

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成21年4月30日(2009.4.30)

【公表番号】特表2008-537734(P2008-537734A)

【公表日】平成20年9月25日(2008.9.25)

【年通号数】公開・登録公報2008-038

【出願番号】特願2008-501213(P2008-501213)

【国際特許分類】

A 6 1 K 31/401 (2006.01)

A 6 1 K 31/7028 (2006.01)

A 6 1 K 31/683 (2006.01)

A 6 1 K 31/665 (2006.01)

A 6 1 K 31/7024 (2006.01)

A 6 1 K 31/505 (2006.01)

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 25/16 (2006.01)

A 6 1 P 3/02 (2006.01)

A 6 1 K 35/66 (2006.01)

A 6 1 K 9/20 (2006.01)

A 6 1 K 9/14 (2006.01)

A 6 1 K 9/48 (2006.01)

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 2 3 L 1/30 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 31/401

A 6 1 K 31/7028

A 6 1 K 31/683

A 6 1 K 31/665

A 6 1 K 31/7024

A 6 1 K 31/505

A 6 1 P 1/00

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P 3/02

A 6 1 K 35/66

A 6 1 K 9/20

A 6 1 K 9/14

A 6 1 K 9/48

A 6 1 P 1/04

A 2 3 L 1/30 Z

【手続補正書】

【提出日】平成21年3月13日(2009.3.13)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

エクトイン、ヒドロキシエクトイン、ジ-myo-イノシトールリン酸(DIP)、環状2,3-ジホスホグリセレート(cDPG)、1,1-リン酸ジグリセロール(DGP)、 β -マンノシルグリセリン酸(フィロイン(firoin))、 β -マンノシルグリセルアミド(フィロイン-A)、プロリンベタイン、および／またはそれらの誘導体ならびにそれらの組合せからなる群より選択される適合溶質を、消化器疾患およびアミロイド病の予防および治療を目的とする組成物の製造に使用する方法。

【請求項 2】

前記予防および治療が、クローン病の予防および治療であることを特徴とする請求項1記載の方法。

【請求項 3】

前記予防および治療が、アルツハイマー病およびパーキンソン病の予防および治療であることを特徴とする請求項1記載の方法。

【請求項 4】

前記組成物が、経口用途であることを特徴とする請求項1～3のいずれか1項記載の方法。

【請求項 5】

1日、体重1kg当たり、1～2000mgの量の活性物質を使用することを特徴とする請求項1～4のいずれか1項記載の方法。

【請求項 6】

エクトイン、ヒドロキシエクトイン、ジ-myo-イノシトールリン酸(DIP)、環状2,3-ジホスホグリセレート(cDPG)、1,1-リン酸ジグリセロール(DGP)、 β -マンノシルグリセリン酸(フィロイン)、 β -マンノシルグリセルアミド(フィロイン-A)、プロリンベタイン、および／またはそれらの誘導体ならびにそれらの組合せからなる群より選択される適合溶質を、

ビタミン、ミネラル栄養素とともに含むことを特徴とする、
組成物。

【請求項 7】

栄養補助食品であることを特徴とする請求項6記載の組成物。

【請求項 8】

消化管の活動に影響を与え、調節することを特徴とする請求項6または7記載の組成物。

【請求項 9】

単位投与量当たり少なくとも100mgの量の活性物質を含むことを特徴とする請求項6～8のいずれか1項記載の組成物。

【請求項 10】

エクトイン、ヒドロキシエクトイン、ジ-myo-イノシトールリン酸(DIP)、環状2,3-ジホスホグリセレート(cDPG)、1,1-リン酸ジグリセロール(DGP)、 β -マンノシルグリセリン酸(フィロイン)、 β -マンノシルグリセルアミド(フィロイン-A)、プロリンベタイン、および／またはそれらの誘導体ならびにそれらの組合せからなる群より選択される適合溶質を、0.01～1重量%の範囲の量で、添加剤として含むことを特徴とする食品。

【請求項 11】

エクトイン、ヒドロキシエクトイン、ジ-myo-イノシトールリン酸(DIP)、環状2,3-ジホスホグリセレート(cDPG)、1,1-リン酸ジグリセロール(DGP)、 β -マンノシルグリセリン酸(フィロイン)、 β -マンノシルグリセルアミド(フィロイン-A)、プロリンベタイン、および／またはそれらの誘導体ならびにそれらの組合せからなる群より選択される適合溶質を産生または濃縮する、少なくとも1種類の微生物を含む組成物。

