

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2007年10月25日 (25.10.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/119837 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/7048 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)
 A23L 1/30 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
 A61K 8/60 (2006.01) A61P 9/12 (2006.01)
 A61K 8/97 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
 A61K 36/00 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
 A61P 3/04 (2006.01) C12N 9/99 (2006.01)

山 恵司 (KAMEYAMA, Keishi) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 高島 一 (TAKASHIMA, Hajime); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 明治安田生命大阪御堂筋ビル Osaka (JP).

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2007/058209

(22) 国際出願日:

2007年4月13日 (13.04.2007)

(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2006-112790 2006年4月14日 (14.04.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 味の素株式会社 (AJINOMOTO CO., INC.) [JP/JP]; 〒1048315 東京都中央区京橋一丁目15番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 関 哲也 (SEKI, Tetsuya) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 鈴木 克也 (SUZUKI, Katsuya) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 石井 康一 (ISHII, Koichi) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 小林 克徳 (KOBAYASHI, Katsunori) [JP/JP]; 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 亀

(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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, 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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

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。

(54) Title: LIPASE INHIBITOR

(54) 発明の名称: リパーゼ阻害剤

(57) Abstract: Disclosed is a lipase inhibitor which can be ingested safely by blending it into a pharmaceutical product or food, which contains, as an active ingredient, an extract separated from a food raw material or a compound contained in a plant, and which is useful for the prevention/treatment of a lifestyle-related disease or metabolic syndrome. The lipase inhibitor comprises myricitrin as an active ingredient.

(57) 要約: 本発明は、医薬品や食品などに含有させて安全に摂取することができる、食品原材料から分離した抽出物や植物に含有される化合物を有効成分とする、生活習慣病やメタボリックシンドロームの予防・治療に有用な、ミリスチリンを有効成分として含有することを特徴とするリパーゼ阻害剤を提供する。

WO 2007/119837 A1

明 細 書

リパーゼ阻害剤

技術分野

[0001] 本発明は、ミシトリンを有効成分として含有する新規なリパーゼ阻害剤、ミシトリンを投与することを含むリパーゼを阻害する方法、及び、リパーゼを阻害するための医薬の製造におけるミシトリンの使用に関する。より詳細には、本発明は、肥満症、糖尿病、高血圧症、高脂血症、動脈硬化などのいわゆる生活習慣病、及び、メタボリックシンドロームなどの予防又は治療におけるミシトリンの使用に関する。

背景技術

[0002] 近年、我国においては、食生活の欧米化、すなわち脂肪摂取量の増加、ならびに運動不足などのライフスタイルの変化により、肥満人口が著しく増加しており、深刻な問題となってきている。肥満は生体の糖代謝や脂質代謝、血圧などに障害を及ぼし、その結果、メタボリックシンドローム、糖尿病、高血圧症、高脂血症、動脈硬化症などへとつながっていく。肥満の改善のためには、カロリー制限による食事療法やエネルギー消費による運動療法が一般的であるが、これらを長期に継続することは精神的にも負荷がかかること、また、食事療法や運動療法は一過性の減量に終わり、体重のリバウンドの可能性が高いことなどの問題点がある。

[0003] 肥満が原因によって生じる障害の一つとして、インスリン抵抗性が挙げられる。インスリン抵抗性は、膵 β 細胞から分泌されたインスリンに対する、骨格筋、肝臓、脂肪組織などの標的臓器の感受性が低下した状態を示す用語である。インスリン抵抗性は遺伝素因によるものもあるが、大部分は肥満によるものである。肥満によって生じるインスリン抵抗性に対して生体は、膵 β 細胞からの活発なインスリン分泌により代償され、高インスリン血症により血糖が正常近くに保たれる。しかし、これが持続すると膵 β 細胞が疲弊し、インスリン分泌能が徐々に低下し、糖尿病状態に進行する。従って、肥満の改善は、血中インスリン濃度の低下及びインスリン抵抗性の改善、ひいては糖尿病の予防に極めて有効である。

[0004] リパーゼは、脂肪の消化酵素であり、ヒトにおいては膵臓から分泌される。このリパ

ーゼによって、脂肪の主要成分であるトリグリセライドのエステル結合が加水分解され、モノグリセライドと遊離脂肪酸が生じる。これらは小腸より吸収され、体内でエネルギーとして消費されるが、過剰な脂肪摂取は、体内でのエネルギー消費に使用されず、組織への脂肪の蓄積を招き、肥満へと至らしめる。このようにリパーゼは、肥満や高脂血症、さらには、インスリン抵抗性、高インスリン血症、メタボリックシンドローム、糖尿病、動脈硬化症などと密接に関連しており、リパーゼ活性を阻害する物質はこれら疾病の予防・治療に有効であると考えられる。

[0005] 一方、ヒトの皮膚に常在する微生物が産生するリパーゼは、皮膚上の脂質をグリセリンと遊離脂肪酸に分解する。この遊離脂肪酸の中には皮膚に対して悪影響を及ぼす物質もあり、面皰などの皮膚疾患の原因になることや、遊離脂肪酸がさらに分解されて体臭の原因になることが知られている。リパーゼ活性の阻害はこのような問題の解決にも有効である。

[0006] 現在までに知られているリパーゼ阻害剤として、緑茶の成分であるエピガロカテキンガレート(特許文献1)、ピーマン、かぼちゃ、しめじ、ひじき、緑茶、ウーロン茶などの水抽出物(特許文献2)、プロシアニジンを含む有効成分とするタマリンド種皮抽出物(特許文献3)、脱脂米糠の熱水抽出物(特許文献4)、ホップに含まれるポリフェノール系物質(特許文献5)などを挙げることができる。また、エピガロカテキンガレート以外の各種フラボノイド類を含有するリパーゼ阻害剤も報告されている(特許文献6～8)。

[0007] しかしながら、これまで提示されてきたリパーゼ阻害剤における食品原材料から分離した抽出物や成分は、実際的には効果が弱かったり、また実用的でない摂取条件下での実験の結果に基づくものであったりした。フラボノイド類については、糖を含まないフラボノイド(特許文献6)の報告、あるいはmyricetin骨格を含まない配糖体型のフラボノイド(特許文献7)の報告のみであり、これらはいずれも十分に満足できる効果を発揮するものではなかった。従って、医薬品や食品などに含有させて安全に摂取することができる、食品原材料から分離した抽出物や植物に含有される化合物を有効成分とするリパーゼ阻害剤が望まれていた。

[0008] リパーゼ阻害活性を有する植物抽出物として、例えば、フトモモ科植物のミルキア・セファエロカルパ(Myrcia sphaerocarpa、Myrcia multiflora)の抽出物(特許文献9)、

タチバナアデク(*Eugenia uniflora*)の抽出物(非特許文献1)が公知であるが、これらの文献にはミリシトリンに関する記載はない。また、これらの文献に記載されている活性成分の抽出方法は効率的なものではなかったため、リパーゼ阻害活性を有する活性成分を含む抽出物の効率的な製造方法も求められていた。

特許文献1:特開平3-228664号公報

特許文献2:特開平3-219872号公報

特許文献3:特開平9-291039号公報

特許文献4:特開2001-97880号公報

特許文献5:特開2001-321166号公報

特許文献6:特開平7-61972号公報

特許文献7:特開平9-143070号公報

特許文献8:特開2003-321351号公報

特許文献9:特開2001-231500号公報

非特許文献1:J. Ethnopharmacol. 1999 Dec 15;68(1-3):307-14.

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0009] 本発明の目的は、医薬品や食品などに含有させて安全に摂取することができる、食品原材料から分離した抽出物や植物に含有される化合物を有効成分とする、生活習慣病やメタボリックシンドロームの予防・治療に有用なリパーゼ阻害剤を提供することにある。

課題を解決するための手段

- [0010] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究した結果、特定の植物又はその抽出物から得られるミリシトリンが優れたリパーゼ阻害作用を有すること、及び、ミリシトリンを含有する抽出物の効率的な製造方法を見出し、本発明を完成するに至った。

- [0011] すなわち、本発明は以下のとおりである。

(1)ミリシトリンを有効成分として含有することを特徴とするリパーゼ阻害剤。

(2)ミリシトリンが、シジギウム・アクエウム(*Syzygium aqueum*(=*Eugenia aquea*))、シ

ジウム・グアバ (*Psidium guajava*)、ユーヅニア・マラセンシス (*Eugenia malaccensis*)、シジギウム・ドンベイ・スキールズ (*Syzygium dombeyi* Skeels)、シジギウム・ロンギフォリウム (*Psidium longifolium*)、ミルキアリア・カウリフロラ (*Myrciaria cauliflora*)、シジギウム・サマランゲンス (*Syzygium Samarangens*)、シジギウム・ジャンボス (*Syzygium jambos*)、コロカシア・エスキュレンタ (*Colocasia esculenta*)、シジウム・リトレール・ラディ (*Psidium littorale* Raddi) 及びユーヅニア・ユニフローラ (*Eugenia uniflora*) からなる群から選ばれる植物又はその抽出物から得られるものである、(1) に記載のリパーゼ阻害剤。

