

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6044540号
(P6044540)

(45) 発行日 平成28年12月14日(2016.12.14)

(24) 登録日 平成28年11月25日(2016.11.25)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 31/7076 (2006.01)	A 6 1 K 31/7076
A 6 1 K 47/38 (2006.01)	A 6 1 K 47/38
A 6 1 K 9/19 (2006.01)	A 6 1 K 9/19
A 6 1 K 36/06 (2006.01)	A 6 1 K 36/06
A 6 1 K 47/42 (2006.01)	A 6 1 K 47/42

請求項の数 6 (全 14 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-528937 (P2013-528937)
 (86) (22) 出願日 平成24年7月20日(2012.7.20)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2012/068492
 (87) 国際公開番号 W02013/024663
 (87) 国際公開日 平成25年2月21日(2013.2.21)
 審査請求日 平成27年5月8日(2015.5.8)
 (31) 優先権主張番号 特願2011-176921 (P2011-176921)
 (32) 優先日 平成23年8月12日(2011.8.12)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)
 (31) 優先権主張番号 特願2011-176922 (P2011-176922)
 (32) 優先日 平成23年8月12日(2011.8.12)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 000004466
 三菱瓦斯化学株式会社
 東京都千代田区丸の内2丁目5番2号
 (74) 代理人 100078732
 弁理士 大谷 保
 (72) 発明者 高野 健太郎
 新潟県新潟市北区太夫浜新割182番地
 三菱瓦斯化学株式会社新潟研究所内
 (72) 発明者 我山 真典
 新潟県新潟市北区太夫浜新割182番地
 三菱瓦斯化学株式会社新潟研究所内
 審査官 砂原 一公

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 保存安定性に優れたS-アデノシル-L-メチオニン含有組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

S-アデノシル-L-メチオニンと、ヒドロキシプロピルセルロース、大豆多糖類、カゼインナトリウム及びツェインから選ばれる少なくとも1種の添加物とを含有する組成物であり、S-アデノシル-L-メチオニンが、S-アデノシル-L-メチオニン生産能を有する微生物を培養して得られたS-アデノシル-L-メチオニン含有菌体から抽出されたものであり、該組成物中の該添加物の含有量が、該組成物中のS-アデノシル-L-メチオニンに対する質量比として0.05~15倍量の範囲である、組成物。

【請求項2】

前記微生物が、サッカロマイセス属に属する微生物である、請求項1に記載の組成物。

10

【請求項3】

前記サッカロマイセス属に属する微生物がサッカロマイセス・セレビジエである、請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

前記組成物が固体である、請求項1~3のいずれかに記載の組成物。

【請求項5】

請求項4に記載の組成物を用いて成型された成型体。

【請求項6】

S-アデノシル-L-メチオニンと、ヒドロキシプロピルセルロース、大豆多糖類、カゼインナトリウム及びツェインから選ばれる少なくとも1種の添加物とを含有する組成物の

20

製造方法であって、S - アデノシル - L - メチオニン生産能を有する微生物を培養して得られたS - アデノシル - L - メチオニン含有菌体から抽出されたS - アデノシル - L - メチオニン含有抽出液に、該添加物を、該S - アデノシル - L - メチオニン含有抽出液中のS - アデノシル - L - メチオニンに対する質量比として0.05 ~ 15倍量の範囲で混合し、得られた混合物を乾燥させる、組成物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、水溶性の生理活性物質として有用なS - アデノシル - L - メチオニンを高濃度に含む保存安定性に優れた組成物、該組成物を用いた成型体及び該組成物の製造方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

S - アデノシル - L - メチオニン（以下、S A M e と記す）は、生体内に広く存在する。S A M e は、核酸、神経伝達物質、リン脂質、ホルモン、タンパク質などの合成・代謝にて種々のトランスメチラーゼによるメチル化反応のメチル基供与体として重要な役割を演じている水溶性の生理活性物質である。S A M e は、人体の殆ど全ての細胞に見られ、様々な生化学反応における共同因子として働き、メチル基転移、硫黄基転移、及びアミノプロピル基転移の3つの代謝経路により代謝される。例えば、軟骨の維持や脳内物質の合成に欠かすことの出来ない物質である。近年のS A M e の機能研究より脂肪肝、高脂血症、動脈硬化症、不眠症、アルコール性肝炎、老人性痴呆症などに対する治療効果についても報告されている。このようにS A M e は、重要な生理活性物質であり、欧米諸国において鬱病、肝臓疾患及び関節炎等の治療薬、或いは健康食品として広く利用されている。

20

【0003】

そのため、S A M e を安価で、簡便に製造供給することが強く望まれる。従来、S A M e の製造方法としては、前駆物質であるL - メチオニンを含有させた培地を用いて醗酵生産する方法、微生物より単離精製したS A M e 合成酵素（メチオニンアデノシルトランスフェラーゼ）を用い、アデノシン5' - 三リン酸（A T P）とL - メチオニンを基質としてS A M e を酵素的に合成する方法及び合成法による方法などが知られている。

