

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4800574号
(P4800574)

(45) 発行日 平成23年10月26日(2011.10.26)

(24) 登録日 平成23年8月12日(2011.8.12)

(51) Int. Cl.		F I	
A 6 1 K 38/17	(2006.01)	A 6 1 K	37/12
A 6 1 P 19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02
A 6 1 P 17/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/02
A 2 3 L 1/30	(2006.01)	A 2 3 L	1/30
A 2 3 L 1/305	(2006.01)	A 2 3 L	1/305

A

請求項の数 9 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2003-530804 (P2003-530804)
 (86) (22) 出願日 平成14年9月12日 (2002. 9. 12)
 (65) 公表番号 特表2005-528326 (P2005-528326A)
 (43) 公表日 平成17年9月22日 (2005. 9. 22)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2002/028856
 (87) 国際公開番号 W02003/027232
 (87) 国際公開日 平成15年4月3日 (2003. 4. 3)
 審査請求日 平成17年6月28日 (2005. 6. 28)
 (31) 優先権主張番号 09/964, 120
 (32) 優先日 平成13年9月25日 (2001. 9. 25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 504117431
 シリング, マービン
 アメリカ合衆国, アーカンソー 7290
 3, フォート スミス, エス. オー. 32
 01 #16
 (73) 特許権者 504117442
 ファファード, リチャード デイ.
 アメリカ合衆国, アーカンソー 7290
 3, フォート スミス, ハイランド ドラ
 イブ 5410
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100077517
 弁理士 石田 敬

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生理活性を有する生成物の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

タイプIIコラーゲン含有ニワトリ胸骨軟骨を、タイプIIコラーゲンの天然の形態を保持しつつ脱水する方法であって、以下のステップ：

上記軟骨を、塩素放出性の抗菌剤、及び上記軟骨の少なくとも15重量%であってかつ塩化物と上記軟骨全体の44重量%以下の濃度における該塩化物と混合するステップであって、ここで、該塩化物が塩化カリウム又は塩化ナトリウムである、ステップ；

得られた微粒子形態の混合物を、タイプIIコラーゲンの変性が起こる温度よりも低い温度において、水分含量が乾燥された軟骨の15重量%未満に減少するまで加熱するステップであって、ここで、前記変性の起こる温度は、電子顕微鏡又はコラゲナーゼ特異的な酵素の逐次可溶化/沈降分析によって定められる、ステップ；及び

タイプIIコラーゲンをその本来の形態で含有する生成物を回収するステップ、を含む前記方法。

【請求項 2】

前記回収された生成物が、45～60%の塩を含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

レシチン又はヒドロキシプロピルメチルセルロースが、剥離剤として前記乾燥ステップに加えられる、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

前記塩化物が固体の形態で使用される、請求項1に記載の方法。

10

20

【請求項 5】

前記加熱が、43.3 未満の温度で行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記塩素放出性の抗菌剤が次亜塩素酸塩である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記塩化物が塩化カリウムである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記軟骨が、1 / 8 インチ未満の平均粒径を有する粒子の形態で脱水される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

45 ~ 60 % の塩化カリウム又は塩化ナトリウム及び 15 % 未満の水分含量を含む、タイプIIコラーゲンを含有する微粒子形態のニワトリ胸骨軟骨生成物であって、ここで、上記ニワトリ軟骨のコラーゲンがその天然の形態に保持されている、前記生成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、他の生物形態による消費並びにヒトによる消費に関して安全な、生理活性を有する生成物の製造方法に関する。より特別には、本発明は天然の材料の有効性を破壊しない脱水を通じて、そのような天然の材料を安定化する方法に関する。加工は、上記材料を保護する一方、微生物に原形質分離を起こす、高浸透圧性の条件を用いて行われる。最終産物における減少した水分活性は、健康によい生成物を保護する。

