティス (*Lactococcus lactis*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、リユーコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、リユーコノストック・ラクティス (*Leuconostoc lactis*)、リユーコノストック・メゼンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、リユーコノストック・デキストラニカム (*Leuconostoc dextranicum*)、ペディオコッカス・アシディラクティシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・エタノリデュランス (*Pediococcus ethanolidurans*)、ペディオコッカス・パーブルス (*Pediococcus parvulus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ルミノコッカス・グナバス (*Ruminococcus gnavus*)、ルミノコッカス・プロダクタス (*Ruminococcus productus*)、ストレプトコッカス・シトロボラム (*Streptococcus citrovorum*)、ストレプトコッカス・フェカリスR (*Streptococcus faecalis* R)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、ワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*)、及びワイセラ・パラメセンテロイデス (*Weissella paramesenteroides*) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔９〕

前記細菌が、バクテロイデス属 (*Bacteroides* sp.)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、及びリューコノストック属 (*Leuconostoc* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔１０〕

前記細菌が、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニユレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、及びリューコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔１１〕

前記細菌が、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* sp.)、エンテロコッカス属 (*Enterococcus* sp.)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、ラクトコッカス属 (*Lactococcus* sp.)、リューコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、ルミノコッカス属 (*Ruminococcus* sp.)、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.)、テトラジェノコッカス属 (*Tetragenococcus* sp.)、及びワイセラ属 (*Weissella* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔１２〕

前記細菌が、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、エンテロコッカス・タイランディカス (*Enterococcus thailandicus*)、ラクトバシラス・アシディ

ピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ラクトバシラス・ブフネリ (*Lactobacillus buchneri*)、ラクトバシラス・ブルガリクス (*Lactobacillus bulgaricus*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・コリニフォルミス (*Lactobacillus coryniformis*)、ラクトバシラス・クラストラム (*Lactobacillus crustorum*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・ファーメントム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・ハメシイ (*Lactobacillus hammesii*)、ラクトバシラス・ヘルベティカス (*Lactobacillus helvericus*)、ラクトバシラス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*)、ラクトバシラス・マリ (*Lactobacillus mali*)、ラクトバシラス・パラブフネリ (*Lactobacillus parabuchneri*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・パラプランタラム (*Lactobacillus paraplantarum*)、ラクトバシラス・ペントーサス (*Lactobacillus pentosus*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ポブジヒイ (*Lactobacillus pobuzihii*)、ラクトバシラス・ラピ (*Lactobacillus rapi*)、ラクトバシラス・ラムノサス (*Lactobacillus rhamnosus*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、ラクトバシラス・バースモルデンシス (*Lactobacillus versmoldensis*)、ラクトコッカス・ラクティス (*Lactococcus lactis*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、リユーコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、リユーコノストック・ラクティス (*Leuconostoc lactis*)、リユーコノストック・メゼンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、リユーコノストック・デキストラニカム (*Leuconostocs dextranicum*)、ペディオコッカス・アシディラクティシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus arg*

entinicus)、ペディオコッカス・エタノリデュランス (*Pediococcus ethanolidurans*)、ペディオコッカス・パーブルス (*Pediococcus parvulus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ルミノコッカス・グナバス (*Ruminococcus gnavus*)、ルミノコッカス・プロダクタス (*Ruminococcus productus*)、ストレプトコッカス・シトロボラム (*Streptococcus citrovorum*)、ストレプトコッカス・フェカリスR (*Streptococcus faecalis* R)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、ワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*)、及びワイセラ・パラメセンテロイデス (*Weissella paramesenteroides*) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔1〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔13〕

前記細菌が、バクテロイデス属 (*Bacteroides* sp.)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、リューコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、ルミノコッカス属 (*Ruminococcus* sp.)、及びストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔1〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔14〕

前記細菌が、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニユレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、リューコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、ペディ

オコッカス・アシディラクティシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ルミノコッカス・プロダクタス (*Ruminococcus productus*)、及びストレプトコッカス・フェカリスR (*Streptococcus faecalis* R) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔１５〕

前記細菌が、クロストリジウム属 (*Clostridium* sp.)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、リユーコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.)、テトラジェノコッカス属 (*Tetragenococcus* sp.)、及びワイセラ属 (*Weissella* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔１６〕

前記細菌が、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・ファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・マリ (*Lactobacillus mali*)、ラクトバシラス・パラブフネリ (*Lactobacillus parabuchneri*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ポブジヒイ (*Lactobacillus pobuzihii*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ストレプトコッカス・シトロボラム (*Streptococcus citrovorum*)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、

及びワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、ワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*)、からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔１７〕

前記細菌が、バクテロイデス属 (*Bacteroides* sp.)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、及びストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔１８〕

前記細菌が、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・アドレセンティス (*Bifidobacterium adolescentis*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニューレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、ラクトバシラス・ペントーサス (*Lactobacillus pentosus*)、及びラクトバシラス・サリバリウス (*Lactobacillus salivarius*) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔１９〕

前記細菌が、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、リユーコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、テトラジェノコッカス属 (*Tetragenococcus* sp.)、及びワイセラ属 (*Weissella* sp.) からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔２０〕

前記細菌が、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラク

トバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*) ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・ラピ (*Lactobacillus rapi*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、リユーコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、リユーコノストック・ラクティス (*Leuconostoc lactis*)、リユーコノストック・メゼンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、及びワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*)、からなる群より選ばれる少なくとも一種である、

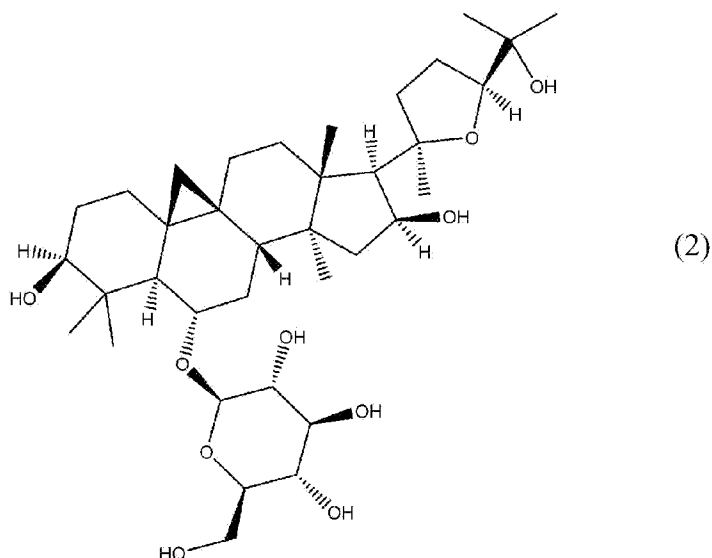
〔１〕に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

〔２１〕

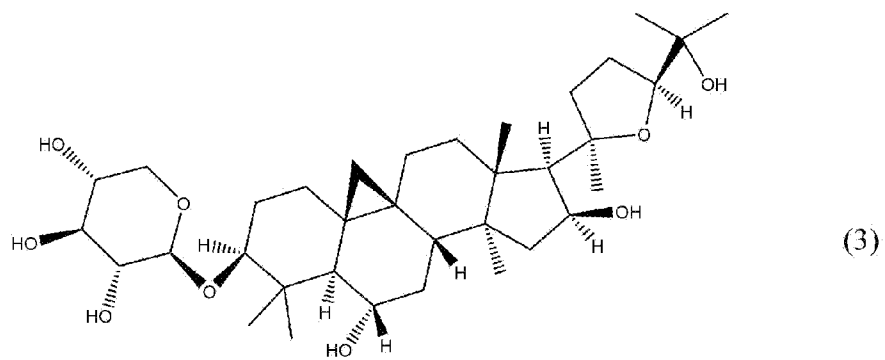
前記シクロアストラゲノール類縁体が、下記式（２）～（６）からなる群より選ばれる１種又は２種以上である、

〔１〕～〔２０〕のいずれか一項に記載の方法。

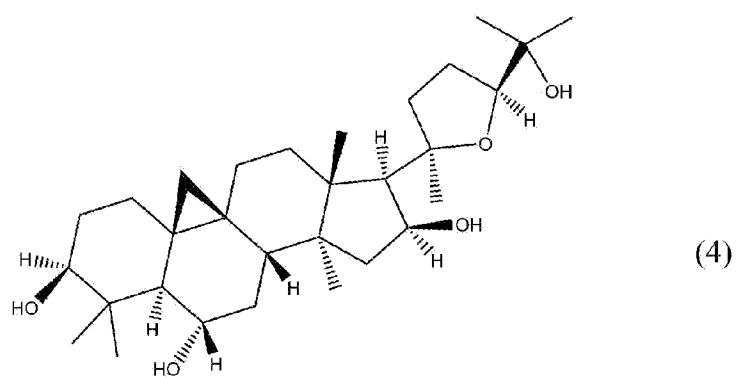
[化1]



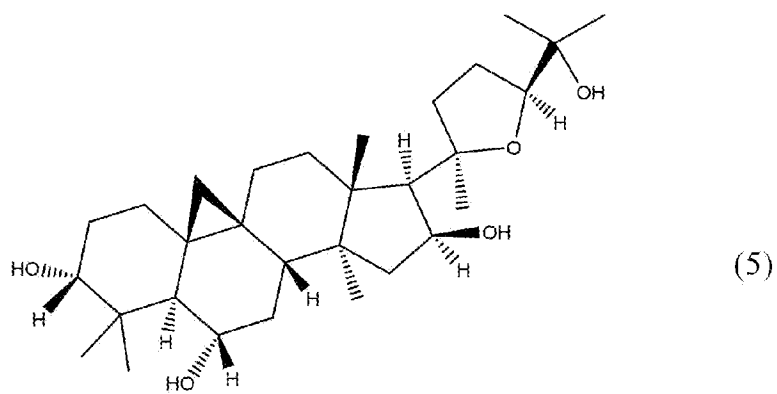
[化2]