酵素的合成法については、微生物より単離精製したS A M e 合成酵素（メチオニンアデノシルトランスフェラーゼ）を用い、アデノシン5' - 三リン酸（A T P）とL - メチオニンを基質としてS A M e を酵素的に合成する方法である。この方法は、醗酵法と比べ、S A M e の生成量が多く、菌体からのS A M e 抽出操作が必要ないなどの利点がある。しかしながら、酵素の調製が煩雑であること、得られる酵素の活性が微弱であること、A T P 分解酵素等の妨害物質を除去する必要があること、さらには、基質であるA T P が極めて高価であるなど様々な問題を有し、必ずしも実用的な方法とは成り得なかった。

30

また、近年の遺伝子工学の発展により、クローン化したS A M e 合成酵素遺伝子を用いることによって該酵素の調製がより簡便になり、酵素調製の問題は解決されつつある。しかしながら、依然として高価なA T P を基質として使用する必要があるなど、他の実用上の問題は解決されていない。

40

【0004】

また、S A M e は熱的に不安定で常温においても容易に分解する性質を有することから、医薬品、健康食品として使用する際の大きな障害となっている。その対策として、保存安定性の向上を目的とした多くの試みがなされてきた。例えば、前述した製造方法で得られたS A M e の組成物をクロマトグラフィー等により精製した後、硫酸やp - トルエン sulfon酸との塩、又はブタンジ sulfon酸との塩等にするによりS A M e の安定化をはかる方法、または、精製したS A M e に添加物処理を行い、S A M e 組成物として安定化をはかる方法が一般的である。しかしながら、多くの手間と費用を要するため、治療薬や健康食品として重要なS A M e を安価に製造し提供することは極めて困難なことであった。

50

【 0 0 0 5 】

そして近年、S A M e をより安価で、精製工程が少なく、簡便に製造できる S A M e 生産能を有し且つ経口摂取が可能な微生物を用いた S A M e 含有微生物（例えば、非特許文献 1 参照）、S A M e 含有微生物エキスについて研究が行われている（例えば、特許文献 1 ~ 4、非特許文献 2 参照）。しかし、現状で S A M e 含有微生物エキスは、精製した S A M e、S A M e 組成物に比べ保存安定性が低いことが問題となっている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【 0 0 0 6 】

【特許文献 1】特開 2 0 0 5 - 2 2 9 8 1 2 号公報

10

【特許文献 2】特開 2 0 0 8 - 0 1 2 4 6 4 号公報

【特許文献 3】国際公開第 2 0 0 9 / 0 8 1 8 3 3 号

【特許文献 4】特許第 4 4 7 9 9 3 2 号公報

【特許文献 5】国際公開第 2 0 1 1 / 1 2 6 0 3 0 3 号

【非特許文献】

【 0 0 0 7 】

【非特許文献 1】Schlenk F., DePalma R.E., J.Biol.Chem. 1037-1050(1957)

【非特許文献 2】Biochemica et Biophysica Acta, 1573, 105-108(2002)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

20

【 0 0 0 8 】

本発明の目的は、S A M e を高濃度に含む保存安定性に優れた組成物及び該組成物を低コストで簡便に製造できるプロセス該組成物を用いた成型体を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 9 】

本発明の発明者等は、上記課題を解決するべく、S A M e を高濃度に含有し、かつ安定な状態で長期間保存できる組成物について鋭意検討した結果、S A M e 含有酵母菌体と、特定の増粘剤を含有する S A M e 含有乾燥酵母組成物が保存安定性に優れることを見出し、特許出願している（特許文献 5 参照）。しかしながら、S A M e 含有酵母菌体から抽出された S A M e 含有抽出物を含有する組成物については、検討されていなかった。

30

そこで、本発明者等は、S A M e 含有抽出物を利用し、S A M e を高濃度に含有し、かつ安定な状態で長期間保存できる性能的に優れた組成物、及び該組成物を経済的に生産できる方法について鋭意検討した結果、以下に示す項目によって、解決できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【 0 0 1 0 】

〔 1 〕 S - アデノシル - L - メチオニンと、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、大豆多糖類、カゼインナトリウム及びツェインから選ばれる少なくとも 1 種の添加物とを含有する組成物であり、S - アデノシル - L - メチオニンが、S - アデノシル - L - メチオニン生産能を有する微生物を培養して得られた S - アデノシル - L - メチオニン含有菌体から抽出されたものであり、該組成物中の該添加物の含有量が、該組成物中の S - アデノシル - L - メチオニンに対する質量比として 0 . 0 5 ~ 1 5 倍量の範囲である、組成物。

40

〔 2 〕 前記微生物が、サッカロマイセス属に属する微生物である、前記〔 1 〕に記載の組成物。

〔 3 〕 前記サッカロマイセス属に属する微生物がサッカロマイセス・セレビジエである、前記〔 2 〕に記載の組成物。

〔 4 〕 前記組成物が固体である、前記〔 1 〕 ~ 〔 3 〕のいずれかに記載の組成物。

〔 5 〕 前記〔 4 〕に記載の組成物を用いて成型された成型体。

〔 6 〕 S - アデノシル - L - メチオニンと、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、大豆多糖類、カゼインナトリウム及びツェインから選ばれる少なくとも