【背景技術】

【0002】

多様な分野における適用が見出された多くの天然の材料は、商業的な製品として好適であるように加工されなくてはならない。潜在的に有用なある物質を、予期される受容者に安全な方法で、特別には病原菌に対する安全性及び有毒酵素の活性の制御に関して安全な方法で提供しつつ、上記材料の生理活性を維持することは、歴史的には、費用がかかり且つ生理活性物質の変性の結果としてしばしばその有効性を減少させる。医薬品及び栄養補助食品の分野、食品分野、医療分野、大衆薬の分野並びに化粧品の分野のように、天然の生理活性を有する生成物に基づく製品を市場で売買する、いくつかの商業的分野がある。本発明の方法は、これらの分野すべてに適応させられることができる。

【0003】

本発明の方法の適用の 1 の例は、関節炎患者のためのタイプIIコラーゲンの調製にある。この化合物は、効果的な方法で関節炎患者の免疫システムに働きかけることが報告されている。Eugene Moore博士の特許（米国特許第5,570,144号、同第5,529,786号、同第5,637,321号及び同第5,645,851号）に開示されたように、タイプIIコラーゲンが効果的であるためにはその自然の状態に最も近い方法で調製されなくてはならないことは明らかである。しかしながら、Mooreが示唆したこの物質の消費者へのデリバリーは、かなりの量の水の保持を含み、したがって製品を病原菌と相互汚染し易くする。

【発明の開示】

【0004】

発明の一般的な説明

本発明の方法は、既知の有益な効果を有する天然の材料の質及び有効性に影響する微生物因子を除去する一方、そのような材料本来の自然の構造を保持する、そのような材料の改良された効用に関する。この処理は、脱水を含み、したがって、病原菌の負荷を減少させる抗菌成分の存在下で従来の処理温度よりも低い温度で天然の材料を安定化することを含む。脱水は、好ましくは採用された濃度においては消費者に有害でない、イオン化可能な塩の存在下においても実施される。ある適用においては、糖又はアルコールのような他の高浸透圧性の作用物質も単独又は塩と併用で使用されることができ、加工の間及び後において、該塩は、問題の生物のインキュベーション温度にしばしば設定される上記過程

10

20

30

40

50

中における、病原菌及び腐敗生物の成長及び潜在的な相互汚染に対するさらなる抗菌安定化剤としても作用する。

【 0 0 0 5 】

本発明の主要な特徴の一つは、本発明が有毒な微生物因子そして特に病原菌を除去するための熱処理において従来の高温よりも顕著に低い温度の使用を可能とし、及びしたがって本来の生成物の生物学的状態を維持する方法を提供することである。

【 0 0 0 6 】

本発明の他の主要な特徴は、得られる生成物が室温における貯蔵条件下で3年よりも長く、その微生物に対する安全性を保持することである。さらに、いかなる有毒酵素活性も制御され、結果としてより望ましい商業的に魅力的な製品が生じる。それはなぜなら、酵素活性が悪臭のような負の感覚受容性の性質を生じ得るからである。さらに、酵素活性は天然の産物の有効性に負の影響を及ぼすことができる。

【 0 0 0 7 】

本発明の方法は、これまで化学保存剤、熱処理、照射法、不活性大気、フリーズドライ、及び他の抗菌安定化法のようなもので処理されてきた天然の材料を、他の製品とともに使用されることもできる、安定で消費可能な製品に変える、改良された経済的な方法を提供する。

【 0 0 0 8 】

以前は、消費可能な製品は本発明において使用される温度で加工されることは無かった。なぜなら、得られる生成物が感覚受容的に許容できないものであったからである。少量の材料が消費される、最近の栄養補助食品ビジネスの導入は、本発明に意味を与える。本発明の方法により得られる生成物は安定で長期間消費可能であるのみならず、加えて、天然の材料がその自然の本来の構造を保持し、したがって、そのような材料に含まれる完全な有効性を保持する。結果として、栄養補助食品として、医薬品として、大衆薬として、生理活性を有する絆創膏のような医療用品の中の（生物学的に活性のあるクリームのような）クリーム又はローション中の局所用製品として及び機能性食品中の特別な成分として有用な、改良された生成物が得られる。