(3) ミリシトリンを0.05重量%以上含有する植物又はその抽出物を含んでなる、(1) 又は(2) に記載のリパーゼ阻害剤。

(4) ミリシトリンが合成されたものである、(1) に記載のリパーゼ阻害剤。

(5) ミリシトリンを含有する植物を、水又は有機溶剤、あるいはそれらの混合溶剤で抽出する工程によって得られる、ミリシトリン含量が0.05重量%以上である抽出物を有効成分として含有することを特徴とするリパーゼ阻害剤。

(6) 前記抽出物が、前記抽出工程の後に、有機溶剤を用いた分配による精製工程又は吸着樹脂による精製工程によって得られるものである、(5) に記載のリパーゼ阻害剤。

(7) 脂肪吸収抑制剤、血中脂肪濃度抑制剤、抗肥満剤、インスリン抵抗性改善剤、血中インスリン濃度低下剤又はメタボリックシンドローム改善もしくは予防剤から選ばれる少なくとも1種である、(1)～(6)のいずれか1項に記載のリパーゼ阻害剤。

(8) ミリシトリンを含有する植物を、水又は有機溶剤、あるいはそれらの混合溶剤で抽出する工程を含む、ミリシトリン含有抽出物の製造方法。

(9) 抽出工程の後に、さらに有機溶剤を用いた分配による精製工程又は吸着樹脂による精製工程を含む、(8) に記載の製造方法。

(10) (1)～(6)のいずれか1項に記載のリパーゼ阻害剤を含有する食品。

(11) 保健機能食品又はダイエタリーサプリメントである、(10) に記載の食品。

(12) 保健機能食品が特定保健用食品又は栄養機能食品である、(11) に記載の食品。

(13) (1)～(6)のいずれか1項に記載のリパーゼ阻害剤を含有する化粧品。

(14)有効量のミリスチリンを対象に投与することを含む、対象においてリパーゼを阻害する方法。

(15)ミリスチリンが、シジギウム・アクエウム(*Syzygium aqueum*(=*Eugenia aquea*))、シジウム・グアバ(*Psidium guajava*)、ユーヅニア・マラセンシス(*Eugenia malaccensis*)、シジギウム・ドンベイ・スキールズ(*Syzygium dombeyi* Skeels)、シジウム・ロンギフォリウム(*Psidium longifolium*)、ミルキアリア・カウリフロラ(*Myrciaria cauliflora*)、シジギウム・サマランゲンス(*Syzygium Samarangens*)、シジギウム・ジャンボス(*Syzygium jambos*)、コロカシア・エスキュレンタ(*Colocasia esculenta*)、シジウム・リトレール・ラディ(*Psidium littorale* Raddi) 及びユーヅニア・ユニフローラ(*Eugenia uniflora*) からなる群から選ばれる植物又はその抽出物から得られるものである、(14)に記載の方法。

(16)ミリスチリンが合成されたものである、(14)に記載の方法。

(17)脂肪吸収抑制、血中脂肪濃度抑制、抗肥満、インスリン抵抗性改善、血中インスリン濃度低下又はメタボリックシンドロームの改善もしくは予防のための、(14)～(16)のいずれか1項に記載の方法。

(18)リパーゼを阻害するための医薬の製造におけるミリスチリンの使用。

(19)ミリスチリンが、シジギウム・アクエウム(*Syzygium aqueum*(=*Eugenia aquea*))、シジウム・グアバ(*Psidium guajava*)、ユーヅニア・マラセンシス(*Eugenia malaccensis*)、シジギウム・ドンベイ・スキールズ(*Syzygium dombeyi* Skeels)、シジウム・ロンギフォリウム(*Psidium longifolium*)、ミルキアリア・カウリフロラ(*Myrciaria cauliflora*)、シジギウム・サマランゲンス(*Syzygium Samarangens*)、シジギウム・ジャンボス(*Syzygium jambos*)、コロカシア・エスキュレンタ(*Colocasia esculenta*)、シジウム・リトレール・ラディ(*Psidium littorale* Raddi) 及びユーヅニア・ユニフローラ(*Eugenia uniflora*) からなる群から選ばれる植物又はその抽出物から得られるものである、(18)に記載の使用。

(20)医薬が、ミリスチリンを0.05重量%以上含有する植物又はその抽出物を含んでなる、(18)又は(19)に記載の使用。

(21)ミリスチリンが合成されたものである、(18)に記載の使用。

(22)ミリスチリンを含有する植物を、水又は有機溶剤、あるいはそれらの混合溶剤で

抽出する工程によって得られる、ミリスリン含量が0.05重量%以上である抽出物を、医薬が含有する、(18)に記載の使用。

(23)前記抽出物が、前記抽出工程の後に、有機溶剤を用いた分配による精製工程又は吸着樹脂による精製工程によって得られるものである、(22)に記載の使用。

(24)医薬が、脂肪吸収抑制剤、血中脂肪濃度抑制剤、抗肥満剤、インスリン抵抗性改善剤、血中インスリン濃度低下剤又はメタボリックシンドローム改善もしくは予防剤から選ばれる少なくとも1種である、(18)～(23)のいずれか1項に記載の使用。

(25)上記(1)～(7)のいずれかに記載のリパーゼ阻害剤と、該リパーゼ阻害剤を脂肪吸収抑制、血中脂肪濃度抑制、抗肥満、インスリン抵抗性改善、血中インスリン濃度低下又はメタボリックシンドロームの改善もしくは予防に使用し得るかまたは使用すべきであることを記載した書類とを含む商業的パッケージ。

(26)リパーゼ阻害のために用いるものであるという表示を付した、上記(10)に記載の食品。

(27)リパーゼ阻害が、脂肪吸収抑制、血中脂肪濃度抑制、抗肥満、インスリン抵抗性改善、血中インスリン濃度低下又はメタボリックシンドローム改善もしくは予防から選ばれる少なくとも1つである、上記(26)に記載の食品。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]実験例2の血中脂肪濃度抑制試験の結果を示すグラフである(平均値±標準偏差(n=6)、* $p < 0.05$ (vs control))。

[図2]実験例3の血中脂肪濃度抑制試験の結果を示すグラフである(平均値±標準偏差(n=6)、* $p < 0.05$ (vs control))。

[図3]実験例4の血中脂肪濃度抑制試験の結果を示すグラフである(平均値±標準偏差(n=6))。

[図4]実験例5の血中脂肪濃度抑制試験の結果を示すグラフである(平均値±標準偏差(n=6))。

[図5]実験例6の血中脂肪濃度抑制試験の結果を示すグラフである(n=8、* $p < 0.05$ (vs control))。

[図6]実験例7の血中脂肪濃度抑制試験の結果を示すグラフである(n=8、* $p < 0.$

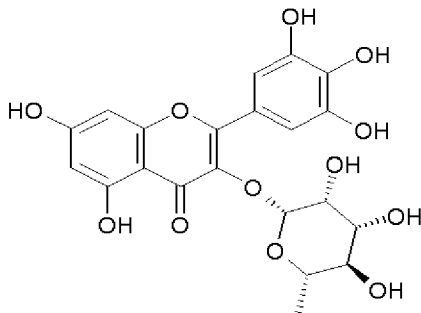
05(vs control))。

発明を実施するための最良の形態

[0013] 以下、本発明のリパーゼ阻害剤を中心に本発明を説明するが、これらの説明は、違うように記載されているか又は本発明と明らかに矛盾しない限り、リパーゼ阻害剤以外の本発明の方法や使用などについても同様に当てはまる。

[0014] 本発明における有効成分であるミリシトリン(myricitrin)は、下記の化学式:

[0015] [化1]



[0016] で表される、フラボノール類の1つであるミリセチンの配糖体であり、優れたリパーゼ阻害活性を有し、脂肪の摂取後の体内吸収を抑制する。

[0017] 本発明で使用するミリシトリンは天然のものであっても、合成されたものであってもよい。ミリシトリンの合成は常法によって実施でき、例えば、ルチンなどのアグリコンでミリセチンの3位配糖体のフェノール性水酸基をアルキル化して保護した後、糖をラムノースに付け替えるなどの方法により合成することができる。

[0018] 本発明において、ミリシトリン又はミリシトリン含有抽出物を得るために用いられる植物としては、例えば、シジギウム・アクエウム(*Syzygium aqueum*(=*Eugenia aquea*)、日本での一般名:ミズレンブ)、シジウム・リトレール・ラディ(*Psidium littorale* Raddi、日本での一般名:テリハバンジロウ)、シジウム・グアバ(*Psidium guajava*、日本での一般名:バンジロウ)、ユーゲニア・マラセンシス(*Eugenia malaccensis*、日本での一般名:マレーフトモモ)、シジギウム・ドンベイ・スキールズ(*Syzygium dombeyi* Skeels、日本での一般名:グルミチャマ)、シジウム・ロンギフォリウム(*Psidium longifolium*、日本での一般名:キミノバンジロウ)、ミルキアリア・カウリフロラ(*Myrciaria cauliflora*、日本での一般名:ジャボチカバ)、シジギウム・サマランゲンス(*Syzygium Samarangens*、日本での一般名:レンブ)、シジギウム・ジャンボス(*Syzygium jambos*、日本での一般名:フ

