

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4065016号
(P4065016)

(45) 発行日 平成20年3月19日 (2008. 3. 19)

(24) 登録日 平成20年1月11日 (2008. 1. 11)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K 31/704 (2006. 01)

A 6 1 K 31/704

A 6 1 K 36/896 (2006. 01)

A 6 1 K 35/78

V

A 6 1 P 1/18 (2006. 01)

A 6 1 P 1/18

C 0 7 J 17/00 (2006. 01)

C 0 7 J 17/00

請求項の数 9 (全 22 頁)

(21) 出願番号 特願2007-516210 (P2007-516210)
 (86) (22) 出願日 平成18年2月28日 (2006. 2. 28)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2006/303708
 (87) 国際公開番号 W02006/123464
 (87) 国際公開日 平成18年11月23日 (2006. 11. 23)
 審査請求日 平成19年6月4日 (2007. 6. 4)
 (31) 優先権主張番号 特願2005-144386 (P2005-144386)
 (32) 優先日 平成17年5月17日 (2005. 5. 17)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 000006127
 森永乳業株式会社
 東京都港区芝5丁目33番1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
 (72) 発明者 田中 美順
 日本国神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社 生物科学研究所内
 (72) 発明者 三澤 江里子
 日本国神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社 生物科学研究所内
 最終頁に続く

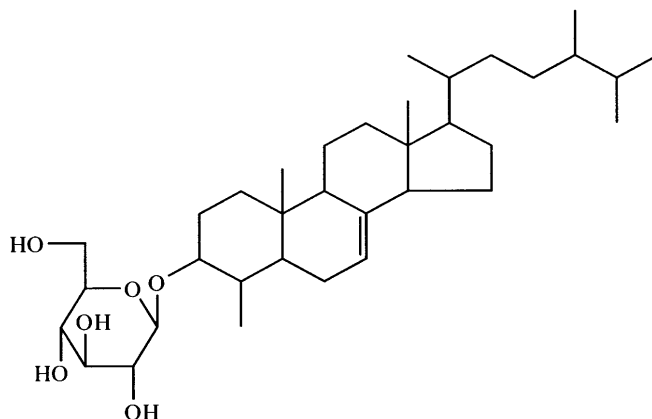
(54) 【発明の名称】 膵臓機能改善のための医薬又は飲食品

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記化学式 (1) で示される化合物を有効成分として含有する膵臓機能改善のための医薬。

【化 1】



... (1)

10

【請求項 2】

膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善である請求

20

項 1 に記載の医薬。

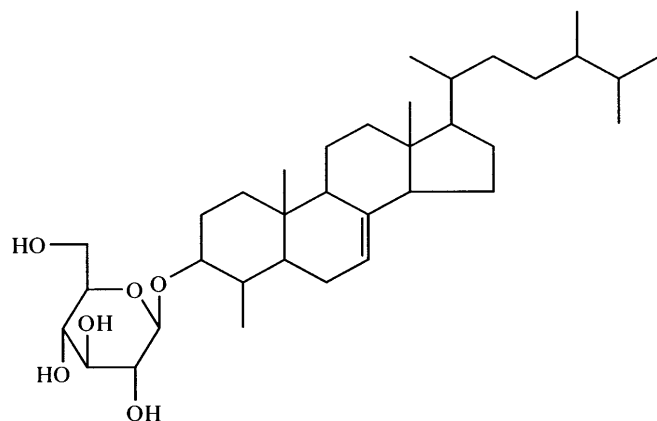
【請求項 3】

前記化合物を、乾燥質量で 0.001～10 質量% 含む、請求項 1 又は 2 に記載の医薬。

【請求項 4】

下記化学式 (1) で示される化合物を乾燥質量で 0.001～10 質量% 含むユリ科植物の抽出物又はその分画物を有効成分として含有する膵臓機能改善のための医薬。

【化 2】



... (1)

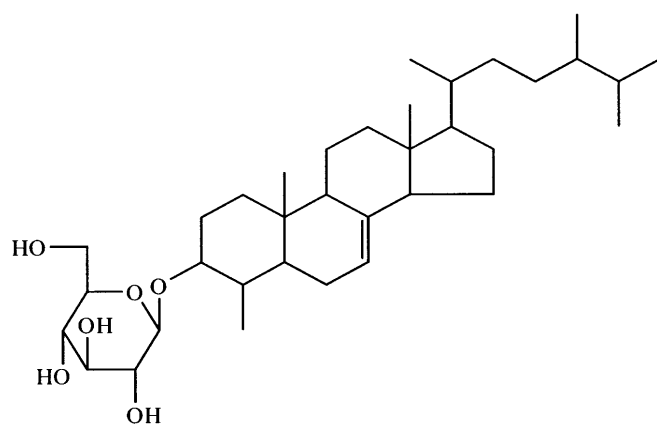
【請求項 5】

膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善である請求項 4 に記載の医薬。

【請求項 6】

下記化学式 (1) に示される構造をもつ化合物を 有効成分として配合することを特徴とする、膵臓機能改善用の医薬の製造方法。

【化 3】



... (1)

