

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6258687号
(P6258687)

(45) 発行日 平成30年1月10日(2018.1.10)

(24) 登録日 平成29年12月15日(2017.12.15)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 36/185	(2006.01) A 61 K 36/185
A 61 K 36/28	(2006.01) A 61 K 36/28
A 61 K 36/282	(2006.01) A 61 K 36/282
A 61 K 36/31	(2006.01) A 61 K 36/31
A 61 K 36/44	(2006.01) A 61 K 36/44

請求項の数 3 (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-256844 (P2013-256844)	(73) 特許権者	000234328 白井松新薬株式会社 東京都中央区京橋二丁目7番14号
(22) 出願日	平成25年12月12日 (2013.12.12)	(74) 代理人	100145953 弁理士 真柴 俊一郎
(65) 公開番号	特開2014-205658 (P2014-205658A)	(74) 代理人	100087882 弁理士 大石 征郎
(43) 公開日	平成26年10月30日 (2014.10.30)	(72) 発明者	猪飼 勝重 滋賀県甲賀市甲南町希望ヶ丘本町9丁目4 21番45号
審査請求日	平成28年10月28日 (2016.10.28)	(72) 発明者	野田 君久 滋賀県甲賀市水口町春日981番地
(31) 優先権主張番号	特願2013-57908 (P2013-57908)		
(32) 優先日	平成25年3月21日 (2013.3.21)		
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		
		審査官	鳥居 福代

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】メイラード反応抑制剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ショウガ、茶、ヨモギ、月桃、カキノハ、イグサ、シソヨウ（紫蘇葉）、ケイヒ、オレガノ、カモミール、セイジ、タイム、バジル、ペパーミント、ラベンダー、レモンバーム、ローズマリー、シークワーサー、バラ、ノニ、もみがら、米ぬか、そばがら、小麦ふすま、菜種油粕、椿油粕、ごま油粕、ごま、オウバク、クマザサ、竹、ネギ、スダチ、秋ウコン、ユズ、カサブランカ、ミカン及びジャバラから選択される植物原料を減圧条件下に乾留して得られる減圧乾留物を有効成分とすることを特徴とするメイラード反応抑制剤。

【請求項 2】

前記の減圧乾留物が、乾燥または非乾燥の状態にある植物原料を、常温から350 の範囲内の温度条件下にかつ圧力100mmHg以下の減圧条件下に乾留して得られるものであること。

を特徴とする請求項1記載のメイラード反応抑制剤。

【請求項 3】

ペントシジン生成阻害剤である請求項1または2記載のメイラード反応抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

本発明は、植物から分離取得した成分からなる「ペントシジン生成阻害率」のすぐれたメイラード反応抑制剤に関するものである。

【背景技術】

【0002】

- 1 -

周知のように、メイラード反応とは、還元糖とアミノ化合物（アミノ酸、ペプチド、蛋白質など）とを加熱したときに生ずる褐色物質を生成する非酵素的な反応のことである。

この反応が進むと、食品の諸品質が低下するとされている。そこで、食品の品質低下を抑制するためには、メイラード反応を効果的に抑制する物質の開発が望まれる。

また、メイラード反応は生体内においても生じており、そのため老化の一因となっていたり、糖尿病合併症の一因となっていたりするものとされているので、この観点からも有効かつ安全なメイラード反応抑制剤の開発が望まれる。

- 2 -

このような背景下において、メイラード反応抑制物質（またはメイラード反応抑制剤）を天然物から取得する種々の試みがなされている。

以下にあげる文献のうち、特許文献1はメイラード反応抑制物質を「柑橘類の溶媒抽出または水蒸気蒸留」により取得することにつき記載のある文献である。

特許文献2～6は、メイラード反応抑制物質を種々の植物の「溶媒による抽出」により取得することにつき記載のある文献である。

- 3 -

なお、特許文献7～10は、種々の植物の「減圧乾留物」につき記載のある代表的な文献であるが、抗酸化剤、消臭剤、抗菌剤などに関するものであって、メイラード反応抑制剤（または阻害剤）については何の記載も示唆もない。

【0003】

（特許文献1）

- 1 -

特開2004-35424号公報（特許第4315650号）（特許文献1）の請求項1には、「柑橘類の揮発性油状物を有効成分とするメイラード反応抑制物質。」が示されている。

そして、その柑橘類の揮発性油状物がメイラード反応抑制物質であることを示すために、その実施例2にかかる段落0039の表2およびその実施例3にかかる段落0042の表3においては、コントロールとしての10mMアミノグアニジンとの対比において、「ペントシジン生成阻害率（%）」を評価している。

また、その実施例4にかかる段落0049の表5においては、安息香酸量に着目してAGE-タンパク質架橋形成物モデルの切断活性についての評価を行い、「切断率（%）」を評価している。

さらに、その実施例6にかかる段落0052の表6においては、柑橘類の揮発性油状物に含まれる精油成分のうちのモノテルペン類、セスキテルペン類、モノテルペンアルコール類について「阻害率（%）」と「切断率（%）」の双方を評価しており、その「発明の効果」の箇所の段落0059においては、「発明によればメイラード阻害効果と共に、AGE-タンパク質架橋物質切断活性をも有するメイラード反応抑制物質が提供される」旨の記載がある。

そして、実施例7にかかる段落0054には、実施例1で調製した揮発性油状物の「切断活性」を確認したとの記載がある。

すなわち、特許文献1の柑橘類の揮発性油状物は、「阻害率（%）」と「切断率（%）」との双方の点で満足しうるものであることを述べている。

- 2 -

なお、特許文献1の段落0021においては、請求項1に言う「柑橘類」として、ユズ、ハッサク、ナツミカン、オレンジ、レモン、ミカンなどが挙げられるとしているが、その実施例において使用している柑橘類はユズのみである。なお、その請求項4においては