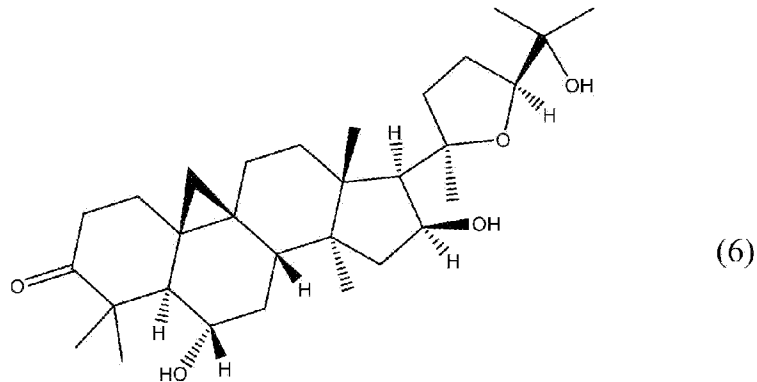
[化3]



[化4]



[化5]



[ 2 2 ]

前記接触工程が、緩衝液中で実施される、

[ 1 ] ～ [ 2 1 ] のいずれか一項に記載の方法。

[ 2 3 ]

前記接触工程が、培地中で実施される、

[ 1 ] ～ [ 2 1 ] のいずれか一項に記載の方法。

[ 2 4 ]

[ 1 ] ～ [ 2 3 ] のいずれか一項に記載の方法により得られる、

シクロアストラゲノール類縁体。

[ 2 5 ]

[ 2 4 ] に記載のシクロアストラゲノール類縁体と、細菌と、を含む、  
組成物。

## 発明の効果

[0010] 本発明によれば、アストラガロシドIVからシクロアストラゲノール類縁体を製造する新たな方法を提供することができる。

## 図面の簡単な説明

[0011] [図1]実施例において検証した菌体の一覧を示す。

[図2]実施例において検証した菌体の一覧を示す。

[図3]実施例において検証した菌体の一覧を示す。

[図4]実施例において検証した菌体の一覧を示す。

[図5]実施例において検証した菌体の一覧を示す。

[図6]実施例において検証した菌体の一覧を示す。

### 発明を実施するための形態

[0012] 以下、本発明の実施の形態（以下、「本実施形態」という。）について詳細に説明するが、本発明はこれに限定されるものではなく、その要旨を逸脱しない範囲で様々な変形が可能である。

[0013] [シクロアストラゲノール類縁体の製造方法]

本実施形態のシクロアストラゲノール類縁体の製造方法は、アストラガロシドIVと、細菌と、を接触する接触工程を含む。

本実施形態のシクロアストラゲノール類縁体の製造方法は、必要に応じて、接触工程において得られる混合物から、シクロアストラゲノール類縁体を回収する回収工程を含んでいてもよい。

[0014] [接触工程]

アストラガロシドIVと、細菌の接触は、緩衝液中又は培地中で行うことができる。以下、接触工程の条件について記載するが、本実施形態の接触工程の条件は以下に限定されるものではない。

[0015] 培地中における接触工程では、細菌を培地中に含めることにより、アストラガロシドIVと、細菌と、を接触させる。

[0016] 培地中における接触工程では、細菌を培地中で培養しながら、アストラガロシドIVと、細菌と、を接触させることが好ましい。

[0017] 当該接触工程は、培養法として公知の方法に準じた方法により実施することができる。

培養法として、所謂、回分培養法、半回分培養法（「流加培養法」ともいう。）、又は連続培養法を適用することができる。

[0018] 培養温度は、接触工程において用いる細菌の培養のための至適温度として知られた範囲内であれば特に制限されず、一般に、25℃～50℃であり、好ましくは37℃～50℃である。

[0019] 回分培養法又は半回分培養法の場合の培養時間は、一般に、10～240

時間であり、好ましくは15～160時間である。連続培養法の場合の平均滞留時間は、一般に、10～150時間であり、好ましくは15～100時間である。

[0020] 培地のpHは、接触工程において用いる細菌の培養のための至適pHとして知られた範囲内であれば特に制限されない。中性環境下で培養する場合、培地のpHは、一般に、6.5～7.5であり、好ましくは6.8～7.2である。

[0021] 培地の攪乱方式としては、攪乱を与えない静置培養、バブリングを行う通気培養、撈拌子を用いる撈拌培養、培養容器を振り動かす振盪培養が挙げられる。培養は、対象となる菌種によって、嫌気条件下又は好気条件下で行う。これら雰囲気条件は、攪乱方式により調整してもよいし、その他公知の装置等を用いて至適環境に調整してもよい。

[0022] 上記接触工程を含む本培養の前には前培養工程を行ってもよい。前培養工程においては、少量の培地へ菌体を入れて菌体数を増やし、段階的に培地容量を増やしていく。その後、培地に対してアストラガロシドIVを加え上記接触工程を行う。前培養の培地にアストラガロシドIVを含めてもよい。

[0023] 接触工程において用いる培地は細菌の種類などに応じて当業者により適宜選択されるものであり、特に制限されないが、乳酸菌の増菌培地として、例えば、GAM (Gifu Anaerobic Medium) 培地、MRS (deMan, Rogosa and Sharpe) 培地などが挙げられる。

[0024] 前培養工程において用いる培地としては、特に制限されず、接触工程において用いる培地と同様の培地であってもよく、異なってもよい。

[0025] 緩衝液中における接触工程では、細菌を緩衝液中に含めることにより、アストラガロシドIVと、細菌と、を接触させる。

[0026] 当該接触工程は、細菌が、緩衝液中に混合されていれば実施することができる。接触工程を緩衝液中で実施する際の条件は、特に制限されず、培地に代えて緩衝液を用いること以外は、上記と同様としてもよい。

[0027] 緩衝液としては、接触工程において用いる細菌の生存のための至適pHと

して知られた範囲で緩衝能を有する緩衝液から適宜選択することができ、特に制限されないが、例えば、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス（トリスヒドロキシメチルアミノメタン）緩衝液、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液等が挙げられる。

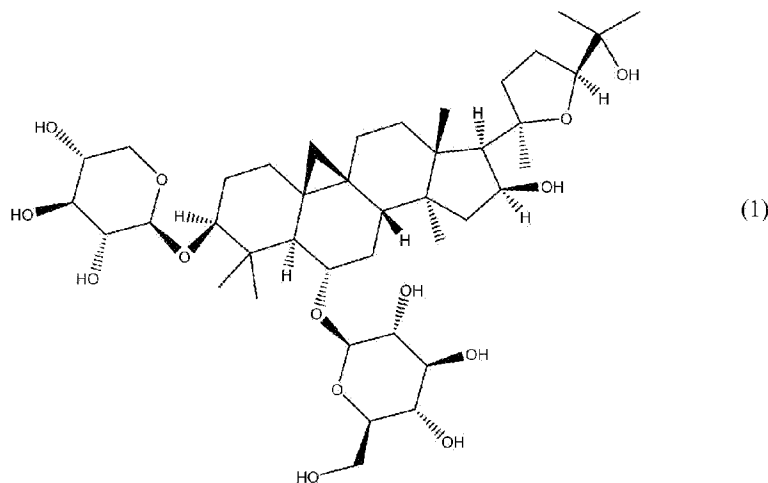
[0028] 緩衝液の濃度は、特に制限されないが、一般に、1～100mMであり、好ましくは2～50mMであり、より好ましくは5～30mMである。

[0029] 緩衝液のpHは、特に制限されないが、一般に、pH2～9であり、好ましくはpH3～8であり、より好ましくはpH4～7.5である。

[0030] （アストラガロシドIV）

アストラガロシドIV（以下、「AIV」ともいう。）は、下記式（1）で表される化合物である。アストラガロシドIVは、オウギに含まれるラノスタン四環トリテルペノイドサポニンの一種であり、抗酸化作用を有することが知られている。アストラガロシドIVは、例えば、オウギから抽出したオウギエキスを精製して粉末の状態を得られる。本実施形態において、アストラガロシドIVは、粉末の状態のほか、粉末を溶剤に溶解した状態、あるいはオウギエキに含まれた状態で用いることができる。粉末を溶解する溶剤としては、メタノールやジメチルスルホキシド（DMSO）等が挙げられる。

[化6]



[0031] （細菌）

細菌としては、食品由来菌乃至はその同属種の菌、腸内細菌、農作物関連

細菌、生薬類関連細菌、及び花卉関連細菌からなる群より選ばれる少なくとも一種が好ましい。

[0032] このような細菌としては、特に制限されないが、例えば、アセトバクター属 (*Acetobacter* sp.)、バクテロイデス属 (*Bacteroides* sp.)、ビフィドバクテリウム属 (*Bifidobacterium* sp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* sp.)、コリネバクテリウム属 (*Corynebacterium* sp.)、エンテロコッカス属 (*Enterococcus* sp.)、フソバクテリウム属 (*Fusobacterium* sp.)、グルコノバクター属 (*Gluconobacter* sp.)、ハロアナエロビウム属 (*Haloanaerobium* sp.)、ラクトバシラス属 (*Lactobacillus* sp.)、ラクトコッカス属 (*Lactococcus* sp.)、リユーコノストック属 (*Leuconostoc* sp.)、ミクロコッカス属 (*Micrococcus* sp.)、オエノコッカス属 (*Oenococcus* sp.)、ペディオコッカス属 (*Pediococcus* sp.)、プロピオニバクテリウム属 (*Propionibacterium* sp.)、シュードモナス属 (*Pseudomonas* sp.)、ルミノコッカス属 (*Ruminococcus* sp.)、スポロラクトバシラス属 (*Sporolactobacillus* sp.)、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* sp.)、テトラジェノコッカス属 (*Tetragenococcus* sp.)、ワイセラ属 (*Weissella* sp.) 等が挙げられる。