トモモ)、コロカシア・エスキュレンタ(*Colocasia esculenta*、日本での一般名:サトイモ)、ユーヅニア・ユニフローラ(*Eugenia uniflora*、日本での一般名:タチバナアデク)などが挙げられる。

- [0019] ミリシトリン又はミリシトリン含有抽出物を得る原料としては、上記植物の成熟した又は未成熟の果実、果皮、種子、葉、茎、葉柄、枝、根、花、全体などが用いられうるが、その中でも葉又は茎が好ましく用いられる。

本発明で用いられうる上記植物には、植物自体を乾燥させた乾燥物、粉碎物、植物自体を圧搾抽出することによって得られる搾汁、粗抽出物、抽出物の精製物などすべてが含まれる。

本発明のリパーゼ阻害剤は、ミリシトリンを0.05重量%以上含有する植物又はその抽出物を含むことが好ましい。

- [0020] 本発明における抽出物の製造方法は特に限定されないが、例えば、ミリシトリンを成分として含む植物(以下、ミリシトリン含有植物ともいう)を、水又は有機溶剤(アルコール(メタノール、エタノール等)等)あるいはそれらの混合溶剤で抽出して得られる。その後、得られた抽出物を更に有機溶剤を用いた分配による精製又は吸着樹脂による精製を行った場合に、質のよい抽出物が得られる。得られたミリシトリン含有抽出物は、適宜、濃縮、精製、滅菌、乾燥などを施して使用される。ここで用いられる有機溶剤としては、例えば、酢酸エチル、グリセリン、1,3-ブチレングリコール、クロロホルム、ジクロロメタン、アルコール(メタノール、エタノール等)などが挙げられる。分配等による精製には、非水溶性の有機溶剤が好ましく、酢酸エチルなどがより好ましい。吸着樹脂による精製には、アルコール(メタノール、エタノール等)などが好ましい。また、抽出は、室温～加熱下で行ってもよく、通常、1～100℃、好ましくは20～90℃で抽出する。

- [0021] 抽出物の濃縮、乾燥は、抽出液をそのまま濃縮、乾燥してもよく、適宜、賦形剤(例えば、乳糖、ショ糖、デンプン、サイクロデキストリンなど)を添加して実施してもよい。

- [0022] 上記の製造方法によって、乾燥抽出物に対する割合でミリシトリンを0.05重量%～90重量%、特に1重量%～45重量%含むミリシトリン含有抽出物を得ることがより好ましい。

上記の製造方法によって得られた抽出物は、水溶性が高いため、製剤化が容易であるという利点も有する。また経口で摂取した場合、このようにして得られたミリシトリン含有抽出物は沈殿しにくいため、小腸まで到達しやすく、吸収されやすいため、高い効果が期待できる。

[0023] また本発明は、ミリシトリンのリパーゼ阻害作用に基づく、脂肪吸収抑制剤、血中脂肪濃度抑制剤、抗肥満剤、インスリン抵抗性改善剤、血中インスリン濃度低下剤、又はメタボリックシンドローム改善もしくは予防剤を提供する。

さらに本発明は、ミリシトリンを含む食品及び化粧品を提供する。

[0024] ミリシトリンが天然由来、すなわち植物又はその抽出物由来の場合には、本発明のリパーゼ阻害剤は、特に安全性が高く、食品の形態で日常的に継続的に摂取するのに好ましい。本発明における「食品」とは、固形、半固形、液体など様々な形態の食品全般を意味するが、いわゆる健康食品を含む一般食品の他、厚生労働省の保健機能食品制度に規定される特定保健用食品や栄養機能食品などの保健機能食品をも包含する概念であり、さらにいわゆる機能性食品、ダイエタリーサプリメント(栄養補助食品)、飼料、食品添加物なども本発明における食品に包含される。

[0025] 本発明のリパーゼ阻害剤を食品として使用するのには特に困難は無く、例えば、ミリシトリン又はミリシトリン含有物をそのまま、あるいは種々の栄養成分とともに、食肉加工品、水産加工品、パン、乳製品、菓子、ゼリー、清涼飲料、水、牛乳などに混ぜて飲食することができる。

また、本発明のリパーゼ阻害剤を健康食品、食品添加物、栄養補助食品などとして使用する場合には、例えば慣用の手段を用いて、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、懸濁剤、チュアブル剤、シロップ剤などの形態に調製することができる。さらに、このような食品を保健機能食品として提供することも可能であり、この保健機能食品には、リパーゼ阻害、脂肪吸収抑制、血中脂肪濃度抑制、抗肥満、インスリン抵抗性改善、血中インスリン濃度低下、メタボリックシンドローム改善及び／又はメタボリックシンドローム予防のために用いるものであるという表示を付した食品、特に特定保健用食品なども含まれる。また、本発明は飼料用途にも適用することができ、家禽や家畜などには、通常の飼料に添加しても摂取又は投与することができる。

- [0026] メタボリックシンドロームとは、インスリン抵抗性を基盤とする2型糖尿病、高脂血症、高血圧、内臓脂肪型肥満、脂肪肝などの一連の病態群を合併した状態を指し、シンドロームX、インスリン抵抗性症候群、内臓脂肪症候群、マルチプルリスクファクター症候群などの呼称でも知られている。本発明において、メタボリックシンドロームの改善とは、上記の病態など一般的にメタボリックシンドロームの病態として公知である病態群から選ばれる少なくとも1つの病態において、その症状を緩和又は治癒することを意味する。本発明において、メタボリックシンドロームの予防とは、上記の病態など一般的にメタボリックシンドロームの病態として公知である病態群から選ばれる少なくとも1つの病態において、その症状になるのを防ぐ又は遅らせることを意味する。
- [0027] 食品、食品組成物におけるミリスチリンの配合量は、添加形態及び摂取形態によっても異なり、広い範囲から選択できるが、通常0.05重量%～100重量%、好ましくは0.5重量%～90重量%配合されうる。
- [0028] 例えば、食肉加工品、水産加工品、パン、乳製品、菓子、ゼリーなどの固形食品、半固形食品の配合量は、0.05重量%～25重量%、好ましくは、0.5重量%～10重量%が好適である。清涼飲料、水、牛乳などの液状食品の配合量は、0.05重量%～20重量%、好ましくは、0.5重量%～10重量%が好適である。
- また、ミリスチリンを健康食品、食品添加物、栄養補助食品などに使用する場合、例えば、錠剤、散剤、顆粒剤、粉末などの固形の形態の場合、それらの剤型中のミリスチリン配合量は、0.05重量%～100重量%、好ましくは0.5重量%～90重量%、より好ましくは1重量%～80重量%が好適である。懸濁剤、シロップ剤などの液状食品とする場合には、ミリスチリン配合量は、0.05重量%～90重量%、好ましくは、0.5重量%～90重量%、より好ましくは5重量%～50重量%が好適である。
- [0029] また、食品がミリスチリン含有植物又はその抽出物を含有する場合、ミリスチリン含有植物又はその抽出物の配合量は、添加形態及び摂取形態によっても異なるが、広い範囲から選択でき、例えば食品の場合には、溶媒抽出乾燥物換算で、1～100重量%、特に10重量%～90重量%又はそれ以上配合するのが望ましい。
- [0030] 例えば、食肉加工品、水産加工品、パン、乳製品、菓子、ゼリーなどの固形食品、半固形食品にミリスチリン含有植物又はその抽出物を配合する場合には、溶媒抽出

乾燥物換算で、1重量%～40重量%、好ましくは、1重量%～20重量%が好適である。清涼飲料、水、牛乳などの液状食品の配合量は、溶媒抽出乾燥物換算で、1重量%～20重量%、好ましくは、2重量%～10重量%が好適である。

また、ミリシトリン含有植物又はその抽出物を健康食品、食品添加物、栄養補助食品などに使用する場合、例えば、錠剤、散剤、顆粒剤、粉末などの固形の形態の場合、それらの剤形中への配合量は溶媒抽出乾燥物換算で、1重量%～100重量%、好ましくは5重量%～90重量%、より好ましくは10重量%～80重量%が好適である。懸濁剤、シロップ剤などの液状食品の配合量は、溶媒抽出乾燥物換算量で、1重量%～100重量%、好ましくは、5重量%～80重量%、より好ましくは10重量%～50重量%が好適である。

- [0031] 健康食品、栄養補助食品としてミリシトリンを使用する場合、用量としては、精製或いは合成したミリシトリンを摂取する場合、成人1日当り0.1mg～5g、好ましくは5mg～2g、より好ましくは10mg～0.5gを1日1回から数回に分けて摂取、または服用することが好ましい。この場合、一日あたり摂取量、または1回あたりの摂取量を1単位包装とすることができる。
- [0032] ミリシトリン又はミリシトリン含有物を添加した食肉加工品、水産加工品、パン、乳製品、菓子、ゼリー、清涼飲料、水、牛乳などの食品を摂取する場合には、成人1日当たりのミリシトリン摂取量が、上述の健康食品等と同等の量となるように摂取するのが好ましい。この場合においても、一日あたりの摂取量、または1回あたりの摂取量を1単位包装とすることができる。
- [0033] 本発明のリパーゼ阻害剤を医薬として使用する場合には、その形態は特に限定されるものではなく、ミリシトリンをそのまま、又は、例えば錠剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、カプセル剤、注射剤、溶液剤、懸濁剤、乳剤、クリーム剤、坐剤などに製剤化して、経口又は非経口（例えば、局所、直腸、静脈投与など）で投与することができる。これらは、薬理学的に許容される担体や添加剤を用いて自体公知の方法により各種製剤として製剤化することができる。
- [0034] 用いられる製剤用担体としては、例えば、乳糖、ブドウ糖、D-マンニトール、澱粉、結晶セルロース、炭酸カルシウム、カオリン、デンプン、ゼラチン、ヒドロキシプロピル

セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、エタノール、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム塩、ステアリン酸マグネシウム、タルク、アセチルセルロース、白糖、酸化チタン、安息香酸、パラオキシ安息香酸エステル、デヒドロ酢酸ナトリウム、アラビアゴム、トラガント、メチルセルロース、卵黄、界面活性剤、白糖、単シロップ、クエン酸、蒸留水、エタノール、グリセリン、プロピレングリコール、マクロゴール、リン酸一水素ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸ナトリウム、ブドウ糖、塩化ナトリウム、フェノール、チメロサール、パラオキシ安息香酸エステル、亜硫酸水素ナトリウムなどが挙げられ、これらは剤形に応じて適宜使用される。

- [0035] 本発明のリパーゼ阻害剤を医薬、医薬組成物として使用する場合には、製剤中、ミリスチリンは、通常0.05～100重量%、好ましくは5～90重量%配合されうる。また、ミリスチリン含有植物あるいはその抽出物を製剤中に含有させる場合、ミリスチリン含有植物あるいはその抽出物は、溶媒抽出乾燥物換算で、製剤中に1～100重量%、好ましくは10～90重量%配合されうる。
- [0036] 本発明のリパーゼ阻害剤の投与対象としては、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、サル、ヒトなどの哺乳動物が挙げられる。
- [0037] 本発明のリパーゼ阻害剤を医薬として使用する場合、ミリスチリンの投与量は患者の病態、年齢、投与方法などによって異なるが、ヒト成人の1日量として通常0.01～20g/日程度、好ましくは0.05～10g/日程度、より好ましくは0.1～3g/日程度とし、これを必要に応じて1～5回に分割して投与する。
- [0038] 本発明のリパーゼ阻害剤を化粧品として用いる場合には、本剤の効果を損なわない範囲で、目的に応じて、通常化粧料に用いられる油脂類、ロウ類、脂肪酸類、界面活性剤類、アルコール類、エステル類、炭化水素類、ビタミン、アミノ酸、酵素、核酸などの、化粧品原料基準、日本薬局方、食品添加物公定書などに記載の原料と一緒に配合してもよい。化粧品としては、クリーム、化粧水、乳液、パックなどの基礎化粧品、ファンデーションなどのメイクアップ化粧品、入浴剤、石鹸などの形態で用いることができる。これらの製品は、本剤を所定量含有させる以外は、化粧品の一般的な製造方法を用いて製造することができる。

- [0039] 化粧品の場合、ミシトリンは0.05～100重量%、好ましくは5～90重量%又はそれ以上配合されうる。また、ミシトリン含有植物又はその抽出物を配合する場合、ミシトリン含有植物又はその抽出物は、溶媒抽出乾燥物換算で、1～100重量%、好ましくは10～90重量%配合されうる。
- [0040] さらに、本発明のリパーゼ阻害剤を含む食品、医薬及び化粧品には、ミシトリンが有するリパーゼ阻害活性に全体として悪影響を与えない限り、食品、医薬や化粧品で使用されている既知の有効成分、例えば、キサンチン誘導体、 β アドレナリン作動薬、 α 2アドレナリン抑制薬、ビピリジン誘導体、フトモモ科植物抽出物を、一種又は二種以上配合してもよい。
- [0041] 本発明で用いられうるキサンチン誘導体としては特に限定されないが、例えば、キサンチン、アミノフィリン、テオフィリン、コリンテオフィリン、カフェイン、テオブロミン、1,7-ジメチルキサンチン、オクストリフィン、ジプロフィリン、プロキシフィリンなどが挙げられる。これらは1種を単独で、又は2種以上を組み合わせる用いることができる。これらのキサンチン誘導体は、合成されたもの又は茶などの植物から実質的に単離されたものを使用することができる。
- [0042] 本発明で用いられうる β アドレナリン作動薬は特に限定されないが、例えばイソプロテレノール、ノルエピネフリン、ドブタミン、ドパミン、ブトパミン、サルブタモール、テルブタリン、イソエタリン、プロトキロール、フェノテロール、メタプロテレノール、クロルブレンナリン、ヘキソブレンナリン、トリメチノール、塩酸プロカテロール、プレナルテロール、フォルスコリン、ジソジウム(R, R)-5-[[[[2-(3-クロロフェニル)-2-ヒドロキシエチル]アミノ]プロピル]フェニル]フェノキシ酢酸、[2-ヒドロキシ-5-[2-[2-ヒドロキシ-3-[4-(1-メチル-4-トリフルオロメチル)-1H-イミダゾール-2-イル]フェノキシ]プロピル]アミノ]エトキシ]ベンズアミドモノメタンスルホネート、エリスロ-DL-1-(7-メチルインダン-4-イルオキシ)-3-イソプロピルアミノブタン-2-オール及びこれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。薬理的に許容される塩としては、薬理的に許容される酸付加塩、金属塩、アンモニウム塩、有機アミン付加塩などが挙げられる。本発明においては、イソプロテレノール、ドブタミン、サルブタモール及びこれらの薬理的に許容される塩からなる群から選ばれる1種又

は2種以上を用いることが好ましく、この場合の塩としては塩酸塩や硫酸塩が好ましい。

[0043] 本発明で用いられうる α 2アドレナリン抑制薬は特に限定されないが、例えばヨヒンビン、フェントラミン、フェノキシベンザミン、トラゾリン、エルゴタミン、エルゴトキシン、ジヒドロエルゴタミン、エルゴメトリン、メトキシエルゴメトリン、ジヒドロエルゴトキシン、ラウオルシン、ピペロキサン及びこれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。これらは1種を単独で、又は2種以上を組み合わせる用いることができる。薬理的に許容される塩としては、メシル酸塩、酒石酸塩、塩酸塩が好ましい。

[0044] 本発明に用いられるビピリジン誘導体としては特に限定されないが、アムリノン、ミルリノン、5-シアノ-[3, 4'-ビピリジン]-6(1H)-オン、5-カルバミル-[3, 4'-ビピリジン]-6(1H)-オン及びこれらの薬理的に許容される塩などが挙げられる。

[0045] 本発明は、ミリシトリンの有効量を対象に投与することを含む、対象においてリパーゼを阻害する方法、及び、リパーゼを阻害するための医薬の製造におけるミリシトリンの使用を提供する。さらにリパーゼ阻害剤と、該リパーゼ阻害剤を脂肪吸収抑制、血中脂肪濃度抑制、抗肥満、インスリン抵抗性改善、血中インスリン濃度低下及びメタボリックシンドローム改善又は予防に使用し得るかまたは使用すべきであることを記載した書類とを含む商業的パッケージを提供する。

[0046] 以下に実施例及び実験例を挙げて本発明をより具体的に例示するが、本発明はこれに限定されるものではない。

実施例

[0047] 実験例1:リパーゼ活性阻害試験

豚由来膵リパーゼ(シグマ社製)1250 μ l、コリパーゼ(シグマ社製)50 μ l、0.5M 塩化カルシウム10 μ l、1M 塩化ナトリウム/1M N-トリス(ヒドロキシメチル)メチルー2-アミノエタンスルホン酸(TES)(pH7.0)500 μ l及び蒸留水690 μ lを混合し、酵素溶液を調製した。

トリオレイン16 μ l、100mg/ml L- α -フォスファチジルコリン18.3 μ l、0.1M 塩化ナトリウム/0.1M TES(pH7.0)1216 μ l及びタウロコール酸0.915mgを混合し、基質溶液を調製した。

酵素溶液25 μ lと純水に溶解した表1に記載の被験試料12.5 μ lとを混合し、室温で5分間放置した後、基質溶液12.5 μ lを加え室温で60分間反応させた。反応後、4 μ lの反応溶液をとり、リパーゼによって分解、遊離した脂肪酸量をNEFA C テストワコー（和光純薬工業社製）で測定した。コントロールとして被験試料の代わりに水を用いて同様に反応を行い、被験試料存在下でのコントロールに対する割合(%)を算出し、阻害作用の評価を行った。その結果、ミリシトリンに阻害作用が認められ、コントロールの活性を50%抑制する濃度は0.215mMであった。他フラボノイドの結果も含めた結果は下記の表1に示されるとおりであった。ミリシトリン、ミリセチンはChromaDex社から、ゲニステイン、ケムフェロール、ケルセチン、(－)－エピカテキン、ルチン、(±)－ナリンゲニン、(－)－エピガロカテキンガレートはシグマ社からそれぞれ購入した。

[0048] [表1]