【請求項 1 2】

前記微生物が乾燥または凍結乾燥の形態で含まれることを特徴とする請求項 1 1 記載の組成物。

【請求項 1 3】

微生物が生きている状態で含まれることを特徴とする請求項 1 1 または 1 2 記載の組成物。

【請求項 1 4】

粉末、錠剤またはカプセルの形態であることを特徴とする請求項 1 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項記載の組成物。

【請求項 1 5】

請求項 1 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項の組成物を使用した食品。

【請求項 1 6】

請求項 1 1 ～ 1 5 のいずれか 1 項記載の組成物を使用した、消化器疾患の治療用組成物。

【請求項 1 7】

前記活性物質がエクトインまたはヒドロキシエクトインであることを特徴とする請求項 1 ～ 5 いずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 8】

前記活性物質がエクトインまたはヒドロキシエクトインであることを特徴とする請求項 6 ～ 1 4 および 1 6 のいずれか 1 項記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】経口で用いられる適合溶質を含む組成物

【技術分野】

【0001】

本発明は、適合溶質、特に、エクトイン、ヒドロキシエクトイン、ジ - m y o - イノシトールリン酸 (D I P)、環状 2, 3 - ジホスホグリセレート (c D P G)、1, 1 - リン酸ジグリセロール (D G P)、 β - マンノシルグリセリン酸(フィロイン(firoin))、 β - マンノシルグリセルアミド (フィロイン - A)、プロリンベタイン、および／またはそれらの誘導体および組合せ、および、上述の開示された活性物質を含む組成物と共に、消化器疾患およびアミロイド病の予防および治療を目的とする組成物の製造に使用する方法に関する。本発明は、また、上記の適合溶質を産生または濃縮する微生物を含む組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

世界中には、様々な生息環境が存在する。その中には、一見すると生息するには厳しいように思われてもなお、生物が生息している場所も含まれる。塩湖、温泉、寒冷地砂漠、間欠泉もしくは他の極限地域は、このような住みにくい場所の例である。このような生息環境すべてに共通しているのは、生物学的高分子およびその構造にとって、保護戦略を使わずには存在できない生活環境を提供していることである。

【0003】

特に、これらの生息地に住む微生物には、生き残るための多くの保護手段が発達している。これらの微生物は、極限微生物として知られている。

【0004】

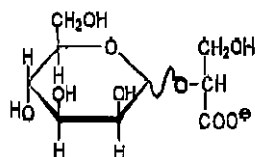
極限微生物の保護機能の一つは、「適合溶質」を産生することである。この種の物質は様々な異成分からなり、炭水化物以外にも、環状アミノ酸、有機リン化合物、および類似

の物質を含んでいる。エクトイン（2-メチル-4-カルボキシ-3, 4, 5, 6-テトラヒドロピリミジン）、ヒドロキシエクトイン（2-メチル-4-カルボキシ-5-ヒドロキシ-3, 4, 5, 6-テトラヒドロピリミジン）、フィロイン（マンノシルグリセリン酸）、フィロインA（マンノシルグリセルアミド）、DGP（リン酸ジグリセロール）、cDPG（ジホスホグリセリン酸）、プロリン、プロリンベタインおよびDIP（ジ-myo-イノシトールリン酸）は、極限微生物によって産生される典型的な適合溶質に属するものとみなされている。

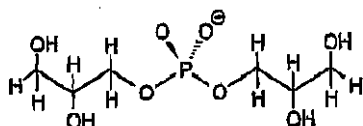
【0005】

適合溶質は、低分子で、高極性で親水性の化合物であり、したがって、水溶性が非常に大きい。出願人が極限微生物から産生する適合溶質としては、例えば、下記のものが挙げられる：

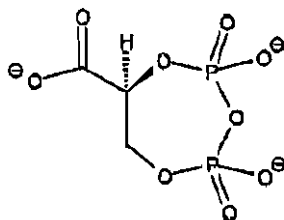
【化1】



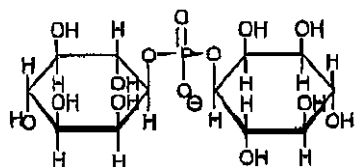
フィロイン（β-マンノシル-2-グリセリン酸）



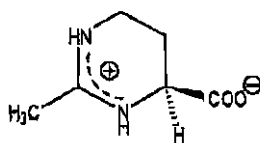
DGP（リン酸ジグリセロール）



cDPG（環状-2, 3-ジホスホグリセリン酸）



DIP（1, 1'-ジ-myo-イノシトールリン酸）



(1)