[0033] 上記細菌の中でも、本発明の目的には、腸内細菌叢から単離される細菌（以下、「腸内細菌」ともいう。）又は、発酵食品やその他食品から単離される細菌が好ましい。腸内細菌には、乳酸菌及びその他の嫌気性菌又は好気性菌等が含まれる。腸内細菌の中でも、本発明の目的には、腸内に常在し、腸内環境を整える働きを有する細菌が好ましい。なお、腸内細菌の単離源は腸内細菌叢に限られるものではない。

[0034] 上記細菌の中でも、本発明の目的には、糖類の代謝により乳酸を産生する乳酸菌が好ましい。乳酸菌としては、例えば、ビフィドバクテリウム属、エンテロコッカス属、ラクトバシラス属、ラクトコッカス属、リユーコノストック属、オエノコッカス属、ペディオコッカス属、ストレプトコッカス属、及びテトラジェノコッカス属が含まれる。なお、乳酸菌は、腸内細菌叢から単離される細菌であっても、発酵食品やその他食品から単離される細菌であ

ってもよい。

[0035] 嫌気性菌の種としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス属、クロストリジウム属、コリネバクテリウム属、フソバクテリウム属、ハロアネロビウム属、プロピオニバクテリウム属、ルミノコッカス属に属する菌などが挙げられる。なお、嫌気性菌は、腸内細菌叢から単離される細菌であっても、発酵食品やその他食品から単離される細菌であってもよい。

[0036] 好気性菌としては、アルコールを代謝して酢酸を生産するアセトバクター属、グルコノバクター属、ミクロコッカス属、シュードモナス属等の細菌が挙げられる。なお、好気性菌は、腸内細菌叢から単離される細菌であっても、発酵食品やその他食品から単離される細菌であってもよい。

[0037] 上記細菌の中でも、安全性の観点から、食品の製造及び工業生産に有用な菌（以下、「食品有用菌」ともいう。）が好ましい。このような食品有用菌としては、例えば、アセトバクター属、ビフィドバクテリウム属、クロストリジウム属、コリネバクテリウム属、エンテロコッカス属、グルコノバクター属、ハロアネロビウム属、ラクトコッカス属、ラクトバシラス属、ミクロコッカス属、オエノコッカス属、ペディオコッカス属、シュウドモナス属、スポロラクトバシラス属、ストレプトコッカス属、及びテトラジェノコッカス属が含まれる。なお、食品有用菌は、腸内細菌叢から単離される細菌であっても、発酵食品やその他食品から単離される細菌であってもよい。

[0038] 細菌は、生産するシクロアストラゲノール類縁体の種類によっても分類することができる。

[0039] 例えば、後述する式（４）で表される化合物（M3）と、式（５）で表される化合物（M4）と、式（６）で表される化合物（M5）を主に生産する細菌の属としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス属、ビフィドバクテリウム属、クロストリジウム属、ラクトバシラス属、リューコノストック属、ペディオコッカス属、ルミノコッカス属、ストレプトコッカス属、テトラジェノコッカス属、及びワイセラ属が挙げられる。

[0040] また、これら細菌の属種としては、特に制限されないが、例えば、バクテ

ロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニューレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・ファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・マリ (*Lactobacillus mali*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ポブジヒイ (*Lactobacillus pobuzihii*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、リユーコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、リユーコノストック・ラクティス (*Leuconostoc lactis*)、リユーコノストック・メゼンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ペディオコッカス・アシディラクティシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ルミノコッカス・プロダクタス (*Ruminococcus productus*)、ストレプトコッカス・シトロボラム (*Streptococcus citrovorum*)、ストレプトコッカス・フェカリスR (*Streptococcus faecalis* R)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、及びワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*) が挙げられる。

[0041] 例えば、後述する式(2)で表される化合物(M1)と、式(3)で表される化合物(M2)を主に生産する細菌の属としては、特に制限されないが、例

えば、バクテロイデス属、ビフィドバクテリウム属、クロストリジウム属、エンテロコッカス属、ラクトバシラス属、ラクトコッカス属、リューコノストック属、ペディオコッカス属、ルミノコッカス属、ストレプトコッカス属、テトラジェノコッカス属、及びワイセラ属が挙げられる。

[0042] また、これら細菌の属種としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニユレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、エンテロコッカス・タイランディカス (*Enterococcus thailandicus*)、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ラクトバシラス・ブフネリ (*Lactobacillus buchneri*)、ラクトバシラス・ブルガリクス (*Lactobacillus bulgaricus*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・コリニフォルミス (*Lactobacillus coryniformis*)、ラクトバシラス・クラストラム (*Lactobacillus crustorum*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・ファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・ハメシイ (*Lactobacillus hammesii*)、ラクトバシラス・ヘルベティカス (*Lactobacillus helvericus*)、ラクトバシラス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*)、ラクトバシラス・マリ (*Lactobacillus mali*)、ラクトバシラス・パラブフネリ (*Lactobacillus parabuchneri*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・パラプランタラム (*Lactobacillus paraplantarum*)、ラクトバシラス・ペントーサス (*Lactobacillus pentosus*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ポブジヒイ (*Lactobacillus pobuzihii*)、ラクトバシラス・ラピ (*Lactobacillus rapi*)、ラクトバシラ

ス・ラムノサス (*Lactobacillus rhamnosus*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、ラクトバシラス・バースモルデンシス (*Lactobacillus versmoldensis*)、ラクトコッカス・ラクティス (*Lactococcus lactis*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、リユーコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、リユーコノストック・ラクティス (*Leuconostoc lactis*)、リユーコノストック・メゼンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、リユーコノストック・デキストラニカム (*Leuconostoc dextranicum*)、ペディオコッカス・アシディラクティシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・エタノリデュランス (*Pediococcus ethanolidurans*)、ペディオコッカス・パーブルス (*Pediococcus parvulus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ルミノコッカス・グナバス (*Ruminococcus gnavus*)、ルミノコッカス・プロダクタス (*Ruminococcus productus*)、ストレプトコッカス・シトロボラム (*Streptococcus citrovorum*)、ストレプトコッカス・フェカリスR (*Streptococcus faecalis* R)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、ワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*)、及びワイセラ・パラメゼンテロイデス (*Weissella paramesenteroides*) が挙げられる。

[0043] 例えば、化合物 (M1) と、化合物 (M3) と、化合物 (M4) を主に生産する細菌の属としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス属、ビフィドバクテリウム属、及びリユーコノストック属が挙げられる。

[0044] また、これら細菌の属種としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニユレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、及びリユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*) が挙げられる。

[0045] 例えば、化合物 (M2) と、化合物 (M3) と、化合物 (M4) を主に生産する

細菌の属としては、特に制限されないが、例えば、ビフィドバクテリウム属、クロストリジウム属、エンテロコッカス属、ラクトバシラス属、ラクトコッカス属、リューコノストック属、ペディオコッカス属、ルミノコッカス属、ストレプトコッカス属、テトラジェノコッカス属、及びワイセラ属が挙げられる。

[0046] また、これら細菌の属種としては、特に制限されないが、例えば、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*)、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、エンテロコッカス・タイランディカス (*Enterococcus thailandicus*)、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ラクトバシラス・ブフネリ (*Lactobacillus buchneri*)、ラクトバシラス・ブルガリクス (*Lactobacillus bulgaricus*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・コリニフォルミス (*Lactobacillus coryniformis*)、ラクトバシラス・クラストラム (*Lactobacillus crustorum*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・ファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・ハメシイ (*Lactobacillus hammesii*)、ラクトバシラス・ヘルベティカス (*Lactobacillus helvericus*)、ラクトバシラス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*)、ラクトバシラス・マリ (*Lactobacillus mali*)、ラクトバシラス・パラブフネリ (*Lactobacillus parabuchneri*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・パラプランタラム (*Lactobacillus paraplantarum*)、ラクトバシラス・ペントーサス (*Lactobacillus pentosus*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ポブジヒイ (*Lactobacillus pobuzihii*)、ラクトバシラス・

ラピ (*Lactobacillus rapi*)、ラクトバシラス・ラムノサス (*Lactobacillus rhamnosus*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、ラクトバシラス・バースモルデンシス (*Lactobacillus versmoldensis*)、ラクトコッカス・ラクティス (*Lactococcus lactis*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、リユーコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、リユーコノストック・ラクティス (*Leuconostoc lactis*)、リユーコノストック・メゼンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、リユーコノストック・デキストラニカム (*Leuconostocs dextranicum*)、ペディオコッカス・アシディラクティシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・エタノリデュランス (*Pediococcus ethanolidurans*)、ペディオコッカス・パーブルス (*Pediococcus parvulus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ルミノコッカス・グナバス (*Ruminococcus gnavus*)、ルミノコッカス・プロダクタス (*Ruminococcus productus*)、ストレプトコッカス・シトロボラム (*Streptococcus citrovorum*)、ストレプトコッカス・フェカリスR (*Streptococcus faecalis* R)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、ワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*)、及びワイセラ・パラメゼンテロイデス (*Weissella paramesenteroides*) が挙げられる。

[0047] 例えば、化合物 (M3) と化合物 (M4) を主に生産する細菌の属としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス属、ビフィドバクテリウム属、ラクトバシラス属、リユーコノストック属、ペディオコッカス属、ルミノコッカス属、及びストレプトコッカス属が挙げられる。

