

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7680144号  
(P7680144)

(45)発行日 令和7年5月20日(2025.5.20)

(24)登録日 令和7年5月12日(2025.5.12)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	31/121 (2006.01)	A 6 1 K	31/121
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04
A 6 1 K	36/73 (2006.01)	A 6 1 K	36/73
A 2 3 L	33/10 (2016.01)	A 2 3 L	33/10
A 2 3 L	33/105 (2016.01)	A 2 3 L	33/105

請求項の数 2 (全8頁)

(21)出願番号	特願2020-206620(P2020-206620)	(73)特許権者	593106918 株式会社ファンケル 神奈川県横浜市中区山下町89番地1
(22)出願日	令和2年12月14日(2020.12.14)	(74)代理人	110004152 弁理士法人お茶の水内外特許事務所
(65)公開番号	特開2022-93894(P2022-93894A)	(72)発明者	野口 真行 神奈川県横浜市戸塚区上品濃12番13号 株式会社ファンケル 総合研究所内
(43)公開日	令和4年6月24日(2022.6.24)	(72)発明者	渡邊 知倫 神奈川県横浜市戸塚区上品濃12番13号 株式会社ファンケル 総合研究所内
審査請求日	令和5年7月18日(2023.7.18)	(72)発明者	櫻田 剛史 神奈川県横浜市戸塚区上品濃12番13号 株式会社ファンケル 総合研究所内
前置審査		(72)発明者	澤野 健史

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 免疫賦活用組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

アグリモールBを有効成分として含有するマクロファージ貧食活性向上による免疫賦活用の食品又は医薬品又は医薬部外品(但しナリンギン、ヘスペリジン、ストリキニーネ、ブルジン、オウゴン及びプロトカテク酸を含有する場合を除く)。

【請求項2】

乾燥物全量当たりアグリモールBを少なくとも0.4質量%以上含有するキンミズヒキ抽出物を有効成分として含有し、マクロファージ貧食活性向上による免疫賦活用の食品又は医薬品又は医薬部外品(但しナリンギン、ヘスペリジン、ストリキニーネ、ブルジン、オウゴン及びプロトカテク酸を含有する場合を除く)。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、免疫賦活用組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

現在植物由来の抽出物が様々な医療用途に用いられている。中でもキンミズヒキ抽出物が近年注目されている。

キンミズヒキ(金水引、学名: Agrimonia pilosa)は、バラ科キンミズヒキ属の多年草で漢方薬に利用される。生薬名は仙鶴草である。キンミズヒキの花期の

地上部の茎葉には、精油とタンニンを含んでおり、そのうちの主成分となるタンニンは、細胞組織を引き締める収斂作用があることが知られている。また、水で煮出した水性エキスには、胆嚢の働きを助ける利胆作用があるといわれている。根には、タンニンのほか、フェノール性配糖体、アグリモノリド、フィステロール、バニル酸、タキシフォリンなどが含まれることが知られている。

【0003】

キンミズヒキ抽出物の薬理効果として様々な効果が知られている。特許文献1にはキンミズヒキ抽出成分を有効成分とする神経活性化用組成物が記載されている。

特許文献2には、キンミズヒキ抽出物を含有する美白剤、抗老化剤、皮膚化粧品が記載されている。

10

特許文献3には、キンミズヒキ抽出物を含有する グルコシダーゼ阻害剤が記載されている。

特許文献4には、キンミズヒキ抽出物を有効成分として含有する皮膚外用剤及びアレルギー賦活剤が記載されている。

特許文献5には、キンミズヒキの70%エチルアルコール抽出物が、アラキドン酸代謝阻害剤として有用であることが記載されている。そしてこの抽出物は、ラット好塩基性白血球細胞株(Rat Basophilic Leukemia Cell: RBL-1)を用いたインビトロ試験において、炎症の起因物質であるロイコトリエンC<sub>4</sub>の産生阻害効果があることが記載されている。

また、非特許文献1には、キンミズヒキのメタノールエキスがマクロファージの活性化や細胞障害性リンパ球を介する抗腫瘍性を示すことが記載されている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【文献】特開2018-8888号公報