10

20

30

40

50

、請求項 1 に言う「柑橘類」がユズであることを限定している。

- 3 -

特許文献 1 の請求項 2 においては、請求項 1 における柑橘類の揮発性油状物が、柑橘類を非極性有機溶媒抽出又は水蒸気蒸留することによって得られるものである旨を限定している。ただし、この特許文献 1 には、「水蒸気蒸留」については記載があるものの、「乾留」については記載がなく、まして「減圧乾留」については記載がない。

- 4 -

この特許文献 1 の段落 0 0 0 9 には、従来提案されている「天然成分」にかかるメイラード反応抑制剤は、プロアントシアニジン（特開平 6 - 3 3 6 4 3 0 号公報）、フラボノイド化合物（特開平 9 - 2 4 1 1 6 5 号公報）、フラバノン類（特開平 7 - 3 2 4 0 2 5 号公報）などである旨の記載がある。そこで、これらの 3 文献については、特許文献 2、3、4 として、もう少し詳しく述べる。

【 0 0 0 4 】

(特許文献 2)

特開平 6 - 3 3 6 4 3 0 号公報（特許第 3 5 0 2 4 1 5 号）（特許文献 2 ）の請求項 1 には、「プロアントシアニジンを有効成分として含有するメイラード反応阻害剤。」が示されている。その請求項 2 には、そのプロアントシアニジンがブドウ抽出物に含有されるものであることが示されている。

なお、その段落 0 0 1 6 によれば、抽出溶媒としては、水、1価または多価のアルコール、エステル、炭化水素、エーテル、アセトンなどの溶媒を使用するとある。

【 0 0 0 5 】

(特許文献 3)

特開平 9 - 2 4 1 1 6 5 号公報（特許文献 3 ）（特許第 3 8 7 2 8 3 4 号）の請求項 1 には、「オーロン骨格を有するフラボノイド化合物を有効成分とするメイラード反応抑制剤。」が示されている。ここでフラボノイド化合物の具体例は、請求項 2 に言うマリチメインや請求項 3 に言うスルフレチエンである。

フラボノイド化合物の取得については、その段落 0 0 1 1 に「これらは一般に入手可能な化合物である」との説明があり、実施例においてはエクストラシンセス社のマリチメインやスルフレチエンを用いている。

【 0 0 0 6 】

(特許文献 4)

特開平 7 - 3 2 4 0 2 5 号公報（特許文献 4 ）の請求項 1 には、「生体に塗布される外用剤であって、フラバノン類が有効に含有されていることを特徴とするメイラード反応抑制外用剤。」が示されている。フラバノン類の具体例は、請求項 2 に言うナリンギンやナリンゲニン、請求項 3 に言うリクイリチンやリクイリチゲニンである。

その段落 0 0 2 0 には、「フラバノン類は所定の植物から溶媒としてメタノールを用いることにより容易に抽出可能である」との記載がある。その段落 0 0 4 0 にも、「適宜フラバノン類を多く含有している植物を選択し、メタノールを溶媒として用いることで容易に抽出することが可能である」との記載がある。

実施例においては、ナリンギンを抽出する原料としてハッサクの果皮を使用しており（ハッサクのほか、ダイダイ、ナツミカン、スタチ、レモン、オレンジ等も好適に使用されるとの記載がある）、またリクイリチンやリクイリチゲニンを抽出する原料として甘草を使用している。

【 0 0 0 7 】

(特許文献 5)

特開平 1 0 - 1 5 2 4 4 4 号公報（特許文献 5 ）の請求項 1 には、「白樺から得られる水溶性かつ親水性有機溶媒可溶性もしくは含水親水性有機溶媒可溶性の成分を有効成分とするメイラード反応抑制剤。」が示されている。

【 0 0 0 8 】

(特許文献 6)

10

20

30

40

50

特開2012-67061号公報（特許文献6）の請求項1には、「ウスペニアオイの抽出物、セキセツソウの抽出物、ローヤルゼリー蛋白の加水分解物、及びノニ果汁から選択される少なくとも1種を含有することを特徴とするメイラード反応阻害剤。」が示されている。

その段落0005には、メイラード反応阻害作用を有する植物の抽出物として、カルカデ、ハイビスカス、シャゼンシ、トウニン、マロニエ、ケイシ、ゴミシ、シコン、センナ、トシシ、及びビヤッキュウから選択される抽出物（特開平11-106336号公報）；イチイヨウの抽出物、キンオウシの抽出物、又はモクテンリョウの抽出物（特許第3695472号公報）；鳳凰木の抽出物（特開2009-67747号公報）；パパイヤの抽出物（特開2006-298812号公報）；シモニロの抽出物（特開2006-219447号公報）；などが提案されていることの記載がある。抽出溶媒としては、水や親水性有機溶媒を用いている。10

【0009】

（特許文献7）

特開2011-6623号公報（特許文献7）の請求項1には、「ヨモギを260～350、100mmHg以下の減圧条件下に乾留して得られた乾留液を含有する抗酸化剤。」が示されている。

【0010】

（特許文献8）

特開昭58-61751号公報（特許第1441878号）（特許文献8）には、茶を減圧条件下に乾留して得られる乾留分（沸点範囲が20mmHgの場合で180～200の乾留分）を有効成分とする消臭剤が示されている。20

【0011】

（特許文献9）

特開平6-227931号公報（特許第2566515号公報（特許文献9）の請求項1には、「シソ、タケ、ショウキヨウ、ヨモギおよびニンニクよりなる群から選ばれた植物の乾留物からなる抗菌性成分。」が示されている。その請求項3，4には、その抗菌性成分を、「乾留を温度120～250にて100mmHgの減圧条件下に行う」ことにより製造することが示されている。