[0048] また、これら細菌の属種としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・シュード

カテニューレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、ペディオコッカス・アシディラクティシ (*Pediococcus acidilactici*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ルミノコッカス・プロダクタス (*Ruminococcus productus*)、及びストレプトコッカス・フェカリスR (*Streptococcus faecalis* R) が挙げられる。

[0049] 例えば、化合物 (M5) を主に生産する細菌の属としては、特に制限されないが、例えば、クロストリジウム属、ラクトバシラス属、リユーコノストック属、ペディオコッカス属、ストレプトコッカス属、テトラジェノコッカス属、及びワイセラ属が挙げられる。

[0050] また、これら細菌の属種としては、特に制限されないが、例えば、クロストリジウム・ディフィシル (*Clostridium difficile*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・ファーメンタム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバシラス・マリ (*Lactobacillus mali*)、ラクトバシラス・パラブフネリ (*Lactobacillus parabuchneri*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・プランタルム (*Lactobacillus plantarum*)、ラクトバシラス・ポブジヒイ (*Lactobacillus pobuzihii*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、リユーコノストック・カルノーサム (*Leuconostoc carnosum*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、ストレプト

コッカス・シトロボラム (*Streptococcus citrovorum*)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、及びワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*) が挙げられる。

[0051] 例えば、化合物 (M1) を主に生産する細菌の属としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス属、ビフィドバクテリウム属、ラクトバシラス属、及びストレプトコッカス属が挙げられる。

[0052] また、これら細菌の属種としては、特に制限されないが、例えば、バクテロイデス・ユニフォルミス (*Bacteroides uniformis*)、ビフィドバクテリウム・アドレセンティス (*Bifidobacterium adolescentis*)、ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*)、ビフィドバクテリウム・シュードカテニューレイタム (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*)、ラクトバシラス・ペントーサス (*Lactobacillus pentosus*)、及びラクトバシラス・サリバリウス (*Lactobacillus salivarius*)

[0053] 例えば、化合物 (M2) を主に生産する細菌の属としては、特に制限されないが、例えば、ラクトバシラス属、リユーコノストック属、ペディオコッカス属、テトラジェノコッカス属、及びワイセラ属が挙げられる。

[0054] また、これら細菌の属種としては、特に制限されないが、例えば、ラクトバシラス・アシディピスチス (*Lactobacillus acidipiscis*)、ラクトバシラス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバシラス・アリメンタリウス (*Lactobacillus alimentarius*)、ラクトバシラス・ブレビス (*Lactobacillus brevis*)、ラクトバシラス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバシラス・デルブリュック (*Lactobacillus delbrueckii*)、ラクトバシラス・パラカゼイ (*Lactobacillus paracasei*)、ラクトバシラス・パラアリメンタリウス (*Lactobacillus paralimentarius*)、ラクトバシラス・ラピ (*Lactobacillus rapi*)、ラクトバシラス・サケイ (*Lactobacillus sakei*)、リユーコノストック・シトレウム (*Leuconostoc citreum*)、リユーコノストック・ラクティス (*Leuconostoc lactis*)、リユーコノストック・メ

ゼンテロイデス (*Leuconostoc mesenteroides*)、ペディオコッカス・アルジェンチニクス (*Pediococcus argentinicus*)、ペディオコッカス・ペントサセウス (*Pediococcus pentosaceus*)、テトラジェノコッカス・ハロフィルス (*Tetragenococcus halophilus*)、ワイセラ・シバリア (*Weissella cibaria*)、及びワイセラ・コンフーサ (*Weissella confusa*) が挙げられる。

[0055] なお、所望のシクロアストラゲノール類縁体を得るために、例えば、AIVから化合物(M2)を合成する菌体をAIVに接触させる第1工程と、得られた化合物(M2)を菌体に接触させて化合物(M3)を合成する第2工程とを行ってもよい。

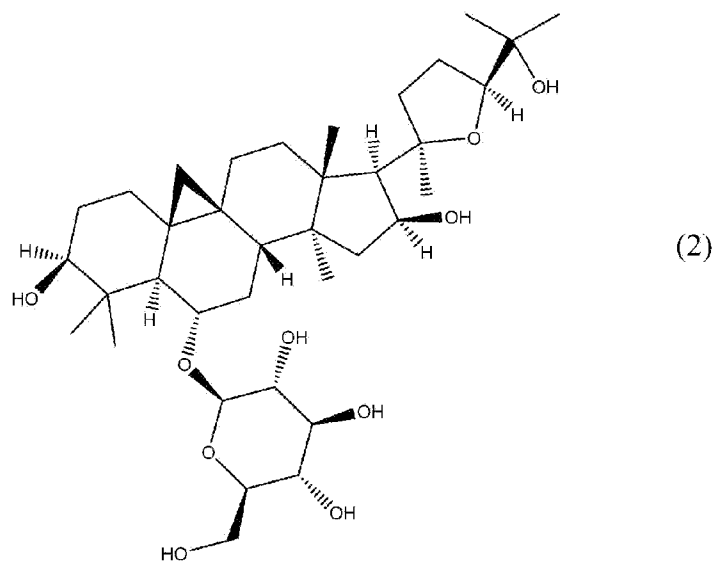
[0056] これらのなかでも、本発明の目的には、ペディオコッカス属、ストレプトコッカス属、ラクトバシラス属、及びビフィドバクテリウム属に属する細菌からなる群より選ばれる1種又は2種以上の乳酸菌が好ましく用いられ、ビフィドバクテリウム・シュードカテニューレイタム菌、ビフィドバクテリウム・ブレーベ菌、ラクトバシラス・ジョンソニイ菌、ペディオコッカス・アシディラクティシ菌、ペディオコッカス・ペントサセウス菌、ストレプトコッカス・フェカリスR菌、及びストレプトコッカス・シトロボラム菌からなる群より選ばれる1種又は2種以上の菌がより好ましく用いられる。

[0057] これら細菌は、通常の菌培養用培地、例えば、GAM培地、MRS培地等を用いて培養することができる。本実施形態において、細菌は、菌培養用培地による培養液をそのまま、もしくは濃縮して用いてもよく、また分離、集菌した菌体をそのままもしくは滅菌精製水等に懸濁し、あるいは凍結乾燥等により乾燥して用いることもできる。

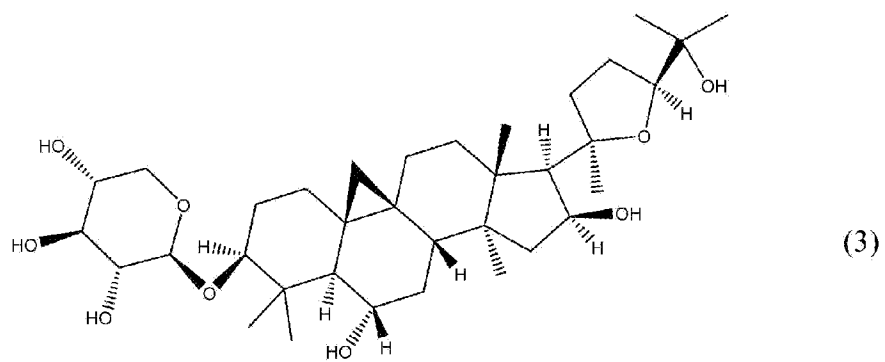
[0058] (シクロアストラゲノール類縁体)

シクロアストラゲノール類縁体は、下記式(2)～(6)で表される化合物からなる群より選ばれる1種又は2種以上が挙げられる。

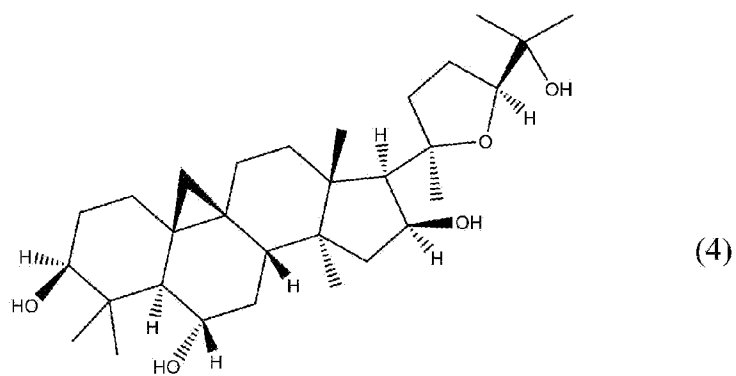
[化7]



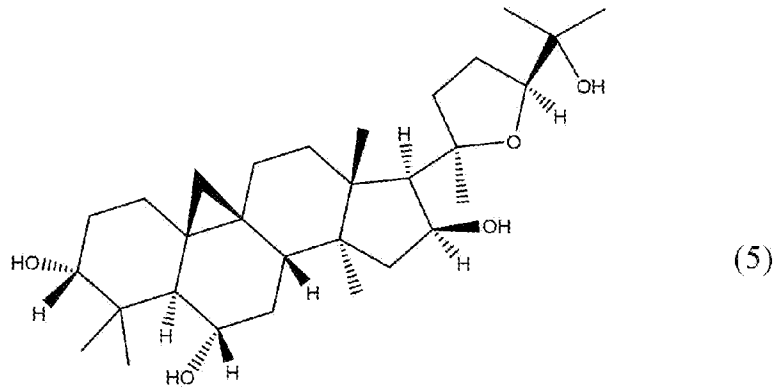
[化8]



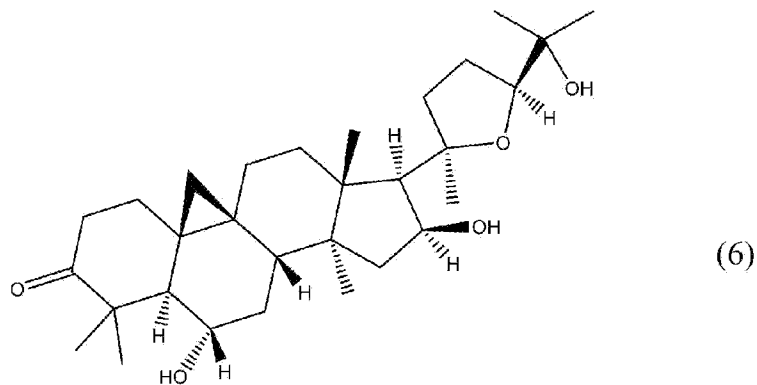
[化9]