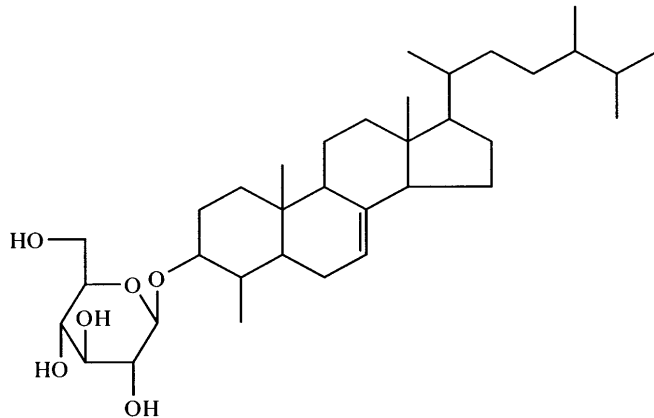
【請求項 7】

膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善である請求項 6 に記載の 方法。

【請求項 8】

下記化学式 (1) に示される構造をもつ化合物を乾燥質量で 0.001～10 質量% 含むユリ科植物の抽出物又はその分画物を 有効成分として配合することを特徴とする、膵臓機能改善用の医薬の製造方法。

【化 4】



... (1)

10

【請求項 9】

膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善である請求項 8 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

20

本発明は、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを含む、膵臓機能改善のための医薬又は飲食品に関する。

【背景技術】

【0002】

4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールは、植物中に存在する物質であることが知られている（非特許文献 1）。しかし、この化合物における先行技術については、同化合物に類似の構造を有するロフェノール（4-メチルコレスト-7-エン-3-オールの立体異性体の一つ）の生合成系に関するもののみであり（非特許文献 2）、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを含め、ロフェノール骨格を持つ化合物群の用途については全く未知のものであった。

30

【0003】

ユリ科アロエ属は、アロエベラ（*Aloe barbadensis* Miller）やキダチアロエ（*Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger）等を含む植物群で、様々な効能があることが経験的に知られており、アロエ属植物の用途に関する先行技術には、免疫修飾性多糖類（特許文献 1）、アロエ抽出物のブタノール画分又はアロインを含有することを特徴とする免疫抑制改善剤（特許文献 2）、HSP60 ファミリーに属するタンパク質のアロイン誘導体含有合成抑制剤（特許文献 3～5）、アロエ葉皮由来のレクチン活性蛋白質（特許文献 6）、及び血糖値改善に関するもの（非特許文献 3～7、特許文献 7～10）などがある。

【0004】

40

膵臓は、膵島（ランゲルハンス島（ラ氏島））と呼ばれる内分泌腺組織と、消化酵素の分泌を行う外分泌腺組織によって構成される器官である。ランゲルハンス島には β 細胞、α 細胞、δ 細胞、パンクレアティックポリペプチド細胞などが存在し、血糖や代謝の制御に大きな影響を及ぼしている。この中でも β 細胞は、インスリンを産生する細胞として特に重要な役割を担っている。

【0005】

糖尿病は日本の成人の 10% に認められる高頻度の代謝異常であるが、原因の一つとされる膵臓の β 細胞障害の疫学において、境界型高血糖の個体ではもちろん β 細胞障害があるが、耐糖能が正常な個体のなかにも明らかに β 細胞機能が低下した個体が 30% 混在している。また現代の日本で平均的な社会生活を送る成人は程度の差こそあれ、高頻度にイ

50

ンスリン抵抗性を生ずるといわれているが、インスリン抵抗性を生じている場合、 β 細胞機能障害を起こさない人は血糖値が上昇せず、 β 細胞機能障害を起こす人は血糖値が正常耐糖能から境界型高血糖へと上昇すると考えられている（非特許文献8）。

【0006】

現在のところ、膵臓機能障害に対しては原因となる病態あるいは因子を取り除くことで、膵臓機能の自然回復を促す治療法が用いられているが、いったん低下した膵臓の機能を積極的に回復させる治療方法や薬剤はいまだ用いられておらず、膵臓細胞保護剤もしくは障害を受けた膵臓細胞の改善剤が医療現場で求められている。

