

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002 年 1 月 3 日 (03.01.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/00239 A1

(51) 国際特許分類: A61K 35/78, 31/12, 31/216, 7/00,
7/16, 7/08, A61P 43/00, 37/08, A23L 1/30

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/05553

(22) 国際出願日: 2001 年 6 月 28 日 (28.06.2001)

(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2000-194825 2000 年 6 月 28 日 (28.06.2000) JP
特願2000-198733 2000 年 6 月 30 日 (30.06.2000) JP
特願2000-198734 2000 年 6 月 30 日 (30.06.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): キッ
コーマン株式会社 (KIKKOMAN CORPORATION)
[JP/JP]; 〒278-8601 千葉県野田市野田250番地 Chiba
(JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 山本大地 (YA-
MAMOTO, Taichi) [JP/JP]. 金森智子 (KANAMORI,

Tomoko) [JP/JP]. 山口典男 (YAMAGUCHI, Fumio)
[JP/JP]. 斉藤 實 (SAITO, Makoto) [JP/JP]. 小幡明雄
(OBATA, Akio) [JP/JP]; 〒278-8601 千葉県野田市野田
250番地 キッコーマン株式会社内 Chiba (JP). 辻 亮
平 (TSUJI, Ryohei) [JP/JP]; 〒278-0037 千葉県野田市
野田399番地 財団法人 野田産業科学研究所内 Chiba
(JP).

(74) 代理人: 弁理士 津国 肇 (TSUKUNI, Hajime); 〒
105-0001 東京都港区虎ノ門1丁目22番12号 SVAX TS
ビル Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AU, BA, BB, BG, BR, BZ,
CA, CN, CO, CR, CU, CZ, DM, DZ, EC, EE, GD, GE, HR,
HU, ID, IL, IN, IS, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MG, MK,
MN, MX, NO, NZ, PL, RO, SG, SI, SK, TT, UA, US, UZ,
VN, YU, ZA.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,

[続葉有]

(54) Title: ANTIALLERGIC AGENTS, DRUGS, FOODS, DRINKS OR COSMETICS CONTAINING THEM AND PROCESS
FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 抗アレルギー剤、それを含有する医薬品、飲食品又は化粧品およびそれらの製造方法

(57) Abstract: Antiallergic agents, histamine-release inhibitors or leukotriene-release inhibitors containing as the active ingredient at
least one member selected from among tomato extract, tomato pericarp, naringenin chalcone and its derivatives and tricaffeoylquinic
acid and its derivatives, dicaffeoylsuccinylquinic acid and its derivatives; drugs, foods, drinks or cosmetics characterized by contain-
ing the above-described antiallergic agents, histamine-release inhibitors or leukotriene-release inhibitors; and a process for producing
an antiallergic agent characterized by extracting tomato with a solvent.

(57) 要約:

本発明は、トマト抽出物、トマトの果皮、ナリンゲニンカルコンまたはその
誘導体、トリカフェオイルキナ酸またはその誘導体、ジカフェオイルスクシニ
ルキナ酸またはその誘導体の少なくとも一つを有効成分とする抗アレルギー剤、
ヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤、上記抗アレルギー剤、
ヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤を含有することを特徴
とする、医薬品、飲食品または化粧品、および原料トマトを溶剤で抽出するこ
とを特徴とする、抗アレルギー剤の製造方法を提供するものである。



WO 02/00239 A1



LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

明 細 書

抗アレルギー剤、それを含有する医薬品、飲食品又は化粧品およびそれらの製造方法

5

技術分野

本発明は、トマト由来の抗アレルギー剤、ヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤およびそれらの製造方法に関し、更に詳しくは、ナリンゲニンカルコン又はカフェー酸誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤、ヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤、それらを含有する医薬品、
10 飲食品又は化粧品およびそれらの製造方法に関する。

背景技術

近年、気管支喘息、成人における花粉症や子供のアトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患の患者が増大し、大きな社会問題になっている。何らかのアレルギーを持つ人は今や3人に一人までになっており、国民病とまで言われている。一般的にアレルギー反応には、アナフィラキシー（I型）、細胞障害型（II型）、アルサス型（III型）および細胞介在型（遅延型）（IV型）の4つの型があるが、最近特に問題になっている花粉症はI型アレルギーに分類される。また、アトピー性皮膚炎もI型アレルギー反応が主体といわれている。
15 20

このI型アレルギーにおいては、アレルゲン（抗原）の侵入により産生されたIgE抗体が肥満細胞上のFcレセプターに結合し、再び侵入した抗原がこのIgE抗体と結合すると肥満細胞内顆粒中のヒスタミンやロイコトリエンなどのケミカルメディエーター（化学物質）が遊離され、直接的あるいは間接的に喘息や鼻炎、くしゃみ、鼻水、目のかゆみなどの症状を伴う急性炎症反応を引き起こす。従って、I型アレルギー反応を防ぐためには、上記経路のいずれかを切断すればよいことになる。
25

従来より、抗アレルギー作用を有する医薬成分の研究は数多く行われており、

当作用を有する数多くの合成化合物が報告されている。例えば、肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制活性やマクロファージからのロイコトリエン遊離抑制（「ロイコトリエン産生抑制」とも言う）活性を有する成分は、抗アレルギー剤としての効果が期待できる。しかし、抗アレルギー活性を有する天然物質は
5 あまり知られていない。さらに十分な抗アレルギー活性を有する安全な天然物質はほとんど得られていなかった。このため、特に医療の現場では、十分な抗アレルギー活性を有する化合物の探索および抗アレルギー剤の開発が求められている。

本発明は、新規な抗アレルギー剤、それを含有する医薬品、飲食品または化粧品およびその製造方法を提供することを課題とする。
10

本発明者等は、アレルギー性疾患の治療に有効となる指標を、ヒスタミン遊離抑制活性とし、新規な抗アレルギー剤を探索するべく鋭意研究を重ねた。その結果、トマトに抗アレルギー活性成分が含まれること、および抗アレルギー活性を有する画分はトマト果皮に多く含まれることを発見した。また、本発明者等は、上記抗アレルギー活性を有する画分が、ナリンゲニンカルコンおよび
15 カフェー酸誘導体であるトリカフェオイルキナ酸およびジカフェオイルスクシニルキナ酸であり、これらが、ヒスタミン遊離抑制活性を有すること、および抗アレルギー剤として有用であることを見出した。更に、これらの化合物の抗アレルギー活性は、該活性を有することが知られている他のカフェー酸誘導体
20 （カフェー酸またはジカフェオイルキナ酸）よりも強いことを見出した。本発明はこれらの知見に基づき完成された。

発明の開示

即ち、本発明は、以下の抗アレルギー剤、それを含有する医薬品、飲食品または化粧品およびその製造方法に関する。
25

（１）トマト抽出物を有効成分とする抗アレルギー剤。

（２）トマト抽出物を有効成分とするヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤。

- (3) トマトの果皮を有効成分とする抗アレルギー剤。
- (4) ナリンゲニンカルコンまたはその誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤。
- (5) ナリンゲニンカルコンまたはその誘導体を有効成分とするヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤。
- 5 (6) トリカフェオイルキナ酸またはその誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤。
- (7) ジカフェオイルスクシニルキナ酸またはその誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤。
- 10 (8) トリカフェオイルキナ酸、ジカフェオイルスクシニルキナ酸またはそれらの誘導体のいずれかを有効成分とするヒスタミン遊離抑制剤。
- (9) トリカフェオイルキナ酸またはその誘導体を有効成分とするロイコトリエン遊離抑制剤
- (10) 上記(1)、(3)、(4)、(6)または(7)に記載の抗アレルギー剤
- 15 を含有することを特徴とする、医薬品、飲食品または化粧品。
- (11) 上記(2)、(5)、(8)または(9)に記載のヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤を含有することを特徴とする、医薬品、飲食品または化粧品。
- (12) 原料トマトを溶剤で抽出することを特徴とする、抗アレルギー剤の製
- 20 造方法。

図面の簡単な説明

- 第1図は、実施例1-3で得られたヒスタミン遊離抑制成分(ナリンゲニンカルコン)の ^1H -NMRスペクトルである。
- 25 第2図は、実施例1-3で得られたヒスタミン遊離抑制成分(ナリンゲニンカルコン)の ^{13}C -NMRスペクトルである。
- 第3図は、実施例1-3で得られたヒスタミン遊離抑制成分(ナリンゲニンカルコン)のLC-MSである。

第4図は、実施例1-4に記載したヒスタミン遊離抑制活性を有する化合物（トリカフェオイルキナ酸）の¹H-NMRスペクトルである。

第5図は、実施例1-4に記載したヒスタミン遊離抑制活性を有する化合物（トリカフェオイルキナ酸）の¹³C-NMRスペクトルである。

5 第6図は、実施例1-4に記載したヒスタミン遊離抑制活性を有する化合物（トリカフェオイルキナ酸）のLC-MSである。

第7図は、実施例2（2）に記載したヒスタミン遊離抑制活性の測定結果である。

第8図は、マウス耳介浮腫モデルにおける、ナリングニンカルコンのアナフィラキシー抑制作用を示す図である。

第9図は、マウス耳介浮腫モデルにおける、トリカフェオイルキナ酸のアナフィラキシー抑制作用を示す図である。

第10図は、マウス耳介浮腫モデルにおけるトリカフェオイルキナ酸の経口投与によるアナフィラキシー抑制作用を示す図である。

15

発明を実施するための最良の形態

以下において、本発明を更に詳しく説明する。

1. トマト抽出物を有効成分とする抗アレルギー剤

本発明の抗アレルギー剤は、トマト抽出物を有効成分とすることを特徴とする。トマト抽出物は、例えば原料トマトを適当な溶剤で抽出することにより得られる。

抽出の対象である原料トマトは、トマトの植物体全体その他、果実、果皮、果汁等の任意の部位であってもよい。特に好ましい部位は、抗アレルギー活性を有する成分（以下「抗アレルギー活性成分」）を多く含む果皮である。また、
25 原料トマトは、トマト果実を搾汁した後に得られる搾汁滓であってもよい。搾汁滓は、果皮を多く含むので特に好ましい。原料トマトの品種は特に限定されず、一般に流通している生食用、加工用の品種が使用可能である。

原料トマトが水分を多く含んでいる場合、作業性を良くするため乾燥した後

に使用するのが望ましい。具体的には、例えば、50～150℃にて1～24時間、天日または熱風で乾燥し、水分含量を低減することが好ましい。また、抽出効率を高めるため、原料トマトは、細かくすりつぶしてから用いるのが好ましい。手段は特に限定されず、乳鉢による方法、ワーリングブレンダー、ホモジナイザー等の粉碎機器による方法等が挙げられる。原料トマトは16メッシュ以下となるように粉碎することが好ましい。

抗アレルギー活性成分を高濃度で抽出するための好ましい原料トマトは、トマト果皮またはトマト搾汁滓を乾燥した後に粉碎したものである。

抽出に用いる溶剤は、抗アレルギー活性成分を抽出可能なものであれば特に限定されず、通常の極性溶媒、両性溶媒等が使用できる。溶剤としては、例えば、有機溶媒、有機溶媒を含む溶剤、または水と有機溶媒との混合液等が使用できる。

有機溶媒とは、例えば、低級アルコール（具体的にはエタノール、メタノール、プロパノール、ブタノール）、エーテル類（具体的にはジエチルエーテル）、ハロゲン化炭素類（具体的にはクロロホルム）、ニトリル類（具体的にはアセトニトリル）、エステル類（具体的には酢酸エチル）、ケトン類（アセトン）などの他に、ヘキサン、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド等である。作業性等の面から、有機溶媒としては、エタノール、メタノール、または酢酸エチルが好ましい。有機溶媒は2種以上を混合して使用してもよい。

抗アレルギー活性成分の抽出効率の面から、溶剤としては水と有機溶媒との混合液が特に好ましい。水と有機溶媒との混合率は限定されないが、有機溶媒が20%以上、特に40～80%であることが望ましい。

トマト抽出物が最終的に食品や化粧品等に添加されることを考慮すると、溶剤としては、エタノールが特に好ましい。その場合、100%エタノールの他、含水アルコール、好ましくは40～90%エタノール溶液、特に好ましくは50～70%エタノール溶液が使用できる。

抽出に際しての原料トマトと溶媒との混合率は特に限定されず、原料トマト1に対して溶剤2～10重量倍、特に抽出操作、効率の点で5～10重量倍で

あることが好ましい。抽出温度は室温・常圧下での溶剤の沸点の範囲とするのが便利であり、特に、加熱・還流しながら抽出することが好ましい。溶剤が60%エタノールである場合、抽出温度は40～70℃、抽出時間は30分から24時間の範囲とするのが好ましい。

- 5 なお、有機溶媒を含む溶剤での抽出の前に、原料トマトを水や熱水で抽出することにより、水に可溶の夾雑物を除くことができる。この場合、水抽出後の滓を回収し、それを溶剤抽出に供する。

- 抽出工程により、抗アレルギー活性成分が溶剤中に溶出する。有機溶媒、特にアルコールを含む溶剤により抗アレルギー活性成分が効率的に抽出されることから、該成分は、トマトのアルコール可溶成分中に特に多く存在していると考えられる。

- 抽出効率向上のため、抽出工程は複数回繰り返すことが好ましい。抽出後は吸引濾過等を行ってトマト抽出物を含む溶剤を回収する。以上により溶液状のトマト抽出物が得られる。なお、必要により、得られた画分を合成吸着剤やイオン交換樹脂等によって更に精製してもよい。