エクトイン（(S)-2-メチル-4-カルボキシ-1, 4, 5, 6-テトラヒドロピリミジン）

【0006】

「適合溶質」という用語は、微生物の細胞内代謝との高度の適合性を表し、また、それに関連した優れた同調性のことをいう。この適合性は、モル濃度が非常に高い場合にも存

在する。適合溶質の機能には、破壊的影響に対する生物学的構造の保護も含まれる。

【0007】

適合溶質のこれらの機能は、極限微生物だけでなく、中温性の有機体および人間にも効果がある。ここで、多くの保護用途の中から保護機能が見出されている。適合溶質は、皮膚の保護用組成物として利用される（特許文献1および特許文献2）。同様に、適合溶質はタンパク質構造を安定に保ち、分解反応からタンパク質を保護し、また、タンパク質溶液を安定化させる（例えば、特許文献3～5、および非特許文献1参照のこと）。

【0008】

様々な合成および半合成成分であって、微生物発酵生成物および微生物産生生成物であるものは、栄養補助食品の形態で、経口摂取用の組成物として利用される。この例には、以下のものが挙げられる：

- 人間および動物用食品への補助食品としての微生物（特許文献6）
- アミノ酸混合物入り飲料（特許文献7）
- 脱毛を防ぐ目的の栄養補助食品（特許文献8）
- がん予防の特性を有する栄養補助食品（特許文献9）
- ストレス症状の緩和のための栄養補助食品（特許文献10）

このような状況においては、中温性の細菌および菌類に由来する生成物は、非常に重要視されている。栄養補助食品としての経口適用、および、消化管疾病の予防および治療を目的とした組成物への極限微生物または適合溶質または適合溶質を含む微生物抽出物の利用は、今まで知られていない。

【特許文献1】欧州特許出願公開第1315473号明細書

【特許文献2】独国特許出願公開第10044985号明細書

【特許文献3】欧州特許出願公開第0671161号明細書

【特許文献4】米国特許出願公開第2003/0257040号明細書

【特許文献5】欧州特許出願公開第1127141号明細書

【特許文献6】英国特許出願公開第2026028号明細書

【特許文献7】中国特許出願公開第1117824号明細書

【特許文献8】米国特許第5122369号明細書

【特許文献9】カナダ国特許出願公開第2419066号明細書

【特許文献10】欧州特許出願公開第1383525号明細書

【非特許文献1】Goeller & Galinski, J.Molec. Catalysis B: 1999, 7, 37-45

【非特許文献2】Buenger & Driller, Skin Pharmacol Physiol 2004; 17:232-237

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

細胞レベルでの適合溶質の保護効果は、細胞培養においては、低濃度（ ≤ 1 mM）でも達成可能である（非特許文献2）。それにもかかわらず、皮膚の保護効果は高濃度でなければ達成できないのだが、これは、最初に外皮の撥水性で無極性の角質層を克服しなければならず、皮膚での適合溶質の吸収率がごく小さいことに起因する。

【課題を解決するための手段】

【0010】

経口摂取の場合には、エクトインのはるかに優れた吸収により、消化管の細胞を、直接的に保護することが期待できる。

【0011】

下記に詳細を述べるこれらの作用については、特に、人および動物の栄養および健康状態に好ましい影響を与えることを目的とする栄養補助食品および医薬用製剤の製造、および、極限微生物または極限微生物のバイオマスから得られる適合溶質の市販により、商業的に利用することができる。

【0012】

上記に鑑みて、本発明は、予防および治療用、さらには、栄養補助食品用に適合溶質を

使用する方法に関する。

【0013】

したがって、本発明の目的は、最初に述べたように、消化器疾患およびアミロイド病の予防および治療のため適合溶質を使用する方法に関する。

【0014】

本発明の別の目的は、最初に述べた適合溶質を、ビタミン、ミネラル栄養素、および／または通常用いられる添加剤と共に含んでいる製剤である。本発明の別の目的は、適合溶質の含有量を適切に有する食品または食物である。