【0007】

膵臓機能障害は、膵臓の内分泌腺あるいは外分泌腺機能が低下あるいは異常に亢進した病態を意味する。

【0008】

膵臓機能障害の治療剤の先行技術には、BDNFなどの神経栄養因子を有効成分とするもの（特許文献11）、グリセリン誘導体を有効成分とするもの（特許文献12）、ベーターセルリン酸蛋白質またはそのムテインを含有してなる膵臓機能改善剤（特許文献13）などがあるが、これまでBDNFは炎症時や神経障害時に他の伝達物質とともに小型DRGニューロンの中枢端より放出され、後角細胞上でNMDA受容体をチロシンリン酸化することで疼痛情報伝達の促進に関与していると考えられており（非特許文献9）、実際の使用には制限があると考えられる。

【0009】

また、特許文献12に開示されているグリセリン誘導体は、特許文献14に記載されている化合物であって、抗血小板活性化因子（PAF）作用を有するDIC、ショック、アレルギー、急性膵炎、くも膜下出血時の脳攣縮等の予防・治療剤であり、虚血状態での臓器保存、移植後血液再灌流あるいは手術による血流障害等の過程で生じる臓器障害を予防・治療・改善する、臓器障害予防・治療・改善効果をも有していることが見いだされたものであるが、この薬剤はこれら症状を伴わない慢性的な膵臓疾患に適しているとは言いがたい。

【0010】

また、特許文献13で開示されているベーターセルリン酸蛋白質またはそのムテインを含有してなる膵臓機能改善剤は、未分化膵臓幹細胞に作用して、インシュリンを産生する膵臓 β 細胞への分化を促進する作用および、未分化幹細胞を膵臓の他の細胞、例えば、パankレアティックポリペプチドを産生するF細胞へと分化誘導させる作用も有するものであり、未熟な細胞が枯渇した状態では効果が期待できるものではない。加えてこの蛋白質のmRNAは、脳以外の各種臓器、例えば肝臓、腎臓、膵臓などで検出されているが、その機能の詳細はほとんど明らかにされていないことから、臨床で直ちに使用できるものとは言いがたい。

【0011】

また特許文献15においては、ラノスタン骨格または3,4-セコラノスタン骨格を有する化合物に、インスリン作用増強活性があることが開示されているが、その効果は、脂肪細胞の分化調節におけるインスリンの作用を増強させるものであり、膵臓における疾患に対する効果については不明であった。

【0012】

植物由来のロフェノール骨格を有する配糖体としては、3-O- β -D-グルコピラシル-4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールが、瓜科の植物であるブリトニー（*Bryoniaalba*）に含まれてることが報告されている（非特許文献10）が、一般的に食経験がある植物とは言えず、全合成の例も無い。

【特許文献1】特表2001-520019号公報

【特許文献2】特開平08-208495号公報

【特許文献3】特開平10-120576号公報

【特許文献4】特開平10-045604号公報

10

20

30

40

50

- 【特許文献5】特開平10-036271号公報
 【特許文献6】特開平09-059298号公報
 【特許文献7】特開昭60-214741号公報
 【特許文献8】特開2003-286185号公報
 【特許文献9】米国特許第4598069号明細書
 【特許文献10】米国特許出願公開第2003/0207818号明細書
 【特許文献11】国際公開番号WO00/62796
 【特許文献12】特開平07-285866号公報
 【特許文献13】特開平09-188630号公報
 【特許文献14】特開平02-131467号公報 10
 【特許文献15】特開平10-330266号公報
 【非特許文献1】ケミ、ファム、ブル (Chem. Pharm. Bull.)、第624～626ページ、1993年
 【非特許文献2】バイオケミカ バイオフィジカ アクタ (Biochimica Biophysica Acta)、第63～88ページ、2000年
 【非特許文献3】フィトメデシン (Phytomedicine)、第3巻、第245～248ページ、1996年
 【非特許文献4】フィトセラピー リサーチ (Phytotherapy Research)、第15巻、第157～161ページ、2001年
 【非特許文献5】フィトセラピー リサーチ (Phytotherapy Research)、第7巻、第37～42ページ、1993年 20
 【非特許文献6】日本臨床、通巻第748号、第1巻、第615～617ページ、1999年
 【非特許文献7】日本臨床、通巻第808号、第2巻、第405～409ページ、2002年
 【非特許文献8】「インスリン抵抗性」、糖尿病カレントライブラリー、発行、文光堂、2004年4月17日発行
 【非特許文献9】ブレイン リサーチ レビュー (Brain Res Rev) 第40巻、第240～249頁、2002年
 【非特許文献10】ヒーミヤ プリロードヌイフ サエヂネーニイ (Khimiya Prirodnik Soedinenii)、第3巻、ソ連、1977年 30

【発明の開示】

【0013】

本発明の課題は、食経験上安全に摂取でき、かつ、入手容易な原料から、医薬又は飲食品として好ましくない成分を含まず、かつ、膵臓機能改善に適した医薬又は飲食品を提供することである。