50

1種の添加物とを含有する組成物の製造方法であって、S-アデノシル-L-メチオニン生産能を有する微生物を培養して得られたS-アデノシル-L-メチオニン含有菌体から抽出されたS-アデノシル-L-メチオニン含有抽出液に、該添加物を、該S-アデノシル-L-メチオニン含有抽出液中のS-アデノシル-L-メチオニンに対する質量比として0.05~15倍量の範囲で混合し、得られた混合物を乾燥させる、組成物の製造方法。

【発明の効果】

【0011】

本発明により、高濃度にSAMeを含み保存安定性に優れる組成物、該組成物を経済的に生産できる方法、及び該SAMe含有組成物を用いた成型体を提供することが可能となる。

10

また、本発明により得られる該SAMe含有組成物は、生体吸収性にも優れる。

【発明を実施するための形態】

【0012】

本発明の組成物は、SAMeと、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、大豆多糖類、カゼインナトリウム及びツェインから選ばれる少なくとも1種の添加物とを含有する組成物であり、SAMeが、SAMe生産能を有する微生物を培養して得られたSAMe含有菌体から抽出されたものであり、該組成物中の該添加物の含有量が、該組成物中のSAMeに対する質量比として0.05~15倍量の範囲であることを特徴とする。

20

以下、本発明について詳細に説明する。

【0013】

本発明の保存安定性に優れ高濃度にSAMeを含む組成物は、微生物を培養して得られたSAMe含有微生物菌体から抽出して得られたSAMeと特定の添加物とを含有する。

なお、SAMeを含む組成物には、5'-ヌクレオチド、遊離アミノ酸、抗酸化作用を有し肝機能改善に役立つグルタチオン、免疫力の増進作用や整腸作用を有するD-グルカンや食物繊維などの有用成分が多く含まれており、健康食品等として広く利用されている。

【0014】

本発明に使用される微生物の種類は、SAMe生産能を有し且つ経口摂取可能なものであればよく、例えばサッカロマイセス(Saccharomyces)属、キャンディダ(Candida)属、ピキア(Pichia)属、ムコアー(Mucor)属、リゾパス(Rhizopus)属、ブレバクテリウム(Brevibacterium)属、コリネバクテリウム(Corynebacterium)属、エシェリヒア(Escherichia)属、ストレプトマイセス(Streptomyces)属などに属する微生物が挙げられる。このうち、サッカロマイセス属に属する微生物が好ましく、特に、サッカロマイセス・セレビジエがより好適である。

30

微生物を培養する際に使用する炭素源は、微生物が資化し得るものであれば特に制限はなく、例えば、グルコース、蔗糖、澱粉、麩糖蜜等の炭水化物、エタノール等のアルコール、又は酢酸等の有機酸が挙げられる。窒素源も、使用する微生物が資化し得るものであれば特に制限はなく、例えば、アンモニア、硝酸、尿素等の無機体窒素化合物、又は微生物エキス、麦芽エキス等の有機体窒素化合物を含むものが挙げられる。また、無機塩類としては、リン酸、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、カルシウム、鉄、亜鉛、マンガン、コバルト、銅、モリブデン等の塩が用いられる。さらには、SAMeの骨格構成にあずかるメチオニン、アデニン、アデノシルリボヌクレオシドを添加し培養することもできる。

40

【0015】

培養温度及び培養液のpHは使用する微生物の種類によって異なるが、培養温度としては20~35の範囲を、培養液のpHとしてはpH4~7の範囲を上げることができる。

また、菌体内のSAMe含量を高めるには、好氣的に培養することが好ましい。培養槽は、通気可能で必要に応じ攪拌できるものであればよく、例えば、機械的攪拌培養槽、工

50

アーリフト式培養槽及び気泡塔型培養槽等を利用することができる。

培地の供給方法は、炭素源、窒素源、各種無機塩類、各種添加剤等を、一括若しくは個別に連続的又は間欠的に供給する。例えば、蔗糖、エタノール等の基質は他の培地成分との混合物として培養槽に供給してもよく、また他の培地成分とは別に独立して培養槽に供給してもよい。

培養液のpH制御は、酸、アルカリ溶液によって行われる。アルカリとしては窒素源として使用されるアンモニア、尿素、又は非窒素系塩基、例えば、苛性ソーダ、苛性カリ等を用いてpH制御するのが望ましい。酸としては無機酸、例えば、リン酸、硫酸、硝酸、又は有機酸が用いられる。なお、無機塩類であるリン酸塩、カリウム塩、ナトリウム塩、硝酸塩等を用いてpH制御することもできる。

10

【0016】

このような条件で培養し、目標量のS A M eが微生物菌体中に蓄積された段階で培養液を抜き出し微生物菌体を分離する。分離方法としては、菌体の分離と洗浄が効率的に行える方法であれば特に制限はないが、向流型のイーストセパレーターや分離膜を用いた限外濾過装置が好適な例として挙げられる。

【0017】

ついで、分離した微生物菌体からS A M eを抽出し、S A M eを含有する抽出液を得た後、当該抽出液に添加物を添加混合処理して液状の組成物とする。

S A M eを含有する抽出液を得る方法としては、分離した微生物菌体の分離濃縮物に対して、タンパク質分解酵素、細胞壁溶解酵素などを添加して抽出する方法、微生物中の酵素を利用して自己消化により抽出する方法、高圧分散処理等の高圧粉碎により抽出する方法、鉱酸、有機酸を添加する混合する方法、加熱処理する方法等が挙げられる。