得られたトマト抽出物は、溶剤を含んだ状態のものやその濃縮物、抽出物から溶剤を除去した乾燥物等、いかなる状態でも、抗アレルギー剤として使用できる。ただし、保存性、有機溶媒の安全性の点で、トマト抽出物は乾燥物の状態にするのが好ましい。

- 20 溶剤抽出や樹脂による精製操作の各段階で得られる画分の抗アレルギー活性は、肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制活性を指標として測定すればよい。測定法を実施例2に記載した。

2. トマトの果皮などを有効成分とする抗アレルギー剤

- 別の態様では、本発明の抗アレルギー剤は、トマトの果皮を有効成分とすることを特徴とする。原料トマトの果皮には、抗アレルギー活性成分が特に多く含まれているからである。発明者らは、トマト搾汁滓を果皮と種とにそれぞれ分離し、得られた同量の抽出物について、それらの抗アレルギー活性を測定した。その結果、果皮由来の抽出物の抗アレルギー活性は、種由来の抽出物の約

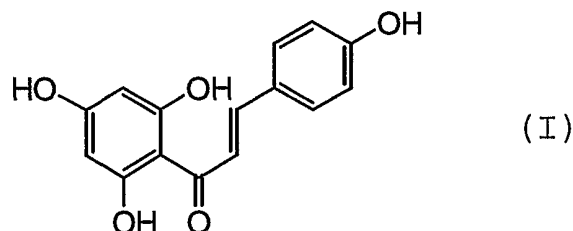
5 ～ 10 倍であった。

従って、トマト果皮は、抗アレルギー剤として非常に有用である。この場合、トマト果皮とは、例えば、トマト果実の乾燥物や乾燥後に粉碎したもの、搾汁滓、搾汁滓の乾燥物や乾燥後に粉碎したもの等である。トマト果皮は、抗アレルギー剤として使用しやすいように、顆粒状・粉末状・錠剤状あるいはブロック状などに成形されていることが好ましい。トマトの果皮を有効成分とする抗アレルギー剤は、果皮以外の他の成分を含んでいてもよい。他の成分とは、例えば固形担体、液体担体、油性担体、防腐・殺菌剤、香料、呈味剤、着色料等である。

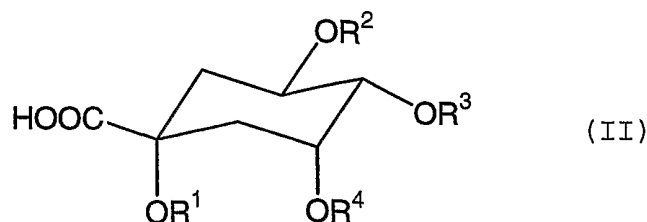
- 10 なお、トマトの果皮を有効成分とする抗アレルギー剤には、果皮以外のトマトの組織、例えば、果肉、種等が含まれていてもよい。

上記したような活性成分として、本発明者等は以下に示す成分を同定した。

すなわち、本発明の抗アレルギー剤は、ナリンゲニンカルコンまたはその誘導体を有効成分とする。ナリンゲニンカルコン (2',4',6',4-Tetrahydroxy-
15 chalcone) は、下記構造式 (I) で示される物質である。

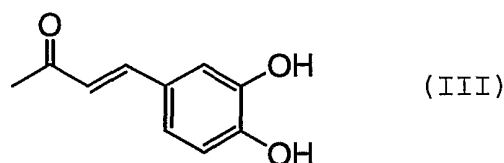


また、本発明の抗アレルギー剤は、トリカフェオイルキナ酸またはその誘導体を有効成分とする。トリカフェオイルキナ酸は、下記構造式 (II) で示される物質である。



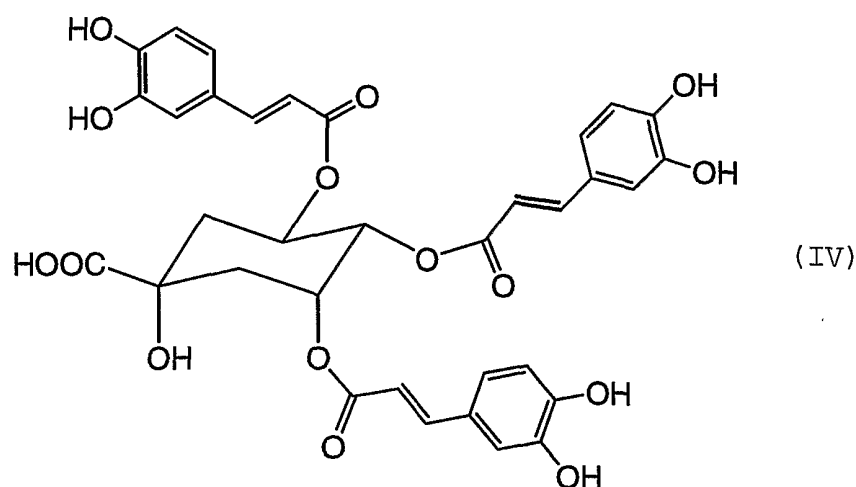
式中、 R^1 , R^2 , R^3 および R^4 のうち、1つが水素原子、残りの3つが下記構造式 (III) に相当するカフェオイル基を表す。

構造式 (III) :



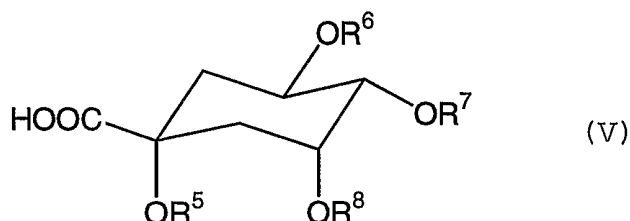
- 5 抗アレルギー活性を有する限り、トリカフェオイルキナ酸におけるカフェオイル基の位置は特に限定されず、 $R^1 \sim R^4$ のうち3つがカフェオイル基であればよい。使用可能なトリカフェオイルキナ酸としては、例えば、実施例記載の3, 4, 5-トリカフェオイルキナ酸が挙げられる。この化合物は、下記構造式 (IV) で示される。

10 構造式 (IV) :



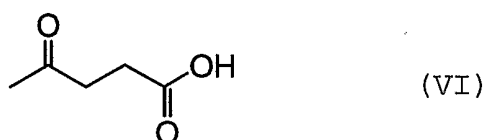
また、別の形態では、本発明の抗アレルギー剤は、ジカフェオイルスクシニルキナ酸、またはその誘導体を有効成分とする。ジカフェオイルスクシニルキナ酸は、下記構造式 (V) で示される物質である。

15 構造式 (V) :



式中、 R^5 、 R^6 、 R^7 および R^8 のうち、1つが水素原子、1つが下記構造式(VI)に相当するスクシニル基、2つが前記構造式(III)に相当するカフェオイル基を表す。

構造式(VI)：

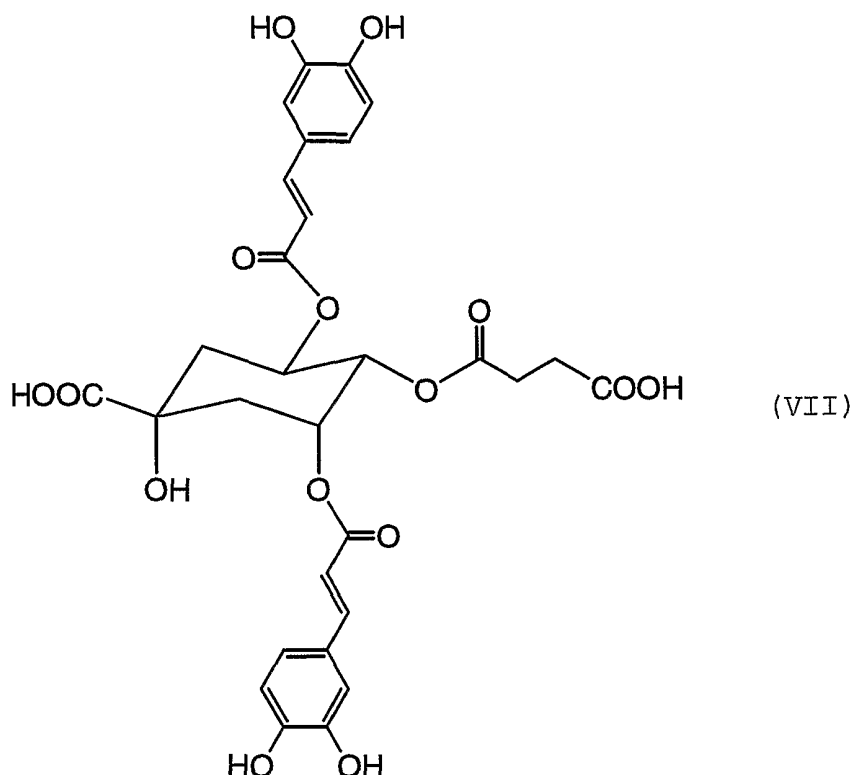


5

抗アレルギー活性を有する限り、ジカフェオイルスクシニルキナ酸におけるカフェオイル基またはスクシニル基の位置は特に限定されず、 $R^5 \sim R^8$ のうち2つがカフェオイル基、1つがスクシニル基であればよい。使用可能なジカフェオイルスクシニルキナ酸としては、例えば、実施例記載の3, 5-ジカフェ

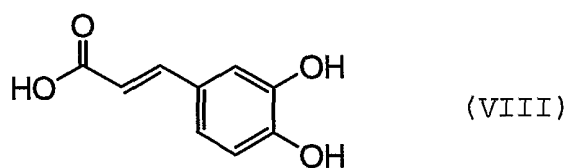
10 オイル-4-スクシニルキナ酸が挙げられる。この化合物は、下記構造式(VII)で示される。

構造式(VII)：



これらの化合物は、下記構造式 (VII) で示されるカフェー酸の誘導体の一種である。

構造式 (VII) :



5

カフェー酸が抗アレルギー作用を有することは公知であった。また、抗アレルギー作用を有するカフェー酸誘導体としては、クロロゲン酸、ジカフェオイルキナ酸、クロロゲン酸メチルが知られていた。(特開昭60-192555号)。

10 実施例に示す通り、ナリンゲニカルコン、トリカフェオイルキナ酸およびジカフェオイルスクシニルキナ酸は、優れた肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制活性を示す。またその活性は、カフェー酸またはジカフェオイルキナ酸より

強い。したがって、これらの化合物を有効成分とする抗アレルギー剤は、種々のアレルギー性疾患の予防・治療剤、抗炎症剤あるいはヒスタミン遊離抑制剤として有用である。アレルギー性疾患とは、例えば、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症、アレルギー性喘息、食物アレルギー、炎症等である。

- 5 本発明の抗アレルギー剤は、I型アレルギー反応における、肥満細胞からのヒスタミン遊離を阻害することから、これに起因するアトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症またはアレルギー性喘息等の予防、治療に、特に有用である。

- 10 なお、抗アレルギー剤としての活性を有する限り、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸は、それらの構造の一部が改変あるいは修飾されている、誘導体であってもよい。これらの誘導体としては、例えば、薬理上許容される塩、エステルあるいはプロドラック等が挙げられる。

- 15 薬理上許容される塩としては、特に限定されないが、例えば、アルカリ金属(ナトリウム、カリウム等)、アルカリ土類金属(マグネシウム、カルシウム等)、これらの水酸化物または炭酸塩、アルカリ金属アルコキサイド(ナトリウムメトキサイド、カリウムt-ブトキサイド等)との塩が挙げられる。また、塩としては、無機酸(塩酸、硫酸、リン酸)や有機酸(マレイン酸、クエン酸、フマル酸等)を付加した酸付加塩、更にはアミンの付加塩、アミノ酸の付加塩等が
20 挙げられる。なお、上記の塩の水和物もここでいう塩に含まれる。

エステルは、アルコールまたはカルボン酸とのエステル化反応で生じるエステルであれば特に限定されない。アルコールとしてはメタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール等が挙げられ、またはカルボン酸としてはギ酸、酢酸、乳酸等が挙げられる。

- 25 プロドラックとは、生体に投与された後にナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸に変化して、抗アレルギー剤としての作用を発現する化合物を意味する。安定性や吸収性の改善、副作用の低減等を目的としてプロドラック化された化合物も本発明でいう誘導体

に含まれる。

3. 抗アレルギー剤の製造法

本発明の抗アレルギー剤の有効成分である前記トマト抽出物、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸は、
5 どのような方法で製造されたものであってもよく、これらの化合物を含有する生物から精製する方法、化学合成法、半合成法等が広く採用できる。

ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸は植物、例えば、柑橘類、野菜類、具体的にはトマトやシュンギクより、有機溶媒を含む溶剤により抽出することができる。トマトよりナリン
10 ゲニンカルコンまたはトリカフェオイルキナ酸を精製する場合は、トマト果皮あるいは搾汁粕に、10倍量の60%エタノールを加え、60℃の温水中で3時間抽出を行う。ナリンゲニンカルコンおよびトリカフェオイルキナ酸を含む抽出物が得られるので、該抽出物を高速液体クロマトグラフィーに供する。ヒスタミン遊離抑制活性を示す画分を採取した後、各画分に含まれる化合物の構
15 造を確認する。以上によりナリンゲニンカルコンまたはトリカフェオイルキナ酸を精製することができる。

同様の方法により、凍結乾燥後に粉碎したシュンギクから、ジカフェオイルスクシニルキナ酸を精製することができる。

なお、本発明の抗アレルギー剤は、精製された有効成分のみを含むものに限
20 定されず、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸を含む粗精製物であってもよい。