【文献】特開2008-174529号公報

【文献】特開平08-176003号公報

【文献】特開平11-335256号公報

【文献】特開2006-16388号公報

【非特許文献】

30

【0005】

【文献】岐阜薬科大学紀要、35巻、36-44ページ、1986年

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明者らは、キンミズヒキ抽出物の生理作用を研究する過程で、キンミズヒキ抽出物が、マクロファージなどの貪食細胞の貪食活性を促進することを知見した。そしてその活性成分の一つが、アグリモールBであることを見出した。

本発明は、この知見に基づくものである。

すなわち、本発明は、新たな免疫賦活用の組成物を提供することを課題としている。

40

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明の構成は以下のとおりである。

(1) アグリモールBを有効成分として含有する免疫賦活用組成物。

(2) アグリモールBを含む植物抽出物を有効成分として含有する免疫賦活用組成物。

(3) アグリモールBを含む植物抽出物が乾燥物全量当たりアグリモールBを少なくとも0.4質量%以上含有するものである(2)に記載の免疫賦活用組成物。

(4) アグリモールBを含む植物がキンミズヒキである(2)又は(3)に記載の免疫賦活用組成物。

【発明の効果】

50

## 【 0 0 0 8 】

本発明により、新たな免疫賦活用組成物が提供される。

本発明の免疫賦活用組成物は、マクロファージなどの貪食作用を促進し、免疫の初期反応を活性化して生体の免疫能を賦活化できる。このため感染症などの治療に使用可能である。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 0 9 】

【 図 1 】 実施例で行ったアグリモール B、キンミズヒキ抽出物、濃縮キンミズヒキ抽出物の貪食活性の促進効果を測定した試験結果を示すグラフである。

## 【 発明を実施するための形態 】

## 【 0 0 1 0 】

本願明細書において、「組成物」とは、医薬品、医薬部外品、食品をいう。

また本願明細書において「キンミズヒキ抽出物」とは、キンミズヒキをエチルアルコール又は水を含む含水エチルアルコールで抽出して得られる抽出物をいう。

さらにまた、前記のキンミズヒキ抽出物を、0～40%エチルアルコールで洗浄して0～40%エチルアルコール可溶性成分を除去したものを本願明細書では「濃縮キンミズヒキ抽出物」という。

## 【 0 0 1 1 】

キンミズヒキ(学名: *Agrimonia pilosa*)は、バラ科キンミズヒキ属の多年草であり、本州、四国、九州などの林の縁、原野、路傍に自生している。別名、龍牙草ともいう。本発明において、キンミズヒキは、漢方生薬、民間療法薬、健康食品(ハーブティー)原料として市販されているキンミズヒキの乾燥物を使用することができる。全草を乾燥させたものは、仙鶴草の生薬名で市販されている。

また自生あるいは栽培された全草を採取し、これを自然乾燥又は加熱乾燥させたものを使用できる。

これを細切り、約10倍量の水または、含水濃度0～99.5%(v/v)エチルアルコール、好ましくは含水濃度1～50%エチルアルコール、特に好ましくは含水濃度5～10%エチルアルコールに3～5日間浸漬して室温で抽出するか、あるいは還流冷却器を付して50～80℃で5～24時間抽出し、濾過してキンミズヒキ抽出液を回収する。この抽出液は、ロータリーエバポレーターなどの減圧真空乾燥装置、又は凍結乾燥装置によって、水及びエチルアルコールを除去してキンミズヒキ抽出物とする。本願明細書においては、キンミズヒキ抽出物をキンミズヒキエキスともいう。

このキンミズヒキ抽出物(キンミズヒキエキス固形物)を0～40%エタノール、特に好ましくは10～30%エタノールで洗浄し、0～40%エタノール、特に好ましくは10～30%エタノール可溶性成分をろ過等の手段で除去した後、ろ過残渣をロータリーエバポレーターなどの減圧真空乾燥装置、又は凍結乾燥装置を用いて、水及びエチルアルコールを除去することで濃縮キンミズヒキ抽出物を得ることができる。

濃縮キンミズヒキ抽出物は、50～99.5%エタノール、特に好ましくは70～90%エタノールに再溶解し、製剤化に用いる賦形剤を添加して凍結乾燥することで、所望する濃度の濃縮キンミズヒキ抽出物を含有する粉末組成物を得ることができる。