20

S A M eを含有する抽出液は、S A M eを含有する微生物菌体と比べて、固形分が少なく、水に分散、溶解させ易く、食品、調味料などへ容易に添加することができる。また、S A M e成分の濃縮が可能である。

【0018】

本発明で使用する添加物としては、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、大豆多糖類、カゼインナトリウム及びツェインから選ばれる少なくとも1種である。これらの添加物は単独で又は2種以上を組み合わせる用いることができる。このうちカルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、大豆多糖類がより好ましい。

30

大豆多糖類は、ヘミセルロースを主成分とする水溶性多糖類であり、ガラクトース、アラビノース、ガラクトツロン酸、キシロース、フコース、ラムノース等の糖から構成された多糖類あり、具体的にはフロイント産業株式会社製の市販品(商品名「ヘミロース」)を好適に用いることができる。ツェインとは、トウモロコシ由来のタンパク質であり、該タンパク質加水分解物又はナトリウム塩やカリウム塩等の塩を使用してもよい。本発明において、特定の添加物を用いることで、組成物中のS A M eの保存安定性が向上し、さらにはS A M eの生体吸収性が向上する。本発明で使用する添加物は、食品、化粧品、医薬品用途で汎用されており、安全に使用することができる。これらの添加物は、適宜合成したものを使用してもよいし、市販品を使用してもよい。

40

【0019】

添加物の添加量としては、乾燥前S A M e含有抽出液中S A M eに対しての質量比として0.05~1.5倍量の範囲であるようにすることが必要であり、0.1~13.5倍量の範囲であるようにすることが好ましく、0.15~13.5倍量の範囲であるようにすることがより好ましい。添加物の前記添加量が0.05倍量を下回ると組成物中のS A M eの保存安定性が不十分となり、1.5倍量を超えると無駄であるばかりか該組成物中のS A M eの保存安定性が用量依存的に低下する傾向を示す。

【0020】

S A M e含有抽出液と添加物との混合時間は、1分~24時間の範囲であることが好ましい。1分を下回ると組成物中のS A M eの保存安定性が不十分となり、24時間を超え

50

ると無駄であるばかりか、該組成物中のSAMe成分の減少が起こる可能性ある。混合中に該組成物中のSAMeの保存安定性、さらには生体吸収性が増し、また後述する該組成物の乾燥工程での歩留まりも向上、またSAMeを含有する組成物独特の臭気もマスキングされる。

【0021】

添加物の添加混合処理を行った後に、液状の組成物を乾燥させることにより水分を蒸発させて、固体の乾燥組成物となす。乾燥方法としては、スプレードライヤによる噴霧乾燥法、凍結乾燥法等の方法が挙げられる。

乾燥条件としては、噴霧乾燥法では、入口温度210以下、出口温度110以下にて乾燥させることが望ましい。凍結乾燥法では、最終棚温度30以下にて乾燥させることが望ましい。本発明の乾燥組成物は、保存安定性の観点から、その水分含量が5.0質量%以下、好ましくは3.0質量%以下、より好ましくは1.0質量%以下になるようにすることが望ましい。

10

【0022】

組成物中の添加物の含有量としては、組成物中のSAMeに対する質量比として0.05~15倍量の範囲であり、0.1~13.5倍量の範囲であることが好ましく、0.15~13.5倍量の範囲であることがより好ましい。添加物の前記含有量が0.05倍量を下回ると組成物中のSAMeの保存安定性が不十分となり、15倍量を超えると該組成物中のSAMeの保存安定性が用量依存的に低下する傾向を示す。

組成物中のSAMeの含有量としては、組成物の乾燥質量に対して1質量%以上であることが好ましく、3質量%以上であることがより好ましく、8質量%以上であることが更に好ましい。

20

【0023】

得られた乾燥組成物は固体であり、容易に成型加工することができる。この乾燥SAMe含有組成物を用いて成型された成型体は種々の用途に使用される。例えば、乾燥SAMe含有組成物を破碎して粉末状にしたり、粉末状のSAMe含有組成物に必要な応じて他の生理活性成分や賦形剤等の添加剤を加えた後に圧縮打錠し錠剤状の組成物となし、さらに、その表面を被覆したりすることもできる。また、粉体を顆粒状に造粒することや、粉体や造粒した顆粒を詰めてカプセル化することもできる。

【実施例】

30

【0024】

以下、本発明を実施例及び比較例を以てさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの例に依って限定されるものではない。

【0025】

実施例1-1~1-3

(a) 微生物菌体の培養

前述した公知の培養法に従って、L-メチオニン含有培地(Shiozaki S., et al., J. Biotechnology, 4, 345-354 (1986))にサッカロマイセス属に属する微生物サッカロマイセス・セレビジエIFO2346を接種し、培養温度27~29で好氣的に通気攪拌通気しながら6日間培養した。その結果、菌体濃度3.5質量%、SAMe含量205mg/gの微生物菌体培養液18Lを得た。

40

(b) 微生物菌体の集菌

上記の微生物菌体培養液18Lを連続ロータリー型遠心分離器(日立HIMAC CENTRIFUGE CR10B2)で処理し、菌体濃度が乾物換算で18質量%に相当する液状の微生物菌体濃縮物3.4kgを得た。