また、薬理上許容される塩は、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸に、アルカリ金属、アルカリ土類金属、アルカリ金属アルコキサイド、無機酸あるいは有機酸を作用させること
25 により製造できる。さらに、エステルは、酸触媒の存在下で、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸にアルコールまたはカルボン酸を作用させることにより製造できる。

4. 本発明の抗アレルギー剤の用途

本発明の抗アレルギー剤は、トマト抽出物またはトマトの果皮、更に具体的にはナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸を有効成分とする。実施例に示すように、本発明の抗アレルギー剤は、肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制活性やマクロファージからのロイコトリエン遊離抑制活性を示す。したがって、本発明の抗アレルギー剤は、種々のアレルギー性疾患の予防剤または治療剤、抗炎症剤あるいはヒスタミン遊離抑制剤、ロイコトリエン遊離抑制剤として有用である。アレルギー性疾患とは、例えば、花粉、ダニやハウスダストなどにより発症するアレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎、牛乳・卵などの特定の食物に対して起こる食物アレルギー、アレルギー性気管支喘息、炎症等である。本発明の抗アレルギー剤は、特に I 型アレルギー反応に起因するアレルギー性疾患の予防、治療に有用である。

本発明の抗アレルギー剤は、抗アレルギー活性、抗炎症活性やヒスタミン遊離抑制活性あるいはロイコトリエン遊離抑制活性を有する医薬品、飲食品または化粧品として、そのままあるいはこれらの製品に添加して使用できる。

本発明の抗アレルギー剤は、単独で医薬品、飲食品または化粧品として使用してもよく、また、他の抗アレルギー剤と併用してもよい。さらに、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸およびジカフェオイルスクシニルキナ酸の少なくとも 2 種の混合物を本発明の抗アレルギー剤としてもよい。

A. 医薬品

本発明の抗アレルギー剤は、トマト抽出物またはトマト果皮をそのまま、あるいは上記精製化合物をそのまま、若しくはこれらを公知の医薬用担体と共に製剤化することにより医薬品として使用できる。本発明の抗アレルギー剤は、例えば、錠剤、顆粒剤、粉剤、シロップ剤等の経口剤や、坐剤、外用剤等の非経口剤として製剤化できる。医薬用担体としては、特に制限はなく、例えば、固形担体（デンプン、乳糖、カルボキシメチルセルロース等）、液体担体（蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、エタノール、プロピレングリコール等）、油性担体（各種の動植物油、白色ワセリン、パラフィン等）が挙げられる。

上記医薬品は、人および人以外の動物（ペット、家畜）用として使用できる。

上記医薬の投与量は、それを使用する患者等の症状、性別、年齢に応じて適宜設定すればよいが、例えば、成人一人あたり一日に0.1～1000mg程度摂取できるよう服用すればよい。

B. 飲食品

- 5 本発明の抗アレルギー剤は、そのまま、抗アレルギー活性、抗炎症活性、ヒスタミン遊離抑制活性あるいはロイコトリエン遊離抑制活性を有する飲食品として使用できる。また、本発明の抗アレルギー剤を飲食品、例えばトマトジュースやトマトピューレに添加することにより、その飲食品に、上記の活性を付与することができる。
- 10 添加されるべき飲食品は特に限定されないが、肉製品、加工野菜、惣菜類、乳製品、菓子、パン、清涼飲料、果実飲料、酒類等が挙げられる。食品に対する本発明の抗アレルギー剤の配合率も特に限定されない。

- また、本発明の抗アレルギー剤とその他の食品素材を混合して、顆粒状・粉末状・錠剤状あるいはブロック状などに成形し、食品素材や健康食品等としてもよい。その他の食品素材とは、例えば、糖類、食用たんぱく質、アルコール、
- 15 ビタミン、増粘多糖類、アミノ酸、カルシウム塩類、色素、香料、保存剤等である。

C. 化粧品

- 本発明の抗アレルギー剤は、化粧品に添加し、その化粧品に抗アレルギー活
- 20 性、抗炎症活性、ヒスタミン遊離抑制活性あるいはロイコトリエン遊離抑制活性を付与することができる。化粧品とは、特に限定されないが、例えば、化粧水、化粧クリーム、乳液、ファンデーション、口紅、整髪料、ヘアトニック、育毛料、歯磨き、洗口料、シャンプー、リンス等である。

- 化粧品を調製する場合には、植物油等の油脂類、ラノリンやミツロウ等のロ
- 25 ウ類、炭化水素類、脂肪酸、高級アルコール類、種々の界面活性剤、色素、香料、ビタミン類、植物・動物抽出成分、紫外線吸収剤、抗酸化剤、保存剤等、通常の化粧品原料として使用されているものを適宜配合して製造することができる。

5. 本発明のヒスタミン遊離抑制剤

実施例に示す通り、トマト抽出物、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸およびジカフェオイルスクシニルキナ酸は、ヒスタミン遊離抑制活性を示すので、ヒスタミン遊離抑制剤として有用である。

- 5 したがって、上記化合物等は、そのまま、あるいは医薬品、飲食品または化粧品に添加して、ヒスタミンの遊離抑制が有効である疾患の予防治療のために使用できる。上記化合物等は、薬剤の有効成分として単独で使用してもよく、また2種以上を混合してもよい。

- 10 ヒスタミン遊離抑制剤としての活性を有する限り、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸およびジカフェオイルスクシニルキナ酸は、その構造の一部が改変あるいは修飾されている誘導体であってもよい。ナリンゲニンカルコンの誘導体としては、例えば、薬理上許容される塩、エステルあるいはプロドラック等が挙げられる。誘導体の詳細については、前記抗アレルギー剤の項に記載した通りである。

15 6. 本発明のロイコトリエン遊離抑制剤

実施例に示す通り、トマト抽出物、ナリンゲニンカルコンおよびトリカフェオイルキナ酸は、ロイコトリエン遊離抑制活性を示すので、ロイコトリエン遊離抑制（「ロイコトリエン産生抑制」とも言う）剤として有用である。

- 20 したがって、上記化合物等は、そのまま、あるいは医薬品、飲食品または化粧品に添加して、ロイコトリエン遊離抑制が有効である疾患の予防治療のために使用できる。上記化合物等は、薬剤の有効成分として単独で使用してもよく、また2種以上を混合してもよい。

- 25 ロイコトリエン遊離抑制剤としての活性を有する限り、ナリンゲニンカルコンおよびトリカフェオイルキナ酸は、その構造の一部が改変あるいは修飾されている誘導体であってもよい。ナリンゲニンカルコンの誘導体としては、例えば、薬理上許容される塩、エステルあるいはプロドラック等が挙げられる。誘導体の詳細については、前記抗アレルギー剤の項に記載した通りである。

実施例

以下に、トマト抽出物などを有効成分とする本発明の抗アレルギー剤の製造方法、ヒスタミン遊離抑制試験、並びに本発明の抗アレルギー剤を含有する医薬品・飲食品・化粧品の製造に関する実施例を示す。

5 実施例 1

(実施例 1-1)：トマト抽出物の調製

(1) 乾燥トマト搾汁滓 20g をミキサーにて粉碎し、200ml の水を加え、60℃で加熱・還流しながら水抽出を行ない、夾雑物を抽出除去した。次いで、抽出滓を回収し、溶剤として 200ml の 60%エタノールを加え、70℃で加熱・還流しながら再度抽出した。得られた抽出溶液を濾過した後に、濾液を減圧下で濃縮し、さらに凍結乾燥を行ない、トマト抽出物粉末 812mg を得た (トマト抽出物 1)。

(2) 溶剤として、60%メタノールを使用し、上記 (1) と同様の方法でトマト抽出物粉末 753 mg を得た (トマト抽出物 2)。

15 (3) 溶剤として、60%酢酸エチルを使用し、上記 (1) と同様の方法でトマト抽出物粉末 625mg を得た (トマト抽出物 3)。

(実施例 1-2)：トマト抽出物の調製

(1) トマトペースト 100g を遠心分離し、残さを回収した。得られた沈殿物を凍結乾燥し、その後 80ml のエタノールを加えて抽出し、減圧乾燥後 800mg
20 の抽出粉末を得た (トマト抽出物 4)。

(2) 生食用トマト 300g をジュースミキサーで粉碎し、遠心をして残さを回収した。得られた残さは凍結乾燥後 150ml のエタノールを加えて抽出し、減圧乾燥後 1.94g の抽出物を得た (トマト抽出物 5)。

(実施例 1-3)：ナリングニンカルコンの精製

25 トマトの果皮を 60%エタノール、60 度の温水中で 2 時間抽出を行った。これをろ過し、得たる液を減圧濃縮した後、高速液体クロマトグラフィー (カラム SHISEIDO CAPCELL PAK C18 15 mm ϕ $\times$ 250 mm; 溶離液, 0.1% トリフルオロ酢酸を含むアセトニトリル/水=40/60) で分画して、ヒスタミン遊離抑制成分

を得た。上記成分を LC-MS、NMR などを駆使して同定を行った。¹H-NMR スペクトルを第 1 図、¹³C-NMR スペクトルを第 2 図、LC-MS を第 3 図に示した。以上により、該化合物がナリングニンカルコンであることを確認した。なお、精製の各段階で得られた画分のヒスタミン遊離抑制活性は、実施例 2 記載の方法により行なった。

(実施例 1-4)：トリカフェオイルキナ酸の精製

トマトの果皮を 60%エタノール、60 度の温水中で 2 時間抽出を行った。これをろ過し、得たろ液を減圧濃縮した後、凍結乾燥して、トマト果皮の抽出物を得た。これを 20 %エタノールに溶解し、YMC ゲル ODS-AM120-S50 (YMC Co. Ltd. 製) のカラムクロマトグラフィーに供して、30 %エタノール溶液にて溶出される成分を集めた。

さらにこれを減圧濃縮し高速液体クロマトグラフィー (カラム SHISEIDO CAPCELL PAK C18 15 mm ϕ $\times$ 250 mm; 溶離液, 1% トリフルオロ酢酸を含むアセトニトリル/水=28/72) で分画して、ヒスタミン遊離抑制活性を有する化合物を得た。

次いで、LC-MS、NMR などを用いて該化合物の同定を行った。¹H-NMR スペクトルを第 4 図、¹³C-NMR スペクトルを第 5 図、LC-MS (日立サイエンスシステムズ、テクノリサーチセンタ) を第 6 図に示した。

以上により、該化合物は、3, 4, 5-トリカフェオイルキナ酸であると判断した。なお、精製の各段階で得られた画分のヒスタミン遊離抑制活性は、実施例 2 記載の方法により行なった。

(実施例 1-5)：ジカフェオイルスクシニルキナ酸の精製

文献 (Chuda et.al., J.Agric. Food Chem.46;1437-1439, 1998) に記載されている方法を参考に、ジカフェオイルスクシニルキナ酸を精製した。

まず、凍結乾燥後に粉碎したシュンギクに 60%エタノールを加え、50 度の温水中で 2 時間抽出を行った。抽出液をろ過して得たろ液を減圧濃縮した後、高速液体クロマトグラフィー (カラム SHISEIDO CAPCELL PAK C18 15 mm ϕ $\times$ 250 mm; 溶離液, 0.1% トリフルオロ酢酸を含むアセトニトリル/水=23/77) を用い

てヒスタミン遊離抑制活性を有する化合物を精製した。LC-MS などを用いて該化合物が、3, 5-ジカフェオイル-4-スクシニルキナ酸であることを確認した。

実施例 2 : ラット肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制活性の測定

- 5 (1) トマト抽出物 1 ~ 3、ナリングニンカルコンおよびトリカフェオイルキナ酸について、ラット肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制活性の測定を、以下の方法により行った。また測定結果を表 1 に示した。

ラットを放血致死後直ちに腹腔よりヘパリン含有肥満細胞用緩衝液（組成：
0.150 M NaCl、3.7 mM KCl、3.0 mM Na₂HPO₄、3.5 mM KH₂PO₄、0.9 mM CaCl₂、
10 5.6 mM D-glucose、0.1% (w/v) gelatin) を用いて細胞を採取した（生物薬科学実験講座 12 炎症とアレルギーII、大内和雄 編集、廣川書店、1993 年、372 ページ）。細胞を洗浄後、 2.0×10^5 個/ml になるよう上記ヘパリン含有肥満細胞用緩衝液を加え、細胞浮遊液とした。

一方、トマト抽出物 3mg を、1ml の 1% ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、試料溶液とした。また、実施例 1-3 で得たナリングニンカルコン、
15 抗アレルギー活性を有することが知られているフマル酸ケトチフェンを、それぞれ 0.15% DMSO（終濃度）を含有するヘパリン含有肥満細胞用緩衝液に溶解し、さらに実施例 1-4 で得たトリカフェオイルキナ酸、抗アレルギー活性を有することが知られているカフェー酸を、それぞれ 0.08% エタノール（終濃度）を
20 含有するヘパリン含有肥満細胞用緩衝液に溶解し、25~250 μ g/ml の濃度の試料溶液とした。

試料溶液 20 μ l に上記細胞浮遊液 80 μ l を加えて 37℃、10 分間インキュベートした。次いで、ヒスタミンの脱顆粒誘発剤としてコンパウンド 48/80 (5 μ g/ml) を 20 μ l 加え、10 分インキュベートした。その後いったん氷冷して遠
25 心分離 (1,500×g、5 分、4 度) し、上清中に遊離されたヒスタミンを蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィーにより測定した。