ここで「抗菌性成分」とは、その段落0015の記載によれば、抗菌剤、防腐剤、静菌剤、抗微生物剤、鮮度保持剤、寿命延長剤などの呼び方を問わず、抗菌力を発揮する成分の意味である。30

【0012】

（特許文献10）

特開平6-227932号公報（特許文献10）には、上記の特許文献9に記載された植物以外の極めて多種の植物の乾留物からなる抗菌性成分が示されている。その実施例においては、クマザサ、ルイボスティ、トウガラシ皮、ゴマ、パセリからの乾留分を用いた例が示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0013】

【特許文献1】特開2004-35424号公報

【特許文献2】特開平6-336430号公報

【特許文献3】特開平9-241165号公報

【特許文献4】特開平7-324025号公報

【特許文献5】特開平10-152444号公報

【特許文献6】特開2012-67061号公報

【特許文献7】特開2011-6623号公報

【特許文献8】特開昭58-61751号公報

【特許文献9】特開平6-227931号公報

40

50

【特許文献 10】特開平 6 - 227932 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

(特許文献 1 ~ 6 について)

上述の特許文献 1 ~ 6 においては、目的物であるメイラード反応抑制剤（抑制物質、阻害剤）を、植物原料を水や有機溶媒（有機溶剤）にて抽出することにより取得している。

なお、特許文献 1 においては抽出法のほかに水蒸気蒸留法も採用しうるとしており、その実施例 2 においてはユズの粉碎物を遠心分離して得た上清液を水蒸気蒸留してから、その水蒸気蒸留液を遠心分離して上層の油状物を回収し、揮発性油状物を取得している。

10

【0015】

しかしながら、植物原料を水や有機溶媒にて抽出した抽出物は、本来の有効成分以外の成分を極めて多く含むものとなるため、メイラード反応抑制作用が不十分となりやすい。加えて、その抽出過程においては、抽出対象物の分解、変性、反応、重合などによる有用物質への変化はほとんど期待しえない。水蒸気蒸留品の場合も、抽出品の場合と同様の傾向がある。

そこで、上記の抽出物や水蒸気蒸留により得られる油状物をさらに精製することも考えられるが、今度はそれらの抽出物や油状物の中の本来の有効成分の割合が減じてしまうことになる。

【0016】

20

(特許文献 7 ~ 10 について)

一方、上述の特許文献 7 ~ 10 は、植物の減圧乾留物にかかるものであるが、これらの文献の発明においては、その減圧乾留物が消臭剤や抗酸化剤（抗菌剤、防腐剤、静菌剤、抗微生物剤、鮮度保持剤、寿命延長剤など）として好適であることを見い出している。なお、これらの特許文献 7 ~ 10 には、メイラード反応の抑制剤や抑制作用にかかる記載ないし示唆は全く見当たらない。

【課題を解決するための手段】

【0017】

本発明のメイラード反応抑制剤は、植物原料を減圧条件下に乾留して得られる減圧乾留物を有効成分とすることを特徴とするものである。

30

【0018】

ここで上記の「減圧乾留物」は、乾燥または非乾燥の状態にある植物原料を、常温から 350 の範囲内の温度条件下にかつ圧力 100 mmHg 以下の減圧条件下に乾留して得られるものであることが特に好ましい。

【0019】

また、上記の「メイラード反応抑制剤」は、その機能の観点からは、ペントシジン生成阻害剤であることが好ましい。

【発明の効果】

【0020】

40

- 1 -

植物を加熱かつ減圧条件下に乾留して得られる減圧乾留物が消臭剤や抗酸化剤としての性能の点でも安全性の点でも好適であることは、本出願人の製造にかかる茶葉その他の植物の減圧乾留物を添加した商品がドラッグストアをはじめとして市場に広く出回っている上、上述の特許文献 7 ~ 10 をはじめとする特許文献や一般文献によって周知となっている。

【0021】

- 2 -

しかしながら、消臭剤や抗酸化剤とは別の（異質の）作用効果が要求される分野については、植物の減圧乾留物がそのような別分野に期待される素質を持っているかどうかは、未知であると言うよりも、一般に薬剤開発の成功率は極端に低いという経験則（100 の

50

挑戦のうち 1 つ成功することも難しいという経験則) からは否定的である。

【 0 0 2 2 】

- 3 -

しかるに、本発明において、未踏の領域に挑戦し、その結果、植物を減圧条件下に乾留して得られる減圧乾留物がメイラード反応抑制剤（特にペントシジン生成阻害剤）の有効成分として極めて適していることを見い出したことは、予想ないし期待を大きく越えていけるものということができる。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 3 】

【図1】比較例1、実施例1，3，4における「阻害率」を示した説明図である。 10

【図2】比較例2、実施例2，5，6における「切断率」を示した説明図である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 4 】

(減圧乾留物の取得)

上述のように、本発明のメイラード反応抑制剤は、植物を減圧条件下に乾留して得られる減圧乾留物を有効成分とするものである。

ここで上記の「減圧乾留物」は、乾燥または非乾燥の状態にある植物原料を、常温から 350 の範囲内の温度条件下にかつ圧力 100 mmHg 以下の減圧条件下に乾留して得られるものであることが特に好ましい。

【 0 0 2 5 】

(原料植物の例)

- 1 -

原料として用いる植物としては、後述の実施例で用いているように、次のような植物が例示できる。

ショウガ、茶、ヨモギ、月桃、カキノハ、イグサ、シソヨウ（紫蘇葉）、ケイヒ、オレガノ、カモミール、セイジ、タイム、バジル、ペパーミント、ラベンダー、レモンバーム、ローズマリー、シークワーサー、バラ、ノニ、もみがら、米ぬか、そばがら、小麦ふすま、菜種油粕、椿油粕、ごま油粕、ごま、オウバク、ケイヒ、クマザサ、竹、ネギ、スダチ、秋ウコン、ユズ、カサブランカ、ミカン、ジャバラなど。