(c) 微生物菌体濃縮物からSAMeを含有する抽出液の抽出

上記の微生物菌体濃縮物3.4kgに50質量%硫酸を添加してpHを3.5に調整した。該微生物菌体濃縮物を50に30分間加熱攪拌後、直ちに遠心管に移し替え、遠心分離器(日立HIMAC CENTRIFUGE CR10B2)にて冷却遠心分離処理後、上清液をSAMe含有抽出液として回収した。

50

【0026】

(d) S A M e 含有抽出液へ添加物の添加

上記の S A M e 含有抽出液にヒドロキシプロピルセルロース（和光純薬工業株式会社製）（以下、H P C と略す）を、表 1 に示すように乾燥前 S A M e 含有抽出液中 S A M e に対する質量比として 0 . 1 9、1 . 9 2、1 3 . 4 6 倍量加えて、室温にて 3 0 分間攪拌混合し、H P C を添加した液状の S A M e 含有組成物を得た。

【0027】

(e) S A M e 及び添加物を含有する乾燥組成物の製造

上記の H P C を添加した液状の S A M e 含有組成物を凍結乾燥器（日本真空技術株式会社製）の凍結乾燥用ステンレステーに流し込み - 5 0 で凍結した後、最終棚段温度 2 5 の条件で 3 6 時間凍結乾燥した。得られた乾燥組成物（固体）をさらに粉碎することによって、S A M e 及び H P C を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。

得られた乾燥組成物を密閉ガラス容器中に詰め、4 0 、R H 7 5 % での加速試験条件下で保存安定性試験を行った。表 1 に 4 0 、R H 7 5 % での加速保存安定性試験結果を示した。なお、S A M e 残存率は、乾燥組成物より過塩素酸を用いた公知の方法で S A M e を抽出し、液体クロマトグラフィーを用いた比較定量法にて実施した。保存後の臭気の有無については 5 名のパネラーによる官能検査にて求めた。

本発明の S A M e 測定では、以下の条件の液体クロマトグラフィーを使用した。

用いられた分析条件：

カラム：ナカライテスク（nacalai tesque）株式会社製、商品名 C O S M O S I L、4 . 6 × 1 0 0 mm

溶離液：0 . 2 M K H ₂ P O ₄ 水溶液 / メタノール = 9 5 / 5 （質量比）

流速：0 . 7 m L / 分、検出器：U V （2 6 0 n m）、S A M e 保持時間：約 1 5 0 秒

【0028】

比較例 1

S A M e 含有抽出液へ添加する H P C を、乾燥前 S A M e 含有抽出液中 S A M e に対する質量比として 0 . 0 2 倍量加えた以外は、実施例 1 - 1 ~ 1 - 3 と同様に処理して、凍結乾燥を経て、S A M e 及び H P C を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、4 0 、R H 7 5 % の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 1 に示す。

【0029】

実施例 1 - 4

実施例 1 - 1 ~ 1 - 3 の (a) から (c) と同様にして得られた S A M e 含有抽出液について、(d) の操作にて H P C を該抽出液中 S A M e に対する質量比として 0 . 1 9 倍量加える操作を行い、室温にて 3 0 分間攪拌混合し、H P C を添加した液状の S A M e 含有組成物を得た。

得られた H P C を添加した液状の S A M e 含有組成物を微粒子化装置として二流体ノズルを有するミニスプレードライヤ B - 2 9 0 （メトローム社製）を用いて、乾燥室の入口温度 1 3 5 、出口温度 8 0 、通液速度 1 . 2 g / 分の条件にて噴霧乾燥し、S A M e 及び H P C を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、密閉ガラス容器中、4 0 、R H 7 5 % の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 2 に示す。

【0030】

実施例 2

S A M e 含有抽出液へ添加する添加物としてカルボキシメチルセルロースを乾燥前 S A M e 含有抽出液中 S A M e に対する添加物の質量比として 0 . 1 9 倍量加えた以外は、実施例 1 - 1 ~ 1 - 3 と同様に処理して、凍結乾燥を経て、S A M e 及びカルボキシメチルセルロースを含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、4 0 、R H 7 5 % の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 1 に示す。

【 0 0 3 1 】

実施例 3 - 1 ~ 3 - 3

S A M e 含有抽出液へ添加する添加物を大豆多糖類（フロイント産業社製、製品名「ヘミロース」）に変更した以外は、実施例 1 - 1 ~ 1 - 3 と同様に処理して、凍結乾燥を経て、S A M e 及び大豆多糖類を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40%、RH 75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 1、及び表 2 に示す。

【 0 0 3 2 】

比較例 2

S A M e 含有抽出液へ添加する大豆多糖類（フロイント産業社製、製品名「ヘミロース」）を乾燥前 S A M e 含有抽出液中 S A M e に対しての添加物の質量比として 0.02 倍量加えた以外は、実施例 1 - 1 ~ 1 - 3 と同様に処理して、凍結乾燥を経て、S A M e 及び大豆多糖類を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40%、RH 75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 1 に示す。