ヒスタミン遊離抑制活性は、測定されたヒスタミン値から下記の計算式 (1) を用いて算出した。

$$\text{ヒスタミン遊離抑制率 (\%)} = (1 - (S - B) / (C - B)) \times 100 \quad \dots (1)$$

B: 誘発剤を加えない対照の細胞から遊離されるヒスタミン量

C: 誘発剤を加えたときに細胞から遊離されるヒスタミン量

S: 被験試料を共存させて誘発剤を加えたときに細胞から遊離されるヒスタミ

5 ン量

表 1

試 料	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	抑制率 (%)	I C ₅₀
トマト抽出物 1	200	79.8	
	50	6.9	
トマト抽出物 2	200	86.3	
トマト抽出物 3	200	64.3	
トマト抽出物 4	500	92.2	
	167	25.8	
トマト抽出物 5	1667	99.3	
	500	34.3	
ナリンゲニンカルコン	200	82.0	約 70 $\mu\text{g/ml}$
	75	53.9	
	50	37.6	
	25	28.2	
トリカフエオイルキナ酸	75	93.2	約 25 $\mu\text{g/ml}$
	25	54.1	
カフェー酸	250	50.1	約 250 $\mu\text{g/ml}$
フマル酸ケトチフェン	250	49.4	約 250 $\mu\text{g/ml}$
	75	13.1	
	25	0.0	

表 1 の結果から明らかなように、トマト抽出物は非常に高いヒスタミン遊離抑制活性を有することがわかった。また、その活性は、公知の抗アレルギー剤であるフマル酸ケトチフェンよりも強かった。ナリンゲニンカルコンは、公知の抗アレルギー剤であるフマル酸ケトチフェンよりも強い、ヒスタミン遊離抑制活性を示した。トリカフエオイルキナ酸は、少量で、非常に高いヒスタミン遊離抑制活性を示した。以上によりトマト抽出物、ナリンゲニンカルコンおよびトリカフエオイルキナ酸が抗アレルギー剤またはヒスタミン遊離抑制剤とし

10

て有用であることが示された。

また、公知の抗アレルギー剤であるフマル酸ケトチフェンと比較した場合、ナリンゲニンカルコンの IC_{50} (50%阻害率) は約 $70 \mu\text{g/ml}$ 、トリカフェオイルキナ酸の IC_{50} (50%阻害率) は約 $25 \mu\text{g/ml}$ 、カフェー酸およびフマル酸ケ
5 トチフェンは約 $250 \mu\text{g/ml}$ であり、ナリンゲニンカルコンの活性は約 3.5 倍、トリカフェオイルキナ酸の活性は約 10 倍であった。

(2) 次に、トリカフェオイルキナ酸の構成部分であるカフェー酸、キナ酸、およびカフェー酸誘導体である、クロロゲン酸、ジカフェオイルキナ酸、スクシニルジカフェオイルキナ酸についても評価を行った。それぞれ濃度 $100 \mu\text{g/ml}$
10 の試料溶液で評価した結果、第 7 図に示すとおり、キナ酸、クロロゲン酸はヒスタミン遊離を抑制しなかった。また、ヒスタミン遊離抑制活性は、カフェー酸、ジカフェオイルキナ酸の順に強くなり、ジカフェオイルスクシニルキナ酸およびトリカフェオイルキナ酸は飛躍的に高い活性を示した。

(3) 上記の通り、トリカフェオイルキナ酸およびジカフェオイルスクシニル
15 キナ酸が、少量で高いヒスタミン遊離抑制活性を示すことから、これらの化合物が抗アレルギー剤あるいはヒスタミン遊離抑制剤として有用であることが明らかとなった。

実施例 3：ロイコトリエン B_4 遊離抑制活性の測定

実施例 1-1 で得たトマト抽出物 1、実施例 1-3 で得たナリンゲニンカル
20 コンおよび実施例 1-4 で得たトリカフェオイルキナ酸を被験試料として、下記方法でラットマクロファージからのロイコトリエン B_4 遊離抑制活性を測定し、その結果を表 2 に示した。

可溶性でんぷん (和光、一級) およびバクトペプトン (DIFCO) を生理食塩水 (0.9%NaCl、大塚製薬) にそれぞれが 5% になるように懸濁した。オートク
25 レーブにて滅菌 (121°C 、20 分) した後、室温に冷却した。エーテル麻酔下のラットに体重 100g あたり 5mL 腹腔内投与した (21G 針使用)。

4 日後、エーテル麻酔下のラットの頸動脈を切断し放血した。十分に放血した後、ラットにエタノールを噴霧し、クリーンベンチに入れた。CMF-HBSS (Ca, Mg

- free HBSS) を腹腔内に 25mL 投与し、腹部をよくもんだ。滅菌した器具を用いてラットの腹部を開き、腹腔内の溶液を回収した。回収した溶液は 3 枚重ねのガーゼを用いてろ過した。再び CMF-HBSS (Ca, Mg free HBSS) 25mL にて腹腔内を洗浄し、同様に回収した。採取した細胞を氷冷 0.1%BSA-PBS にて 3 回洗浄した後、細胞を 10%FBS-RPMI1640 培地に懸濁し、6cm シャーレに 4.5×10^6 cells/3mL/シャーレになるようにまきこみ、5%CO₂、37°C インキュベータ内で 2 時間培養した。その後、上清を捨て、PBS にてシャーレ内を 3 回洗浄して非付着性細胞を洗い流し、シャーレ内に付着した細胞をマクロファージとして用いた。1%FBS-RPMI1640 培地にて 20 分間プレインキュベートした後、ラットの血清を用いてオプソニン化したザイモサンを添加し、5%CO₂、37°C インキュベータ内で一定時間培養した。また、サンプルはザイモサンを加える 30 分前に添加した。培養終了後、培養上清を回収 ELISA kit (Leukotriene B₄ EIA Kit Cayman) を用いて上清中の LTB₄ 量を測定した。ロイコトリエン B₄ 遊離抑制活性は、測定されたロイコトリエン B₄ 値から下記の計算式 (2) を用いて算出した。
- ロイコトリエン B₄ 遊離抑制率 (%) = $(1 - (S - B) / (C - B)) \times 100$. . . (2)
- B: 誘発剤を加えない対照の細胞から遊離されるロイコトリエン B₄ 量
- C: 誘発剤を加えたときに細胞から遊離されるロイコトリエン B₄ 量
- S: 被験試料を共存させて誘発剤を加えたときに細胞から遊離されるロイコトリエン B₄ 量

表 2

試料濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	抑制率 (%)
トマト抽出物 1 (1 0 0 0 $\mu\text{g/ml}$)	84.1
トマト抽出物 1 (5 0 0 $\mu\text{g/ml}$)	64.4
トマト抽出物 1 (2 5 0 $\mu\text{g/ml}$)	25.1
トリカフェオイルキナ酸 (5 0 0 $\mu\text{g/ml}$)	69.7
トリカフェオイルキナ酸 (5 0 $\mu\text{g/ml}$)	65.8
トリカフェオイルキナ酸 (5 $\mu\text{g/ml}$)	33.5
ナリンゲニンカルコン (5 0 0 $\mu\text{g/ml}$)	98.2
ナリンゲニンカルコン (5 0 $\mu\text{g/ml}$)	93.5
ナリンゲニンカルコン (5 $\mu\text{g/ml}$)	62.3

表 2 の結果から明らかなように、トマト抽出物、ナリンゲニンカルコンおよびトリカフェオイルキナ酸は、容量依存的なロイコトリエン遊離抑制活性を示した。

実施例 4：マウス耳介浮腫モデルにおけるアナフィラキシー抑制作用の評価

(1) 実施例 1-1 で得たトマト抽出物 1 について、下記方法でアナフィラキシー抑制作用を測定した。その結果を表 3 に示した。

マウスは 15~20g の体重の C3H/HeCrj、7 週齢、雌を一群当り 5 匹用いた。

- 10 トマト抽出物 1 は 0.5%CMC-Na (カルボキシメチルセルロースナトリウム) 溶液に懸濁したものを調製し、対照として 0.5 % CMC-Na を投与した。試料の投与は 5 日間かけて 6 回行い、5 日目に測定を行った。1 日目から 4 日目までは 1 日一回投与し、5 日目のみ抗 TNP-IgE 溶液投与 4 時間前と 30 分後の 2 回試料を経口投与した。トマト抽出物 1 の投与量は、マウスの体重 1 kg 当り 0. 16 mg, 0. 8 mg または 4 mg とした。

1% の抗 TNP-IgE 溶液を眼底静脈から 0. 2ml 投与し、30 分後に試料溶液を経口投与した。さらに 30 分後に左右の耳の厚さを測定し、この直後に塩化ピクリルの 0. 8 % アセトン・オリーブオイル (1 : 1) 溶液を各耳 10 μl

ずつ塗布した。塗布 2 時間後にマウスの左右の耳の厚さを測定し、塗布前後の耳の厚さの差をアナフィラキシーによる浮腫とした。有意差の検定は Student の T 検定によった。

表 3

群	抗塩化ピクリル IgE 抗体の投与	トマト抽出物の投与量 (mg/kg/回)	耳介への塩化ピクリルの塗布	浮腫 (mm) $\pm$ SE
トマト抽出物	+	4	+	0.975 $\pm$ 0.028**
トマト抽出物	+	0.8	+	1.175 $\pm$ 0.064*
トマト抽出物	+	0.16	+	1.350 $\pm$ 0.049
塩化ピクリル感作対照群	+	0	+	1.555 $\pm$ 0.113
無感作群	—	0	+	0.142 $\pm$ 0.030

5

**: $p < 0.01$ (塩化ピクリル感作対照群との有意差)

*: $p < 0.05$ (塩化ピクリル感作対照群との有意差)

(2) 実施例 1-3 で得たナリンゲニンカルコンについて、前記 (1) と同様の方法でアナフィラキシー抑制作用を測定した。なお、ナリンゲニンカルコンの投与量は、マウスの体重 1 kg 当り 0.0064 mg, 0.032 mg, 0.16 mg または 0.8 mg とした。その結果を第 8 図に示した。

第 8 図の結果から明らかなように、ナリンゲニンカルコンは、容量依存的なアナフィラキシー抑制作用を示した。アナフィラキシーは、アレルギー症状の一種であることから、ナリンゲニンカルコンが抗アレルギー剤として有用であることがさらに示された。

(3) 実施例 1-4 で得たトリカフェオイルキナ酸について、前記 (1) と同様の方法でアナフィラキシー抑制作用を測定した。なお、トリカフェオイルキナ酸の投与量は、マウスの体重 1 kg 当り 4 mg とした。その結果を第 9 図に示した。

第 9 図の結果から明らかなように、トリカフェオイルキナ酸はアナフィラキシー抑制作用を示した。アナフィラキシーは、I 型アレルギー症状であること

20

から、トリカフェオイルキナ酸が抗アレルギー剤として有用であることがさらに示された。

(4) 実施例 1 - 4 で得たトリカフェオイルキナ酸について、下記方法でアナフィラキシー抑制作用を測定した。その結果を第 10 図に示した。

- 5 前記 (1) と投与方法以外同様に行った。試料の投与は 5 日間かけて 6 回行い、5 日目に測定を行った。1 日目から 4 日目までは 1 日一回投与し、5 日目のみ抗 TNP-IgE 溶液投与 4 時間前と 30 分後の 2 回試料を経口投与した。なお、トリカフェオイルキナ酸の投与量は、マウスの体重 1 kg 当り 0.16 mg, 0.8 mg, 4 mg または 20 mg とした。

- 10 第 10 図の結果から明らかなように、トリカフェオイルキナ酸はアナフィラキシー抑制作用を示した。

実施例 5：細胞毒性試験

- 実施例 2 と同様の方法で調製した細胞浮遊液 ($1 \sim 2 \times 10^6$ 個/ml) $80 \mu\text{l}$ に、各濃度の試料溶液 (実施例 1 で得られたトマト抽出物 1、ナリンゲニンカルコン、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸) $20 \mu\text{l}$ を加え、 37°C で培養した。培養開始から、0, 10, 20, 60, 120 分後に各 $10 \mu\text{l}$ ずつ取り出し、予め用意しておいた $20 \mu\text{l}$ の 0.4% トリパンブルー液に加えた。青色色素で染まる細胞を死細胞と判定し、血球計算盤を用いて、顕微鏡下で細胞数を測定し、cell viability (全細胞数に対する生存細胞数の割合) と生存細胞数を測定した。その結果、細胞毒性は見られなかった。

実施例 6：本発明の抗アレルギー剤を含有する医薬品

- (1) 実施例 1 - 1 のトマト抽出物 1 (100 g) に同量の乳糖及びステアリン酸マグネシウム 5 g と混合し、この混合物を単発式打錠機にて打錠し、直径 10 mm、重量 300 mg の錠剤を製造した。
- 25 (2) 上記 (1) で得た錠剤を粉碎、整粒し、篩別して 20 ~ 50 メッシュの顆粒剤を得た。

実施例 1 - 3 で精製したナリンゲニンカルコンを、以下の方法で製剤化し、医薬品とした。

(3) ナリンゲニンカルコン 100 g に同量の乳糖及びステアリン酸マグネシウム 5 g と混合し、この混合物を単発式打錠機にて打錠し、直径 10 mm、重量 300 mg の錠剤を製造した。

(4) 上記 (3) で得た錠剤を粉碎、整粒し、篩別して 20～50 メッシュの
5 顆粒剤を得た。

実施例 1－4 または 5 で精製したトリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸を、以下の方法で製剤化し、医薬品とした。

(5) 抗アレルギー剤 100 g に同量の乳糖及びステアリン酸マグネシウム 5 g と混合し、この混合物を単発式打錠機にて打錠し、直径 10 mm、重量 30
10 0 mg の錠剤を製造した。