【 0 0 2 6 】

- 2 -

しかしながら、上述の植物は実施例にあげた植物を例示したものであって、本発明者らの実験によれば、上述のように「減圧乾留物」であれば、極めて広範な植物についても普遍的にメイラード反応抑制剤としての機能を有していることが確認できる。

このことは、本来植物に含まれている成分であっても、抽出や水蒸気蒸留により取得できる成分がメイラード反応抑制剤（特にペントシジン生成阻害率のすぐれた抑制剤）としての作用効果を奏するかどうかはわからないことを意味している。

言い換えれば、植物材料からメイラード反応抑制剤を得るにあたっては、植物の種類による差異は第二義的なものであり、植物材料に含まれている「目標成分」を取り出す過程において、その「目標成分」が他の目標外の物質と分離取得できるのみならず、その取り出し過程において目標成分が受ける「変性、重合、分解、反応、会合」などの化学的、物理的な作用により、最終的な取得成分がメイラード反応抑制剤（特にペントシジン生成阻害剤）としての作用を奏するものかどうかが第一義的なものであるということができる。 40

【 0 0 2 7 】

- 3 -

減圧乾留に供する原料である植物材料の部位は、全草、葉部、莖部、根茎、根部、種子、殻、果実などのいずれであってもよい。

【 0 0 2 8 】

(減圧乾留工程)

- 1 -

10

20

30

40

50

上に例示した植物の減圧乾留を行うにあたっては、事前に植物材料を乾燥、細断しておいたり、調湿したりしておくことができる。しかしながら、入手した植物の乾燥度合いや大きさや部位は種々様々であるので、乾燥、細断、調湿などの予備的工程は省略することもできる。

【0029】

- 2 -

また、必須の工程である減圧乾留工程に先立ち、(ア)加水を行う工程、(イ)常圧で適宜の時間加熱することにより植物中の浸出可能な成分を液中に溶出させる工程、(ウ)ついで常圧で加熱下に蒸留を行うことにより水分に富む留分を系外に除去する工程、などの「前工程」を実施することができる。そして、その「前工程」の終了後に、「本工程」である減圧乾留工程を実施するわけである。10

しかしながら、そのような前工程を経る方法は、本発明の目的に有効な成分（またはその前駆成分）の少なからぬ量が系外に移行してしまうことが多い。

このような不利を考慮すると、そのような前工程を設けずに、入手した植物材料をそのままあるいは乾燥や細断した状態で直接減圧乾留装置に供給して、減圧乾留を行うことが好みしい。

【0030】

(減圧乾留時の温度・圧力条件)

本発明においては、必須工程である上記の減圧乾留工程を、常温から350 の範囲内の温度条件下にかつ圧力100mmHg以下の減圧条件下に行なうことが特に望ましい。このような条件下での減圧乾留により、所期の目的物が工業的に効率良く取得できるからである。20

温度条件については許容範囲が広いが、植物材料が生の材料であるときには常温程度でも差し支えないが、乾燥材料であるときは減圧乾留物の取得率を確保するために高めの方が好みしいことが多い。

圧力条件の好みしい範囲は60mmHg以下、さらに好みしい範囲は40mmHg以下である。

【実施例】

【0031】

次に、実施例、実施例（参考例）、比較例をあげて、本発明をさらに説明する。30

図面に付してある阻害率や切断率のプロットは大まかな位置に付してあり、この【実施例】の箇所の表に記載の数値が正確である。

なお、「表の番号」-「実施例」-「実験に用いた植物の種類の数」-「阻害率の測定か切断率の測定か」-「図の番号」の関係が煩雑であるので、それらの対応関係を表の形で下表にまとめてある。

【0032】

【表0】

表番号	実施例、実施例（参考例）、比較例	植物の種類数	阻害率／切断率	図の番号
表2	比較例1	20種	阻害率	図1 (A)
表2	実施例1	20種	阻害率	図1 (B)
表3	比較例2	20種	切断率	図2 (E)
表3	実施例2（参考例）	20種	切断率	図2 (F)
表5	実施例3	16種	阻害率	図1 (C)
表7	実施例4	13種	阻害率	図1 (D)
表8	実施例5（参考例）	16種	切断率	図2 (G)
表9	実施例6（参考例）	13種	切断率	図2 (H)

40

50

【0033】

(比較例1、実施例1)

この比較例1と実施例1とは、原料植物から常圧蒸留液と減圧乾留液とを取得する場合を示したものである。

【0034】

[第1] ペントシジン生成阻害活性の測定法

(1) 方法

下記に示す組成の反応液を1.5mL容量のプラスチックチューブに調製し、60にて24時間ヒートブロック上でインキュベートした。

10

【0035】

「反応液組成と添加量」

- ・50mMのリボース 100μL
- ・50mMのリジン 100μL
- ・50mMのアルギニン 100μL
- ・100mMのリン酸水素二ナトリウム(pH7.4) 100μL
- ・試料溶液またはブランク 100μL

(注: ブランクは75%エタノール溶液を使用)

【0036】

「ペントシジン生成阻害率の測定」

20

反応終了後、反応液100μLに400μLの精製水を加え、その希釈液をHPLC(高速液体クロマトグラフィー)分析することにより得られるペントシジンのピーク面積を測定し、次式に従ってペントシジン生成阻害率(必要に応じ「阻害率」と略称する)を求めた。

また、アミノグアニジン塩酸塩の「10mM、75%エタノール溶液」を調製し、陽性コントロールとした。

阻害率(%) = $100 - \frac{(\text{試料溶液のペントシジンのピーク面積} / \text{Blankのペントシジンのピーク面積})}{100}$

