

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4980626号
(P4980626)

(45) 発行日 平成24年7月18日(2012.7.18)

(24) 登録日 平成24年4月27日(2012.4.27)

(51) Int.Cl.

F 1

A61K 31/122 (2006.01) A61K 31/122

A61P 43/00 (2006.01) A61P 43/00 111

A61P 7/02 (2006.01) A61P 7/02

請求項の数 1 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2006-51414 (P2006-51414)
 (22) 出願日 平成18年2月28日 (2006.2.28)
 (65) 公開番号 特開2007-230882 (P2007-230882A)
 (43) 公開日 平成19年9月13日 (2007.9.13)
 審査請求日 平成20年12月25日 (2008.12.25)

(73) 特許権者 000113470
 ポーラ化成工業株式会社
 静岡県静岡市駿河区弥生町6番48号
 (74) 代理人 100100549
 弁理士 川口 嘉之
 (74) 代理人 100090516
 弁理士 松倉 秀実
 (74) 代理人 100089244
 弁理士 遠山 勉
 (74) 代理人 100126505
 弁理士 佐貫 伸一
 (74) 代理人 100131392
 弁理士 丹羽 武司
 (74) 代理人 100137338
 弁理士 辻田 朋子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】プラスミノーゲンアクチベーターインヒビターI阻害剤及びそれを配合してなる食品組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

クルジオンを有効成分として含有するプラスミノーゲンアクチベーターインヒビターI
 (P A I - 1) 阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、プラスミノーゲンアクチベーターインヒビターI (P A I - 1) 阻害剤及びそれを配合してなる食品組成物に関し、更に詳細には、ショウガ科の植物のエキスからなるP A I - 1 阻害剤及びそれを含有する食品組成物に関する。

10

【背景技術】

【0 0 0 2】

近年、食事体系の西欧化による、所謂生活習慣病の急増が社会問題として大きく取り上げられるようになっている。即ち、食生活の西欧化に伴い、動物性脂質の摂取量が急増し、これにより血中のコレステロール含量が増加し、余分なコレステロールを貪食した貪食細胞が血管壁に積層し、アテロームを形成し、血栓を形成せしめ、血流量を阻害し、血圧を上昇せしめると言う、循環器の増悪コースを形成する駆動力となっている。この様な増悪をくい止めるためには、血栓の形成を阻害することが重要な課題となる。この様な血栓の形成阻害をする薬剤は、現在幾つかは開発されて実用に供されているが、一度投与を始めると、途中中断が出来なくなるため、思いもかけぬ副作用の発現などが発生する可能性

20

が存し、結果、血栓形成は抑制されても、延命効果やQOLの向上に結びつかない例も存し、通常の生活において、血栓形成を阻害する手段の開発が望まれていた。この様な手段としては、食事を介しての方法が特に期待されている。これは、この様な疾患そのものの発生が食事に起因するところが大きいことを勘案すれば当然のことと思われる。この様な食事を介しての血栓の形成阻害の手段としては、特定な食品成分によるプラスミノーゲンアクチベータなどの線溶酵素の活性を高める方法と、プラスミノーゲンアクチベータインヒビターなどの線溶酵素活性阻害物質の阻害作用を抑制する方法の2種が存在する。前者としては、ヒラタケや納豆などが知られている。（例えば、特許文献1、特許文献2を参照）しかしながら、後者については、食品成分では未だ有効なものが見出されていないのが現状である。

10

【0003】

一方、ショウガ科の植物のエキスの有している作用としては、サイクリックAMPホスホジエステラーゼ阻害作用、チロシナーゼ阻害作用及び血小板凝集抑制作用（例えば、特許文献3を参照）、リパーゼ阻害作用（例えば、特許文献4を参照）、補血・活血作用（例えば、特許文献5を参照）、内臓脂肪型肥満、糖尿病、高脂血症及び高血圧症等のマルチプル・リスク・ファクター症候群を予防又は改善する作用（例えば、特許文献6を参照）などが知られているが、PAI-1に対する作用、或いは、血栓の形成に対する作用は全く知られていない。

【0004】

【特許文献1】特開2003-116535号公報

20

【特許文献2】特開2002-065294号公報

【特許文献3】特開2005-104886号公報

【特許文献4】特開2005-8572号公報

【特許文献5】特開2000-103718号公報

【特許文献6】WO02/047699

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、この様な状況下為されたものであり、食品として摂取可能な、植物成分により、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター（PAI）を抑制する技術を提供することを課題とする。