(6) 上記 (5) で得た錠剤を粉碎、整粒し、篩別して 20～50 メッシュの顆粒剤を得た。

実施例 7：本発明の抗アレルギー剤を含有する飲食品

(7-1 a) 以下の組成 (重量部) のキャンデーを製造した。

15 砂糖 (47.0)、水飴 (49.76)、香料 (1.0)、水 (2.0)、トマト抽出物 1 (0.24)。

(7-1 b) 本発明の抗アレルギー剤を含有する食品として、以下の組成 (重量部) のキャンデーを製造した。

20 砂糖 (47.0)、水飴 (49.76)、香料 (1.0)、水 (2.0)、ナリンゲニンカルコン (0.24)。

(7-1 c) 本発明の抗アレルギー剤を含有する食品として、以下の組成 (重量部) のキャンデーを製造した。

砂糖 (47.0)、水飴 (49.76)、香料 (1.0)、水 (2.0)、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸 (0.24)。

25 (7-2) 以下の組成 (重量部) のトマトジュースを製造した。

市販のトマトジュース (99) とトマト抽出物 1 (1.0) とを混合した。

(7-3 a) 以下の組成 (重量部) のジュースを製造した。

濃縮温州みかん果汁 (5)、果糖ブドウ糖液糖 (11)、クエン酸 (0.2)、

Ｌ－アスコルビン酸（０．０２）、トマト抽出物１（１．０）、水を加え１００とした。

（７－３ｂ）以下の組成（重量部）のジュースを製造した。

- 濃縮温州みかん果汁（５）、果糖ブドウ糖液糖（１１）、クエン酸（０．２）、
- ５ Ｌ－アスコルビン酸（０．０２）、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸（０．１）、水を加え１００とした。

実施例８：本発明の抗アレルギー剤を含有する化粧品

（８－１ａ）以下の組成（重量部）の歯磨き粉を製造した。

- 第二リン酸カルシウム（４２）、グリセリン（１８）、カラギーナン（０．９）、
- 10 ラウリル硫酸ナトリウム（１．２）、サッカリンナトリウム（０．０９）、パラオキシ安息香酸ブチル（０．００５）、トマト抽出物１（１．０）、香料（１）、水を加え１００とした。

（８－１ｂ）以下の組成（重量部）の歯磨き粉を製造した。

- 第二リン酸カルシウム（４２）、グリセリン（１８）、カラギーナン（０．９）、
- 15 ラウリル硫酸ナトリウム（１．２）、サッカリンナトリウム（０．０９）、パラオキシ安息香酸ブチル（０．００５）、ナリンゲニンカルコン（０．０５）、香料（１）、水を加え１００とした。

（８－１ｃ）以下の組成（重量部）の歯磨き粉を製造した。

- 第二リン酸カルシウム（４２）、グリセリン（１８）、カラギーナン（０．９）、
- 20 ラウリル硫酸ナトリウム（１．２）、サッカリンナトリウム（０．０９）、パラオキシ安息香酸ブチル（０．００５）、トリカフェオイルキナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸（０．１）、香料（１）、水を加え１００とした。

（８－２ａ）以下の組成（重量部）の化粧水を製造した。

- グリセリン（５．０）、プロピレングリコール（４．０）、トマト抽出物（０．
- 25 ５）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウリン酸エステル（２．０）、エタノール（１０．０）、香料（０．１）、精製水を加え１００とした。

（８－２ｂ）以下の組成（重量部）の化粧水を製造した。

リセリン（５．０）、プロピレングリコール（４．０）、ナリンゲニンカルコン

(0.15)、ポリオキシエチレンソルビタン モノラウリン酸エステル (2.0)、エタノール (10.0)、香料 (0.1)、精製水を加え100とした。

(8-2c) 以下の組成 (重量部) の化粧水を製造した。

グリセリン (5.0)、プロピレングリコール (4.0)、トリカフェオイルキ
5 ナ酸またはジカフェオイルスクシニルキナ酸 (0.3)、ポリオキシエチレンソ
ルビタン モノラウリン酸エステル (2.0)、エタノール (10.0)、香料 (0.
1)、精製水を加え100とした。

(8-3a) 以下の組成 (重量部) のヘアーリンスを製造した。

塩化ステアリルジメチル (1.4)、ベンジルアンモニウム ステアリルアル
10 コール (0.6)、グリセリンモノステアレート (1.5)、食塩 (0.1)、トマ
ト抽出物1 (0.5)、精製水を加え100とした。

(8-3b) 以下の組成 (重量部) のヘアーリンスを製造した。

化ステアリルジメチル (1.4)、ベンジルアンモニウムステアリルアルコー
ル (0.6)、グリセリンモノステアレート (1.5)、食塩 (0.1)、ナリンゲ
15 ニンカルコン1 (0.1)、精製水を加え100とした。

(8-3c) 以下の組成 (重量部) のヘアーリンスを製造した。

塩化ステアリルジメチル (1.4)、ベンジルアンモニウム ステアリルアル
コール (0.6)、グリセリンモノステアレート (1.5)、食塩 (0.1)、抗ア
レルギー剤 (0.1)、精製水を加え100とした。

20

産業上の利用可能性

本発明により、トマト抽出物、ナリンゲニンカルコンまたはその誘導体、お
よび／またはトリカフェオイルキナ酸、ジカフェオイルスクシニルキナ酸また
はこれらの誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤、トマトの果皮を有効成分
25 とする抗アレルギー剤、原料トマトを溶剤で抽出することを特徴とする抗アレ
ルギー剤の製造方法が提供される。

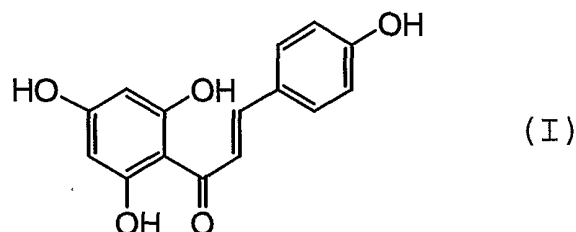
抽出物の対象となる原料トマトとしては、トマト果皮またはトマト搾汁滓が
使用できる。これらは、トマトジュース、ケチャップ等の食品加工の現場で大

量に発生する廃棄物である。本発明は、産業廃棄物を有効利用する意味でも非常に有用である。

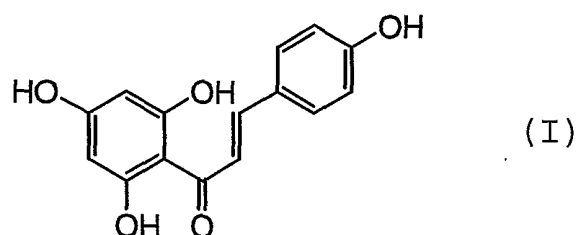
- 本発明の抗アレルギー剤は、優れたヒスタミン遊離抑制活性及びロイコトリエン遊離抑制活性を示すことから、種々のアレルギー性疾患の予防・治療剤、
- 5 抗炎症剤、またはヒスタミン遊離抑制剤あるいはロイコトリエン遊離抑制剤として有用である。また、本発明の抗アレルギー剤は、I型アレルギー反応における、肥満細胞からのヒスタミン遊離を阻害することから、これに起因するアトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症おまたはアレルギー性喘息等の予防、治療に、特に有用である。
- 10 また、本発明により、該抗アレルギー剤を含有することを特徴とする、医薬品、飲食品または化粧品が提供される。本発明の抗アレルギー剤は、医薬品のほか、飲食品、化粧品に添加することにより、これらの製品に抗アレルギー活性、抗炎症活性、あるいはヒスタミン遊離抑制活性を付与することができる。

請 求 の 範 囲

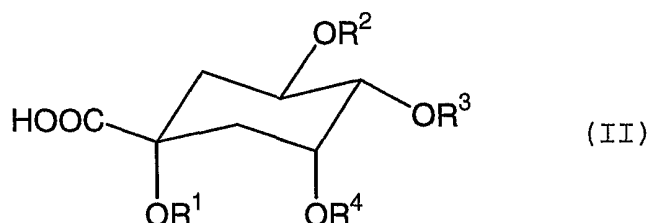
1. トマト抽出物を有効成分とする抗アレルギー剤。
2. トマト抽出物を有効成分とするヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤。
5. トマトの果皮を有効成分とする抗アレルギー剤
4. ナリンゲニンカルコンまたはその誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤。
5. ナリンゲニンカルコンが下記式 (I) :



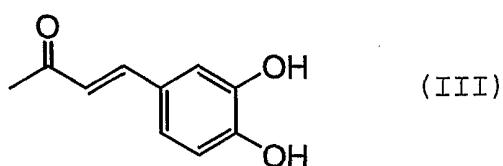
10. 示される物質である請求の範囲第4項記載の抗アレルギー剤。
6. ナリンゲニンカルコンまたはその誘導体を有効成分とするヒスタミン遊離抑制剤。
7. ナリンゲニンカルコンが下記式 (I) :



15. 示される物質である請求の範囲第6項記載のヒスタミン遊離抑制剤。
8. トリカフェオイルキナ酸またはその誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤。
9. トリカフェオイルキナ酸が下記式 (I I) :



式中、 R^1 , R^2 , R^3 および R^4 のうち、1つが水素原子、残りの3つが下記式 (III) :

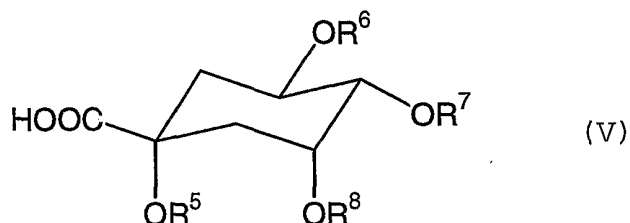


で示されるカフェオイル基を表す、

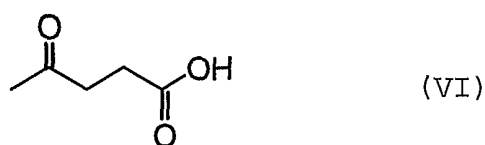
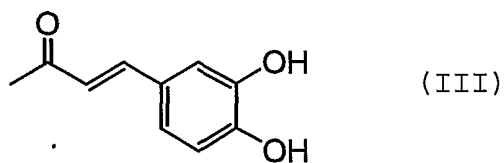
で示される物質である請求の範囲第8項記載の抗アレルギー剤。

- 5 10. ジカフェオイルスクシニルキナ酸またはその誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤。

11. ジカフェオイルスクシニルキナ酸が下記式 (V) :



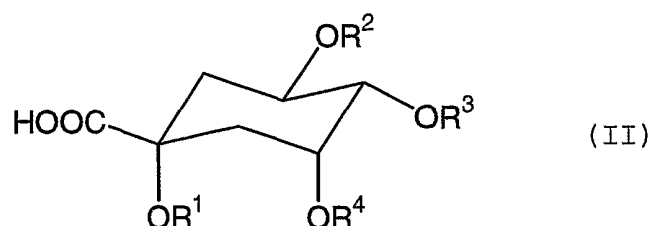
式中、 R^5 , R^6 , R^7 および R^8 のうち、1つが水素原子であり、2つが下記式 (III) で示されるカフェオイル基であり、1つが下記式 (VI) で示されるスクシニル基を表す、



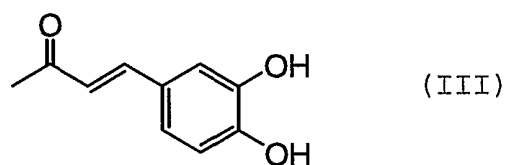
で示される物質である請求の範囲第 10 項記載の抗アレルギー剤。

11. トリカフェオイルキナ酸、ジカフェオイルスクシニルキナ酸またはそれらの誘導体のいずれかを有効成分とするヒスタミン遊離抑制剤。

12. トリカフェオイルキナ酸が下記式 (II) :



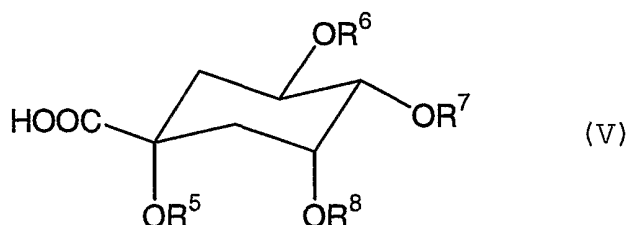
5 式中、 R^1 , R^2 , R^3 および R^4 のうち、1 つが水素原子、残りの 3 つが下記式 (III) :



で示されるカフェオイル基を表す、

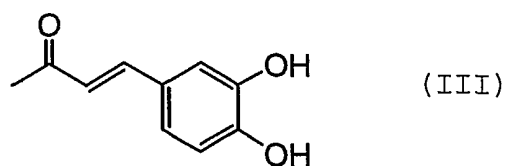
で示される物質である請求の範囲第 11 項記載のヒスタミン遊離抑制剤。

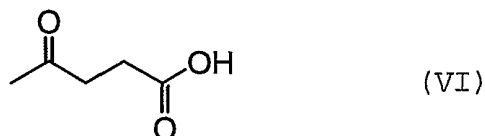
13. ジカフェオイルスクシニルキナ酸が下記式 (V) :



10

式中、 R^5 , R^6 , R^7 および R^8 のうち、1 つが水素原子であり、2 つが下記式 (III) で示されるカフェオイル基であり、1 つが下記式 (VI) で示されるスクシニル基を表す、