試料	IC50 (mM)
ミリシトリン	0.215
ミリセチン	0.314
ゲニステイン	>0.4
ケムフェロール	>0.4
ケルセチン	>0.4
(－)－エピカテキン	>0.4
ルチン	>0.4
(±)－ナリンゲニン	>0.4
(－)－エピガロカテキンガレート	0.226

[0049] 実施例1:リパーゼ阻害剤の調製

(1)ミズレンブ、テリハバンジロウ、バンジロウ、タチバナアデク、グルミチャマ、ジャボチカバ、レンブの葉からそれぞれの試料1gを得た。試料を攪拌機付き容器にとり、水40mlを加え、温度30℃で2時間攪拌し、次いで内容物を室温下、ブフナーロート及び濾紙(5A)を用いて減圧濾過し、固形分と抽出液分40mlとに分離した。得られた抽出液分に酢酸エチル40mlを加え、抽出を3回繰り返し、酢酸エチル抽出液120mlを得た。水40mlを加え、温度30℃で5分間攪拌し、遠心分離機(1000g, 10分間)

にかけて酢酸エチル層と水層とに分離した。得られた酢酸エチル層120mlを真空乾燥機に移した後、50mmHgの減圧下、40℃で30分間かけて抽出溶剤を留去し、ミリシトリン含有抽出物0.05gを得た。それぞれの抽出物のミリシトリン含量を以下の方法で評価した。

[0050] ミリシトリン含有抽出物の分析及び評価

製造したそれぞれのミリシトリン含有抽出物について、抽出物の分析を下記の方法により行い、ミリシトリン含量を分析した。

それぞれの抽出物5mgをメタノール50mlに分散した。この分散物を分析試料とした。この分析試料を下記の条件で高速液体クロマトグラフィーに供して、ミリシトリンを分析した。尚、標準試料として、ChromaDex社より購入した市販のミリシトリンを使用した。

下記の方法で分析を実施した場合、50分付近にミリシトリンの溶出ピークを検出した。この検出されたピークの面積比で、定量を実施した。

それぞれの抽出物のミリシトリン含量は、結果は表2に示すとおり、いずれも高いものであった。

<高速液体クロマトグラフィーの条件>

固定相:資生堂 Capcell Pak C18-5 μ m

カラム径:4.6mm、カラム長:250mm

展開溶剤:0.1%トリフルオロ酢酸水溶液から0.1%トリフルオロ酢酸-40%アセトニトリル水溶液まで、80分間のリニアグラジエント

展開溶剤流量:1ml/分

検出器:UV(350nm)

[0051] [表2]

植物名	ミリシトリン含量(%)
ミズレンブ	12
テリハバンジロウ	10
バンジロウ	24
タチバナアデク	42
グルミチャマ	14
ジャボチカバ	30
レンブ	20

- [0052] (2)ミズレンブ、テリハバンジロウ、バンジロウ、グルミチャマ、ジャボチカバ、レンブの葉からそれぞれの試料1gを得た。試料を攪拌機付き容器にとり、水40mlを加え、温度60℃で2時間攪拌し、次いで内容物を室温下、ブフナーロート及び濾紙(5A)を用いて減圧濾過し、固形分と抽出液分40mlとに分離した。その後、吸着樹脂(三菱化学株式会社製ダイイオンHP-20)1gに10ml/分の速度で抽出液分を通過させ、成分の吸着処理を行った。吸着樹脂を4mlの水、20%エタノールで順次洗浄した後、4mlの40%エタノールで溶出を実施した。この40%エタノール溶出画分4mlを真空乾燥機に移した後、50mmHgの減圧下、40℃で1時間かけて抽出溶剤を留去し、ミリシトリン含有抽出物0.05gを得た。

製造したそれぞれのミリシトリン含有抽出物について、抽出物の分析を(1)と同様の方法により行い、ミリシトリン含量を分析した。それぞれの抽出物のミリシトリン含量は、表3に示すとおり、いずれも高いものであった。

- [0053] [表3]

植物名	ミリシトリン含量(%)
ミズレンブ	11
テリハバンジロウ	15
バンジロウ	16
グルミチャマ	11
ジャボチカバ	15
レンブ	21

- [0054] 実験例2:ミズレンブ、テリハバンジロウ葉抽出物の血中脂肪濃度抑制試験(大豆油負荷試験)

ミズレンブ又はテリハバンジロウの葉1gあたり10mlの70%エタノール溶液で室温

にて抽出を行い、ドライアップしたものを試験に使用した。雄性ICRマウス(9週齢)に20%大豆油を10ml/kg経口投与し、直ぐに、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(Control)又は調製した抽出物をControlに懸濁したものを、500mg/kgの用量で経口投与した。なお、調製した抽出物には、ミリスリンが、ミズレンブ抽出物の場合1.0重量%、テリハバンジロウ抽出物の場合1.5重量%含まれていた。投与前、投与1、2、3、4時間後に眼底静脈より採血を行い、血漿トリグリセライド値を富士ドライケムスライド(富士フィルム製)にて測定した。各個体の投与前のトリグリセライド値と、投与後の各時間におけるトリグリセライド値との差をとり、血漿トリグリセライド変化量・時間曲線下面積を求めた。結果を図1に示す。図から明らかなように、抽出物を投与した群で、血漿トリグリセライド値の上昇が抑制された。

[0055] 実験例3:グルミチャマ葉抽出物の血中脂肪濃度抑制試験(大豆油負荷試験)

グルミチャマの葉1gあたり10mlの70%エタノール溶液で室温にて抽出を行い、ドライアップしたものを試験に使用した。雄性ICRマウス(6週齢)に20%大豆油を10ml/kg経口投与し、直ぐに、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(Control)又は調製した抽出物をControlに懸濁したものを、500mg/kgの用量で経口投与した。なお、調製した抽出物には、ミリスリンが1.2重量%含まれていた。投与前、投与1、2、3、4時間後に眼底静脈より採血を行い、血漿トリグリセライド値を富士ドライケムスライド(富士フィルム製)にて測定した。各個体の投与前のトリグリセライド値と、投与後の各時間におけるトリグリセライド値との差をとり、血漿トリグリセライド変化量・時間曲線下面積を求めた。結果を図2に示す。図から明らかなように、抽出物を投与した群で、血漿トリグリセライド値の上昇が抑制された。

[0056] 実験例4:ジャボチカバ又はレンブ葉抽出物の血中脂肪濃度抑制試験(大豆油負荷試験)

ジャボチカバ又はレンブの葉1gあたり10mlの70%エタノール溶液で室温にて抽出を行い、ドライアップしたものを試験に使用した。雄性ICRマウス(8週齢)に20%大豆油を10ml/kg経口投与し、直ぐに、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(Control)又は調製した抽出物をControl溶媒に懸濁したものを、500mg/kgの用量で経口投与した。なお、調製した抽出物には、ミリスリンが、ジャボチカバ抽出

物の場合0.9重量%、レンブ抽出物の場合1.2重量%含まれていた。投与前、投与1、2、3、4時間後に眼底静脈より採血を行い、血漿トリグリセライド値を富士ドライケムスライド(富士フィルム製)にて測定した。各個体の投与前のトリグリセライド値と、投与後の各時間におけるトリグリセライド値との差をとり、血漿トリグリセライド変化量・時間曲線下面積を求めた。結果を図3に示す。図から明らかなように、抽出物を投与した群で、血漿トリグリセライド値の上昇が抑制された。

[0057] 実験例5:ジャボチカバ実抽出物の血中脂肪濃度抑制試験(大豆油負荷試験)

ジャボチカバの実1gあたり10mlの70%エタノール溶液で室温にて抽出を行い、ドライアップしたものを試験に使用した。雄性ICRマウス(7週齢)に20%大豆油を10ml/kg経口投与し、直ぐに、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(Control)又は調製した抽出物をControl溶媒に懸濁したものを、500mg/kgの用量で経口投与した。なお、調製した抽出物には、ミリスリンが0.3重量%含まれていた。投与前、投与1、2、3、4時間後に眼底静脈より採血を行い、血漿トリグリセライド値を富士ドライケムスライド(富士フィルム製)にて測定した。各個体の投与前のトリグリセライド値と、投与後の各時間におけるトリグリセライド値との差をとり、血漿トリグリセライド変化量・時間曲線下面積を求めた。結果を図4に示す。図から明らかなように、抽出物を投与した群で、血漿トリグリセライド値の上昇が抑制された。

[0058] 実験例6:タチバナアデク葉抽出物の血中脂肪濃度抑制試験(オリーブ油負荷試験)

タチバナアデク1gあたり10mlの70%エタノール溶液で室温にて抽出を行い、ドライアップしたものを試験に使用した。雄性C57BL6Jマウス(12週齢)に20%オリーブ油を10ml/kg経口投与し、直ぐに、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(Control)又は調製した抽出物をControl溶媒に懸濁したものを、1g/kgの用量で経口投与した。投与前、投与2、4、6時間後に眼底静脈より採血を行い、血漿トリグリセライド値を富士ドライケムスライド(富士フィルム製)にて測定した。結果を図5に示す。図から明らかなように、抽出物を投与した群で、血漿トリグリセライド値の上昇が抑制された。

[0059] 実験例7:ミリスリンの血中脂肪濃度抑制試験(オリーブ油負荷試験)