## 【 0 0 1 2 】

上記のキンミズヒキ抽出物及び濃縮キンミズヒキ抽出物には、アグリモール B が含有されている。

アグリモール B は、次の化学式 1 で特定される化合物である。

## 【 0 0 1 3 】

10

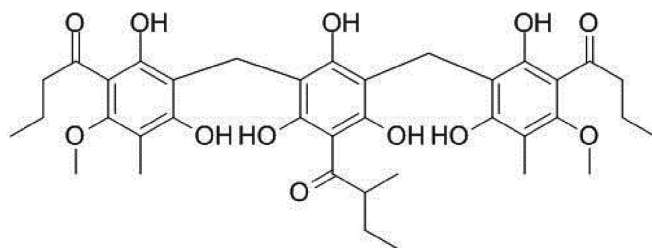
20

30

40

50

## 【化 1】



(化学式 1)

10

## 【0014】

アグリモール B は、フロログルシノール等を出発原料として合成することができる。例えば、Acta Pharmaceutica Sinica 1989,24(6):431~437頁に記載の方法、あるいは特許文献 4 に開示された方法で合成可能である。

## 【0015】

なお、合成で得られるアグリモール B として、(S) - (+) - アグリモール B とその光学異性体である (R) - (-) - アグリモール B の 2 種類が挙げられるが、本明細書でいう「アグリモール B」とは、これらの 1 種からなる単一化合物であってもよく、あるいは 2 種からなる混合物であってもよい。

## 【0016】

化学合成あるいは天然物から抽出、分離、精製して得られるアグリモール B は、本発明の免疫賦活用組成物に用いられる。具体的には、上記天然物からアグリモール B を抽出、分離、精製する際に得られる、アグリモールをある程度の濃度で含有する植物抽出物、粗精製物等を本発明の免疫賦活用組成物に用いることが可能である。

20

## 【0017】

アグリモール B 又はアグリモール B を含む植物抽出物を有効成分とする免疫賦活用組成物は、アグリモール B 又は前記抽出物をそのまま、あるいは慣用の医薬用製剤担体とともに医薬用組成物として動物及びヒトに投与することができる。医薬用組成物の剤形としては特に制限されるものではなく、必要に応じて適宜選択すればよい。例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤などの経口剤や、注射剤、坐薬などの非経口剤が挙げられる。投与量は、経口剤の場合、通常成人で抽出物の乾燥質量で、アグリモール B を 1 ~ 1000 mg 含有するように配合し、これを 1 日数回に分けて服用するのが適当である。

30

食品とする場合は、アグリモール B、アグリモール B 含有植物抽出物を適切な倍散剤に分散した後、食品原料に配合し、所望の形態とすることができる。食品中に配合する場合は、食品 100 g 当たりアグリモール B を 1 ~ 1000 mg 含有するように配合する。

## 【0018】

本発明において、アグリモール B、又はアグリモール B を含有する植物抽出物を含有する錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤などの経口剤は、デンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類などの賦形剤を用いて常法に従って製造される。経口用製剤には本発明組成物の他に結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料などを適宜使用できる。

40

## 【0019】

アグリモール B 又はアグリモール B を含有する植物抽出物に配合する配合成分として次に例示するような物質が使用可能である。

結合剤としてはデンプン、デキストリン、アラビアガム、ゼラチン、ヒドロキシプロピルスターチ、メチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、結晶性セルロース、エチルセルロース、ポリビニルピロリドン、マクロゴールなどが例示できる。崩壊剤としてはデンプン、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロース、低置換ヒドロキシプロピルセルロースなどを例として挙げる事ができる。界面活性剤としては

50

ラウリル硫酸ナトリウム、大豆レシチン、シヨ糖脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルなどを挙げることができる。滑沢剤としては、タルク、ロウ類、水素添加植物油、シヨ糖脂肪酸エステル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸アルミニウム、ポリエチレングリコールなどを例示できる。流動性促進剤としては軽質無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウムゲル、合成ケイ酸アルミニウム、ケイ酸マグネシウムなどを例として挙げることができる。