【0014】

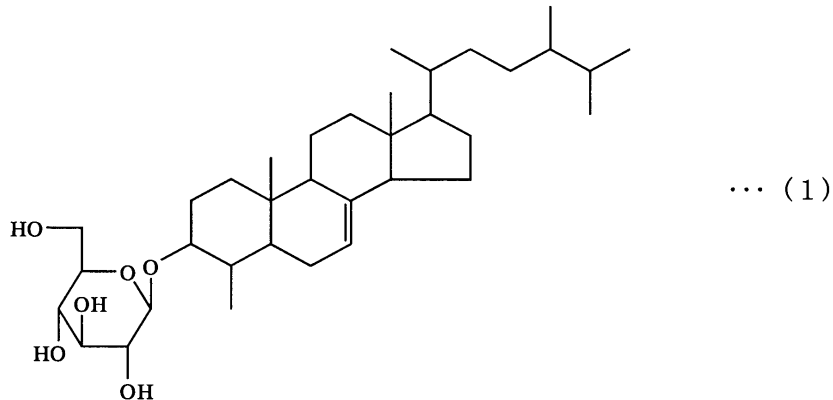
本発明者らは、上記の課題を解決すべく鋭意研究を行った結果、アロエベラ (Aloe barbadensis Miller) の葉肉 (透明ゲル部分) から抽出、精製した新規配糖体である、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールが、安全に摂取でき、かつ、膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善作用を有することを見出した。本発明は、上記の知見に基づき完成されたものである。 40

【0015】

すなわち本発明は、下記化学式(1)で示される化合物を有効成分として含む、膵臓機能改善のための医薬である。本発明の医薬は、膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善であることを好ましい態様としている。

【0016】

【化 1】



10

【0017】

本発明の医薬は、前記化合物を、乾燥質量で0.001～10質量%含むことを好ましい態様としている。

また本発明は、前記化学式(1)で示される化合物を乾燥質量で0.001～10質量%含むユリ科植物の抽出物又はその分画物を有効成分として含有する、膵臓機能改善のための医薬を提供する。本発明の医薬は、膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善であることを好ましい態様としている。

20

本発明はさらに、前記化学式(1)で示される化合物を含む、膵臓機能改善のための飲食品を提供する。本発明の飲食品は、膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善であることを好ましい態様としている。

また、本発明の飲食品は、前記化合物を、乾燥質量で0.0001～1質量%含むことを好ましい態様としている。

また本発明は、前記一化学式(1)で示される化合物を乾燥質量で0.0001～1質量%含むユリ科植物の抽出物又はその分画物を含有する、膵臓機能改善のための飲食品を提供する。本発明の飲食品は、膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善であることを好ましい態様としている。本発明の飲食品は、膵臓機能改善のために用いられるものである旨の表示を付したことを好ましい態様としている。

30

本発明はまた、膵臓機能改善用の医薬の製造における、前記化学式(1)で示される化合物又はそれを含む組成物の使用を提供する。本発明の使用は、膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善であることを好ましい態様としている。また、本発明の使用は、前記組成物が、前記化合物を乾燥質量で0.001質量%以上含むユリ科植物の抽出物又はその分画物であることを好ましい態様としている。

本発明はまた、膵臓内分泌腺細胞を保護し、または同細胞の機能を改善する方法であって、前記化学式(1)で示される化合物又はそれを含む組成物を、膵臓内分泌腺細胞を保護し、または同細胞の機能を改善しようとする対象に投与することの特徴とする方法を提供する。本発明の方法は、膵臓機能改善が、膵臓内分泌腺細胞の保護又は膵臓内分泌腺細胞の機能改善であることを好ましい態様としている。また、本発明の方法は、前記組成物が、前記化合物を乾燥質量で0.001質量%以上含むユリ科植物の抽出物又はその分画物であることを好ましい態様としている。

40

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】本発明の配糖体のアグリコン部のアセチル化体のGC-MSスペクトル(図面に代る写真:ディスプレイ上に表示した中間調画像)。

【図2】本発明の配糖体のアグリコン部のアセチル化体の¹³C-NMRチャート(図面に代る写真:ディスプレイ上に表示した中間調画像)。

【図3】本発明の化合物を投与したマウスの通常血糖値の経時的变化を示す図。

【図4】本発明の化合物を投与したマウスの空腹時血糖値の経時的变化を示す図。

50

【発明を実施するための最良の形態】

【0019】

次に、本発明の好ましい実施形態について詳細に説明する。ただし、本発明は以下の好ましい実施形態に限定されず、本発明の範囲内で自由に変更することができるものである。

【0020】

本発明の医薬又は飲食品の有効成分として用いる化合物（以下、「本発明の化合物」ともいう）は、前記化学式（1）で表される構造をもつ化合物、すなわち3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールである。すなわち、本発明の化合物は、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの3位の水酸基と、D-グルコースの1位の水酸基が脱水縮合した構造を有している。