ミリスリンはWako社から購入したものを試験に使用した。雄性C57BL6Jマウス(1

2週齢)に20%オリーブ油を10ml/kg経口投与し、直ぐに、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(Control)又は調製した抽出物をControl溶媒に懸濁したものを、1g/kgの用量で経口投与した。投与前、投与2、4、6時間後に眼底静脈より採血を行い、血漿トリグリセライド値を富士ドライケムスライド(富士フィルム製)にて測定した。結果を図6に示す。図から明らかなように、ミリストリンを投与した群で、血漿トリグリセライド値の上昇が抑制された。

[0060] 実施例2:錠剤の製造例

タチバナアデク葉抽出物(実施例1と同様に調製)	1.0kg
乳糖	8.5kg
卵殻カルシウム	0.25kg
ショ糖脂肪酸エステル	0.25kg
合計	10.0kg

上記各成分を混合した後、単発式打錠機にて打錠し、直径10mm、重量400mgの錠剤を得ることができる。

[0061] 実施例3:顆粒剤の製造例

タチバナアデク葉抽出物(実施例1と同様に調製)	1.5kg
乳糖	6.5kg
でんぷん	1.9kg
ステアリン酸マグネシウム	0.1kg
合計	10.0kg

上記各成分を混合した後、ローラーコンパクターで圧偏物を得る。この圧偏物をオシレーターで粉碎し、整粒後、篩に通し、粒径20～100メッシュの顆粒剤を得ることができる。

[0062] 実施例4:顆粒剤の製造例

ミリストリン	1.0kg
乳糖	7.0kg
でんぷん	1.9kg
ステアリン酸マグネシウム	0.1kg

合計 10. 0kg

上記各成分を混合した後、常法により押出造粒を行い、その後、篩に通し、粒径20～100メッシュの顆粒剤を得ることができる。

[0063] 実施例5:カプセル剤の製造例

実施例1と同様に調製したタチバナアデク葉抽出物の粉末250mgを硬カプセルに充填し、カプセル剤を調製することができる。

[0064] 実施例6:ドリンク剤の製造例

アスパルテーム	2. 0g
クエン酸	12. 0g
ビタミンC	10. 0g
タチバナアデク葉抽出物(実施例1と同様に調製)	300. 0g
ビタミンE	30. 0g
シクロデキストリン	5. 0g

上記成分を配合し、水を加えて10リットルとし、良く混合して飲料を調製することができる。100mlを1食分(1本分)とする飲料とすることができる。

[0065] 以上、本発明の具体的な態様のいくつかを詳細に説明したが、当業者であれば、示された特定の態様に、本発明の教示と利点から実質的に逸脱しない範囲で様々な修正と変更をなすことが可能である。従って、そのような修正及び変更も、すべて請求の範囲で請求される本発明の精神と範囲内に含まれるものである。

本出願は、日本で出願された特願2006-112790を基礎としており、その内容は本出願にすべて包含されるものである。

産業上の利用可能性

[0066] 本発明のリパーゼ阻害剤は、脂肪吸収抑制、血中脂肪濃度抑制、抗肥満、インスリン抵抗性改善、血中インスリン濃度低下、メタボリックシンドロームの改善又は予防などの効果を有し、脂肪吸収抑制剤、血中脂肪濃度抑制剤、抗肥満剤、インスリン抵抗性改善剤、血中インスリン濃度低下剤又はメタボリックシンドローム改善もしくは予防剤として有用である。

さらに本発明のリパーゼ阻害剤は、脂肪摂取後の体内吸収を抑えることにより、食

後の中性脂肪の上昇を抑え、脂肪の多い食事をとりがちな人の健康状態の改善に役立てることができ、また、体脂肪や中性脂肪が気になる人に対し脂肪がつきにくくするような効果を提供することもできる。従って、肥満症、糖尿病、高血圧症、高脂血症、動脈硬化などのいわゆる生活習慣病やメタボリックシンドロームなどの疾患の予防又は治療に有効である。

請求の範囲

- [1] ミリシトリンを有効成分として含有することを特徴とするリパーゼ阻害剤。
- [2] ミリシトリンが、シジギウム・アクエウム (*Syzygium aqueum* (= *Eugenia aquea*))、シジウム・グアバ (*Psidium guajava*)、ユーヅニア・マラセンシス (*Eugenia malaccensis*)、シジギウム・ドンベイ・スキールズ (*Syzygium dombeyi* Skeels)、シジウム・ロンギフォリウム (*Psidium longifolium*)、ミルキアリア・カウリフロラ (*Myrciaria cauliflora*)、シジギウム・サマランゲンス (*Syzygium Samarangensis*)、シジギウム・ジャンボス (*Syzygium jambos*)、コロカシア・エスキュレンタ (*Colocasia esculenta*)、シジウム・リトレール・ラディ (*Psidium littorale* Raddi) 及びユーヅニア・ユニフローラ (*Eugenia uniflora*) からなる群から選ばれる植物又はその抽出物から得られるものである、請求項1に記載のリパーゼ阻害剤。
- [3] ミリシトリンを0.05重量%以上含有する植物又はその抽出物を含んでなる、請求項1又は2に記載のリパーゼ阻害剤。
- [4] ミリシトリンが合成されたものである、請求項1に記載のリパーゼ阻害剤。
- [5] ミリシトリンを含有する植物を、水又は有機溶剤、あるいはそれらの混合溶剤で抽出する工程によって得られる、ミリシトリン含量が0.05重量%以上である抽出物を有効成分として含有することを特徴とするリパーゼ阻害剤。
- [6] 前記抽出物が、前記抽出工程の後に、有機溶剤を用いた分配による精製工程又は吸着樹脂による精製工程によって得られるものである、請求項5記載のリパーゼ阻害剤。
- [7] 脂肪吸収抑制剤、血中脂肪濃度抑制剤、抗肥満剤、インスリン抵抗性改善剤、血中インスリン濃度低下剤又はメタボリックシンドローム改善もしくは予防剤から選ばれる少なくとも1種である、請求項1～6のいずれか1項に記載のリパーゼ阻害剤。
- [8] ミリシトリンを含有する植物を、水又は有機溶剤、あるいはそれらの混合溶剤で抽出する工程を含む、ミリシトリン含有抽出物の製造方法。
- [9] 抽出工程の後に、さらに有機溶剤を用いた分配による精製工程又は吸着樹脂による精製工程を含む、請求項8記載の製造方法。
- [10] 請求項1～6のいずれか1項に記載のリパーゼ阻害剤を含有する食品。

- [11] 保健機能食品又はダイエタリーサプリメントである、請求項10に記載の食品。
- [12] 保健機能食品が特定保健用食品又は栄養機能食品である、請求項11記載の食品。
- [13] 請求項1～6のいずれか1項に記載のリパーゼ阻害剤を含有する化粧品。
- [14] 有効量のミリシトリンを対象に投与することを含む、対象においてリパーゼを阻害する方法。
- [15] ミリシトリンが、シジギウム・アクエウム (*Syzygium aqueum* (= *Eugenia aquea*))、シジウム・グアバ (*Psidium guajava*)、ユーヅニア・マラセンシス (*Eugenia malaccensis*)、シジギウム・ドンベイ・スキールズ (*Syzygium dombeyi* Skeels)、シジウム・ロンギフォリウム (*Psidium longifolium*)、ミルキアリア・カウリフロラ (*Myrciaria cauliflora*)、シジギウム・サマランゲンス (*Syzygium Samarangens*)、シジギウム・ジャンボス (*Syzygium jambos*)、コロカシア・エスキュレンタ (*Colocasia esculenta*)、シジウム・リトレール・ラディ (*Psidium littorale* Raddi) 及びユーヅニア・ユニフローラ (*Eugenia uniflora*) からなる群から選ばれる植物又はその抽出物から得られるものである、請求項14に記載の方法。
- [16] ミリシトリンが合成されたものである、請求項14に記載の方法。
- [17] 脂肪吸収抑制、血中脂肪濃度抑制、抗肥満、インスリン抵抗性改善、血中インスリン濃度低下又はメタボリックシンドロームの改善もしくは予防のための、請求項14～16のいずれか1項に記載の方法。
- [18] リパーゼを阻害するための医薬の製造におけるミリシトリンの使用。
- [19] ミリシトリンが、シジギウム・アクエウム (*Syzygium aqueum* (= *Eugenia aquea*))、シジウム・グアバ (*Psidium guajava*)、ユーヅニア・マラセンシス (*Eugenia malaccensis*)、シジギウム・ドンベイ・スキールズ (*Syzygium dombeyi* Skeels)、シジウム・ロンギフォリウム (*Psidium longifolium*)、ミルキアリア・カウリフロラ (*Myrciaria cauliflora*)、シジギウム・サマランゲンス (*Syzygium Samarangens*)、シジギウム・ジャンボス (*Syzygium jambos*)、コロカシア・エスキュレンタ (*Colocasia esculenta*)、シジウム・リトレール・ラディ (*Psidium littorale* Raddi) 及びユーヅニア・ユニフローラ (*Eugenia uniflora*) からなる群から選ばれる植物又はその抽出物から得られるものである、請求項18に記載の使用。
- [20] 医薬が、ミリシトリンを0.05重量%以上含有する植物又はその抽出物を含んでなる