【 0 0 0 9 】

本発明の方法は好ましくは、タンパク質の本来の構造を変性させずに、自然のタンパク質中に見出される多様なタンパク種の相互作用から得られる望ましい相乗作用を保護する、栄養補助食品又は医薬品としての将来性及び有用性を示すタンパク質とともに使用される。

【 0 0 1 0 】

発明の詳細な説明

本発明の方法は、有機材料の一体性及び構造を保持するが、存在する病原菌の大半を除去し、所望により、実質的に上記材料の本来の構造に影響を及ぼすことなく、腐敗を起こす他の微生物を除去する条件下で有機材料を脱水することを含む。より特別には、本発明の方法は、変性が起こるよりも低い温度で自然の有機材料を加熱し、所望により、減圧下で、イオン化可能な塩であることのできる抗菌剤、しかし望ましくはより有効な抗菌剤及びイオン化可能で消費可能な塩との併用、の存在下で加熱することを含む。上記塩は、加工温度の間、上記材料を病原菌及び腐敗性生物の成長から保護し（原形質分離条件）、乾燥生成物の変質を防止するために、加工の間及び後に安定化剤として働く。

【 0 0 1 1 】

本発明の方法は、タンパク質本来の未変性の構造を保持することが望ましい場合のタンパク質の脱水、及び消費された時に相乗効果を有するタンパク質の組み合わせを含む食品の脱水と組み合わせることにより、特別な効用を見出す。例えば、ニワトリ軟骨はタイプIIコラーゲンのみならず、加えてグルコサミン及びコンドロイチンのようなタンパク質を含む。Eugene Mooreの特許、米国特許第5,645,581号、同第5,637,321号、同第5,529,786号、同第5,750,144号中に開示されたように、未変性のタイプIIコラーゲンの使用は、未変性のタイプIIコラーゲン又はそれとトリ軟骨中に存在する他のタンパク質との組み合わせ

10

20

30

40

50

の性質に部分的に依存するかも知れない関節リウマチの症状を軽減させる。対照的に、変性された精製タイプIIコラーゲンは、未変性タイプIIコラーゲンに比べて同じタイプの軽減又は利益を提供するものではない。

【0012】

安定化のための塩は、消費に安全なイオン化可能な塩であり、特別には塩化ナトリウム又は塩化カリウムのいずれかである。塩濃度は、含まれる食品の性質及び所望の安定化の程度によって大きく変動する。したがって、腐敗を起こす微生物とは異なる病原菌の除去を意図する場合には、一般的に、より低濃度の塩を使用することが可能である。食品を古くさせ、病原菌である好ましくない微生物の負荷の生じることを観察することによって、最適の又は望ましい濃度が実験的に確立されることができる。過剰量の塩は脱水を妨害し
10

【0013】

塩の効果は、塩酸又は酢酸のような酸の添加によって亢進されることができる。

【0014】

一般的に、出発材料の水分含量が重量で15%未満、好ましくは1~8%の範囲、に減少するまで上記方法が実施される。水分濃度がさらに減少してもさらなる利益は得られない。15%より高い濃度においては、安定化並びに病原菌及び他の微生物の除去は部分的
20

【0015】

溶液中の次亜塩素酸ナトリウムのような塩素を含有する抗菌剤単独又はこれと塩酸のような好適な酸との組み合わせが、最初の微生物負荷を減少させることをさらに助けるために出発材料に添加される。これは特別には、腐敗を起こすことのできるような微生物に対しても上記材料が安定化される場合である。塩素剤の有用な濃度範囲は、1 ppm~10,000 ppmである。酸の使用pH範囲は、pH1~pH10である。塩素剤を使用する場合、材料を乾燥過程に供する前に、まず塩素剤中に浸漬することが望ましいかも知れない。