10

【0021】

また、本発明の医薬又は飲食品の有効成分として用いる組成物（以下、「本発明の組成物」ともいう）は、前記本発明の化合物を、医薬の有効成分として用いる場合は乾燥質量で0.001質量%以上、好ましくは0.01質量%以上、より好ましくは0.1質量%以上含む、ユリ科植物の抽出物又はその分画物であり、飲食品の有効成分として用いる場合は乾燥質量で0.0001質量%以上、好ましくは0.001質量%以上、より好ましくは0.1質量%以上含む、ユリ科植物の抽出物又はその分画物である。本発明の組成物に含まれる本発明の化合物の含有量の上限は特に制限されないが、50質量%、もしくは70質量%、又は90質量%が例示できる。

20

【0022】

本発明の化合物又はそれを含む組成物は、例えば、ユリ科植物に属し、本発明の化合物を含む植物もしくはその一部又はそれらの破碎物から、同化合物を含む画分を有機溶媒又は熱水を用いて抽出、濃縮することにより、製造することができる。

【0023】

前記ユリ科に属する植物としては、アロエ属又はアリウム属に属する植物が挙げられる。アロエ属植物としては、アロエベラ (*Aloe barbadensis* Miller)、アロエフェロックスミラー (*Aloe ferox* Miller)、アロエアフリカーナミラー (*Aloe africana* Miller)、キダチアロエ (*Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger)、アロエスピカータベイカー (*Aloe spicata* Baker) 等が挙げられる。本発明の化合物又はそれを含む組成物の製造においては、前記植物の全体を用いてもよいが、葉肉（透明ゲル部分）を用いることが好ましい。このような植物又はその一部を、好ましくはホモジナイザー等を用いて破碎して液状化し、有機溶媒又は熱水で抽出する。有機溶媒としては、メタノール、エタノール、ブタノール等のアルコール；酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチル等のエステル；アセトン、メチルイソブチルケトン等のケトン；ジエチルエーテル、石油エーテル等のエーテル；ヘキサン、シクロヘキサン、トルエン、ベンゼン等の炭化水素；四塩化炭素、ジクロロメタン、クロホルム等のハロゲン化炭化水素；ピリジン等の複素環化合物、エチレングリコール等のグリコール；ポリエチレングリコール等のポリアルコール；アセトニトリル等のニトリル溶媒、及びこれらの溶媒の混合液等が挙げられる。また、これらの溶媒は無水であってもよく、含水状態であってもよい。これらの溶媒の中では、特に、酢酸エチル／ブタノール混合液（3：1）、若しくはクロロホルム／メタノール混合液（2：1）が好ましい。

30

40

【0024】

抽出方法としては、通常の植物成分の抽出に用いられる方法を用いることができる。通常、新鮮な植物又は乾燥植物1質量部に対し、有機溶媒1～300質量部を用いて、攪拌又は振盪しながら、溶媒の沸点以下の温度で加熱還流するか、常温で超音波抽出する方法が挙げられる。抽出液は、濾過又は遠心分離等の適当な方法により、不溶物を分離して粗抽出物を得ることができる。

【0025】

粗抽出物は、各種クロマトグラフィー、例えば順相又は逆相のシリカゲルカラムクロマ

50

トグラフィーにより、精製することができる。順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおいては、溶出溶媒としてクロロホルム／メタノール混合液のグラジエントを用いると、クロロホルム：メタノール＝５：１程度で本発明の化合物が溶出される。また、逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおいては、溶出溶媒としてメタノール／水混合液のグラジエントを用いると、９５％程度の濃度のメタノールで本発明の化合物が溶出される。

得られたフラクションは、さらにＨＰＬＣ等により精製することができる。

上記のようにして得られる化合物又はそれを含む組成物が、本発明の化合物を含むことは、例えば、後述の実施例に示す方法によって確認することができる。例えば、アグリコン部にグルコースが結合した配糖体であることは、また、アグリコン部が４－メチルエルゴスト－７－エン－３－オールであることは、 ^{13}C -ＮＭＲ等によって確認することができる。

10

【００２６】

尚、本発明者らは、３－Ｏ－ β －Ｄ－グルコピラノシル－４－メチルエルゴスト－７－エン－３－オールが血糖値改善作用を有することを見い出しており、後述の製造例１では、参考例１に示す血糖値改善作用の評価を指標として、アロエベラからの３－Ｏ－ β －Ｄ－グルコピラノシル－４－メチルエルゴスト－７－エン－３－オールを精製したが、膵臓機能改善作用、特に膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善作用を指標として精製することもできる。