[化10]



[化11]



[0059] 本実施形態において、シクロアストラゲノール類縁体は、上記式（２）～（６）で表される１種の化合物であってもよく、下記式（２）～（６）で表される２種以上の化合物の混合物であってもよい。

シクロアストラゲノール類縁体は、アストラガロシドIVと、細菌と、を接触して得られた、上記式（２）～（６）で表される２種以上の化合物の混合物であることが好ましい。

[0060] 式（２）で表される化合物（以下、「M1」ともいう。）は、AIVからキシロースが脱離した構造を有するシクロアストラゲノールのグルコース配糖体である。また、式（３）で表される化合物（以下、「M2」ともいう。）は、AIVからグルコースが脱離した構造を有するシクロアストラゲノールのキシロース配糖体である。さらに、式（４）で表される化合物（以下、「M3」ともいう。）は、AIVからグルコース及びキシロースが脱離した構造を有するシクロアストラゲノールである。また、式（６）で表される化合物（以下、「M5」

ともいう。)は、M3の水酸基が酸化されたケトン構造を有する化合物である。さらに、式(5)で表される化合物(以下、「M4」ともいう。)は、M3の立体異性体である。

[0061] [回収工程]

上記接触工程により、シクロアストラゲノール類縁体と細菌の混合物が得られる。回収工程においては、この混合物から不必要な成分を除いてもよい。例えば、混合物からシクロアストラゲノール類縁体のみを単離回収してもよいし、細菌と混合物としてシクロアストラゲノール類縁体を回収してもよい。シクロアストラゲノール類縁体のみを単離回収する場合の回収工程としては、接触工程において得られる混合物から、遠心分離や濾過等によって不溶な物質(菌体など)を除去した後、イオン交換樹脂などで脱塩し、その溶液から、結晶化やカラムクロマトグラフィー等の常法に従って、シクロアストラゲノール類縁体を分離する方法が挙げられる。また、細菌と混合物としてシクロアストラゲノール類縁体を回収する場合の回収工程としては、接触工程により得られた混合物を適宜濃縮し、また不純物を除去する方法が挙げられる。

[0062] [組成物]

本実施形態の組成物は、アストラガロシドIVと、細菌と、を接触させて上記のようにして得られたシクロアストラゲノール類縁体と、当該製造方法により用いた細菌と、を含む。当該組成物は、その用途に応じて適宜必要な成分を含んでもよい。当該組成物は、上記製造方法において、アストラガロシドIVと、細菌と、を接触させた溶液等の混合物を、そのまま用いてもよいし、得られた混合物を、分離、濃縮などの追加の回収工程を行って得られた混合物を用いてもよい。

## 実施例

[0063] 以下、本発明を実施例及び比較例を用いてより具体的に説明する。本発明は、以下の実施例によって何ら限定されるものではない。

[0064] 各菌体のグリセロールストック 50  $\mu$ L を、GAM培地(種培地) 15 mL 中

で、37℃、24時間、嫌気性条件下で、振とう速度120rpmで培養した。その培養液150μLを、3mMのグルコースを含むGAM培地15mL中で、37℃、120時間、嫌気性条件下で、振とう速度120rpmで培養した。次いで、得られた培養液のうち1mLを分取し、HPLCにより分析した。

[0065] 残りの培養液14mLは、3000rpmで15分間遠心分離を行い、上澄みをデカントし、菌体ペレットを得た。得られた細胞ペレットを、0.85%の塩化ナトリウム溶液1mLで洗浄し、洗浄液を遠心分離間に移して、さらに15000rpmで15分間遠心分離をして、再度、菌体ペレットを得た。

[0066] pH6.5、濃度0.1Mのリン酸カリウム緩衝液と、アストラガロシドIVを15mg/mL含むDMSO溶液20μLと、を混合し、混合液に菌体ペレットを添加して、緩衝液中にてアストラガロシドIVと菌体とを接触させた。なお、接触は37℃、72時間、振とう速度1750rpmとした。その後、混合液を遠心して菌体を沈殿させ、上清を回収した。回収した上清を凍結乾燥して再溶解することにより、HPLC分析用のサンプルを得た。得られたサンプルを用いて、HPLCにより分析を行った。

[0067] HPLCによる分析は、非特許文献1に記載の方法に準じて行い、HPLC分析により、AIV、M1～M5を測定した。

[0068] [実施例A]

上記方法において、菌体として表1に記載の菌体を用いた場合のHPLC分析結果を表1に示す。

[0069]

[表1]

| Strain                                           | AIV    | M1～M5 の合計 |
|--------------------------------------------------|--------|-----------|
| <i>Pediococcus acidilactic</i> NBRC: 3885        | 36039  | 91757     |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> NBRC: 12229       | 2711   | 106609    |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> NBRC: 3812        | 9898   | 97624     |
| <i>Pediococcus argentinicus</i> NBRC: 107827     | 22456  | 130117    |
| <i>Streptococcus citrovorum</i> NBRC: 3397       | 0      | 73119     |
| <i>Lactobacillus casei</i> NBRC: 15883           | 42557  | 145064    |
| <i>Lactobacillus sakei</i> NBRC: 15893           | 21056  | 115272    |
| <i>Enterococcus durans</i> NBRC: 100479          | 118811 | 120276    |
| <i>Enterococcus faecalis</i> NBRC: 12965         | 53547  | 87918     |
| <i>Sporolactobacillus nakayamae</i> NBRC: 101526 | 37184  | 173430    |
| <i>Lactococcus lactis</i> NBRC: 100933           | 38943  | 82364     |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i> NBRC: 12172    | 26017  | 125778    |

[0070] 図1～6に示すに列記する各菌体についても、上記同様の操作を行い、M1～M5の生産を確認した。

[0071] [実施例B]

図1～6に示すに列記する各菌体のなかでも、化合物(M3)、化合物(M4)、及び、化合物(M5)の生産に優れるものとして以下の菌株が得られた。

[0072]

[表2]

| Strain                                                                | AIV   | M3~M5 の合計 |
|-----------------------------------------------------------------------|-------|-----------|
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> NBRC: 12229                            | 2711  | 47239     |
| <i>Pediococcus acidilactici</i> NBRC: 3885                            | 36039 | 35647     |
| <i>Streptococcus citrovorum</i> NBRC:3397                             | 0     | 34297     |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> NBRC:3812                              | 9898  | 31067     |
| <i>Streptococcus faecalis</i> R                                       | 38543 | 20390     |
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM: 7016                                | 36136 | 49970     |
| <i>Clostridium difficile</i> JCM:5243                                 | 47285 | 39761     |
| <i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> JCM: 7041                    | 0     | 29954     |
| <i>Ruminococcus productus</i> JCM: 1471                               | 38669 | 29239     |
| <i>Bacteroides uniformis</i> JCM: 5828                                | 68271 | 26013     |
| <i>Pediococcus argentinicus</i> NBRC: 107827                          | 22456 | 50923     |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i> NBRC: 12172                         | 26017 | 42620     |
| <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> NBRC: 15893            | 21056 | 40180     |
| <i>Lactobacillus casei</i> NBRC: 15883                                | 42557 | 37747     |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> NBRC: 13951                          | 43488 | 35383     |
| <i>Lactobacillus acidipiscis</i> NBRC: 102164                         | 51806 | 35053     |
| <i>Lactobacillus paralimentarius</i> NBRC: 107152                     | 59549 | 32602     |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> NBRC: 101973                           | 53909 | 32123     |
| <i>Lactobacillus mali</i> NBRC: 102159                                | 36542 | 28575     |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> NBRC: 102622    | 38651 | 27592     |
| <i>Lactobacillus fermentum</i> NBRC: 15885                            | 66004 | 25958     |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> NBRC: 3349 | 54713 | 23558     |
| <i>Lactobacillus brevis</i> NBRC: 3345                                | 72850 | 21345     |
| <i>Leuconostoc citreum</i> NBRC: 102476                               | 33332 | 21212     |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> RD012175                               | 0     | 55258     |
| <i>Leuconostoc carnosum</i> RD012174                                  | 1381  | 54722     |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD011715                                   | 23692 | 32699     |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i> RD055252                            | 1964  | 32424     |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i> RD055258                            | 2882  | 31759     |
| <i>Weissella confusa</i> RD012604                                     | 6388  | 31584     |
| <i>Lactobacillus pobuzihii</i> RD011765                               | 32228 | 28361     |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD011713                                   | 33334 | 28302     |

[0073]

[表3]

| Strain                           | AIV   | M3~M5 の合計 |
|----------------------------------|-------|-----------|
| Weissella_cibaria RD012578       | 0     | 26202     |
| Lactobacillus_pobuzihii RD012653 | 0     | 26105     |
| Lactobacillus_paracasei RD055262 | 34315 | 25559     |
| Leuconostoc_citreum RD012577     | 0     | 25329     |
| Weissella_confusa RD012161       | 0     | 24467     |
| Lactobacillus_sakei RD012596     | 25262 | 23425     |
| Lactobacillus_paracasei RD011733 | 37153 | 22659     |
| Leuconostoc_lactis RD012583      | 1689  | 21545     |
| Lactobacillus_brevis RD055257    | 0     | 20586     |
| Lactobacillus_paracasei RD011743 | 32516 | 20542     |
| Pediococcus_pentosaceus RD012523 | 34085 | 20361     |