、請求項18又は19に記載の使用。

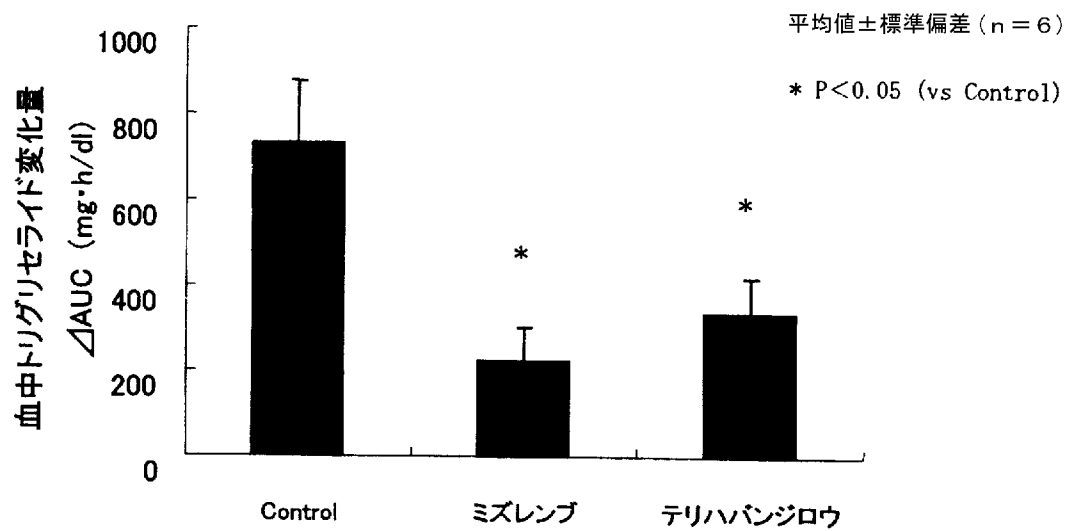
[21] ミリシトリンが合成されたものである、請求項18に記載の使用。

[22] ミリシトリンを含有する植物を、水又は有機溶剤、あるいはそれらの混合溶剤で抽出する工程によって得られる、ミリシトリン含量が0.05重量%以上である抽出物を、医薬が含有する、請求項18に記載の使用。

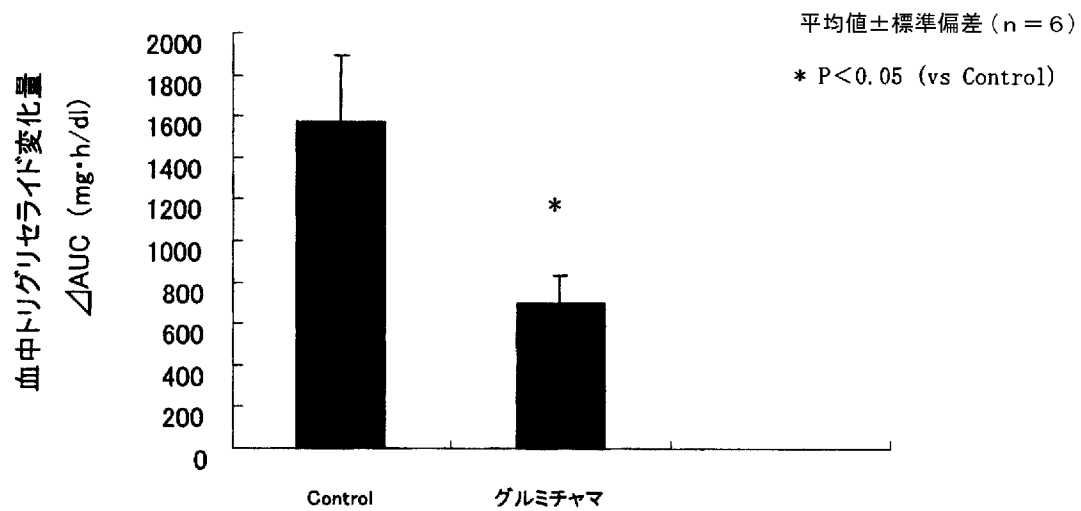
[23] 前記抽出物が、前記抽出工程の後に、有機溶剤を用いた分配による精製工程又は吸着樹脂による精製工程によって得られるものである、請求項22に記載の使用。

[24] 医薬が、脂肪吸収抑制剤、血中脂肪濃度抑制剤、抗肥満剤、インスリン抵抗性改善剤、血中インスリン濃度低下剤又はメタボリックシンドローム改善もしくは予防剤から選ばれる少なくとも1種である、請求項18～23のいずれか1項に記載の使用。

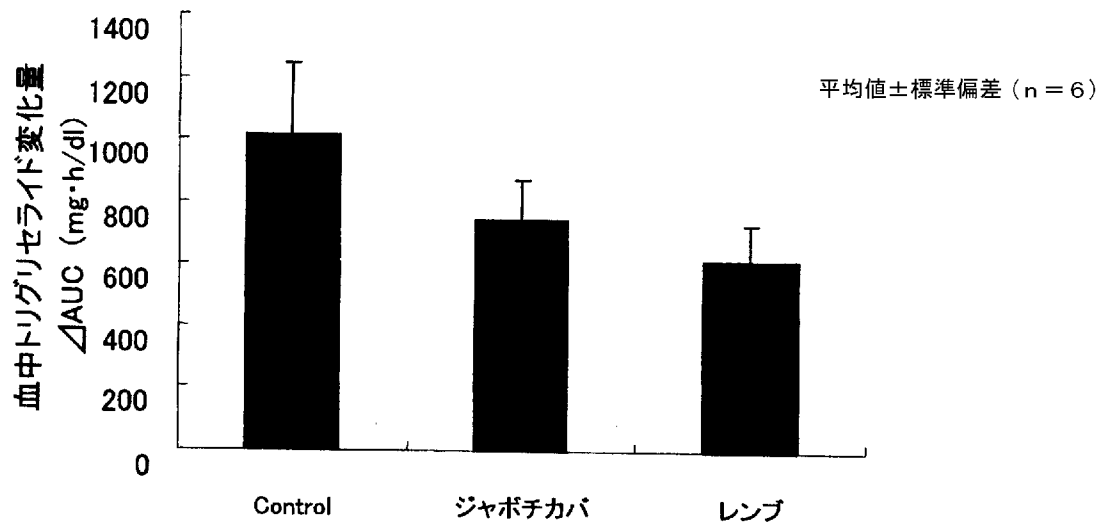
[図1]



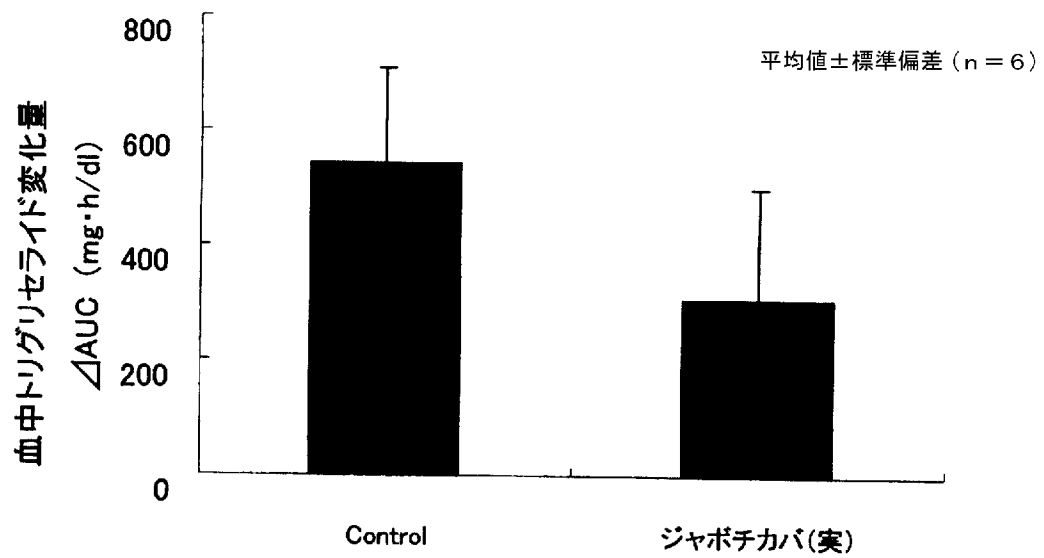
[図2]