【００２７】

20

本発明の化合物は、Ｄ－グルコースと、４－メチルエルゴスト－７－エン－３－オールを縮合させることによって、製造することができる。４－メチルエルゴスト－７－エン－３－オールは、植物より抽出および精製を行うことによって入手することができる。Ｄ－グルコースと、４－メチルエルゴスト－７－エン－３－オールの縮合は、例えば、第４版実験化学講座２６、１９９２年（第２７２頁、第２９７頁、及び第３４２頁に記載）、に示している方法を組み合わせて行うことができる。すなわち、Ｄ－グルコースを完全アセチル化後、アノマー位を α －プロミドに変換する。ジエチルエーテル中、４－メチルエルゴスト－７－エン－３－オールを α －プロミドと反応させて β －グリコシル化した後、ナトリウムメトキシド・メタノール中でアセチル基を加水分解し、目的化合物を得る。

【００２８】

30

本発明の化合物は、膵臓機能改善作用、特に膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善の作用を有する。膵臓機能改善作用、特に膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善のための医薬または飲食品の有効成分として使用することができる。尚、本発明において、膵臓内分泌腺細胞の保護とは、膵臓内分泌腺細胞を種々の原因による変性から保護すること、又は、膵臓内分泌腺細胞のインスリン産生能が低下することを防止することを意味する。また、膵臓内分泌腺細胞の機能改善とは、インスリン産生能が低下した膵臓内分泌腺細胞のインスリン産生能を高めることを意味する。膵臓内分泌腺細胞の変性、又は膵臓内分泌腺細胞の保護もしくは膵臓内分泌腺細胞の機能改善は、動物の膵臓組織切片の顕微鏡観察もしくは血清中のインスリン量測定により評価が可能である。

40

本発明の化合物は、上記作用を有する結果、膵臓内分泌腺細胞のインスリン産生能の低下を防止し、又はインスリン産生能が低下した膵臓内分泌腺細胞のインスリン産生能を高めることができる。

【００２９】

後記実施例で使用したｄｂ／ｄｂマウスは、週齢が進むと共に膵臓の障害が見られることが知られている（Science, 153, 1127-1128, 1966）。このマウスに、抗酸化作用化合物であるＮ－アセチル－Ｌ－システイン、ビタミンＣ及びビタミンＥを併用投与した場合、膵臓中の β 細胞数の減少を一部予防できるとの報告があるが（Diabetes, 48, 2398-2406, 1999）、投与量はＮ－アセチル－Ｌ－システインだけでも１００ｇ／６０ｋｇであり、非常に大量の投与が必要となると予想される。それに対し、本願発明では、低用量で膵

50

臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善の作用を発揮することが期待できる。

【0030】

本発明の医薬は、膵臓内分泌腺細胞の機能低下により引き起される疾患、例えば、急性膵炎、慢性膵炎、I型糖尿病、II型糖尿病における膵臓機能障害、老人性のインスリン分泌低下に伴う膵臓機能低下症等の疾患の治療剤又は予防剤の有効成分として使用することができる。また、本発明の化合物は、低毒性であることから、膵臓癌治療において、抗腫瘍剤と併用することもできる。本発明の医薬は、好ましくは、インスリン産生能の低下に伴う疾患のうち、高血糖改善用として用いるものは除かれる。

【0031】

また、従来、アロエベラの葉皮には、緩下作用を持つバルバロインやアロエエモジンが含まれており、緩下作用を期待しない医薬又は飲食品としては、好ましくないと考えられている。一方、本発明の組成物は、好ましい態様においては、食経験上安全に摂取できるアロエベラの葉肉（透明ゲル部分）から抽出、分画することによって得ることができるため、バルバロインあるいはアロエエモジンが含まれず、かつ、本発明の化合物を有効量含む。したがって、本発明の組成物も、膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善用の医薬の有効成分として好適である。

【0032】

本発明の化合物又は組成物は、そのまま本発明の薬剤または飲食品の有効成分として利用することが可能である。また、本発明の組成物は、溶液であってもよく、常法により凍結乾燥または噴霧乾燥して粉末として保存、使用することもできる。

【0033】

本発明の医薬は、本発明の化合物又は組成物、若しくはこれらを製剤学的に許容される製剤担体と組み合わせ、経口的、又は非経口的にヒトを含む哺乳動物に投与することができる。尚、本発明の薬剤において、本発明の化合物は医薬に許容される塩にすることができる。医薬に許容可能な塩として、金属塩（無機塩）と有機塩との両方が含まれ、それらのリストは「レミントン・ファーマシューティカル・サイエンシーズ（Remington's Pharmaceutical Sciences）、第17版、第1418ページ、1985年」に掲載されているものが例示される。具体的には塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、二リン酸塩、および臭化水素酸塩などの無機酸塩や、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、パモ酸塩、サリチル酸塩及びステアリン酸塩などの有機酸塩が非限定的に含まれる。また、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム等の金属の塩、リジン等のアミノ酸との塩とすることもできる。また、上記化合物もしくはその医薬上許容される塩の水和物等の溶媒和物も本発明に含まれる。