10

【 0 0 3 3 】

実施例 3 - 4

S A M e 含有抽出液へ添加する添加物を大豆多糖類（フロイント産業社製、製品名「ヘミロース」）に変更した以外は、実施例 1 - 4 と同様に処理して、噴霧乾燥を経て、S A M e 及び大豆多糖類を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40%、RH 75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 2 に示す。

20

【 0 0 3 4 】

比較例 3 - 1

S A M e 含有抽出液へ添加物を添加しなかったこと以外は、実施例 1 - 1 ~ 1 - 3 と同様に処理して、凍結乾燥を経て S A M e を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び得られた該組成物の密閉ガラス容器中、40%、RH 75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 1 に示す。

【 0 0 3 5 】

比較例 3 - 2

S A M e 含有抽出液へ添加物を添加しなかったこと以外は、実施例 1 - 4 と同様に処理して、噴霧乾燥を経て、S A M e を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40%、RH 75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 2 に示す。

30

【 0 0 3 6 】

比較例 4 ~ 9

S A M e 含有抽出液へ添加する添加物を、それぞれ表 1 に示すトレハロース、クエン酸、E D T A、D L - リンゴ酸、ガラクトース又は α -シクロデキストリンに変更し、該添加物を乾燥前 S A M e 含有抽出液中 S A M e に対しての添加物の質量比として 2.31 倍量加えた以外は、実施例 1 - 1 ~ 1 - 3 と同様に処理して、凍結乾燥を経て、S A M e 及び添加物を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び密閉ガラス容器中、40%、RH 75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表 1 に示す。

40

【 0 0 3 7 】

比較例 10 ~ 13

S A M e 含有抽出液へ添加する添加物をそれぞれ表 1 に示すセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、タマリンドガム、又はシェラックに変更し、該添加物を乾燥前 S A M e 含有抽出液中 S A M e に対しての添加物の質量比として 0.19 倍量加えた以外は、実施例 1 - 1 ~ 1 - 3 と同様に処理して、凍結乾燥を経て、S A M e 及び添加物を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中の S A M e 含量、及び密閉ガラス容器中、

50

40、RH75%の加速条件下での該組成物の保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表1に示す。

【0038】

【表1】

表1

例	添加物	乾燥前SAmE含有抽出液中SAmEに対するの添加物の質量比	試験開始時のSAmE含有組成物中のSAmE含量(質量%)	保存安定性試験 SAmE含有組成物中の SAmE残存率			60日後の 異臭の有無*
				経過日数			
				30日後	45日後	60日後	
比較例3-1	無	0.00	10.5	1.9%	0.0%	0.0%	×
比較例4	トレハロース	2.31	10.3	47.2%	18.3%	0.0%	×
比較例5	クエン酸		10.8	58.2%	26.5%	3.5%	×
比較例6	EDTA		10.4	61.3%	29.7%	5.4%	×
比較例7	DL-リンゴ酸		10.7	49.7%	21.6%	2.3%	×
比較例8	ガラクトース		10.5	42.1%	14.1%	0.0%	×
比較例9	γ-シクロデキストリン		10.6	98.5%	98.6%	45.5%	△
比較例10	セルロース		0.19	17.0	99.7%	92.6%	85.2%
比較例11	ヒドロキシプロピル メチルセルロース	16.5		99.7%	87.5%	70.3%	○
比較例12	タマリンドガム	15.9		99.7%	84.8%	68.3%	○
比較例13	シェラック	17.3		99.7%	99.7%	99.4%	○
比較例1	ヒドロキシプロピル セルロース	0.02	12.0	30.7%	12.1%	0.0%	×
実施例1-1	ヒドロキシプロピル セルロース	0.19	18.8	99.5%	99.5%	99.5%	○
実施例1-2	ヒドロキシプロピル セルロース	1.92	15.9	99.7%	99.7%	99.6%	○
実施例1-3	ヒドロキシプロピル セルロース	13.46	5.5	99.7%	99.7%	99.6%	○
実施例2	カルボキシメチル セルロース	0.19	17.0	99.7%	99.7%	99.4%	○
比較例2	大豆多糖類	0.02	11.8	98.7%	63.4%	28.7%	△
実施例3-1	大豆多糖類	0.19	17.3	99.7%	99.7%	99.4%	○
実施例3-2	大豆多糖類	1.92	12.4	99.6%	99.6%	99.6%	○
実施例3-3	大豆多糖類	13.46	5.3	99.8%	99.8%	99.7%	○

*官能検査: ×:異臭有り、△:異臭が僅かにする、○:異臭無し

【0039】

【表2】

表2

例	添加物	乾燥前SAmE含有抽出液中SAmEに対する添加物の質量比	試験開始時のSAmE含有組成物中のSAmE含量(質量%)	保存安定性試験 SAmE含有組成物中のSAmE残存率			60日後の異臭の有無*
				経過日数			
				30日後	45日後	60日後	
比較例3-2	無	0.00	10.5	1.9%	0.0%	0.0%	×
実施例1-1	ヒドロキシプロピルセルロース	0.19	18.8	99.5%	99.5%	99.5%	○
実施例3-1	大豆多糖類	0.19	17.3	99.7%	99.7%	99.4%	○
実施例1-4	ヒドロキシプロピルセルロース	0.19	18.1	99.5%	99.5%	99.5%	○
実施例3-4	大豆多糖類	0.19	16.9	99.7%	99.7%	99.4%	○