で示される物質である請求の範囲第11項記載のヒスタミン遊離抑制剤。

14. ナリングニンカルコンまたはその誘導体を有効成分とするロイコトリエン遊離抑制剤。

5 15. トリカフェオイルキナ酸またはその誘導体を有効成分とするロイコトリエン遊離抑制剤。

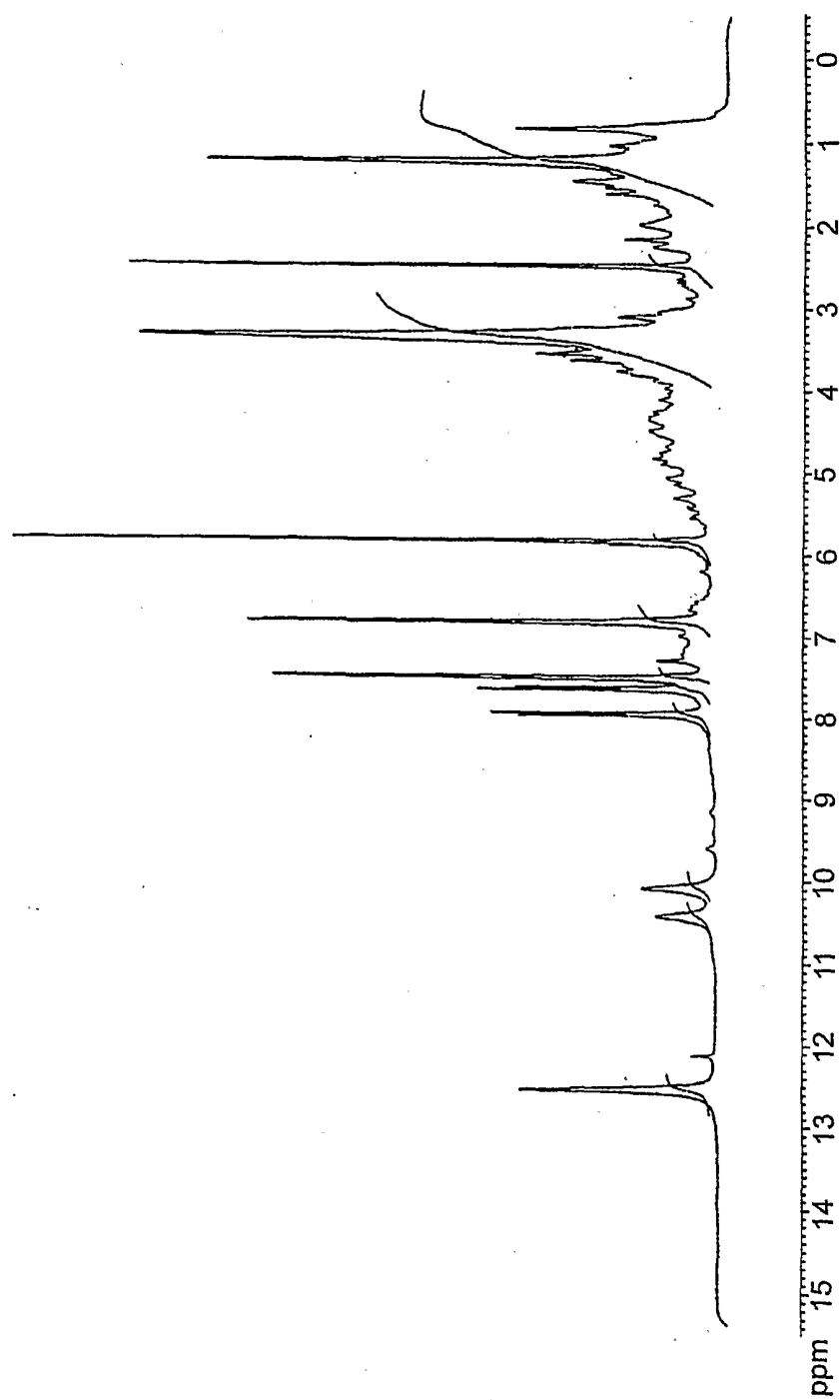
16. 請求の範囲第1項、第3項～第5項および第8項～第10項のいずれかに記載の抗アレルギー剤を含有することを特徴とする、医薬品、飲食品または化粧品。

10 17. 請求の範囲第2項、第6項～第7項および第11項～第15項のいずれかに記載のヒスタミン遊離抑制剤またはロイコトリエン遊離抑制剤を含有することを特徴とする、医薬品、飲食品または化粧品。