30

【課題を解決するための手段】

【0006】

この様な状況に鑑み、本発明者らは、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター（PAI-1）を抑制する作用を有する植物成分を求めて、鋭意研究努力を重ねた結果、ショウガ科の植物のエキスにその様な作用が認められることを見いだし、発明を完成させるに至った。即ち、本発明は、以下に示すとおりである。

（1）ショウガ科の植物のエキスからなるプラスミノーゲンアクチベータインヒビターI（PAI-1）阻害剤。

（2）前記ショウガ科の植物が、ガジュツ（Curcuma zedoaria ROSC.）、ウコン（Curcuma longa L.）又はショウキョウ（Zingiber officinale ROSC.）である、（1）に記載のPAI-1阻害剤。

40

（3）前記ショウガ科の植物のエキスは、含水エタノール抽出物より、極性部分を除去したものであることを特徴とする、（1）又は（2）に記載のPAI-1阻害剤。

（4）前記含水エタノール抽出物より極性部分を除去したものが、次に示す工程1～3の内、工程2で得られるもの又は工程3でえられるものであることを特徴とする、（3）に記載のPAI-1阻害剤。

（工程1）ショウガ科の植物の植物体を50～80%エタノール水溶液で抽出し、濃縮する。

（工程2）工程1の成果物をノルマルヘキサンと水とで液液抽出を行い、ノルマルヘキサ

50

ン相を得る。

(工程3) 工程2の水相に酢酸エチルを加え、所望により水を加え、液液抽出を行い、酢酸エチル相を得る。

(5) P A I - 1 阻害作用の有効成分として、ゲルマクロン、クルジオン、クルクミン又は6-ギングロール含有することを特徴とする、(1)～(4)何れかに記載のP A I - 1 阻害剤。

(6) (1)～(5)何れかに記載のP A I - 1 阻害剤を配合してなる食品組成物。

(7) 血栓の形成予防及び/又は血栓による血流障害の改善の為の食品であることを特徴とする、(6)に記載の食品組成物。

【発明の効果】

10

【0007】

本発明によれば、食品として摂取可能な、植物成分により、プラスミノゲーンアクチベータインヒビター(P A I)を抑制する技術を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

本発明のP A I - 1 阻害剤は、ショウガ科の植物のエキスからなることを特徴とする。ここで、エキスとは植物体、植物体の乾燥物、それらを細切などした加工物などを溶媒で抽出した抽出物、抽出物より溶媒を除去したもの、抽出物乃至はその溶媒除去物を液液抽出やカラムクロマトグラフィーで分画精製した分画精製物、植物体を圧搾して得られる圧搾液、蒸留や水蒸気蒸留により集められた揮発分画などの植物体が含有する成分を濃縮したものとの総称を意味する。これらの中では、有効成分が特に豊富な抽出物、抽出物の溶媒除去物、これらの分画精製物が特に好ましい。

20

【0009】

抽出に当たっては、用いる溶媒としては、通常使用されているものであれば特段の限定なく使用でき、例えば、ノルマルヘキサンや石油エーテルのような炭化水素、酢酸エチルや蟻酸メチルなどのエステル類、クロロホルムや塩化メチレンなどのハロゲン化炭化水素類、テトラヒドロフランやジエチルエーテル等のエーテル類、ノルマルブタノール、イソプロパノール、エタノール、1,3-ブタンジオールなどのアルコール類、水などが好ましく例示できる。これらは唯一種を用いることもできるし、二種以上を混合して使用することもできる。

30

【0010】

本発明のP A I - 1 阻害剤としては、ショウガ科の植物のエキスとして、該植物体の抽出物、その溶媒除去物乃至は分画精製物の内、極性成分をのぞいた非極性成分を用いることが好ましく、この様な非極性成分においては、精油などの揮発成分を除くことが好ましく、この様な成分を得るためにには次に示す手順に従うことが好ましい。

【0011】

即ち、例えば、含水エタノールの様な含水アルコール溶液などの極性溶剤で抽出することにより、前記精油成分のような非極性成分の抽出を抑制し、前記極性溶剤抽出物より、液液抽出により、極性成分を取り除き、極性を有しつつも、適度な非極性も有する成分を選別する。