*官能検査：×：異臭有り、△：異臭が僅かにする、○：異臭無し

【0040】

実施例4-1～4-3

SAmE含有抽出液へ添加する添加物をカゼインナトリウムに変更した以外は、実施例1-1～1-3と同様に処理して、凍結乾燥を経て、SAmE及びカゼインナトリウムを含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中のSAmE含量、及び得られた該組成物の密閉ガラス容器中、40、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表3、4に示す。

【0041】

比較例14

SAmE含有抽出液へ添加するカゼインナトリウムを乾燥前SAmE含有抽出液中SAmEに対する添加物の質量比として0.02倍量加えた以外は、実施例1-1～1-3と同様に処理して、凍結乾燥を経て、SAmE及びカゼインナトリウムを含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中のSAmE含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表3に示す。

【0042】

実施例4-4

SAmE含有抽出液へ添加する添加物をカゼインナトリウムに変更した以外は、実施例1-4と同様に処理して、噴霧乾燥を経て、SAmE及びカゼインナトリウムを含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中のSAmE含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表4に示す。

【0043】

実施例5-1～5-3

SAmE含有抽出液へ添加する添加物を微結晶性ツェイン（小林香料株式会社製、商品名：小林ツェインDP）に変更した以外は、実施例1-1～1-3と同様に処理して、凍結乾燥を経て、SAmE及びツェインを含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中のSAmE含量、及び得られた該組成物の密閉ガラス容器中、40、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表3、4に示す。

【0044】

比較例15

SAmE含有抽出液へ添加する微結晶性ツェイン（小林香料株式会社製、商品名：小林ツェインDP）を乾燥前SAmE含有抽出液中SAmEに対する添加物の質量比として0.02倍量加えた以外は、実施例1-1～1-3と同様に処理して、凍結乾燥を経て、SAmE及びツェインを含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中のSAmE含量

10

20

30

40

50

、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表3に示す。

【0045】

実施例5-4

SAMe含有抽出液へ添加する添加物を微結晶性ツェイン（小林香料株式会社製、商品名：小林ツェインDP）に変更した以外は、実施例1-4と同様に処理して、噴霧乾燥を経て、SAMe及びツェインを含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中のSAMe含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表4に示す。

【0046】

比較例16～19

SAMe含有抽出液へ添加するタ添加物を、それぞれ表3に示す、カゼイン、ゼラチン、ダイズタンパク又はエンドウタンパクに変更し、該添加物を該抽出液中SAMeに対する質量比として2.31倍量加えた以外は、実施例1-1～1-3と同様に処理して、凍結乾燥を経て、SAMe及び添加物を含有する粉末状の乾燥組成物を得た。該組成物中のSAMe含量、及び該組成物の密閉ガラス容器中、40、RH75%の加速条件下での保存安定性試験の結果、官能検査の結果を表3に示す。

【0047】

【表3】

表3

例	添加物	乾燥前SAMe含有抽出液中SAMeに対しての添加物の質量比	試験開始時のSAMe含有組成物中のSAMe含量(質量%)	保存安定性試験 SAMe含有組成物中のSAMe残存率			60日後の異臭の有無*
				経過日数			
				30日後	45日後	60日後	
比較例3-1	無	0.00	10.5%	1.9%	0.0%	0.0%	×
比較例16	カゼイン	2.31	10.1%	78.3%	34.2%	2.1%	×
比較例17	ゼラチン		10.2%	78.7%	35.1%	2.4%	×
比較例18	ダイズタンパク		10.0%	47.4%	22.5%	0.0%	×
比較例19	エンドウタンパク		10.4%	48.5%	23.7%	0.0%	×
比較例14	カゼインナトリウム	0.02	13.7%	41.3%	17.3%	1.0%	×
実施例4-1	カゼインナトリウム	0.19	17.1%	99.6%	99.6%	99.6%	○
実施例4-2	カゼインナトリウム	1.92	12.6%	99.8%	99.8%	99.7%	○
実施例4-3	カゼインナトリウム	13.46	5.7%	99.8%	99.8%	99.8%	○
比較例15	ツェイン	0.02	13.2%	99.6%	99.6%	82.6%	△
実施例5-1	ツェイン	0.19	17.8%	99.8%	99.8%	99.7%	○
実施例5-2	ツェイン	1.92	12.3%	99.8%	99.8%	99.7%	○
実施例5-3	ツェイン	13.46	5.6%	99.8%	99.8%	99.8%	○

*官能検査：×：異臭有り、△：異臭が僅かにする、○：異臭無し

【0048】

10

20

30

40

【表4】

表4

例	添加物	乾燥前SAmE含有抽出液中SAmEに対しての添加物の質量比	試験開始時のSAmE含有組成物中のSAmE含量(質量%)	保存安定性試験 SAmE含有組成物中のSAmE残存率			60日後の異臭の有無*
				経過日数			
				30日後	45日後	60日後	
比較例3-2	無	0.00	10.5%	1.9%	0.0%	0.0%	×
実施例4-1	カゼインナトリウム	0.19	17.1%	99.6%	99.6%	99.6%	○
実施例5-1	ツェイン		17.8%	99.8%	99.8%	99.7%	○
実施例4-4	カゼインナトリウム	0.19	16.6%	99.5%	99.4%	99.4%	○
実施例5-4	ツェイン		17.2%	99.6%	99.6%	99.4%	○