18. 原料トマトを溶剤で抽出することを特徴とする、抗アレルギー剤の製造方法。

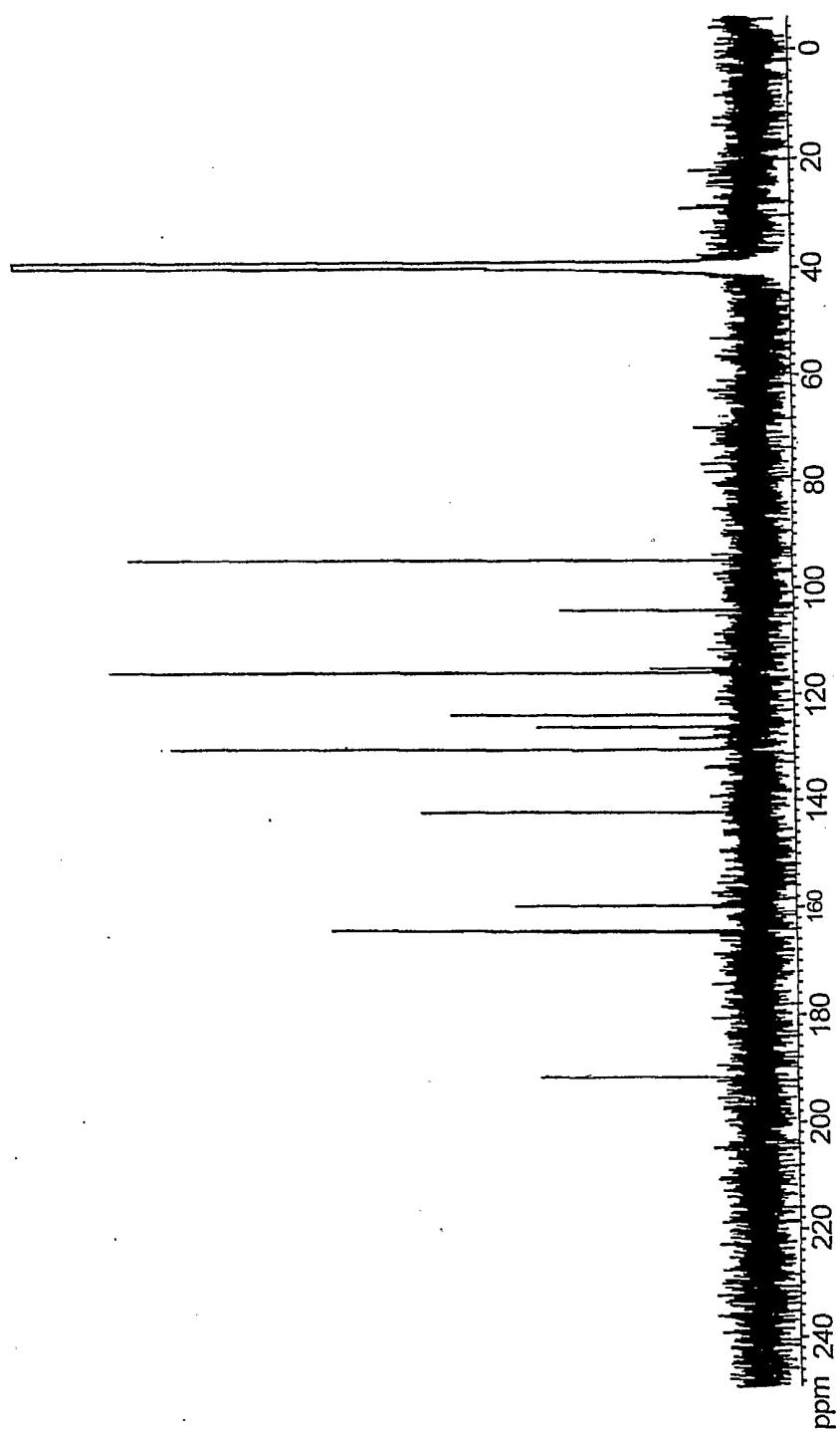
1 / 9

第1図



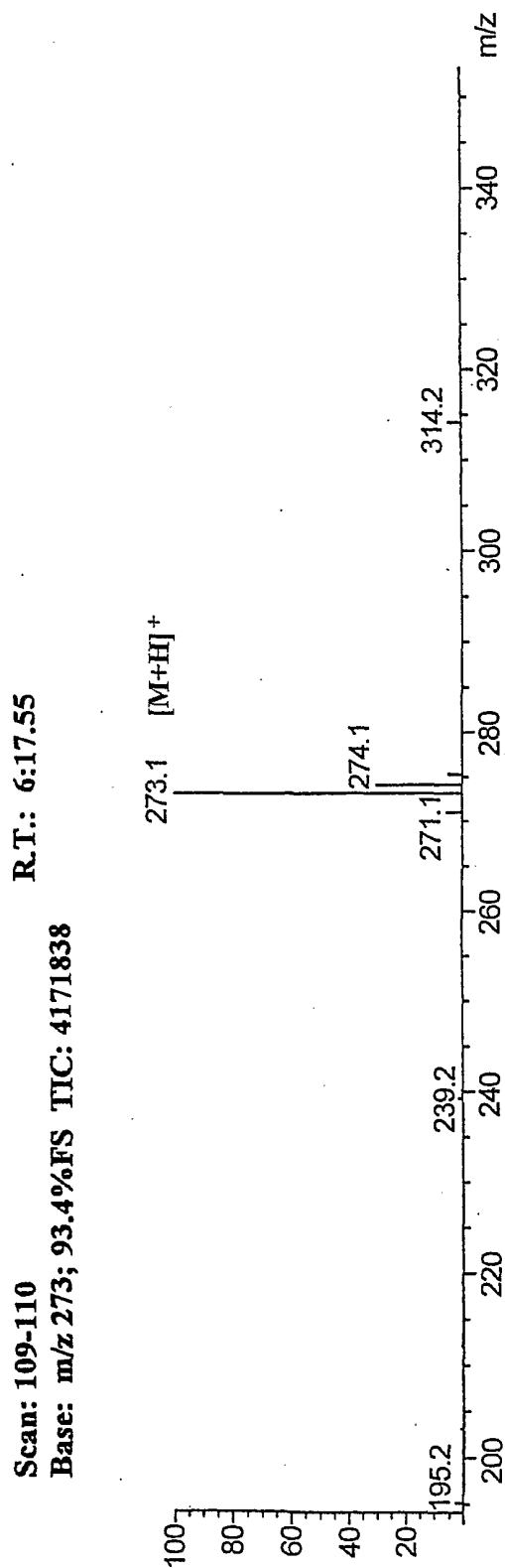
2 / 9

第2図



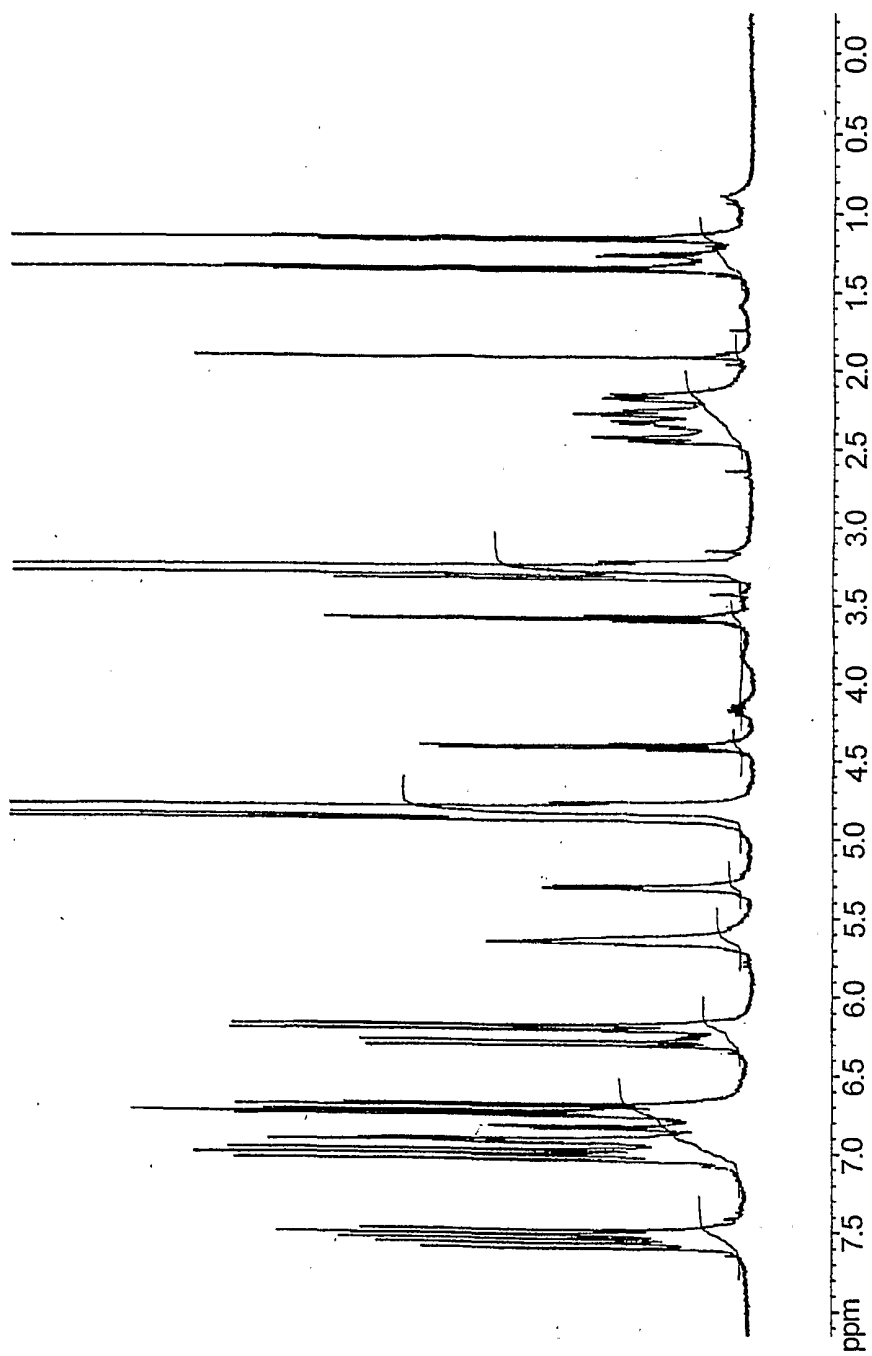
3 / 9

第3図



4 / 9

第4図



5 / 9

第5図

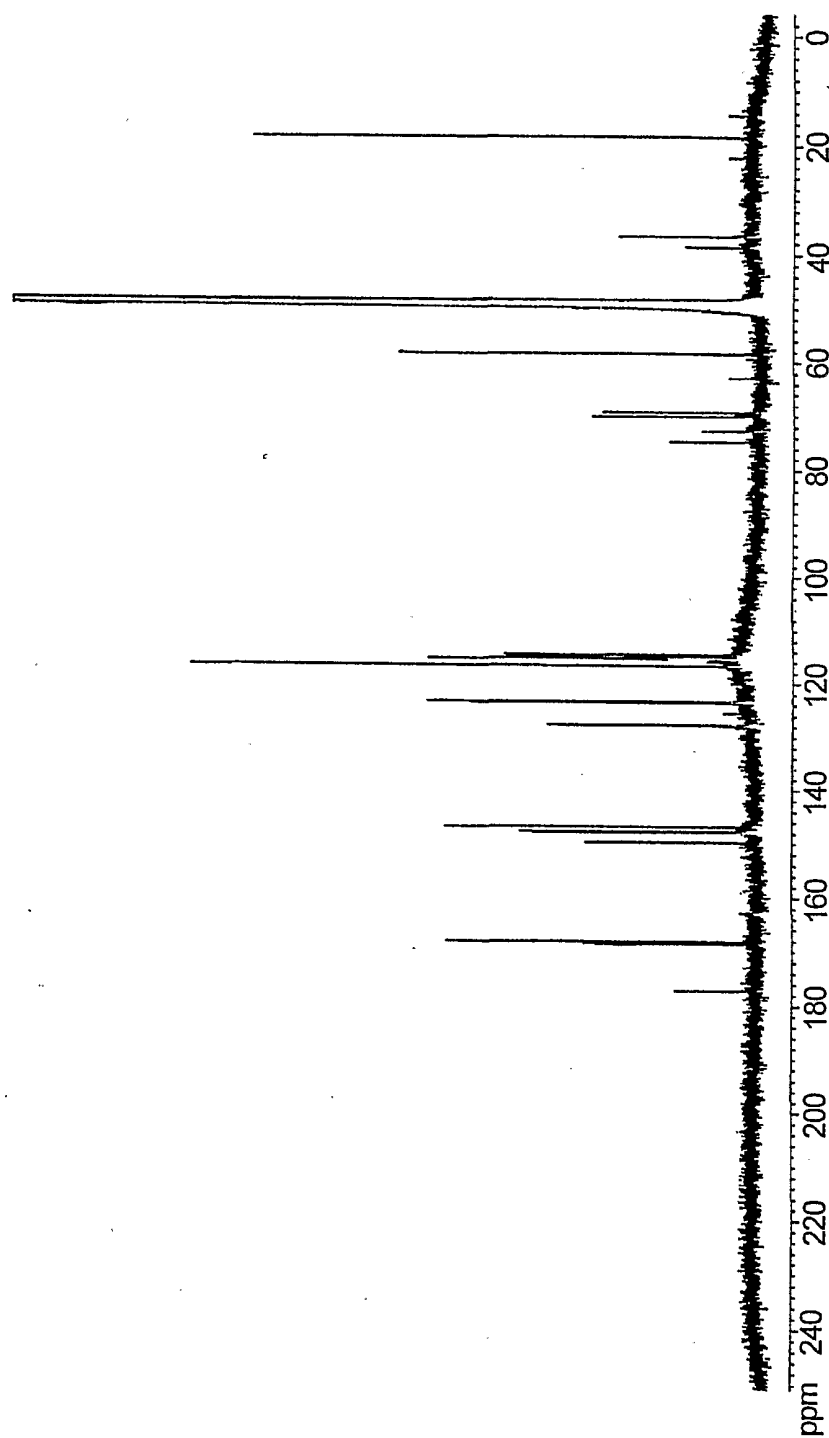
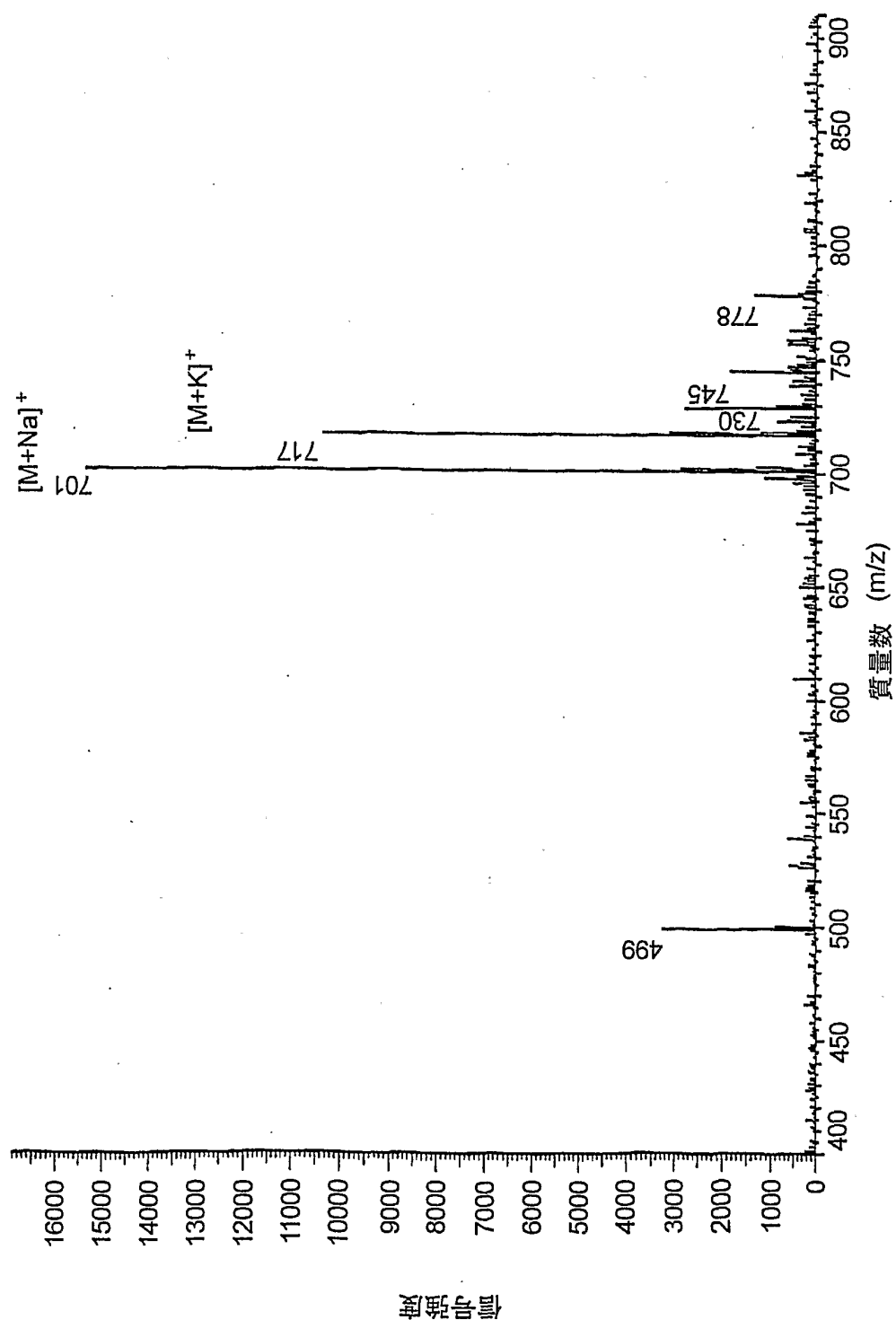
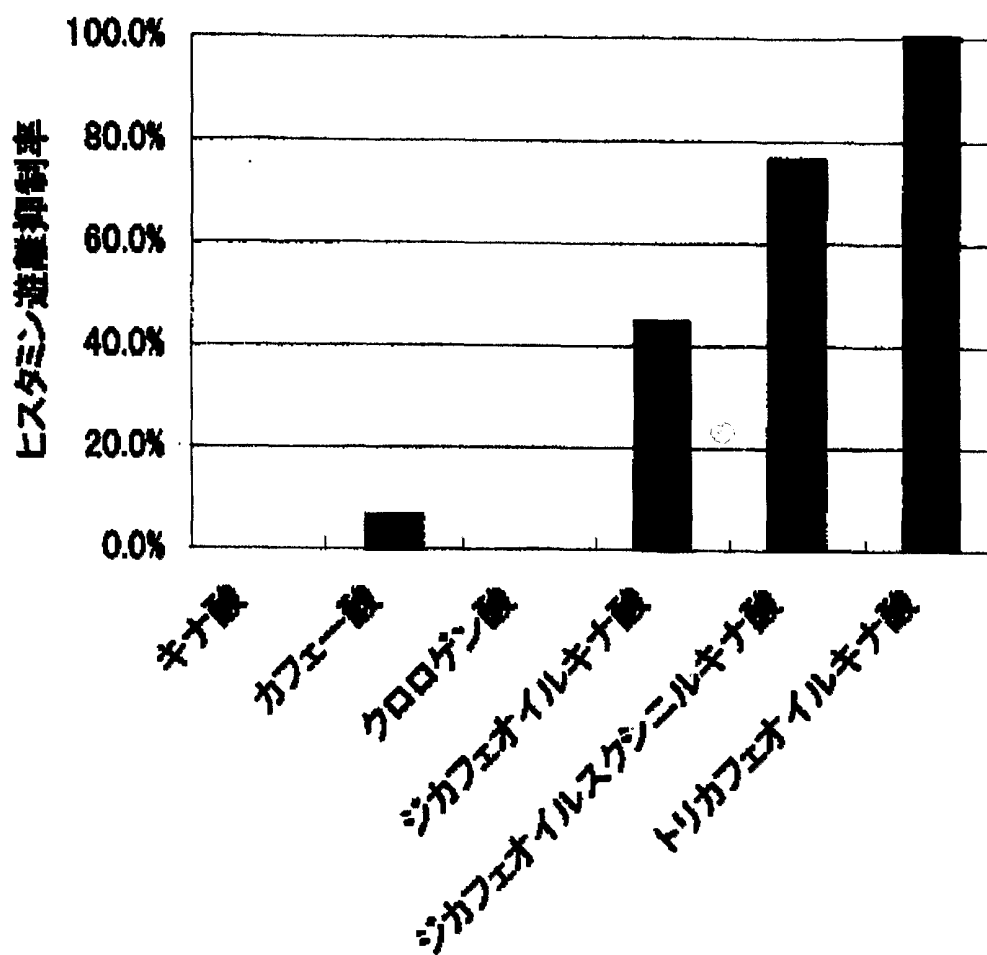