40

【0012】

前記含水アルコール溶液としては、含水エタノールが特に好ましく、前記含水率としては、50～80%が好ましい。これはアルコール含有率が低いと有効成分を抽出できない場合が存し、高いと非活性成分を多く抽出してしまう場合が存するためである。この様な溶媒を植物体、植物体の乾燥物或いは加工物に対して1～20質量倍加え、室温であれば数日間、沸点付近の温度であれば数時間浸漬することにより、抽出物を得ることができる。かかる抽出物は、所望により、濾過などで不溶物を取り除き、更に、減圧濃縮などにより溶媒を除去することができる。好ましい形態としては溶媒を除去し、分画精製することである。

【0013】

50

分画精製に当たっては、液液抽出やカラムクロマトグラフィーなどが好ましく用いられ、液液抽出で大まかな分画をした後、カラムクロマトグラフィーで精密に分画することが好ましい。分画に際しては、薄層クロマトグラフィーで画分の成分を比較し、同じ成分を含む画分は合一させ、更に分画を重ねることにより、より精密に分画することが行える。

【0014】

前記液液抽出の好ましい分画方法は、抽出物の有機溶剤を除去したものを、水とノルマルヘキサンで液液抽出し、ノルマルヘキサン層を濃縮し、ノルマルヘキサン画分とし、水層には、酢酸エチルと、所望により水を加えて、再度液液抽出を行い、酢酸エチル層を濃縮し、酢酸エチル画分とし、水層には、ノルマルブタノールと、所望により水を加えて、再度液液抽出を行い、ノルマルブタノール層を濃縮しノルマルブタノール画分とし、水層を濃縮し水層画分とする。

【0015】

前記の画分は、シリカゲルや、ODS等を担体として、シリカゲルであればノルマルエキサン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、クロロホルム、塩化メチレン、メタノール等を溶出溶媒に、ODSであれば、含水メタノール、含水アセトニトリルなどを溶出溶媒としてカラムクロマトグラフィーで分画精製できる。精製は化合物のレベルまで精密に行うこともできる。ショウガ科の植物のエキスより、この様な分画精製によって得られたPAI-1阻害活性を有する化合物としては、ゲルマクロン、クルジオン、クルクミン、6-ギンゲロール等が存し、これらを有効成分として、含むことがエキスとしては好ましい。

【0016】

この様な、精製により、PAI-1阻害剤を製造するのに好ましい、ショウガ科の植物としては、ガジュツ(*Curcuma zedoaria* ROSC.)、ウコン(*Curcuma longa* L.)又はショウキョウ(*Zingiber officinale* ROSC.)が好ましく例示でき、使用部位としては、特段の限定はされないが、根茎が特に好ましく例示できる。

【0017】

この様なPAI-1阻害剤は次の工程に従って製造することが好ましく、かかる工程のノルマルヘキサン層の濃縮物、酢酸エチル層の濃縮物がPAI-1阻害剤としては好ましい。

(工程1)ショウガ科の植物の植物体を50~80%エタノール水溶液で抽出し、濃縮する。

(工程2)工程1の成果物をノルマルヘキサンと水とで液液抽出を行い、ノルマルヘキサン相を得る。

(工程3)工程2の水相に酢酸エチルを加え、所望により水を加え、液液抽出を行い、酢酸エチル相を得る。

以下に、本発明のPAI-1阻害剤の製造例を示す。

【0018】

<製造例1>

市販のガジュツ(ガジュツ*Curcuma zedoaria* ROSC.の根茎)500gを70%含水エタノール6リットル中でホモジナイズし、ろ過、濃縮し、水溶液としたものをノルマルヘキサン、酢酸エチル、ノルマルブタノール各1.5リットルで3回ずつ順次液液分配し、それぞれ濃縮、乾燥し、ガジュツヘキサンエキス(PAI-1阻害剤1)7.7g、ガジュツ酢酸エチルエキス(PAI-1阻害剤2)8.2g、ガジュツブタノールエキス(PAI-1阻害剤3)2.4g、ガジュツ水エキス(PAI-1阻害剤4)6.2gを得た。

【0019】

前記ガジュツヘキサンエキス300mgを、シリカゲルカラムを装着した分取高速液体クロマトグラフィーで精製し、ゲルマクロン(germacrone; PAI-1阻害剤5)20mg、クルジオン(curdione; PAI-1阻害剤6)59mg、の他、ノルマルヘキサン-エタノール=99:5の移動相で溶出される画分A(PAI-1阻害剤7)16mgと画分B(PAI-1阻害剤8)43mgを得た。