【0037】

「HPLC分析条件」

30

- ・カラム: YMC-Pack ODSA-312 150×6mm I.D.
- ・溶出液: 3%アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸(TFA)
- ・流量: 1.0mL/min.
- ・カラム温度: 40
- ・検出器: 分光蛍光検出器 EX(励起波長)335nm、EM(蛍光波長)380nm
- ・注入量: 20μL
- ・保持時間: 約12分

【0038】

(2) 原料植物からの減圧乾留液の調製

40

- 1 -

乾燥、裁断した原料植物200gを1Lセパラブル容器に入れ、精製水400gを加えてから、常圧下に220にて4時間加熱することにより常圧蒸留を行った。水をえたのは水蒸気蒸留を行うためであり、得られた液を常圧蒸留液とした。

- 2 -

ついで、容器内に残った液を減水すべく、その容器内の液を常圧下にさらに220にて2時間加熱し、このとき留出する水分に富む液は廃棄した。

- 3 -

次に、上記のように減水を行った容器内の液につき、25~30mmHgの減圧条件下に300にて4時間加熱する減圧乾留操作を行った。この操作により留出した液が「減

50

圧乾留液」である。

【0039】

[第2] 結果

(1) 「常圧蒸留液」および「減圧乾留液」の収量

上記の第1の(2)の-1-において得られた「常圧蒸留液」および-3-において得られた「減圧乾留液」の収量を求めた。結果を次の表1に示す。表1の「常圧蒸留液」の項が比較例1になり、表1の「減圧乾留液」の項が実施例1になる。

(注1) イグサは100gを使用し、精製水は他と同様に400g加えた。

(注2) シークワーサーは700gを輪切りにして、精製水は加えなかった。

(注) 冷凍バラ880gを使用し、精製水は加えなかった。

【0040】

【表1】

原料植物名	常圧蒸留液の 収量(g)	減圧蒸留液の 収量(g)
ショウガ	142	171
茶	128	160
ヨモギ	110	132
月桃葉	216	135
カキノハ	127	144
イグサ	233	62
シソヨウ(紫蘇葉)	187	107
ケイヒ	224	97
オレガノ	186	115
カモミール	131	141
セイジ	222	97
タイム	189	118
バジル	170	122
ペパーミント	180	115
ラベンダー	179	115
レモンバーム	176	113
ローズマリー	188	107
シークワーサー	282	142
バラ	355	189
ノニ	312	93

10

20

30

【0041】

(2) ペントシジン生成阻害率の測定用の溶液の調製

上記で得られたそれぞれの「常圧蒸留液」およびそれぞれの「減圧乾留液」をよく懸濁してから、それぞれの懸濁液を5.0g宛秤り取った。

ついで、それぞれの秤取分をエタノールで希釈して、それぞれの全量が20mLになるようにした。

なお、調製したエタノール溶液に不溶物が認められる場合は、ろ紙を用いてろ過することにより不溶物を除去した。

これにより、エタノールで希釈された濃度25% (W/V) の常圧蒸留液および減圧乾留液からなるペントシジン生成阻害率の測定用の溶液が調製された。

そして、このようにして準備したそれぞれの溶液を、ペントシジン生成阻害活性測定の試料溶液として用いた。

【0042】

(3) ペントシジン生成阻害率の測定結果

上記で調製した試料溶液についてのペントシジン生成阻害率の結果を、次の表2に示す

40

50

と共に、図1(A)(常圧蒸留液)および図1(B)(減圧乾留液、より詳しくは常圧蒸留液を取り出した後の容器内の残液についての減圧乾留液)にも示す。

なお、コントロール(対照)である10mMのアミノグアニジン溶液の生成阻害率は約45%であった。

【0043】

【表2】

原料植物名	常圧蒸留液の阻害率(%)	減圧乾留液の阻害率(%)
ショウガ	2	39
茶	0	19
ヨモギ	0	47
月桃葉	0	0
カキノハ	2	43
イグサ	1	82
シソヨウ(紫蘇葉)	0	31
ケイヒ	9	54
オレガノ	0	64
カモミール	12	34
セイジ	0	36
タイム	45	75
バジル	0	33
ペパーミント	0	45
ラベンダー	14	17
レモンバーム	0	46
ローズマリー	3	54
シークワーサー	3	81
バラ	0	60
ノニ	0	95
(平均)	5	48
(対照)	45	45

10

20

30

【0044】

[第3]まとめと考察

- 1 -

上に詳述した比較例1および実施例1によれば、次の2つの検体イ、ロにつき、それらの阻害率(ペントシジン生成阻害率(以下「阻害率」と略称することもある))を対比することができる。

[比較例1用の検体イ(常圧蒸留液)]

原料植物200gに精製水400gを加えて、「常圧×220×4時間」の条件で加熱したときに留出した液。

40

[実施例1用の検体ロ(減圧乾留液)]

上記の常圧蒸留後の容器内の残液につき、さらに「常圧×220×2時間」の条件で常圧蒸留を続行して系外に除去することにより水分を減じてから、その減水した残液に対して引き続き「減圧(25~30mmHg)×300×4時間」の条件で減圧蒸留したときに留出した液。

【0045】

- 2 -

常圧蒸留液中に含まれている成分はほとんどが「精油成分」と考えられるところ、20試料溶液の中ではタイムのみが、コントロール(対照)である10mMアミノグアニジンと同程度の阻害率(ペントシジン生成阻害率)を示しているものの、全般的には阻害率が

50

著しく低かった。

【0046】

- 3 -

一方、常圧蒸留液に比べ減圧乾留液は、20試料溶液のうちの12試料溶液が、コントロール(対照)である10mMアミノグアニジンと同等またはそれより強いペントシジン生成阻害率を示した。特に、ノニ、イグサ、シークワーサー、タイム、オレガノ、バラ、ケイヒ、ローズマリーの8試料溶液が、強い阻害率を示した。