図 6



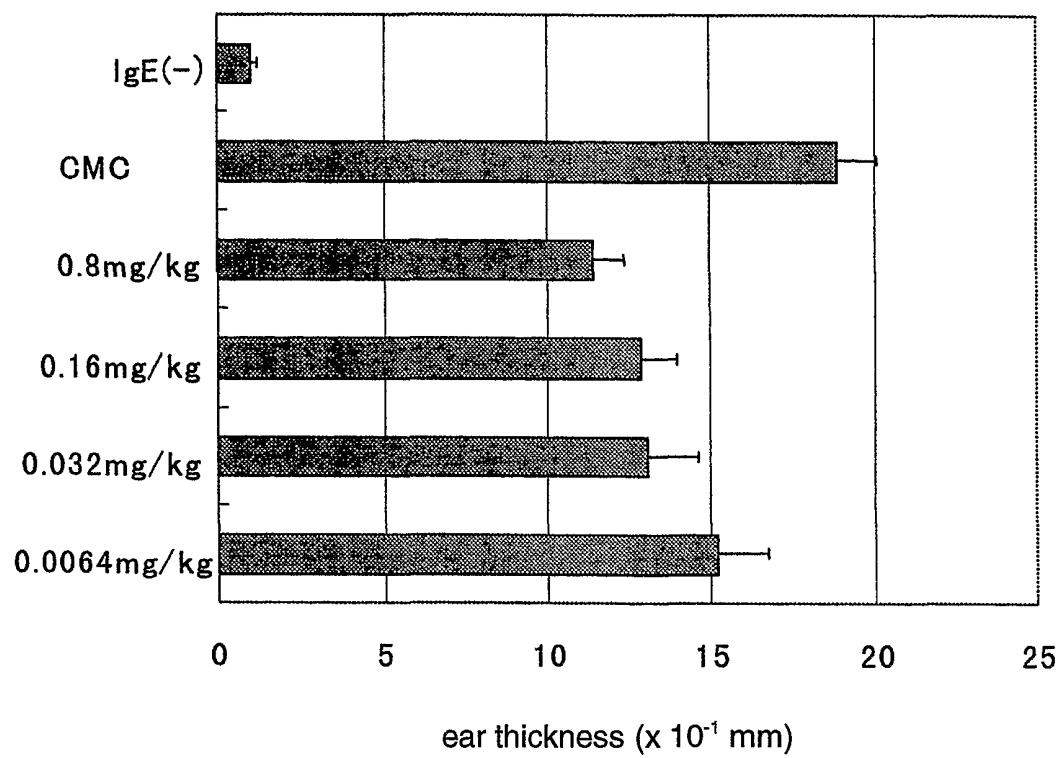
7 / 9

第 7 図



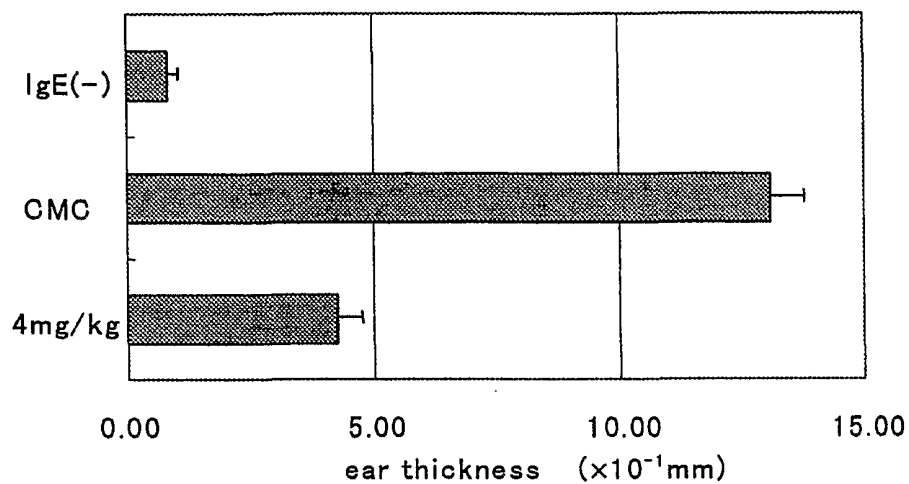
8 / 9

第 8 図

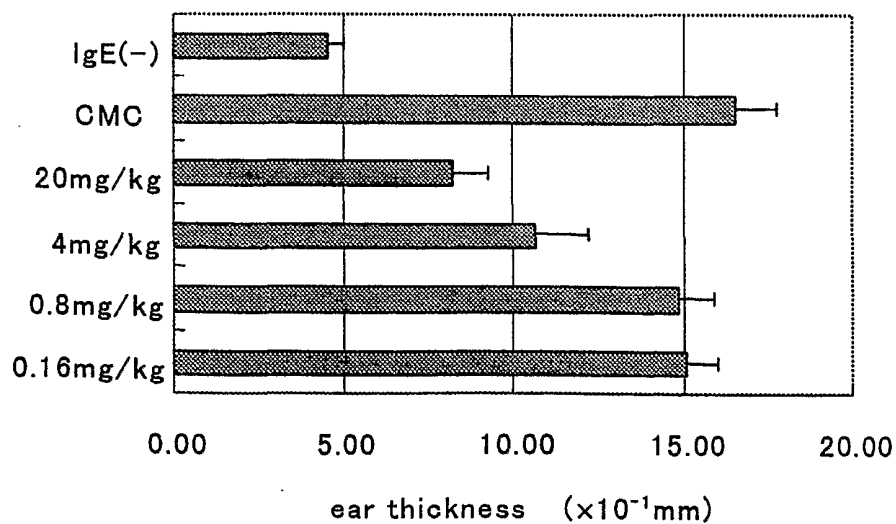


9 / 9

第 9 図



第 10 図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05553

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61K35/78, 31/12, 31/216, 7/00, 7/16, 7/08, A61P43/00, 37/08, A23L1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61K35/78, 31/12, 31/216, 7/00, 7/16, 7/08, A61P43/00, 37/08, A23L1/30

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

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

CA (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Kaori HOSHINO et al., "Evaluation of antiallergic effects of extracts from ten kinds of vegetables using tree in vitro assay systems", Shokuhin Eiseigaku Zasshi, (1998), Vol.39, No.2, pages 72 to 77	1-3, 16-18
Y	Ikuko TAKEUCHI et al., "Determination of histamin in fresh and canned mackerel and in commercial canned foods", Kenkyu Hokokusho-Toyo Shokuhin Kogyo Tanki Daigaku, Toyo Shokuhin Kenkyusho, (1983), No.15, pages 74 to 78	1-3, 16-18
Y	WO 87/05215 A (Dainippon Ink & K.K.), 11 September, 1987 (11.09.87), & JP 62-207212 A & AU 8771227 A & EP 259499 A & US 3952564 A & CA 1302281 C & DE 3779842 G	5-7 16, 17

☒ 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 document 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
07 September, 2001 (07.09.01)Date of mailing of the international search report
18 September, 2001 (18.09.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05553

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 370461 A (Dainippon Ink & K.K.), 30 May, 1990 (30.05.90), & AU 8945431 A & CA 2003504 A & JP 2-223573 A & US 5068364 A & DE 68923250 E & KR 139296 B1	5-7 16,17
Y	Laguna Lidia et al., "Flavonoid biosynthesis in tomato fruit cuticles after in vivo incorporation of 3H-phenylalanine precursor", <i>Physiologia Plantarum</i> , March, 1999, Vol.105, No.3, pages 491 to 498	5-7 16,17
Y	Lung, P. et al., "Water permeability of isolated cuticular membranes: a structural analysis, <i>Archives of Biochemistry and Biophysics</i> ", 10 March, 1995, Vol.317, No.2, pages 417 to 422	5-7 16,17
Y	Krause, M. et al., "Determination of Narigenin and Narigenin-Chalcone in Tomato Skins by Reversed Phase HPLC after Solid Phase Extraction", <i>Z Lebensm-Unters to Forsc</i> , (1992), Vol.194, No.1, pages 29 to 32	5-7 16,17
Y	Hunt, G. M. et al., "Phenolic Constituents of Tomato Fruit Cuticles", <i>Phytochemistry</i> , (1980), Vol.19, No.7, pages 1415 to 1420	5-7 16,17
Y	JP 63-218619 A (Rikagaku Kenkyusho), 12 September, 1988 (12.09.88) (Family: none)	8-17
Y	JP 4-169526 A (Shiseido Company, Limited), 17 June, 1992 (17.06.92) (Family: none)	8-17
Y	Tojiro TSUSHIDA et al., "Contents and Cooking Loss Three Quinic Acid Derivatives from Garland (<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.)", <i>J. Agric. Food Chem.</i> , (1998), Vol.46, No.4, pages 1437 to 1439	10,11,13,14
Y	Tojiro TSUSHIDA et al., "Structural Identification of Two Antioxidant Quinic Acid Derivatives from Garland (<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.)", <i>J. Agric. Food Chem.</i> , (1996), Vol.44, No.8, pages 2037 to 2039	10,11,13,14
Y	Yoshihiko MARUTA et al., "Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock (<i>Arctium lappa</i> L.)", <i>J. Agric. Food Chem.</i> , (1995), Vol.43, No.10, pages 2592 to 2595	10,11,13,14
Y	Merfort Irmagard, "Caffeoylquinic acids from flower of <i>Arnica montana</i> and <i>Arnica chamissonis</i> ", <i>Phytochemistry</i> , Vol.31, No.1.6, pages 2111 to 2113	8-17
Y	Rastrelli, Luca et al., "Anti-inflammatory activity-guided fractionation of <i>Gnaphalium stramineum</i> ", <i>Pharm. Biol.</i> , (1998), Vol.36, No.5, pages 315 to 319	8,9,12,13 15-17
Y	Isao Agata et al., "1,3,5-Tri-O-caffeoylquinic acid from <i>Xanthium strumarium</i> ", <i>Phytochemistry</i> , (1993), Vol.33, No.2, pages 508 to 509	8,9,12,13 15-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/05553

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The inventions as set forth in claims 1 to 3 and 18 relate to antiallergic agents containing as the active ingredient tomato extract or tomato pericarp. The inventions as set forth in claims 4 to 7, 14, 16 and a part of 17 relate to antiallergic agents containing as the active ingredient specific compounds, i.e., naringenin chalcone or its derivatives. The inventions as set forth in claims 8 to 13, 15, 16 and a part of 17 relate to antiallergic agents containing as the active ingredient specific compounds, i.e., tricaffeoylquinic or its derivatives and dicaffeoylsuccinylquinic acid or its derivatives. Namely, these three groups of inventions relate to antiallergic agents of different constitutions without having any technical feature in common. Such being the case, these three groups of inventions are not considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K35/78, 31/12, 31/216, 7/00, 7/16, 7/08
A61P43/00, 37/08, A23L1/30

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K35/78, 31/12, 31/216, 7/00, 7/16, 7/08
A61P43/00, 37/08, A23L1/30

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

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

CA (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Kaori, Hoshino et al, Evaluation of antiallergic effects of extracts from ten kinds of vegetables using tree in vitro assay systems, Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 1998, Vol. 39, No. 2, pp. 72-77	1-3, 16-18
Y	Ikuko Takeuchi et al, Determination of histamin in fresh and canned mackerel and in commercial canned foods, Kenkyu Hokokusho-Toyo Shokuhin Kogyo Tanki Daigaku, Toyo Shokuhin Kenkyusho, 1983, No. 15, pp. 74-78	1-3, 16-18

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との当業者によって明白である組合せ

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 87/05215 A(DAINIPPON INK & KK)11.9月.1987(11.09.87)& JP 62-207212 A&AU 8771227 A&EP 259499 A&US 3952564 A&CA 1302281 C&DE 3779842 G	5-7 16, 17
Y	EP 370461 A(DAINIPPON INK & KK)30.5月.1990(30.05.90)&AU 894 5431 A&CA 2003504 A&JP 2-223573 A&US 5068364 A&DE 68923250 E &KR 139296 B1	5-7 16, 17
Y	Laguna Lidia et al, Flavonoid biosynthesis in tomato fruit cuticles after in vivo incorporation of 3H-phenylalanine precursor, Physiologia Plantarum, March 1999, Vol. 105, No. 3, pp. 491-498	5-7 16, 17
Y	Lung, P et al, Waterpermeability of isolated cuticular membranes: a structural analysis, Archives of Biochemistry and Biophysics, 10 Mar. 1995, Vol. 317, No. 2, pp. 417-422	5-7 16, 17
Y	Krause, M et al, Determination of Narigenin and Narigenin-Chalcone in Tomato Skins by Reversed Phase HPLC after Solid Phase Extraction, Z Lebensm-Unters -Forsch, 1992, Vol. 194, No. 1, pp. 29-32	5-7 16, 17
Y	Hunt, G.M et al, Phenolic Constituents of Tomato Fruit Cuticles, Phytochemistry, 1980, Vol. 19, No. 7, pp. 1415-1420	5-7 16, 17
Y	JP 63-218619 A(理化学研究所)12.9月.1988(12.09.88)(ファミリーなし)	8-17
Y	JP 4-169526 A(株式会社資生堂)17.6月.1992(17.06.92)(ファミリーなし)	8-17
Y	Tojiro, Tsushida et al, Contents and Cooking Loss Three Quinic Acid Derivatives from Garland (Chrysanthemum coronarium L.), J. Agric. Food Chem, 1998, Vol. 46, No. 4, pp. 1437-1439	10, 11, 13, 14
Y	Tojiro, Tsushida et al, Structural Identification of Two Antioxidant Quinic Acid Derivatives from Garland (Chrysanthemum coronarium L.), J. Agric. Food Chem, 1996, Vol. 44, No. 8, pp. 2037-2039	10, 11, 13, 14
Y	Yoshihiko, Maruta et al, Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock (Arctium lappa L.), J. Agric. Food Chem, 1995, Vol. 43, No. 10, pp. 2592-2595	10, 11, 13, 14
Y	Merfort, Irmagard, Caffeoylquinic acids from flower of Arnica montana and Arnica chamissonis, Phytochemistry, Vol. 31, No. 6, pp. 2111-2113	8-17
Y	Rastrelli, Luca et al, Anti-inflammatory activity-guided fractionation of Gnaphalium stramineum, Pharm. Biol, 1998, Vol. 36, No. 5, pp. 315-319	8, 9, 12, 13 15-17
Y	Isao, Agata et al, 1,3,5-Tri-O-caffeoylquinic acid from Xanthium strumarium, Phytochemistry, 1993, Vol. 33, No. 2, pp. 508-509	8, 9, 12, 13 15-17

第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第 8 条第 3 項 (PCT 17 条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 3 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲 1-3、18 は、トマト抽出物あるいはその果皮を有効成分とする抗アレルギー剤に関わる発明であるのに対し、請求の範囲 4-7、14、16 及び 17 の一部は、特定の化合物であるナリンゲニンカルコンまたはその誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤に関わる発明であり、請求の範囲 8-13、15、16 及び 17 の一部は、特定の化合物であるトリカフェオイルキナ酸およびジカフェオイルスクシニルキナ酸またはその誘導体を有効成分とする抗アレルギー剤に関わる発明である。つまり、これら三つの発明群は、同じ技術的特徴を有さない別々の構成を有する抗アレルギー剤に関わるものである。したがって、これら三つの発明群が単一の一般的発明を形成するように連関している一群の発明とは認められない。

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☒ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。