## [0074] [実施例C]

図1～6に示すに列記する各菌体のなかでも、特に、化合物(M1)及び化合物(M2)の生産に優れるものの上位20株として以下の菌株が得られた。

## [0075]

[表4]

| Strain                                           | AIV   | M1~M2 の合計 |
|--------------------------------------------------|-------|-----------|
| <i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> JCM7041 | 0     | 102946    |
| <i>Pediococcus argentinicus</i> NBRC 107827      | 22456 | 79194     |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i> NBRC 12172     | 26017 | 83158     |
| <i>Lactobacillus sakei</i> NBRC 15893            | 21056 | 75092     |
| <i>Lactobacillus casei</i> NBRC 15883            | 42557 | 107317    |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> NBRC 13951      | 43488 | 90774     |
| <i>Lactobacillus acidipiscis</i> NBRC 102164     | 51806 | 84204     |
| <i>Lactobacillus paralimentarius</i> NBRC 107152 | 59549 | 73096     |
| <i>Pediococcus_pentosaceus</i> RD012175          | 0     | 73563     |
| <i>Lactobacillus_alimentarius</i> RD055252       | 1964  | 87622     |
| <i>Weissella_cibaria</i> RD012578                | 0     | 67322     |
| <i>Lactobacillus_paracasei</i> RD055262          | 34315 | 68013     |
| <i>Leuconostoc_citreum</i> RD012577              | 0     | 83643     |
| <i>Weissella_confusa</i> RD012161                | 0     | 110191    |
| <i>Leuconostoc_lactis</i> RD012583               | 1689  | 67766     |
| <i>Lactobacillus_brevis</i> RD012087             | 0     | 76124     |
| <i>Lactobacillus_brevis</i> RD055271             | 6136  | 71420     |
| <i>Tetragenococcus_halophilus</i> RD012572       | 0     | 91484     |
| <i>Lactobacillus_rapi</i> RD012520               | 20591 | 74149     |
| <i>Leuconostoc_mesenteroides</i> RD011712        | 2269  | 76292     |

## [0076] [実施例D]

図1～6に示すに列記する各菌体のなかでも、特に、化合物（M1）、化合物（M3）及び化合物（M4）の生産に優れるものの上位20株として以下の菌株が得られた。

## [0077]

[表5]

| Strain                                            | AIV   | M1,M3,M4 の合計 |
|---------------------------------------------------|-------|--------------|
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM7016              | 36136 | 57908        |
| <i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> JCM 7041 | 0     | 120268       |
| <i>Ruminococcus productus</i> JCM 1471            | 38669 | 11446        |
| <i>Bacteroides uniformis</i> JCM 5828             | 68271 | 46231        |
| <i>Bifidobacterium longum</i> JCM 1222            | 43065 | 10009        |
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM 1273             | 73562 | 21634        |
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM 7020             | 80968 | 12072        |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> JCM 1275      | 75076 | 19333        |
| <i>Lactobacillus casei</i> NBRC 15883             | 42557 | 17888        |
| <i>Lactobacillus acidipiscis</i> NBRC 102164      | 51806 | 12121        |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> RD012175           | 0     | 8938         |
| <i>Leuconostoc carnosum</i> RD012174              | 1381  | 22268        |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD011715               | 23692 | 16614        |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD055262           | 34315 | 11397        |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD012596               | 25262 | 10089        |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD011733           | 37153 | 12560        |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD011743           | 32516 | 9384         |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> RD012523           | 34085 | 11787        |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD012090               | 44713 | 12886        |
| <i>Lactobacillus pentosus</i> RD012581            | 68969 | 8160         |

## [0078] [実施例 E]

図 1 ～ 6 に示すに列記する各菌体のなかでも、特に、化合物 (M2)、化合物 (M3) 及び化合物 (M4) の生産に優れるものの上位 20 株として以下の菌株が得られた。

## [0079]

[表6]

| Strain                                           | AIV   | M2・M4 の合計 |
|--------------------------------------------------|-------|-----------|
| <i>Ruminococcus productus</i> JCM1471            | 38669 | 73453     |
| <i>Pediococcus argentinus</i> NBRC 107827        | 22456 | 79194     |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i> NBRC 12172     | 26017 | 83158     |
| <i>Lactobacillus sakei</i> NBRC 15893            | 21056 | 75092     |
| <i>Lactobacillus casei</i> NBRC 15883            | 42557 | 125205    |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> NBRC 13951      | 43488 | 93942     |
| <i>Lactobacillus acidipiscis</i> NBRC 102164     | 51806 | 96325     |
| <i>Lactobacillus paralimentarius</i> NBRC 107152 | 59549 | 76928     |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> RD012175          | 0     | 82501     |
| <i>Leuconostoc carnosum</i> RD012174             | 1381  | 81332     |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD011715              | 23692 | 77163     |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i> RD055252       | 1964  | 87622     |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD055262          | 34315 | 79410     |
| <i>Leuconostoc citreum</i> RD012577              | 0     | 83643     |
| <i>Weissella confusa</i> RD012161                | 0     | 110191    |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD011733          | 37153 | 74330     |
| <i>Lactobacillus brevis</i> RD012087             | 0     | 76124     |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i> RD012572       | 0     | 91484     |
| <i>Lactobacillus rapi</i> RD012520               | 20591 | 74149     |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> RD011712        | 2269  | 76292     |

## [0080] [実施例 F]

図 1 ～ 6 に示すに列記する各菌体のなかでも、特に、化合物（M3）、及び、化合物（M4）の生産に優れるものの上位 20 株として以下の菌株が得られた。

## [0081]

[表7]

| Strain                                             | AIV   | M3~M4 の合計 |
|----------------------------------------------------|-------|-----------|
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> NBRC: 3182          | 9898  | 12798     |
| <i>Pediococcus acidilactici</i> NBRC: 3885         | 36039 | 10538     |
| <i>Streptococcus faecalis</i> R                    | 38543 | 10467     |
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM: 7016             | 36136 | 40250     |
| <i>Bacteroides uniformis</i> JCM:5828              | 68271 | 18733     |
| <i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> JCM: 7041 | 0     | 17322     |
| <i>Ruminococcus productus</i> JCM: 1471            | 38669 | 11446     |
| <i>Lactobacillus casei</i> NBRC: 15883             | 42557 | 17888     |
| <i>Lactobacillus acidipiscis</i> NBRC: 102164      | 51806 | 12121     |
| <i>Lactobacillus paralimentarius</i> NBRC: 107152  | 59549 | 3832      |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> NBRC: 13951       | 43488 | 3168      |
| <i>Leuconostoc carnosum</i> RD012174               | 1381  | 22268     |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD011715                | 23692 | 16614     |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD011733            | 37153 | 12560     |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> RD012523            | 34085 | 11787     |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD055262            | 34315 | 11397     |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD012596                | 25262 | 10089     |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD011743            | 32516 | 9384      |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> RD012175            | 0     | 8938      |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD011713                | 33334 | 2677      |

## [0082] [実施例 G]

図 1 ～ 6 に示すに列記する各菌体のなかでも、特に、化合物 (M5) の生産に優れるものの上位 20 株として以下の菌株が得られた。

## [0083]

[表8]

| Strain                                                            | AIV   | M5    |
|-------------------------------------------------------------------|-------|-------|
| <i>Clostridium difficile</i> JCM5243 JCM5243                      | 47285 | 39761 |
| <i>Pediococcus argentinicus</i> NBRC 107827                       | 22456 | 50923 |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i> NBRC 12172                      | 26017 | 42620 |
| <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> NBRC 15893         | 21056 | 40180 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> NBRC 13951                       | 43488 | 32215 |
| <i>Lactobacillus paralimentarius</i> NBRC 107152                  | 59549 | 28770 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> NBRC 101973                        | 53909 | 32123 |
| <i>Lactobacillus mali</i> NBRC 102159                             | 36542 | 28575 |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> NBRC 102622 | 38651 | 27592 |
| <i>Lactobacillus fermentum</i> NBRC 15885                         | 66004 | 25958 |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> RD012175                           | 0     | 46320 |
| <i>Leuconostoc carnosum</i> RD012174                              | 1381  | 32454 |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i> RD055252                        | 1964  | 32424 |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i> RD055258                        | 2882  | 31759 |
| <i>Weissella confusa</i> RD012604                                 | 6388  | 31584 |
| <i>Lactobacillus pobuzihii</i> RD011765                           | 32228 | 28361 |
| <i>Lactobacillus sakei</i> RD011713                               | 33334 | 25625 |
| <i>Weissella cibaria</i> RD012578                                 | 0     | 26202 |
| <i>Lactobacillus pobuzihii</i> RD012653                           | 0     | 26105 |
| <i>Leuconostoc citreum</i> RD012577                               | 0     | 25329 |

## [0084] [実施例H]

図1～6に示すに列記する各菌体のなかでも、特に、化合物(M1)の生産に優れるものとして以下の菌株が得られた。

## [0085] [表9]

| Strain                                             | AIV   | M1     |
|----------------------------------------------------|-------|--------|
| <i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> JCM: 7041 | 0     | 102946 |
| <i>Bacteroides uniformis</i> JCM: 5828             | 68271 | 27498  |
| <i>Bifidobacterium adolescentis</i> JCM: 1275      | 75076 | 19333  |
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM: 7016             | 36136 | 17658  |
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM: 1273             | 73562 | 15286  |
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM: 7020             | 80968 | 12072  |
| <i>Bifidobacterium breve</i> JCM: 7019             | 85443 | 3428   |