【0015】

本発明の目的は、また、適合溶質を産生または濃縮する微生物を含む組成物でもある。

【0016】

本発明の好ましい実施の態様は、従属請求項の主題である。

【0017】

本発明にしたがった適合溶質は、特に、最初に述べた種類である。本発明に従った適合溶質としては、エクトインおよびヒドロキシエクトインが好ましい。

【0018】

驚くべきことに、「適合溶質」、特にエクトインの経口摂取によって、慢性的に炎症を起こしやすい消化器疾患に好ましい影響を与えることが、見出された。クローン病のマウスモデルを用いた場合、マウスに「適合溶質」を与える経口代替により、炎症の重症度および継続期間に、好ましい影響を与えたことが立証できた。さらには、慢性的な炎症を引き起こす消化器疾患に典型的に採用されるTH-2/TH-1アプローチが、ある程度、「適合溶質」によって回避されるであろうことも、免疫学的検査によって示されている。しかしながら、「適合溶質」の好ましい効果は、慢性的な炎症を引き起こす消化器疾患の症状の緩和にのみ限定されるものではなく、加えて、顕著な予防可能性という特徴を有する。例えば、動物モデルにおいて、例えば、漂白剤として食物に加えられた粒子状物質などのある食品成分によって誘発された慢性的な炎症疾患が、予防の目的で、最初に「適合溶質」を動物に経口投与により処置をした場合に、顕著に抑制できた。こういった予防効果のみならず治療効果もまた、腸上皮細胞だけでなく、発症の原因とみなされるヘルパーTリンパ球を対象とする「適合溶質」の抗炎症性に、主に起因していると考えられる。

【0019】

適合溶質は、タンパク質を安定化させ、タンパク質の凝集を妨げることが知られている (Andersson et al. (2000) Biotechnol Appl Biochem 32 (Pt 3), 145-153; Borges et al. (2002) Extremophiles 6, 209-216)。さらには、適合溶質、特にエクトインは、生体内において、タンパク質の沈着、いわゆるアミロイド原線維の形成を阻害することも知られている (Arora et al. (2004) FEBS Lett 564, 121-125)。

【0020】

アミロイド原線維は、逆平行に折りたたまれた β -葉状構造からなり、アルツハイマー病、II型糖尿病、パーキンソン病、AAアミロイド症、ALアミロイド症およびATTRアミロイド症、医源性インスリン依存アミロイド症およびタンパク質の沈着に関係する多くの他の疾病などの深刻な疾病を特徴としている。

【0021】

予想外にも、適合溶質であるエクトイン、ヒドロキシエクトインおよびフィロインAの経口適用を含むマウスを用いた研究により、適合溶質がアミロイド斑の形成を低減させられることが判明した。同様に、適合溶質の投与によって、神経病理学的作用の発現も低減させられた。動物に「適合溶質」を経口投与する以前に予防目的で処置を行っていた場合には、アミロイド病の発症が動物モデルにおいて顕著に阻害された。こういった予防効果は、やはり治療効果と同様に、主として「適合溶質」のアミロイド阻害性に起因すると考えられている。

【0022】

驚くべきことに、適合溶質であるエクトインの、とりわけ極端な（例えば高塩分の）環

境で起こる、微生物作用を含む生産過程が、食物中でも起こることも見いだされた。それゆえ、ハルツァー(Harzer)チーズまたはリンバーガー(Limburger)チーズなどのある種のチーズの表面で、相当な十分に検出できるエクトイン濃度を示すことが証明できた。エクトインは、上記チーズの種類の内部でも検出された。このことは、例えばエクトインなどの極限微生物由来の適合溶質が、何世紀もの間、人間の食物連鎖の一部となってきたという新発見を立証するものである。

【0023】

本発明によれば、適合溶質、特にエクトインおよびヒドロキシエクトイン、もしくは、栄養補助食品または適合溶質を含む微生物、特に、

ブレビバクテリウム種(Brevibacterium spec.)、

ハロモナス種(Halomonas spec.)、

ロドサーマス種(Rhodothermus spec.)、

ピロコッカス種(Pyrococcus spec.)、

マリノコッカス種(Marinococcus spec.)、

の製剤が消化器疾患の治療用の医薬品として用いられる、経口投与される医薬品の形態が記載されている。態様によって本発明の範囲を限定するものではないが、医薬品の形態は、適合溶質の物理化学的性質により、例えば、混合粉末、錠剤、ペースト、または濃縮溶液、微生物の抽出液、生きているまたは死んでいる微生物、それらの混合物の形態、あるいは純粋な物質としてのいずれでも構わない。