以下、本発明組成物の効果を確認した試験例を示し、本発明を更に詳細に説明する。

#### 【実施例】

##### 【0020】

<マクロファージ細胞に対するアグリモールB、キンミズヒキ抽出物、又は濃縮キンミズヒキ抽出物の貪食活性促進効果試験>

10

#### 1. 試験方法

##### (1) 試験試料の調製

アグリモールBを含有する植物抽出物の一例としてキンミズヒキ抽出物を例示する。

##### ・キンミズヒキ抽出物及び濃縮キンミズヒキ抽出物の調製

キンミズヒキ（仙鶴草、福田龍株式会社）100gに、90%エチルアルコール10倍量（1kg）を加え、還流抽出を2回繰り返した。終了後、固液分離して抽出液を得た。得られた抽出液を、常法により活性炭処理、珪藻土ろ過した後、濃縮・凍結乾燥し粗抽出物（固形量9.28g、収率9.28%（対原料））を得た。この粗抽出物を「キンミズヒキ抽出物」として本試験に用いた。

20

このキンミズヒキ抽出物乾燥物8.51gを60℃に加熱した20%エチルアルコール溶液に溶解・懸濁（固形量10%）させた後、常法により珪藻土ろ過して残渣を回収した。残渣を再び90%エチルアルコールに溶解させ、常法により珪藻土ろ過した後、再度濃縮・凍結乾燥して濃縮物を得た（固形量0.59g、収率6.93%（対キンミズヒキ抽出物））。これを濃縮キンミズヒキ抽出物とした。この濃縮キンミズヒキ抽出物は、キンミズヒキ抽出物から20%エチルアルコール可溶性成分を除去することで、アグリモールBを含む脂溶性成分が濃縮されていた。

##### 【0021】

##### ・キンミズヒキ抽出物及び濃縮キンミズヒキ抽出物中のアグリモールBの含有量の測定

本実施例において用いる試験品について常法によりアグリモールBの含有量を測定した。キンミズヒキ抽出物中に0.036質量%、濃縮キンミズヒキ抽出物中に0.447質量%含有されていた。

30

本実施例において用いる試験試料についてアグリモールBの含有量を下記条件にてHPLCで測定した。

カラム：Wakosil-115C18 AR 4.6mm×150mm

移動相：蒸留水：アセトニトリル：リン酸 = 100：900：1

流速：1mL/min

検出：UV288nm

注入量：10μL

##### 【0022】

##### ・アグリモールB

精製アグリモールB（Biorbyt社製）は、ジメチルスルホキシド（DMSO）にて10mMになるように調製し、ストック溶液とした。

これを下記の試験に用いた。

40

##### 【0023】

##### (2) 試験方法

次の操作手順で試験を実施した。

##### 1) 細胞培養

マウス腹水由来細胞から樹立したマクロファージ細胞株RAW264.7（European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACCより入手)）を、細胞密度 $3 \times 10^5$

50

$0.4$  cells/wellで24well plateに播種し24時間培養する。培養に使用した培地は、DMEM (high glucose: Invitrogen) である。

【0024】

2) アグリモールB、キンミズヒキ抽出物、濃縮キンミズヒキ抽出物の添加

培養上清を除去した後、新しい培地にサンプルを溶解した後、この培地を $400\ \mu\text{l}$ 添加し、24時間培養する。各試験試料の最終濃度は、アグリモールBは、 $1.25$ 、 $2.5$ 、 $5\ \mu\text{M}$ 、キンミズヒキ抽出物は、 $12.5$ 、 $25$ 、 $50\ \mu\text{g}/\text{ml}$ になるように、また濃縮キンミズヒキ抽出物は、 $12.5$ 、 $25$ 、 $50\ \mu\text{g}/\text{ml}$ になるようにそれぞれ溶解濃度を調整した。

10

また陽性対照 (マクロファージ活性化促進剤) として同様にリポポリサッカライド (LPS: シグマ アルドリッチ製) を最終濃度 $1\ \mu\text{g}/\text{ml}$ になるように添加した。

【0025】

3) サイトカラシンD (Cyt D) 処理

培養上清を除去し、サイトカラシンDを最終濃度が $10\ \mu\text{M}$ になるように培地に添加し、 $37^\circ\text{C}$ で1時間静置した。