【0020】

10

20

30

40

50

< 製造例 2 >

市販のウコン（秋ウコン *Curcuma longa* L. の根茎）50 g を 70 % 含水エタノール 500 ミリリットル中でホモジナイズし、ろ過、濃縮し、水溶液としたものをノルマルヘキサン、酢酸エチル、ノルマルブタノール各 300 ミリリットルで 3 回ずつ順次液液分配し、それぞれ濃縮、乾燥し、ウコンヘキサンエキス（P A I - 1 阻害剤 9 ）1.1 g、ウコン酢酸エチルエキス（P A I - 1 阻害剤 10 ）2.0 g、ウコンブタノールエキス（P A I - 1 阻害剤 11 ）0.3 g、ウコン水エキス（P A I - 1 阻害剤 12 ）1.4 g を得た。

【 0 0 2 1 】

ウコン酢酸エチルエキス 300 mg を、ODS カラムを装着した分取高速液体クロマトグラフィーで精製し、クルクミン（P A I - 1 阻害剤 13 ）85 mg を得た。 10

【 0 0 2 2 】

< 製造例 3 >

市販のショウキョウ（ショウガ *Zingiber officinale* ROSC. の根茎）50 g を 70 % 含水エタノール 500 ミリリットル中でホモジナイズし、ろ過、濃縮し、水溶液としたものをノルマルヘキサン、酢酸エチル、ノルマルブタノール各 300 ミリリットルで 3 回ずつ順次液液分配し、それぞれ濃縮、乾燥し、ショウキョウヘキサンエキス（P A I - 1 阻害剤 14 ）1.7 g、ショウキョウ酢酸エチルエキス（P A I - 1 阻害剤 15 ）0.7 g、ショウキョウブタノールエキス（P A I - 1 阻害剤 16 ）0.2 g、ショウキョウ水エキス（P A I - 1 阻害剤 17 ）1.1 g を得た。

【 0 0 2 3 】

ショウキョウヘキサンエキス 300 mg を、シリカゲルカラムを装着した分取高速液体クロマトグラフィーで精製し、6-ギングロール（P A I - 1 阻害剤 18 ）58 mg を得た。 20

【 0 0 2 4 】

斯くして得られた P A I - 1 阻害剤は、常法に従って、賦形剤、結合剤、崩壊剤、被覆剤、矯味矯臭剤、着色剤、糖衣剤などとともに処理して食品組成物へと加工することができる。本発明の経口投与組成物における、かかる P A I - 1 阻害剤の好ましい含有量は 0.01 ~ 1.0 質量 % であり、より好ましくは 0.1 ~ 2 質量 % である。かかる食品組成物は、食品として継続的に摂取することにより、血栓の形成予防作用或いは血栓による血流障害の改善作用を発揮し、この為の食品組成物として有用である。食品組成物の剤形としては、特段の限定はなく、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、飲料などの形態の他、パンや焼き菓子などに加工して日常的に摂取することも可能である。本発明の P A I - 1 阻害剤の好ましい摂取量としては、一日あたり、100 ~ 10000 mg を 1 回乃至は数回に分けて摂取することが好ましい。 30

【 0 0 2 5 】

以下に、実施例を挙げて、本発明について更に詳細に説明を加えるが、本発明がかかる実施例にのみに限定されることは言うまでもない。

【 実施例 1 】

【 0 0 2 6 】

前記製造例で得られた、本発明の P A I - 1 阻害剤 1 ~ 18 について、P A I に対する作用を調べた。P A I としては、P A I - 1 を用いた。即ち、市販のヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞（H u v e c 、クラボウ）を培養したものを 24 穴コラーゲンコートプレートに 1×10^5 c e l l s / w e l l でまき 24 時間インキュベートした。無血清培地に交換し、更に一晩インキュベートし、低血清培地に交換すると共に上記の上記 P A I - 1 阻害剤をジメチルスルホキシド（D M S O ）に溶かしたものを被検物として終濃度 1 μ g / m L で添加し、同時に T N F - α を終濃度 10 n g / m L で添加した。24 時間後に培地を回収し、遠心（3000 r p m ）後上清について、市販の P A I - 1 E L I S A キットで培地中の P A I - 1 濃度を測定した。被検物のかわりに D M S O を添加したものをコントロールとして、コントロールの P A I - 1 量に対する 100 分率で各被検物の P A I - 1 產生抑制率を求めた。結果を表 1 に示す。本発明の P A I - 1 阻害剤は優れた 40

P A I - 1 阻害活性を有していることがわかる。特に、ノルマルヘキサン分画に優れた P A I - 1 阻害活性が観察される。即ち、含水エタノール抽出物より、極性部分を除去したものが好ましいことがわかる。