*官能検査: ×:異臭有り、△:異臭が僅かにする、○:異臭無し

【0049】

<生体吸収性試験>

実施例1-1、実施例2、実施例3-1、実施例4-1、実施例5-1、及び比較例13で得られた、SAmE及び添加物を含有する粉末状の乾燥組成物、並びに比較例3-1で得られた、SAmEを含有する粉末状の乾燥組成物について、文献(J of Chromatography B, 863, 94-100(2008))記載の方法と同様にSD系ラット(雄、8週齢、動物数:各群n=3)を用いて、生体吸収性試験を実施した。

ラットへの粉末状の乾燥組成物の投与量は、SAmEとして300mg/kg-ラットの投与量になる様に粉末状の乾燥組成物を蒸留水へ分散した状態でラットに経口投与し、経口投与後0.5、1、2、3及び5時間後のラットの血液を採取した。採取した血液は速やかに遠心分離し、血漿成分の分離、過塩素酸を用いたSAmE成分の抽出、LC-MS-MS法(Liquid chromatography coupled with mass spectrometry)により分析した。

生体吸収性試験の結果、経口投与2時間後の血漿中SAmE濃度が最も高かった。各粉末状の乾燥組成物の経口投与1時間後及び2時間後の生体吸収性試験の結果を表5に示す。

【0050】

【表5】

表5

例	添加物	乾燥前SAmE含有抽出液中SAmEに対しての添加物の質量比	試験開始時のSAmE含有組成物中のSAmE含量(質量%)	血漿中SAmE濃度(μg/ml)	
				経口投与1時間後	経口投与2時間後
比較例3-1	無	0.00	10.5	0.97	1.08
比較例13	シェラック	0.19	17.3	0.82	0.97
実施例1-1	ヒドロキシプロピルセルロース	0.19	18.8	1.18	1.34
実施例2	カルボキシメチルセルロース		17.0	1.19	1.37
実施例3-1	大豆多糖類		17.3	1.22	1.41
実施例4-1	カゼインナトリウム		17.1%	1.18	1.36
実施例5-1	ツェイン		17.8%	1.19	1.39

【0051】

表5より、本発明に属する添加物を添加したSAmE含有組成物は、添加処理を行っていないSAmE含有組成物よりも生体吸収性が向上し、さらにシェラックを添加したSAmE

10

20

30

40

50

Me含有組成物は、添加処理を行っていないSAMe含有組成物よりも生体吸収性が低いことが確認された。

【0052】

なお、生体吸収性試験に用いられた分析機器、条件は以下の通りである。

(LC-MS-MS法)

LC-MS-MS装置：Thermo社製 Accela、LTQ orbitrap Discovery

(HPLC条件)

カラム：ジールサイエンス社製 Intersil ODS-3(4.6 mm × 150 mm)

流速：0.5 mL/min、カラムオープン：40、検出器：UV(260 nm)、

SAMe保持時間：約145秒、注入量：10 μL

溶離液：2 mmol/Lヘプタフルオロ酪酸水溶液：アセトニトリル = 30 : 70

(MS条件)

Ion Source: ESI

Ion Polarity Mode: Positive

Scan Mode Type: FTフルマス

Resolution: 30000

Mass Range: m/z 360 - 410

【産業上の利用可能性】

【0053】

本発明の組成物を用いることによって、医薬・農薬や健康食品用の生理活性物質として有用なSAMeを保存安定性に優れ、さらには生体吸収性にも優れた組成物として市場に供給することが可能である。本発明の製造方法は、S-アデノシル-L-メチオニンを高濃度を含み、保存安定性に優れ、さらには生体吸収性にも優れる組成物を、低コストで簡単に製造する方法として利用できる。

10

20

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 47/36 (2006.01)		A 6 1 K 47/36	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)		A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 3/06 (2006.01)		A 6 1 P 3/06	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)		A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 25/20 (2006.01)		A 6 1 P 25/20	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)		A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/24 (2006.01)		A 6 1 P 25/24	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)		A 6 1 P 19/02	
C 1 2 P 13/12 (2006.01)		C 1 2 P 13/12	A
A 2 3 L 33/145 (2016.01)		A 2 3 L 33/145	
C 1 2 R 1/865 (2006.01)		C 1 2 P 13/12	A
		C 1 2 R 1:865	

- (56) 参考文献 国際公開第 2 0 1 1 / 1 2 6 0 3 0 (W O , A 1)
 米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 2 7 2 6 8 7 (U S , A 1)
 特開昭 6 1 - 1 8 9 2 9 3 (J P , A)
 国際公開第 2 0 0 8 / 0 9 0 9 0 5 (W O , A 1)
 特開 2 0 0 4 - 3 5 2 6 6 9 (J P , A)
 国際公開第 2 0 0 8 / 0 7 2 5 3 2 (W O , A 1)
 特開平 1 1 - 3 2 2 5 9 2 (J P , A)

(58) 調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K
 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)
 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)