【0026】

4) 貪食率の測定

各ウェルに死菌 (*Escherichia coli* (K-12 strain) BioParticles (商標), Alexa Fluor (商標) 488 conjugate) を $15000$  cells/well/ $100\ \mu\text{l}$ になるように添加した。次いで室温に20分間静置して、細胞に死菌を貪食させた。その後、培養上清を全量除去し、FACS buffer  $1\ \text{ml}$ で洗浄した。

20

洗浄後、新たにFACS bufferを $300\ \mu\text{l}$ 入れ、セルスクレーパーで細胞を回収し、セルストレイナー付きチューブに入れ、FACS解析を行った。

全細胞当たりのFACSで分離した細胞の比率を貪食率とした。

【0027】

5) 統計解析

得られた各試験試料の示す貪食率は、平均値及び標準偏差を求め、サンプルを含まないコントロール (Cont) に対する有意差検定をDunnett法で行った。なお有意差水準は $p < 0.05$  (\*)、 $p < 0.01$  (\*\* )とした。

30

【0028】

2. 試験結果

貪食率測定結果を表1及び図1に示した。

【0029】

【表1】

	添加量	平均(%)
Cont		18.0
Cyto D		13.0
LPS ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	1	26.3
Agrimol B ( $\mu\text{M}$ )	1.25	20.0
	2.5	21.5
	5	27.7
キンミズヒキ抽出物 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	12.5	18.8
	25	18.7
	50	18.8
濃縮キンミズヒキ抽出物 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	12.5	19.3
	25	20.1
	50	24.4

40

50

【 0 0 3 0 】

無添加 (Cont) の場合、貪食率は 18% であった。一方、アグリモール B は、濃度依存性で貪食率が増加した。貪食率は、1.25 μM で 20%、2.5 μM で 21.5%、5 μM で 27.7% と顕著な貪食率の増加効果を示した。また濃縮キンミズヒキ抽出物も濃度依存性で貪食率が増加し、その貪食率は 12.5 μg/ml で 19.3%、25 μg/ml で 20.1%、50 μg/ml で 24.4% を示した。

またキンミズヒキ抽出物はコントロールに対してわずかではあるが増加した。

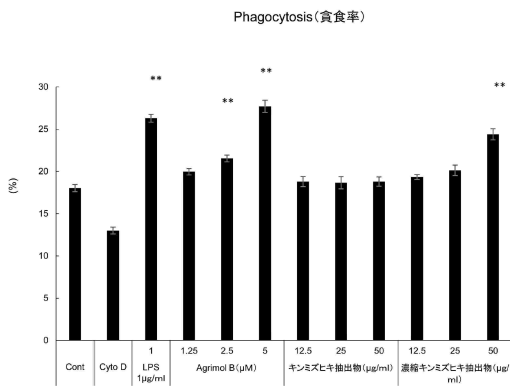
したがってアグリモール B 及び濃縮キンミズヒキ抽出物は、マクロファージ貪食率を増加することから、免疫賦活用組成物として有効であることが明らかとなった。

またキンミズヒキ抽出物と濃縮キンミズヒキ抽出物のマクロファージ貪食率測定結果から、アグリモール B の含有量が、植物抽出物乾燥物全量当たり 0.4 質量% 以上含有することが、免疫を賦活するためには必要であると考えられた。

10

【 図 面 】

【 図 1 】



20

30

40

50

---

フロントページの続き

神奈川県横浜市戸塚区上品濃 1 2 番 1 3 号 株式会社ファンケル 総合研究所内

審査官 鈴木 理文

- (56)参考文献 中草薬, 2015年, Vol.46 No.11, pp.1625-1628  
Zhongyao yaoli yu linchuang, 2001年, 17(2), pp.32-33  
Korean J. Pestic. Sci., 2006年, Vol.10 No.3, pp.230-236  
Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med., 2013年, 10(3), pp.475-479
- (58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)  
A 6 1 K 3 1 / 1 2 1  
A 6 1 P 3 7 / 0 4  
A 6 1 K 3 6 / 7 3  
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 / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T  
N )