【0016】

一般的に、脱水される材料は、均一の水分除去を可能とし粒子内部の湿った点のないように粉碎される。粒子サイズが小さくなると、脱水性能が一様に増加する。しかしながら
30

【0017】

広く多様な商業的に入手可能な乾燥装置が本発明の方法中で採用されることができる。好ましいのは、物理的に粒子を摩損させることなく均一に材料を乾燥できるような装置である。温度及び湿度を連続的にモニターする、流動層乾燥機又は回転式ドラム乾燥機は特別に好ましい。自然の材料の乾燥を助ける、剥離剤及び他の物質が乾燥ステップに加えられることができる。アグロメレーション及び乾燥機の壁のコーティングを減少させることを助ける、レシチン及びヒドロキシプロピルメチルセルロースのような補助は、本発明の
40

【0018】

本発明は、その本来の構造を保持し、それによってその本来の治療的価値を保持する安定な形態でタンパク質材料を調製するのに特別に有用である。ニワトリ軟骨に由来するタイプIIコラーゲンは、好適な方法で加工された場合、生理活性のあるタンパク質分子である。安定化し安全にする加工が行われる場合、従来の熱処理のような多くの伝統的な安定化技術によって、この成分の力価が容易に失われることから、この成分の力価を保持することは重要である。熱処理された場合、この成分が失活することはよく知られている。照射法及びフリーズドライ加工のような技術プロセスは最初はこの成分の活性を保持することが
50

の新しい方法に比べてかなり劣っており、この新しい方法は経済的に顕著に好ましい。重要な問題は、生成物を取り扱い、消費することのできる個人の行動による、加工後の相互汚染である。この新しい方法は、これに関するほどほどに不適当な行動が安全でない生成物をもたらさないということを保証する。所望の材料もまた、それがその自然の環境において機能したのとほぼ同じ温度で加工され、その本来の機能状態を保持していることを保証する。これは伝統的な加工を用いることによっては不可能であり、それはなぜなら、これらの温度は、病原菌が指数関数的に成長し、それによって健康に害のある生成物を作る結果となる、病原菌のインキュベーション温度であるからである。

【0019】

本発明は以下の実施例によってさらに例解される。

【実施例】

【0020】

実施例1

ニワトリ胸骨軟骨は、健康な若い(60日齢未満)ニワトリから、チキンプロセッサーによって得た。この材料を分析して、湿度82.0%、脂肪0.2%、タンパク質12.7%、灰分2.2%、及び炭水化物2.9%を得た。新鮮な胸骨を微生物状態について試験した。結果は、78,000CFU/g及び57,500CFU/gのAPC、17CFU/g及び5CFU/gの大腸菌型の微生物、3CFU/g及び35CFU/gの大腸菌、並びにサルモネラ、この病原菌に対しては両方とも陽性であることを示した。上記材料を1/16インチ~1/8インチの直径を有する小片となるように粉碎した。これらの条件下で抗菌剤単独の使用は、製造後の消費の前の貯蔵の間に病原菌及び酵素の攻撃からタンパク質を保護するためには適切でない。したがって、イオン性の塩を粉碎した胸骨に、約76%のニワトリ胸骨に対して24%の塩化カリウム(KCl)のレベルで取り込ませ、得られた産物を次亜塩素酸ナトリウムの200ppm溶液に浸漬し、その後、標準的な食品脱水機中で3日間乾燥した。最終産物を再びAPC、大腸菌型の微生物、大腸菌、サルモネラ、及び酵母/カビについて試験した。すべての試験が陰性であった。

【0021】

この塩の使用は、最終産物の感覚受容性の性質に悪影響を与えず、最終産物の微生物プロファイルは健全であった。最終産物は0.5未満のAwで10%未満の湿度を含み、製造、取り扱い、貯蔵、配給、及び最終使用者の活動中の潜在的な相互汚染に関して安定な製品を供給した。塩の存在はまた、塩のない場合における材料の乾燥に比べて水分除去速度を増加させた。