一方、20試料溶液のうちの8試料溶液は、コントロール(対照)よりも阻害率が低かった。

【0047】

10

全体として見ると、表2および図1(B)のように、減圧乾留液の阻害率は0%から95%まで広くばらついていることがわかる。常圧蒸留液にかかる図1(A)との対比では、図1(A)においては阻害率は0%側に集中していたのに対し、減圧乾留液にかかる図1(B)においては、阻害率100%側に向かって移動する傾向を示していることがうかがえる。

この表2および図1(B)の減圧乾留液の阻害率の特徴的な分布については、「植物原料を常圧蒸留した後の残液に対して減圧乾留を行っている」という事情があり、そこに本発明の技術思想に迫る糸口があると思われる。そこで、他の実施例についての知見を得た後に、本発明の作用・効果についての分析と考察を述べることにする。

【0048】

20

(比較例2、実施例2(参考例))

上述の比較例1と実施例1とは、原料植物から常圧蒸留液と減圧乾留液とを得る場合を示したものである。

このときに得た表1の常圧蒸留液と減圧乾留液とを用いて、今度は「AGE-タンパク質架橋形成物モデル切断活性(必要に応じ「切断率」と略称する)」を測定した。

【0049】

[第1] AGE-タンパク質架橋形成物モデル切断活性の測定法

(1) 方法

S. Vasanthの方法(Nature, Vol. 382, p. 275-278, 1996)に従って、AGE-タンパク質架橋形成物モデルの切断活性を測定した。

30

すなわち、下記に示す組成の反応液を1.5mL容量のプラスチックチューブに調製し、37にて4時間振とうした(振り動かした)。

【0050】

「反応液組成と添加量」

- ・ 500mMのリン酸水素二ナトリウム(pH 7.4) 800 μL
- ・ 100mMの1-フェニル-1,2-プロパンジオン 100 μL
- ・ 試料溶液 100 μL

【0051】

「切断率の測定」

反応終了後、2N-HClを200μL加えて攪拌し、反応を停止した。

40

その液を0.2μmのフィルターで濾過し、HPLC分析試料溶液とした。

【0052】

「HPLC分析条件」

- ・ カラム：YMC-Pack ODSA-312 150×6mm I.D.
- ・ 溶出液：40%MeOH/0.1%トリフルオロ酢酸(TFA)
- ・ 流量：1.0mL/min.
- ・ カラム温度：40
- ・ 検出器：UV波長 273nm
- ・ 注入量：20 μL
- ・ 保持時間：約12分

50

【0053】

「切斷率の求め方」

切斷率は、全ての1-フェニル-1,2-プロパンジオンが切斷された場合は10 mMの安息香酸が遊離すると仮定できるので、以下の式に従って算出した。

切斷率(%) = $100 \times (\text{各分析試料から発生する安息香酸のピーク面積} / 10 \text{ mM 安息香酸のピーク面積})$

【0054】

(2) 切断率の測定結果

上記で調製した試料溶液についての切斷率の結果を次の表3に示すと共に、図2(E)(常圧蒸留液)および図2(F)(減圧乾留液、正確には常圧蒸留液を取り出した後の残液からの減圧乾留液)にも示す。

10

・注1: コントロール(対照)として使用したPTBの切斷率は44%であった。

・注2: PTBは文献(Nature, Vol. 382, p. 275-278, 1996)に記載の通りに調製し、100 mM PTB in 75% EtOHを試料溶液として反応に用いた。

【0055】

【表3】

原料植物名	常圧蒸留液の 切斷率(%)	減圧乾留液の 切斷率(%)
ショウガ	4	3
茶	4	3
ヨモギ	4	3
月桃葉	4	3
カキノハ	5	3
イグサ	5	6
シソヨウ(紫蘇葉)	4	3
ケイヒ	3	3
オレガノ	4	5
カモミール	4	4
セイジ	4	4
タイム	4	7
バジル	3	5
ペパーミント	4	5
ラベンダー	9	3
レモンバーム	4	4
ローズマリー	4	3
シークワーサー	4	5
バラ	5	3
ノニ	5	16
(平均)	4	5
(対照)	44	44

20

30

40

【0056】

(3) 考察

- 1 -

従来技術の箇所で述べた特許文献1の表5や表7の切斷率は、コントロール(対照)との対比では大きかったり(添加濃度が大のとき)小さかったり(添加濃度が小のとき)するものの、極端に切斷率が小さいことはない。

- 2 -

50

しかるに、実施例 2（参考例）にかかる表 3 の結果からも明らかなように、上記の常圧蒸留液も上記の減圧乾留液も切断率は著しく小さいことがわかる。

切断率が著しく小さいことは、後述の実施例 5（参考例）にかかる「300 の減圧乾留物」や後述の実施例 6（参考例）にかかる「40 の減圧乾留物」においても同様である。

【0057】

(実施例 3)

この実施例 3 は、乾燥した原料植物を「減圧（25～30 mmHg）×300 ×4 時間」の条件下に減圧蒸留したときに留出した減圧乾留分についての阻害率を測定した実施例である。

10

【0058】

(1) 方法

この実施例 3 においては、ペントシジン生成阻害活性の測定法、すなわち、「反応溶液組成と添加量」、「ペントシジン生成阻害率の測定」、「HPLC 分析条件」については、実施例 1 の箇所で述べた「(1) 方法」を踏襲した。