【0034】

本発明の医薬の製剤形態は特に限定されず、治療目的に応じて適宜選択でき、具体的には、錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、貼付剤、点眼剤、点鼻剤等を例示できる。製剤化にあたっては製剤担体として通常の膵臓等の内臓疾患の治療又は予防用の医薬に汎用される賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味矯臭剤、希釈剤、界面活性剤、注射剤用溶剤等の添加剤を使用できる。また、本発明の効果を損わない限り、本発明の化合物又は組成物と、他の膵臓疾患の治療又は予防作用を有する薬剤とを併用してもよい。

【0035】

本発明の医薬中に含まれる本発明の化合物又は組成物の量は、特に限定されず適宜選択すればよいが、例えば、本発明の化合物の量として、製剤中に0.001～10質量%、好ましくは0.01～1質量%、特に好ましくは0.05～1質量%とするのがよい。

【0036】

さらに、本発明の医薬は、膵臓内分泌腺細胞の機能低下に起因する種々の疾病・合併症等の予防、並びにこれら疾病・合併症等のリスクを低減することが可能である。

【0037】

かかる膵臓内分泌腺細胞の機能低下に起因する種々の疾病・合併症としては、神経障害、腎症、網膜症、白内障、大血管障害、糖尿病等を例示することができる。

【0038】

本発明の薬剤又は医薬の投与時期は特に限定されず、対象となる疾患の治療方法に従って、適宜投与時期を選択することが可能である。また、投与形態は製剤形態、患者の年齢、性別、その他の条件、患者の症状の程度等に応じて決定されることが好ましい。

【0039】

本発明の薬剤の有効成分の投与量は、用法、患者の年齢、性別、疾患の程度、その他の条件等により適宜選択される。通常有効成分としての本発明の化合物の量は、好ましくは0.01～10mg/kg/日、より好ましくは、0.1～1mg/kg/日での範囲となる量を目安とするのが良く、また、本発明の組成物を用いる場合は、組成物の乾燥重量として好ましくは0.1～1000mg/kg/日、より好ましくは、1～100mg/kg/日となるような量を目安とするのが良い。いずれの場合も、1日1回又は複数回に分けて投与することができる。

10

【0040】

本発明の化合物又は組成物は、飲食品（飲料又は食品）に含有させることもできる。飲食品としては、前記有効成分の効果を損なわず、経口摂取できるものであれば形態や性状は特に制限されず、前記有効成分を含有させること以外は、通常飲食品に用いられる原料を用いて通常の方法によって製造することができる。

20

【0041】

本発明の飲食品中に含まれる本発明の化合物又は組成物の量は、特に限定されず適宜選択すればよいが、例えば、本発明の化合物の量として、飲食品中に0.0001～1質量%、好ましくは0.001～1質量%、特に好ましくは0.005～1質量%とするのがよい。

【0042】

本発明の飲食品における用途としては、膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善効果を利用するような種々の用途をとることが可能である。例えば、「インスリン産生が低めの方」、「インスリンの働きが低めの方」、又は「膵臓の働きが気になる方」に適した飲食品、膵臓機能低下により引き起こされる糖尿病、及び過度のアルコール摂取やストレスから引き起こされる膵炎等の生活習慣病の危険要因の低減・除去に役立つ飲食品等の用途を例示することができる。

30

【0043】

尚、本発明の飲食品において、「膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善」とは、膵臓内分泌腺細胞の機能低下に起因して導かれる種々の健康への害を改善又は予防する事を意味しており、「ラ氏島機能保護」、「ラ氏島機能改善」、「β細胞機能保護」、「β細胞機能改善」、「インスリン産生増強」、「インスリン産生低下予防」、「インスリン作用増強」、「インスリン作用低下予防」等も、前記「膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善」と同様の意味として、本発明において例示することができる。

40

【0044】

また、本発明の飲食品は、膵臓内分泌腺細胞の機能低下により引き起こされる疾患、例えば急性膵炎、慢性膵炎、I型糖尿病、II型糖尿病における膵臓機能障害、老人性のインスリン分泌低下に伴う膵臓機能低下症等の疾患の予防に有用である。さらに、本発明の飲食品は、膵臓内分泌腺細胞の機能低下に起因する種々の疾病・合併症等の予防、並びにこれら疾病・合併症等のリスクを低減することが可能である。また、本発明の化合物は、低毒性であることから、本発明の飲食品は、膵臓癌治療において抗腫瘍剤を投与されている患者にも有用である。