## [0086] [実施例I]

図1～6に示すに列記する各菌体のなかでも、特に、化合物（M2）の生産に優れるものとして以下の菌株が得られた。

[0087] [表10]

| Strain                                                            | AIV   | M2     |
|-------------------------------------------------------------------|-------|--------|
| <i>Pediococcus argentinicus</i> NBRC 107827                       | 22456 | 79194  |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i> NBRC 12172                      | 26017 | 83158  |
| <i>Lactobacillus sakei</i> NBRC 15893                             | 21056 | 75092  |
| <i>Lactobacillus casei</i> NBRC 15883                             | 42557 | 107317 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> NBRC 13951                       | 43488 | 90774  |
| <i>Lactobacillus acidipiscis</i> NBRC 102164                      | 51806 | 84204  |
| <i>Lactobacillus paralimentarius</i> NBRC 107152                  | 59549 | 73096  |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> NBRC 102622 | 38651 | 67071  |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> RD012175                           | 0     | 73563  |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i> RD055252                        | 1964  | 87622  |
| <i>Weissella cibaria</i> RD012578                                 | 0     | 67322  |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> RD055262                           | 34315 | 68013  |
| <i>Leuconostoc citreum</i> RD012577                               | 0     | 83643  |
| <i>Weissella confusa</i> RD012161                                 | 0     | 110191 |
| <i>Leuconostoc lactis</i> RD012583                                | 1689  | 67766  |
| <i>Lactobacillus brevis</i> RD012087                              | 0     | 76124  |
| <i>Lactobacillus brevis</i> RD055271                              | 6136  | 71420  |
| <i>Tetragenococcus halophilu</i> RD012572                         | 0     | 91484  |
| <i>Lactobacillus rapi</i> RD012520                                | 20591 | 74149  |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> RD011712                         | 2269  | 76292  |

## 産業上の利用可能性

[0088] 本発明の方法は、シクロアストラゲノール類縁体を製造する方法として、産業上の利用可能性を有する。

## 請求の範囲

[請求項1]            アストラガロシドIVと、細菌と、を接触する接触工程を含む、  
シクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

[請求項2]            前記細菌が、食品由来菌乃至はその同属種の菌、腸内細菌、農作物  
関連細菌、生薬類関連細菌、及び花卉関連細菌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に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

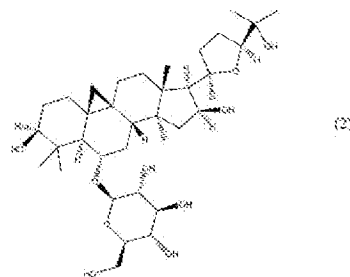
[請求項3]            前記細菌が、アセトバクター属、バクテロイデス属、ビフィドバク  
テリウム属、クロストリジウム属、コリネバクテリウム属、エンテロ  
コッカス属、フソバクテリウム属、グルコノバクター属、ハロアナエロ  
ビウム属、ラクトバシラス属、ラクトコッカス属、リューコノストク  
属、マイクロコッカス属、オエノコッカス属、ペディオコッカス属、  
プロピオニバクテリウム属、シュードモナス属、ルミノコッカス属、  
スポロラクトバシラス属、ストレプトコッカス属、テトラジェノコッ  
カス属、及びワイセラ属からなる群より選ばれる少なくとも一種であ  
る、

請求項1に記載のシクロアストラゲノール類縁体を製造する方法。

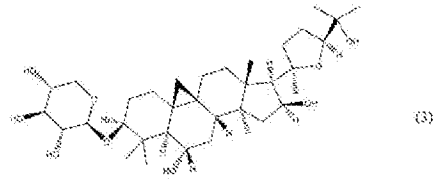
[請求項4]            前記シクロアストラゲノール類縁体が、下記式(2)～(6)から  
なる群より選ばれる1種又は2種以上である、

請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

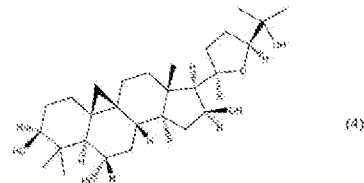
[化1]



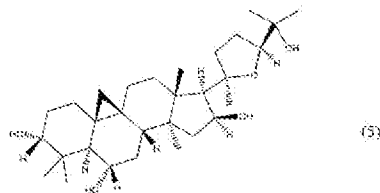
[化2]



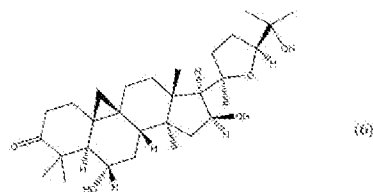
[化3]



[化4]



[化5]



- [請求項5] 前記接触工程が、緩衝液中で実施される、  
請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項6] 前記接触工程が、培地中で実施される、  
請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項7] 請求項1～6のいずれか一項に記載の方法により得られる、  
シクロアストラゲノール類縁体。
- [請求項8] 請求項7に記載のシクロアストラゲノール類縁体と、細菌と、を含む、  
組成物。

[図1]

| Strain                                                     | IFO<br>NBRC | JCM   | ATCC  | DSMZ |
|------------------------------------------------------------|-------------|-------|-------|------|
| <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i>             | 15883       |       |       |      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>     |             | 1161  |       |      |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i>                             |             | 1583  |       |      |
| <i>Lactobacillus thymophilus</i>                           |             | 1581  |       |      |
| <i>Lactobacillus sakei</i>                                 | 3541        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>                              | 12011       |       |       |      |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                             | 3070        |       |       |      |
| <i>Streptococcus</i> sp.                                   | 12540       |       |       |      |
| <i>Streptococcus bovis</i>                                 | 12006       |       |       |      |
| <i>Pedionococcus acidilactici</i>                          | 3939        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus helveticus</i>                            | 3219        |       |       |      |
| <i>Leuconostoc mesentericum</i>                            | 3347        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i>                           |             |       | 11506 |      |
| <i>Lactobacillus casei</i>                                 | 1583        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus helveticus</i>                            | 3926        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i>                             | 1332        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus thymophilus</i>                           | 3425        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>Paracasei</i>     | 3939        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i> | 1534        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i> | 3534        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i>                           |             | 10043 |       |      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i>                           |             | 20106 |       |      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i>                           |             | 30075 |       |      |
| <i>Lactobacillus fermentum</i>                             | 3966        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus fermentum</i>                             | 3071        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus helveticus</i>                            | 3219        |       |       |      |
| <i>Lactobacillus helveticus</i>                            | 3219        |       |       |      |

[図2]

| Strain                                                 | IFO<br>NBRC | JCM  | ATCC | DSMZ |
|--------------------------------------------------------|-------------|------|------|------|
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                         | 3070        |      |      |      |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                         | 3070        |      |      |      |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>                          | 12011       |      |      |      |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                         | 3074        |      |      |      |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                         | 3075        |      |      |      |
| <i>Streptococcus</i> sp.                               | 12450       |      |      |      |
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>                       | 15229       |      |      |      |
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>                       | 3934        |      |      |      |
| <i>Pedionococcus acidilactici</i>                      | 12231       |      |      |      |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                         |             |      | 2571 |      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>Paracasei</i> | 3939        |      |      |      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>Paracasei</i> | 3939        |      |      |      |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i>                         | 3931        |      |      |      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> | 12004       |      |      |      |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i>                         | 12521       |      |      |      |
| <i>Lactobacillus buchneri</i>                          |             | 1069 |      |      |
| <i>Lactobacillus buchneri</i>                          |             | 1069 |      |      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> |             | 1109 |      |      |
| <i>Enterococcus faecium</i>                            | 3126        |      |      |      |
| <i>Streptococcus faecium</i>                           | 3367        |      |      |      |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                         | 3336        |      |      |      |
| <i>Streptococcus faecalis</i>                          | 12058       |      |      |      |
| <i>Enterococcus faecium</i>                            | 12367       |      |      |      |
| <i>Enterococcus faecium</i>                            | 3933        |      |      |      |
| <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>       | 3427        |      |      |      |
| <i>Pedionococcus acidilactici</i>                      | 3935        |      |      |      |
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>                       | 3182        |      |      |      |
| <i>Pedionococcus acidilactici</i>                      | 3476        |      |      |      |
| <i>Pedionococcus acidilactici</i>                      | 12216       |      |      |      |
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>                       | 3932        |      |      |      |
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>                       | 12224       |      |      |      |
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>                       | 12229       |      |      |      |
| <i>Leuconostoc delbrueckii</i>                         | 3347        |      |      |      |

[図3]

| Strain                                                       | IFO<br>NBRC |
|--------------------------------------------------------------|-------------|
| <i>Streptococcus mutans</i>                                  | 13955       |
| <i>Sporolactobacillus nakayamiae</i> subsp. <i>racemicus</i> | 101524      |
| <i>Sporolactobacillus terrae</i>                             | 101527      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>   | 3202        |
| <i>Streptococcus equinus</i>                                 | 12553       |
| <i>Tetragastrumococcus halophilus</i>                        | 12112       |
| <i>Lactobacillus curvatus</i>                                | 107129      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>                               | 110708      |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                               | 101973      |
| <i>Lactobacillus sakei</i>                                   | 107130      |
| <i>Leuconostoc nitreum</i>                                   | 109476      |
| <i>Lactobacillus uvarum</i>                                  | 107154      |
| <i>Lactobacillus brevis</i>                                  | 3349        |
| <i>Enterococcus sulfureus</i>                                | 100680      |
| <i>Lactobacillus buchneri</i>                                | 107784      |
| <i>Lactobacillus fermentis</i>                               | 107150      |
| <i>Lactobacillus fermentum</i>                               | 15889       |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>       | 15801       |
| <i>Lactobacillus reuteri</i>                                 | 15692       |
| <i>Leuconostoc lactis</i>                                    | 107880      |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> | 100490      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>       | 15889       |
| <i>Pediococcus acidilactici</i>                              | 109619      |
| <i>Enterococcus faecium</i>                                  | 100485      |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>        | 102622      |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>argentinensis</i>   | 106458      |
| <i>Lactobacillus mali</i>                                    | 102158      |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>   | 3349        |
| <i>Enterococcus casseliflavus</i>                            | 100478      |
| <i>Lactobacillus acidipiscis</i>                             | 102154      |