【0059】

(2) 減圧乾留液の調製と減圧乾留液の収量

- 1 -

乾燥、裁断した原料植物 100～300 g を 1 L セパラブル容器に入れ、25～30 mmHg の減圧下に 300 で 4 時間加熱し、減圧乾留液を取得した。（念のため述べると、この実施例 3 においてはダイレクトな減圧乾留を行っており、実施例 1 におけるような「精製水を加えての常圧蒸留」と「常圧蒸留」とはいずれも行っていない。）

20

乾燥原料 100 g 当りの減圧乾留液の収量は、次の表 4 の通りであった。

【0060】

【表 4】

原料植物名	減圧乾留液の 収量 (g)
もみがら	1.5
米ぬか	1.8
そばがら	3.1
小麦ふすま	2.9
菜種油粕	2.4
椿油粕	1.2
ごま油粕	1.2
ごま	6
ヨモギ	1.5
ショウガ	2.2
オウバク	1.8
ケイヒ	1.9
クマザサ	1.6
カキノハ	2.0
茶	2.1
竹	1.5

30

40

【0061】

(3) ペントシジン生成阻害率の測定用の溶液の調製

上記で得られた「減圧乾留液」をよく懸濁してから、それぞれの懸濁液を 5.0 g 宛秤り取った。

ついで、それぞれの秤取分をエタノールで希釈して、それぞれの全量が 20 mL になる

50

ようにした。

なお、調製したエタノール溶液に不溶物が認められる場合は、ろ紙を用いてろ過することにより不溶物を除去した。

これにより、エタノールで希釈された濃度 25% (W/V) の減圧乾留液からなるペントシジン生成阻害率の測定用の溶液が調製された。

【0062】

(4) ペントシジン生成阻害率の測定結果

上記で調製した試料溶液についてのペントシジン生成阻害率の結果を次の表5および図1(C)に示す。

なお、コントロール(対照)である10mMのアミノグアニジン溶液の生成阻害率は約 10
46%であった。

【0063】

【表5】

試料溶液名	減圧乾留液の阻害率 (%)
もみがら	9 6
米ぬか	6 9
そばがら	8 8
小麦ふすま	9 7
菜種油粕	5 8
椿油粕	9 2
ごま油粕	4 4
ごま	4 1
ヨモギ	9 9
ショウガ	9 7
オウバク	9 9
ケイヒ	9 6
クマザサ	9 1
カキノハ	8 9
茶	9 3
竹	9 7
(平均)	8 4
(対照)	4 6

10

20

30

【0064】

(5)まとめ

先の実施例1(表2および図1(B))と共に通する試料溶液は、ヨモギ、ショウガ、ケイヒ、カキノハ、茶の5種であるところ、その表2との対比で、ペントシジン生成阻害率(%)は下記の表6および図1(C)のように顕著に向上的に改善している上、ばらつきも小さいことがわかる。

なお、上の表5のように、他の植物の減圧乾留液についての試料溶液のペントシジン生成阻害率もすぐれていることがわかる。

【0065】

40

【表6】

試料溶液名	ペントシジン生成阻害率(%)
ヨモギ	4.7%→9.9%
ショウガ	3.9%→9.7%
ケイヒ	5.4%→9.6%
カキノハ	4.3%→8.9%
茶	1.9%→9.3%

10

【0066】

(6) 考察

- 1 -

先の実施例1(図1(B))における「300 × 減圧乾留操作に先立つ常圧蒸留工程の前置き」という技術的手段は、比較例1(図1(A))の「常圧蒸留品」の低い阻害率(単純平均で5%弱)という制約を解き放つて阻害率を0~95%にまで広げることに成功しているが、単純平均では約4.8%であって、ほぼ対照(約4.5%)並みである。

- 2 -

しかるに、この実施例3(図1(C))の減圧乾留液のペントシジン生成阻害率がすぐれているのは、実施例1の場合とは異なり、ダイレクトな減圧乾留を行っているためであると理解される。

20

【0067】

(実施例4)

- 1 -

この実施例4は、裁断した原料植物を「減圧(アスピレーターを用いて20mmHgに減圧) × 40」の条件下に減圧蒸留したときに留出した減圧乾留分についての阻害率を測定した実施例である。

このときの原料植物は、乾燥したものではなく生のものを用いたので、若干の水分を含んでいる。

- 2 -

30

この実施例4においては、ペントシジン生成阻害活性の測定法、すなわち、「反応溶液組成と添加量」、「ペントシジン生成阻害率の測定」、「HPLC分析条件」については、実施例1の箇所で述べた「(1)方法」を踏襲した。

- 3 -

上記で調製した試料溶液についてのペントシジン生成阻害率の結果を次の表7および図1(D)に示す。なお、コントロール(対照)である10mMのアミノグアニジン溶液の生成阻害率は4.7%であった。

減圧乾留であれば、常温に近い40における減圧乾留であっても、阻害率は良好であることがわかる。

【0068】

40

【表7】

試料溶液名	減圧乾留液の 阻害率 (%)
シークワーサー	9.5
ラベンダー	7.6
ショウガ	9.6
ネギ	1.3
スダチ	9.2
秋ウコン	8.3
ユズ	8.7
カサブランカ	9.4
ミカン	7.1
ジャバラ	9.4
バラ	9.2
月桃葉	9.8
月桃根	7.5
(平均)	8.2
(対照)	4.7

10

【0069】

20

(実施例5(参考例))

実施例3においては、乾燥した原料植物を「減圧($25 \sim 30 \text{ mmHg}$) $\times 300 \times 4$ 時間」の条件下に減圧蒸留したときに留出した減圧乾留分についての「阻害率」を測定しているが、この実施例5においては、その減圧乾留分を用いて、「比較例2、実施例2(参考例)」における場合と同様にして「切断率」を測定した。