【0024】

他の物質との組合せもまた、互いに悪影響を与えない限り、あり得る。したがって、経口用の組成物では、適合溶質または適合溶質を含む微生物の製剤を、アイスランドコケ、ランピオン、シナモン、ノコギリソウ、八角、セージ、ローズマリー、ピメント、ペパーミント、オレガノ、クローブ、タンポポ、ラビッジ、ラベンダー、ラズベリー、ショウガ、カモミール、カルダモン、コリアンダー、キャラウェイ、クルクマ、バジル、サマーサボリーなどのハーブおよび果物の抽出物と組み合わせても差し支えない。さらには、経口用の組成物を含む適合溶質を、月見草油、サーモン油および他の魚油などの天然油と組み合わせても構わない。適合溶質または適合溶質を含む製剤と組み合わせても良い他の物質としては、ミネラル（亜鉛、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、セレンウム、クロミウム、鉄、コバルト、銅、マンガン、ケイ素）、ビタミン（ビタミンA、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンE、ビタミンK、ビタミンB1、ビタミンB2、ナイアシン、ビタミンB6、パントテン酸、ビオチン、葉酸、ビタミンB12、ビタミンC）、L-カルニチンおよびイソフラボンが挙げられる。

【0025】

適合溶質は、固形食物と組み合わせても構わない。これは、例えば溶質を高濃度の水溶液に混合し、続いて乾燥する場合に、特に好都合である。熱安定性であることから、菓子パン(pastry)へ利用もまた可能である。

【0026】

このような状況における適合溶質の濃度は、0.01～50%の範囲である。通常の一日の投与量は、体重1kg当たり1～2000mgの範囲であり、該当する用途に適するように、大幅に変化させても構わない。

【0027】

適合溶質を含む組成物は、錠剤、糖衣錠、カプセル、粉末、顆粒、トローチ剤、水溶液、液体アンプルおよび座薬であって差し支えない。組成物は、微生物および適合溶質を含む微生物の抽出物および製剤であっても構わない。特に、組成物は、食品の抽出物および食物中で生じる微生物の抽出物および生成物を含んでも構わない。この場合の適合溶質の量は、活性物質の投与単位（適用／投与単位）が少なくとも100mg、便宜上は200～500mgになる。

【0028】

本発明によれば、エクトイン、ヒドロキシエクトイン、マンノシルグリセリン酸、マン

ノシルグリセルアミド、リン酸ジグリセロール)、環状ジホスホグリセリン酸、プロリン、プロリンペタインおよびジ-myo-イノシトールリン酸などの経口用の適合溶質を、微生物および他の生物源から得ても構わない。微生物は、ブレビバクテリウム属、ビブリオ属、バチルス属、ハロモナス属、プラノコッカス属、スポロサルシナ属(Sporosarcina)、およびマリノコッカス属に属していても構わない。特に好ましいのは、エクトインおよびヒドロキシエクトインを産生し、また、ブレビバクテリウム・リネンス(Brevibacterium linens)、ブレビバクテリウム・カセイ(Brevibacterium casei)、ビブリオ・コスティコラ(Vibrio costicola)、ハロモナス・エロンガータ(Halomonas elongata)などの食品中に発見される微生物の使用である。物質を、水、揮発性物質および／または細胞を安定化させる効果を有する物質を含む洗液で細胞を処理することにより、得てもよい。経口適用のための組成物を、洗浄し、乾燥した細胞から生成する方法、または、浸透圧衝撃により細胞から単離する方法のどちらかで構わない。

【0029】

あるいは、適合溶質は、化学合成によって生成しても良い。

【0030】

本発明が提供するように、適合溶質および適合溶質を含む極限微生物由来の製剤は、栄養補助食品、治療食、または完全栄養食の補助として、および、疾病、特に、クローン病などの消化官の疾病の予防および治療用に用いて構わない。

【0031】

本発明のさらなる実施の態様は、適合溶質を含む食料から得られる抽出物および濃縮物の使用方法に関する。

【0032】

いずれにしても、本発明は、先に定義した適合溶質が、特に消化管に関し、多くの身体機能および代謝過程に好ましい影響を与える活性物質として適しているという事実に基づいている。したがって、本発明の目的は、栄養補助食品としておよび医療上の予防および治療分野で活性物質を使用する方法である。