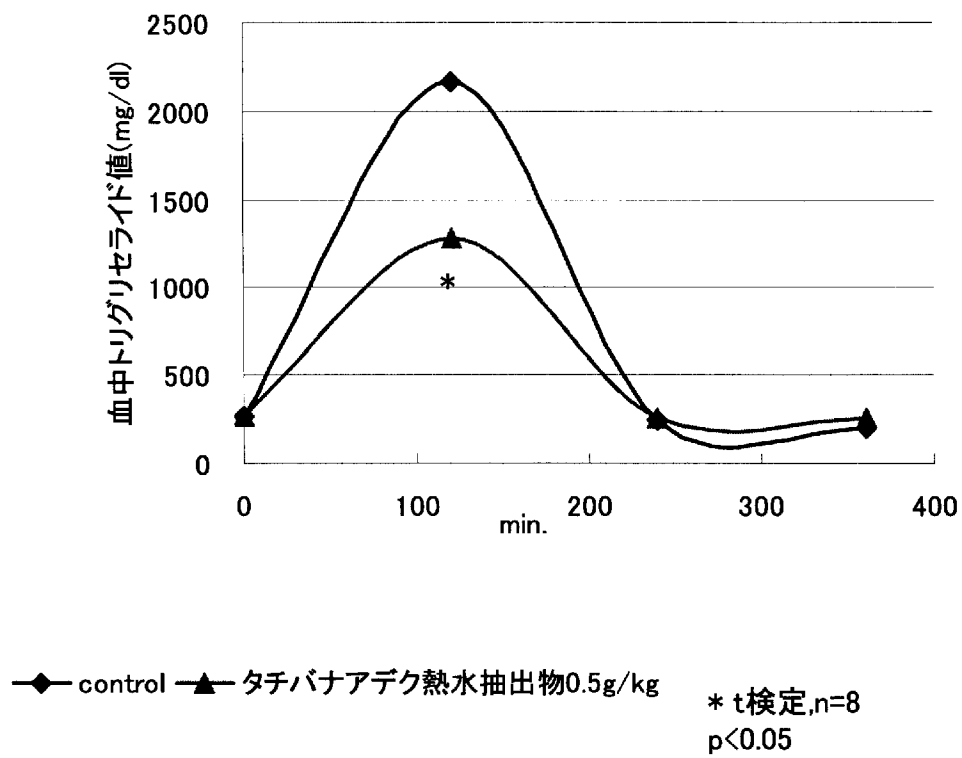
[図3]



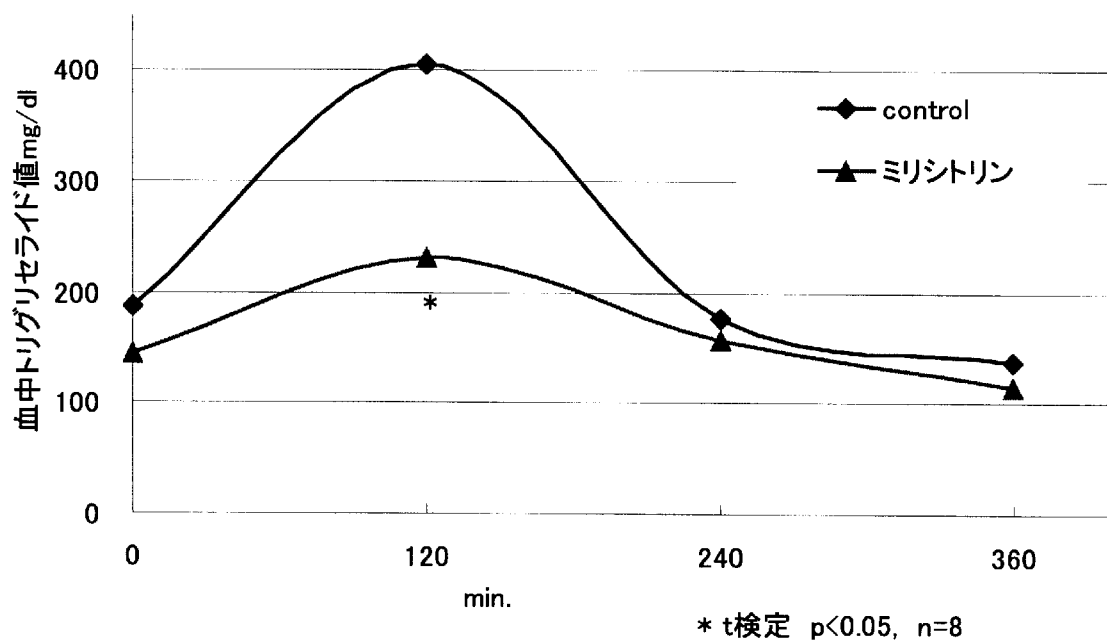
[図4]



[図5]



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/058209

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/7048(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K8/60(2006.01)i,
A61K8/97(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i,
A61P3/06(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i,

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/7048, A23L1/30, A61K8/60, A61K8/97, A61K36/00, A61P3/04, A61P3/06,
A61P3/10, A61P9/12, A61P43/00, A61Q19/00, C12N9/99

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

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007

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

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Database Caplus on STN, AN 2005:292207,	1-7, 18-24
Y	DN 142:379343, CN 1481790 A (Peop. Rep. China) 2004.03.17	1-7, 18-24
X	JP 6-135830 A (National Science Council),	1-7, 18-24
Y	17 May, 1994 (17.05.94), Full text (Family: none)	1-7, 18-24
X	JP 2006-22081 A (San-Ei Gen F.F.I., Inc.), 26 January, 2006 (26.01.06), Particularly, Par. Nos. [0017], [0018] (Family: none)	8, 9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 May, 2007 (22.05.07)

Date of mailing of the international search report

29 May, 2007 (29.05.07)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/058209

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Database Caplus on STN, AN 2005:59142, DN 143:102936, KUO, Y.-C. et al., Isolation and immunomodulatory effect of flavonoids from Syzygium samarangense, Planta Medica, 2004, Vol.70, No.12, pp.1237-1239	8,9
X	JP 2004-180 A (San-Ei Gen F.F.I., Inc.), 08 January, 2004 (08.01.04), Particularly, Par. No. [0085] (Family: none)	8,9
X	WO 2004/058213 A1 (Hankook Pharm Co., Inc.), 15 July, 2004 (15.07.04), Full text & JP 2006-515590 A & US 2006/078633 A1	8,9,13
X	JP 10-179157 A (Nippon Flour Mills, Co., Ltd.), 07 July, 1998 (07.07.98), Particularly, Par. Nos. [0001], [0019] (Family: none)	10-13
P,X	JP 2006-219389 A (San-Ei Gen F.F.I., Inc.), 24 August, 2006 (24.08.06), Full text (Family: none)	1-7,18-24
Y	JP 7-61927 A (Lotte Co., Ltd.), 07 March, 1995 (07.03.95), Full text (Family: none)	1-7,18-24
Y	JP 2003-12536 A (Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.), 15 January, 2003 (15.01.03), Full text (Family: none)	1-7,18-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/058209

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

A61P43/00(2006.01)i, A61Q19/00(2006.01)i, C12N9/99(2006.01)i

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/058209

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 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.: 14 - 17
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 14 to 17 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
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 No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

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

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ 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（I P C）） Int.Cl. A61K31/7048(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K8/60(2006.01)i, A61K8/97(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, A61Q19/00(2006.01)i, C12N9/99(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. A61K31/7048, A23L1/30, A61K8/60, A61K8/97, A61K36/00, A61P3/04, A61P3/06, A61P3/10, A61P9/12, A61P43/00, A61Q19/00, C12N9/99			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 日本国公開実用新案公報 日本国実用新案登録公報 日本国登録実用新案公報 1 9 2 2 - 1 9 9 6 年 1 9 7 1 - 2 0 0 7 年 1 9 9 6 - 2 0 0 7 年 1 9 9 4 - 2 0 0 7 年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (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 Y	Database Caplus on STN, AN 2005:292207, DN 142:379343, CN 1481790 A (Peop. Rep. China) 2004.03.17	1-7, 18-24 1-7, 18-24	
X Y	JP 6-135830 A (ナショナル・サイエンス・カウンシル) 1994.05.17, 全文 (ファミリーなし)	1-7, 18-24 1-7, 18-24	
X	JP 2006-22081 A (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社) 2006.01.26, 特 に[0017], [0018] (ファミリーなし)	8, 9	
☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 2 2 . 0 5 . 2 0 0 7		国際調査報告の発送日 2 9 . 0 5 . 2 0 0 7	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (I S A / J P) 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号		特許庁審査官（権限のある職員） 伊藤 幸司 電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2	4 C 9 4 5 0

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
X	Database Caplus on STN, AN 2005:59142, DN 143:102936, KUO, Y. -C. et al., Isolation and immunomodulatory effect of flavonoids from Syzygium samarangense, Planta Medica, 2004, Vol.70, No.12, pp. 1237-1239	8, 9
X	JP 2004-180 A (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社) 2004.01.08, 特に[0085] (ファミリーなし)	8, 9
X	WO 2004/058213 A1 (ハンコック ファーム.カンパニー インコーポレーティッド) 2004.07.15, 全文 & JP 2006-515590 A & US 2006/078633 A1	8, 9, 13
X	JP 10-179157 A (日本製粉株式会社) 1998.07.07, 特に[0001], [0019] (ファミリーなし)	10-13
P, X	JP 2006-219389 A (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社) 2006.08.24, 全文 (ファミリーなし)	1-7, 18-24
Y	JP 7-61927 A (株式会社ロッテ) 1995.03.07, 全文 (ファミリーなし)	1-7, 18-24
Y	JP 2003-12536 A (丸善製薬株式会社) 2003.01.15, 全文 (ファミリーなし)	1-7, 18-24

第Ⅱ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第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14-17 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、
請求の範囲14-17は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
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Ⅲ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ろの国際調査機関は認めた。

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ので、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ので、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

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立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あったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。