結果を表8および図2(G)に示す。なお、コントロール(対照)として使用したPTBの切断率は4.3%であった。

この結果から、上記の300での減圧乾留分であっても、切断率は極めて小さいことがわかる。

【0070】

30

【表 8】

試料溶液名	切断率 (%)	
もみがら	5	
米ぬか	3	10
そばがら	4	
小麦ふすま	6	
菜種油粕	3	
椿油粕	1 3	
ごま油粕	3	20
ごま	2	
ヨモギ	1 7	
ショウガ	9	
オウバク	1 5	
ケイヒ	1 1	30
クマザサ	9	
カキノハ	6	
茶	8	
竹	1 3	
(平均)	8	40
(対照)	4 3	

【0071】

(実施例 6 (参考例))

実施例 4においては、裁断した原料植物を「減圧 (アスピレーターを用いて 20 mm Hg)

50

g に減圧) × 40」の条件下に減圧蒸留したときに留出した減圧乾留分についての「阻害率」を測定しているが、この実施例 6においては、その減圧乾留分を用いて、「比較例 2、実施例 2(参考例)」におけると同様にして「切断率」を測定した。

結果を表 9 および図 2(H)に示す。なお、コントロール(対照)として使用した PTB の切断率は 38 % であった。

この結果から、上記の 40 での減圧乾留分であっても、切断率は極めて小さいことがわかる。

【0072】

【表 9】

試料溶液名	切断率 (%)
シークワーサー	6
ラベンダー	6
ショウガ	6
ネギ	6
スダチ	6
秋ウコン	6
ユズ	6
カサブランカ	6
ミカン	6
ジャバラ	2
バラ	5
月桃葉	5
月桃根	3
(平均)	5
(対照)	38

10

20

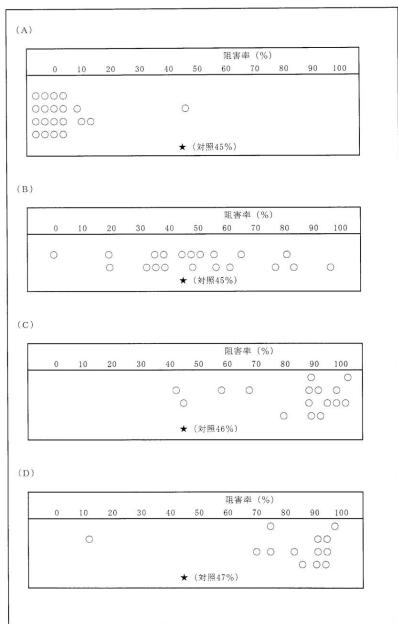
30

【産業上の利用可能性】

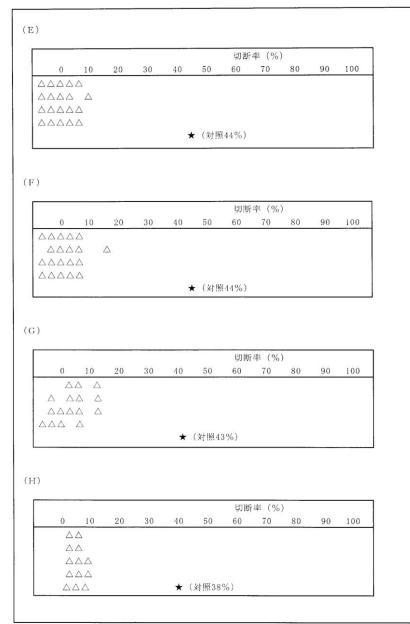
【0073】

本発明のメイラード反応生成抑制剤は、すぐれたペントシジン生成阻害活性を示すので、皮膚の弾力性の維持、しわやクスミの皮膚のしわ寄りの抑制、弾力性の低下の抑制、くすみの抑制をはじめとする老化の進行の防止に有効であり、化粧品をはじめとする外用剤として有用である。

【図1】



【 四 2 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K	36/53	(2006.01) A 6 1 K 36/53
A 6 1 K	36/534	(2006.01) A 6 1 K 36/534
A 6 1 K	36/535	(2006.01) A 6 1 K 36/535
A 6 1 K	36/54	(2006.01) A 6 1 K 36/54
A 6 1 K	36/70	(2006.01) A 6 1 K 36/70
A 6 1 K	36/738	(2006.01) A 6 1 K 36/738
A 6 1 K	36/746	(2006.01) A 6 1 K 36/746
A 6 1 K	36/752	(2006.01) A 6 1 K 36/752
A 6 1 K	36/756	(2006.01) A 6 1 K 36/756
A 6 1 K	36/82	(2006.01) A 6 1 K 36/82
A 6 1 K	36/88	(2006.01) A 6 1 K 36/88
A 6 1 K	36/8962	(2006.01) A 6 1 K 36/8962
A 6 1 K	36/8967	(2006.01) A 6 1 K 36/8967
A 6 1 K	36/899	(2006.01) A 6 1 K 36/899
A 6 1 K	36/9062	(2006.01) A 6 1 K 36/9062
A 6 1 K	36/9066	(2006.01) A 6 1 K 36/9066
A 6 1 K	36/9068	(2006.01) A 6 1 K 36/9068
A 6 1 P	43/00	(2006.01) A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 K	8/9789	(2017.01) A 6 1 K 8/9789
A 6 1 K	8/9794	(2017.01) A 6 1 K 8/9794
A 6 1 Q	19/00	(2006.01) A 6 1 Q 19/00
A 6 1 Q	19/08	(2006.01) A 6 1 Q 19/08
A 2 3 L	3/3472	(2006.01) A 2 3 L 3/3472

(56)参考文献 特開2011-006623(JP,A)

特開平10-158119(JP,A)

特開2011-098912(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 6 / 0 0 - 3 6 / 9 0 6 8

A 6 1 K 8 / 0 0 - 8 / 9 9

A 2 3 L 3 / 0 0 - 3 / 3 5 9 8

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)