[図4]

| Strain                                                     | IFO<br>NBRC |
|------------------------------------------------------------|-------------|
| <i>Bifidobacterium bifidum</i>                             | 100015      |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i>                           | 13951       |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i>                             | 3182        |
| <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>             | 110453      |
| <i>Enterococcus avium</i>                                  | 100477      |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i>                             | 3182        |
| <i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i>                   | 7941        |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                             | 101973      |
| <i>Lactobacillus sakei</i>                                 | 107130      |
| <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i>             | 15893       |
| <i>Pediococcus argentinicus</i>                            | 107827      |
| <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>     | 15889       |
| <i>Bifidobacterium bifidum</i>                             | 100015      |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i>                           | 13951       |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i>                             | 3182        |
| <i>Enterococcus avium</i>                                  | 100477      |
| <i>Enterococcus durans</i>                                 | 100478      |
| <i>Streptococcus mutans</i>                                | 13955       |
| <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i> | 3202        |

## [図5]

| Strain                             | RD        |
|------------------------------------|-----------|
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>   | RD012179  |
| <i>Leuconostoc paracasei</i>       | RD012174  |
| <i>Lactobacillus sakei</i>         | RD011715  |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>     | RD0082282 |
| <i>Lactobacillus alimentarius</i>  | RD053258  |
| <i>Weissella confusa</i>           | RD012604  |
| <i>Lactobacillus pedunculatus</i>  | RD011785  |
| <i>Lactobacillus sakei</i>         | RD011713  |
| <i>Weissella cibaria</i>           | RD012078  |
| <i>Lactobacillus pedunculatus</i>  | RD012650  |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>     | RD053362  |
| <i>Leuconostoc citreum</i>         | RD012677  |
| <i>Weissella confusa</i>           | RD012161  |
| <i>Lactobacillus sakei</i>         | RD012591  |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>     | RD011735  |
| <i>Leuconostoc lactis</i>          | RD012583  |
| <i>Lactobacillus brevis</i>        | RD053257  |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>     | RD011743  |
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>   | RD012528  |
| <i>Lactobacillus brevis</i>        | RD012687  |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i>   | RD011740  |
| <i>Lactobacillus brevis</i>        | RD011723  |
| <i>Lactobacillus brevis</i>        | RD053271  |
| <i>Weissella paramesenteroides</i> | RD012576  |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>     | RD053372  |
| <i>Lactobacillus norynkensis</i>   | RD011738  |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i>  | RD012572  |
| <i>Tetragenococcus halophilus</i>  | RD011680  |
| <i>Lactobacillus rahi</i>          | RD012520  |
| <i>Lactobacillus sakei</i>         | RD012080  |
| <i>Lactobacillus brevis</i>        | RD012562  |
|                                    | RD011712  |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i>   | RD011712  |
| <i>Lactobacillus coryphaeus</i>    | RD011724  |
| <i>Lactobacillus crustorum</i>     | RD053318  |
| <i>Weissella cibaria</i>           | RD011812  |

## [図6]

| Strain                              | RD       |
|-------------------------------------|----------|
| <i>Lactobacillus fermenti</i>       | RD011296 |
| <i>Lactobacillus paracasei</i>      | RD053282 |
| <i>Lactotetrillus paraplantarum</i> | RD053289 |
| <i>Lactobacillus voranidis</i>      | RD011708 |
| <i>Pedionococcus ginsengis</i>      | RD011265 |
|                                     | RD011718 |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i>    | RD011706 |
| <i>Pedionococcus paracasei</i>      | RD011824 |
| <i>Lactotetrillus paracasei</i>     | RD011748 |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>       | RD011764 |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i>    | RD012107 |
| <i>Lactotetrillus pentosus</i>      | RD053279 |
| <i>Pedionococcus pentosaceus</i>    | RD012594 |
| <i>Enterococcus faecium</i>         | RD012543 |
| <i>Lactotetrillus pentosus</i>      | RD011825 |
| <i>Lactococcus lactis</i>           | RD012891 |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>       | RD011748 |
| <i>Lactotetrillus paraplantarum</i> | RD053259 |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>       | RD053274 |
| <i>Lactobacillus paraplantarum</i>  | RD053275 |
| <i>Lactotetrillus paracasei</i>     | RD053276 |
| <i>Lactobacillus fermenti</i>       | RD011736 |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>       | RD011741 |
| <i>Lactotetrillus paracasei</i>     | RD011826 |
| <i>Streptococcus gordonii</i>       | RD012091 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i>     | RD012113 |
| <i>Enterococcus pseudobovis</i>     | RD012132 |
| <i>Enterococcus faecalis</i>        | RD012545 |
| <i>Enterococcus faecium</i>         | RD012551 |
| <i>Enterococcus faecium</i>         | RD012552 |
| <i>Lactobacillus animalis</i>       | RD012593 |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>       | RD012581 |
| <i>Tetragenococcus koreensis</i>    | RD012586 |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/049408

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/58(2006.01)i; A61K 31/7048(2006.01)i; A61P 9/00(2006.01)i; C07J 17/00(2006.01)i; C07H 15/26(2006.01)i; C12P 17/04(2006.01)i; C12P 19/56(2006.01)i; C12P 33/20(2006.01)i

FI: C12P17/04; A61K31/7048; C07J17/00; A61K31/58; A61P9/00; C12P33/20; C12P19/56; C07H15/26 CSP

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)

A61K31/58; A61K31/7048; A61P9/00; C07J17/00; C07H15/26; C12P17/04; C12P19/56; C12P33/20

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/REGISTRY/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<br>Y    | JIN, Y. et al., "Disposition of Astragaloside IV via Enterohepatic Circulation Is Affected by the Activity of the Intestinal Microbiome", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, vol. 63, no. 23, pp. 6084-6093, ISSN 0021-8561, in particular, pp. 6086, 6090 | 1-4, 6-8<br>1-8       |
| X<br>Y    | WANG, L. et al., "Efficient Biotransformation of Astragaloside IV to Cycloastragenol by Bacillus sp. LG-502", Applied Biochemistry and Biotechnology, 2017, vol. 183, no. 4, pp. 1488-1502, ISSN 0273-2289, in particular, abstract, introduction, discussion             | 1, 2, 4, 6-8<br>1-8   |



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  
06 March 2020 (06.03.2020)

Date of mailing of the international search report  
17 March 2020 (17.03.2020)

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/JP2019/049408

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                           | Relevant to claim No. |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | 伊藤喜久治, 腸内細菌と動物実験系, 化学と生物, 1994, vol. 32, no. 1, pp. 44-47, ISSN 1883-6852, in particular, p. 45, left column, non-official translation (ITOH, Kikuji, "Enteric bacteria and animal experimental system", KAGAKU TO SEIBUTSU) | 1-8                   |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                      |           |            |             |            |             |            |             |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
| A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））<br>A61K 31/58(2006.01)i; A61K 31/7048(2006.01)i; A61P 9/00(2006.01)i; C07J 17/00(2006.01)i;<br>C07H 15/26(2006.01)i; C12P 17/04(2006.01)i; C12P 19/56(2006.01)i; C12P 33/20(2006.01)i<br>FI: C12P17/04; A61K31/7048; C07J17/00; A61K31/58; A61P9/00; C12P33/20; C12P19/56; C07H15/26 CSP                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                      |           |            |             |            |             |            |             |            |
| 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））<br>A61K31/58; A61K31/7048; A61P9/00; C07J17/00; C07H15/26; C12P17/04; C12P19/56; C12P33/20                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                      |           |            |             |            |             |            |             |            |
| 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<br><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                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                      |           |            |             |            |             |            |             |            |
| 国際調査で利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）<br>JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                      |           |            |             |            |             |            |             |            |
| C. 関連すると認められる文献                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                      |           |            |             |            |             |            |             |            |
| 引用文献の<br>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<br>請求項の番号                                                       |           |            |             |            |             |            |             |            |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | JIN, Y et al., Disposition of Astragaloside IV via Enterohepatic Circulation Is Affected by the Activity of the Intestinal Microbiome, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, Vol.63, No.23, pp.6084-6093, ISSN 0021-8561<br>特にp. 6086, 6090 | 1-4, 6-8                                                             |           |            |             |            |             |            |             |            |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                         | 1-8                                                                  |           |            |             |            |             |            |             |            |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | WANG, L et al., Efficient Biotransformation of Astragaloside IV to Cycloastragenol by Bacillus sp. LG-502, Applied Biochemistry and Biotechnology, 2017, Vol.183, No.4, pp.1488-1502, ISSN 0273-2289<br>特にAbstract, Introduction, Discussion            | 1, 2, 4, 6-8                                                         |           |            |             |            |             |            |             |            |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                         | 1-8                                                                  |           |            |             |            |             |            |             |            |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 伊藤喜久治, 腸内細菌と動物実験系, 化学と生物, 1994, Vol.32, No.1, pp.44-47, ISSN 1883-6852<br>特にp. 45左欄                                                                                                                                                                     | 1-8                                                                  |           |            |             |            |             |            |             |            |
| <input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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<br>“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<br>“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<br>“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）<br>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献<br>“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<br>“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<br>“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<br>“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<br>“&” 同一パテントファミリー文献 |                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                      |           |            |             |            |             |            |             |            |
| 国際調査を完了した日<br>06.03.2020                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                         | 国際調査報告の発送日<br>17.03.2020                                             |           |            |             |            |             |            |             |            |
| 名称及びあて先<br>日本国特許庁(ISA/JP)<br>〒100-8915<br>日本国<br>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）<br><br>星 功介 4N 4439<br><br>電話番号 03-3581-1101 内線 3448 |           |            |             |            |             |            |             |            |