【0022】

実施例2

タイプIIコラーゲンの生理活性を有する材料を、(FDAの日用値に適合する)栄養補助食品としての使用に好適な量であるように、KCl量を増加させることによって実施例1を拡張した。試験は、約56%のニワトリ胸骨軟骨及び44%のKClを使用して行った。温度モニターに自動制御を用いた回転式ドラム装置を使用した。先に記載した抗菌剤を加工の前に使用し、材料を上記のように粉末化した。加工中の温度は110°Fを超えなかった。20以上のバッチを調製した。含水量は高くして3.9%、低くして0.9%の範囲であり、Awは高くして0.437であり、低くして0.158であった。すべてのバッチを微生物についてテストし、APCは高くして270CFU/g、低くして検出不能の範囲であった。大腸菌型の微生物は検出されなかった。大腸菌(E.coli)は検出されなかった。すべてのサルモネラ(Salmonella)試験は陰性であった。これらの結果はこの発明が健康に良い消費者に好都合なそして安全な製品を製造することを示す。

【0023】

実施例3

タイプIIコラーゲンを含むニワトリ軟骨が安定化を目的とする高温の状態などに置かれた場合、タイプIIコラーゲン分子が変性し、意図された目的のための生理活性に関して不活性化されるということは周知である。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 4 】

本実施例は、微生物産物に関する安全性及び感覚受容性の性質の時間経過とともに、ニワトリ胸骨軟骨に含まれる、未変性の天然の生理活性を有するタイプIIコラーゲンを保持する本発明の能力を実証する。生成物は、60%ニワトリ胸骨軟骨及び40%KClの混合物を用いて実施例1の通りに調製した。得られた生成物を以下の；(1)電子顕微鏡(EM)による定性測定、(2)定性測定及び定量測定のための酵素免疫測定法(ELISA)、(3)コラゲナーゼ特異的な酵素の逐次可溶化/沈降分析(S/PCSE)、(4)近似分析の4通りの測定法を用いて調査した。

【 0 0 2 5 】

EM試験は、本発明の方法の生成物が、自然のニワトリ胸骨軟骨内のタイプIIコラーゲン線維に関して完全な、天然の、未変性の形態を保持することを確認した。ELISA試験は、本発明の方法の生成物が意図された使用のための生理活性を有するタイプIIコラーゲンを保持するために作用し、定量のために使用され得ることを確認し、実証した。S/PCSEはさらに、本発明の方法が意図された使用のための生理活性を有するタイプIIコラーゲンを保持するために作用し、定量のために使用され得ることを確認し、実証した。本発明により製造された最終産物の近似分析は、報告された文献値と比較した予想されるタンパク質の割合に関してすべての試験について確認した。

【 0 0 2 6 】

本発明によって製造された生成物をゼロ時間で試験し、1年以上室温で貯蔵した生成物と比較した。試験は生成物が1年を超えて安定であることを実証している。

【 0 0 2 7 】

【表1】

時間	近似分析— タンパク質*	S/PCSE	ELISA	EM
ゼロ	12.4%	11.7%	NA	検出された
>1年	11.5%	10.4%	12.3%	NA

注：NAはデータなしを示す。

【 0 0 2 8 】

比較の目的で、新鮮なニワトリ胸骨軟骨を加工中の生成物の安全性を保持するために使用され得る可能性のある(しかし、相互汚染の可能性のために加工後ではない)熱処理にかけた。S/PCSE分析を用いて、新鮮な胸骨が1時間の250°Fにおける熱処理後のこの保存性の不安定な形態において約8%の活性タイプIIコラーゲンを示すにもかかわらず、S/PCSE結果は、あるとしても1%未満の残存(ほとんど測定不可能)を示した。