【 0 0 2 7 】

又、これらの P A I - 1 阻害剤を食品組成物に含有させて摂取した場合、この P A I - 1 阻害活性作用により、血栓において、血栓が溶解するの阻止する P A I - 1 を阻害し、以て血栓の溶解を促進することがわかる。又、血栓の形成に際しては、P A I - 1 を阻害し、血栓の形成を阻害することがわかる。

【 0 0 2 8 】

【表 1】

表 1

被検物	P A I - 1 阻害剤	P A I - 1 産生率
コントロール	—	100 %
ガジュツヘキサンエキス	1	27 %
ガジュツ酢酸エチルエキス	2	58 %
ガジュツブタノールエキス	3	97 %
ガジュツ水エキス	4	105 %
ゲルマクロン	5	36 %
クルジョン	6	67 %
ガジュツ画分A	7	61 %
ガジュツ画分B	8	58 %
ウコンヘキサンエキス	9	55 %
ウコン酢酸エチルエキス	10	38 %
ウコンブタノールエキス	11	99 %
ウコン水エキス	12	98 %
クルクミン	13	32 %
ショウキョウヘキサンエキス	14	20 %
ショウキョウ酢酸エチルエキス	15	25 %
ショウキョウブタノールエキス	16	85 %
ショウキョウ水エキス	17	73 %
6-ギンゲロール	18	77 %

【実施例 2】

【 0 0 2 9 】

下記の処方に従って、本発明の食品組成物である錠剤 1 ~ 18 を製造した。即ち、処方成分を混合した後、処方成分 10 質量部に対し、3 質量部の水を噴霧しながら流動層造粒を行い、40 で 24 時間乾燥させた後に、打錠機で打錠し、錠剤 1 ~ 18 を得た。

【 0 0 3 0 】

【表 2】

表 2 成分	質量 %
表 3 の P A I - 1 阻害剤	5
ヒドロキシプロピルセルロース	5
結晶セルロース	50
デンプン	38
ステアリン酸マグネシウム	2
計	100

【 0 0 3 1 】

10

20

30

40

【表3】

表3
サンプル

サンプル	P A I - 1 阻害剤
錠剤1	P A I - 1 阻害剤1
錠剤2	P A I - 1 阻害剤2
錠剤3	P A I - 1 阻害剤3
錠剤4	P A I - 1 阻害剤4
錠剤5	P A I - 1 阻害剤5
錠剤6	P A I - 1 阻害剤6
錠剤7	P A I - 1 阻害剤7
錠剤8	P A I - 1 阻害剤8
錠剤9	P A I - 1 阻害剤9
錠剤10	P A I - 1 阻害剤10
錠剤11	P A I - 1 阻害剤11
錠剤12	P A I - 1 阻害剤12
錠剤13	P A I - 1 阻害剤13
錠剤14	P A I - 1 阻害剤14
錠剤15	P A I - 1 阻害剤15
錠剤16	P A I - 1 阻害剤16
錠剤17	P A I - 1 阻害剤17
錠剤18	P A I - 1 阻害剤18

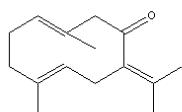
10

【0032】

尚、ゲルマクロン、クルジオンはともに既知物質であり、下記の構造の化合物である。

【0033】

【化1】

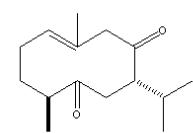


20

ゲルマクロン

【0034】

【化2】



30

クルジオン

【産業上の利用可能性】

【0035】

本発明は、血栓の形成の予防、形成された血栓の改善に有用な食品組成物に適用できる。

フロントページの続き

(72)発明者 福田 寿之

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560番地 ポーラ化成工業株式会社 戸塚研究所内

(72)発明者 三谷 信

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560番地 ポーラ化成工業株式会社 戸塚研究所内

審査官 菊池 美香

(56)参考文献 特表2005-516930 (JP, A)

特開昭63-072625 (JP, A)

特開昭62-283922 (JP, A)

特開2005-080543 (JP, A)

Chinese medical Journal, 2000年, 113(6), p.514-519

Biochemical Pharmacology, 1999年, Vol.58, p.1167-1172

フレッシュフードシステム, 1999年, Vol.28, No.2, p.4-8

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 K 31 / 122

A 61 P 7 / 02

A 61 P 43 / 00

CA / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)

JST Plus / JMED Plus / JST7580 (JDreamII)