【 0 0 2 9 】

以下のデータは本発明によって製造された生成物の微生物学的安定性に関する。

【 0 0 3 0 】

【表2】

時間	APC*	大腸菌型	大腸菌	スタフィロコッカス ・アウレウス	サルモネラ	酵母/ カビ*
ゼロ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
>1年	ND	ND	ND	ND	ND	ND

NDは検出されないことを示す。

【 0 0 3 1 】

感覚受容的には、生成物は貯蔵第1日にはわずかに褐色であり、弱い鳥肉臭があり、異

臭はしなかった。1年を超えた後、これらの状態は同じである。

【0032】

本発明は、意図した通りの生理活性を有する形態のタイプIIコラーゲンを保持するとともに、適切なやり方で加工する場合、微生物の面で安全な生成物を製造すると結論される。

【0033】

実施例4

実施例3の手順に従って、軟骨を85、KClを15及び1モル塩酸を1の割合で使用して生成物を調製し、可変の乾燥時間にさらした。

【0034】

【表3】

持続時間(時間)	APC*	大腸菌型	大腸菌	サルモネラ
0	80	ND**	ND	NEG***
11	ND	ND	ND	NEG
48	70	ND	ND	NEG
50	20	ND	ND	NEG

* 数値の単位はすべてCFU/g、** NDは検出されないことを示す(<10 CFU/g)、

*** NEGは陰性を示す

【0035】

本実施例は、酸の使用が微生物の制御を亢進し、より短い乾燥時間を可能とすることを示す。

【0036】

実施例5

実施例1に記載されたように調製された粉碎されたニワトリ軟骨及び15%KClの混合物へ、乾燥剤としてヒドロキシプロピルメチルセルロースを5、流動剤としてレシチンを2の割合で添加した。回転式ドラム乾燥機中で乾燥した場合の混合物は、これらの添加剤を含まない混合物に比べて、ドラムに付着することなく、より均一に短時間で乾燥される。

【0037】

実施例6

実施例1の粉碎されたニワトリ軟骨とKClの混合物を水中に分散させ、その後木綿の布を浸した。そして得られた湿った布を実施例1に記載した通りに水分含量10%未満まで乾燥した。そして、木綿の布を傷の治療を促進するための絆創膏として使用した。

【0038】

実施例7

高い割合でタイプIIコラーゲンを含むニワトリ胸骨を85の割合で15の割合の塩化カリウムと混合する。100の割合のこの混合物を、300の割合の200ppmの塩素を含む溶液に40°Fで2時間浸漬する。この浸漬ステップを全部で最低6時間となるよう、2回繰り返し、水を濾過して除く。

【0039】

そして、タイプIIコラーゲンを含む混合物を、粒子サイズが約1/16インチとなるまで繰り返し粉碎機にかける。得られた微粒子をさらなる15の割合の塩化カリウムと混合し、再粉碎する。そして、混合物を回転式ドラム乾燥機中に入れ、水分含量が約5%まで減少するまで104°Fで乾燥する。得られた安定化された材料をさらにメッシュサイズ70~100に粉碎し、約38%のタンパク質と60%の塩化カリウムを含む、自由流動粒子を得る。

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(74)代理人 100087413

弁理士 古賀 哲次

(74)代理人 100127085

弁理士 越阪部 倫子

(74)代理人 100082898

弁理士 西山 雅也

(72)発明者 シリング, マービン

アメリカ合衆国, アーカンソー 72903, フォート スミス, エス.オー. 3201 #16

(72)発明者 ファファード, リチャード デー.

アメリカ合衆国, アーカンソー 72903, フォート スミス, ハイランド ドライブ 5410

審査官 中尾 忍

(56)参考文献 国際公開第97/37643(WO, A1)

米国特許第6162787(US, A)

国際公開第92/01382(WO, A1)

特開昭61-62459(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/17

BIOSIS(STN)

CAplus(STN)

EMBASE(STN)

MEDLINE(STN)