【0045】

かかる膵臓内分泌腺細胞の機能低下に起因する種々の疾病・合併症としては、神経障害

50

、腎症、網膜症、白内障、大血管障害、糖尿病等を例示することができる。

【0046】

本発明の飲食品は、膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善のために用いられるものである旨の表示を付した飲食品、例えば「膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善用と表示された、膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善効果を有する化合物を含有する飲食品」、あるいは「膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善用と表示された、植物抽出物を含有する飲食品」、「膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善用と記載された、アロエベラ抽出物を含有する飲食品」、等として販売することが好ましい。

【0047】

尚、以上のような表示を行うために使用する文言は、「膵臓内分泌腺細胞の保護または膵臓内分泌腺細胞の機能改善用」という文言のみに限られるわけではなく、それ以外の文言であっても、膵臓内分泌腺細胞を保護し、または機能低下を改善する効果を表す文言であれば、本発明の範囲に包含されることはいうまでもない。そのような文言としては、例えば、需要者に対して、膵臓内分泌腺細胞を保護し、または機能低下を改善する効果を認識させるような種々の用途に基づく表示も可能である。例えば、「インスリン産生が低めの方に適した」、又は「インスリンの働きが低めの方に適した」、「インスリン作用又はインスリン産生低下により引き起こされる糖尿病、及び過度のアルコール摂取やストレスにより引き起こされる膵炎等の生活習慣病の危険要因（リスク）の低減・除去に役立つ」等の表示を例示することができる。

【0048】

前記「表示」とは、需要者に対して上記用途を知らしめるための全ての行為を意味し、上記用途を想起・類推させようとする表示であれば、表示の目的、表示の内容、表示する対象物・媒体等の如何に拘わらず、すべて本発明の「表示」に該当する。しかしながら、需要者が上記用途を直接的に認識できるような表現により表示することが好ましい。具体的には、本発明の飲食品に係る商品又は商品の包装に上記用途を記載する行為、商品又は商品の包装に上記用途を記載したものを譲渡し、引き渡し、譲渡若しくは引渡しのために展示し、輸入する行為、商品に関する広告、価格表若しくは取引書類に上記用途を記載して展示し、若しくは頒布し、又はこれらを内容とする情報に上記用途を記載して電磁氣的（インターネット等）方法により提供する行為、等が例示できる。

【0049】

一方、表示としては、行政等によって認可された表示（例えば、行政が定める各種制度に基づいて認可を受け、そのような認可に基づいた態様で行う表示）であることが好ましく、特に包装、容器、カタログ、パンフレット、POP等の販売現場における宣伝材、その他の書類等への表示が好ましい。

【0050】

また、例えば、健康食品、機能性食品、経腸栄養食品、特別用途食品、栄養機能食品、医薬用部外品等としての表示を例示することができ、その他厚生労働省によって認可される表示、例えば、特定保健用食品、これに類似する制度にて認可される表示を例示できる。後者の例としては、特定保健用食品としての表示、条件付き特定保健用食品としての表示、身体の構造や機能に影響を与える旨の表示、疾病リスク低減表示等を例示することができ、詳細に言えば、健康増進法施行規則（平成15年4月30日日本国厚生労働省令第86号）に定められた特定保健用食品としての表示（特に保健の用途の表示）、及びこれに類する表示が、典型的な例として列挙することが可能である。

【実施例】

【0051】

次に実施例を示して本発明を更に具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【0052】

〔製造例1〕

以下、アロエベラからの3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール₁の製造例を示す。

【0053】

アロエベラから、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール₁を、以下に示すようにして抽出、精製した。

アロエベラの葉肉（透明ゲル部分）100kgを、ホモジナイザーを用いて液状化し、ここに100Lの酢酸エチル／ブタノール混合液（3：1）を添加して攪拌した。

【0054】

一晚放置した後、酢酸エチル／ブタノール混合液と水層を分液して、酢酸エチル／ブタノール混合液を回収した。この酢酸エチル／ブタノール混合液を減圧下濃縮して得られた、酢酸エチル／ブタノール混合液抽出物の重量は、13.5gであった。

【0055】

上記水層及び酢酸エチル／ブタノール混合液抽出物を用いて、後述の参考例1に示す糖尿病モデルマウスを用いた高血糖改善作用の評価を行ったところ、酢酸エチル／ブタノール混合液抽出物に同作用が認められたので、この抽出物中の成分の分離、精製を試みた。まず、前記抽出物を薄層クロマトグラフィー（メルク社製、シリカゲル60F254及びRP-18F2543）により検討した結果、クロロホルム／メタノール混合液を用いた順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離方法が適切であると考えられた。そこで、シリカゲル60（メルク社製）を400g充填したカラムに、前記抽出物13gを1mlのクロロホルム／メタノール混合液（1：1）に溶解させた溶液を流してカラムに吸着させた後、クロロホルム／メタノール混合液を使用し、メタノール濃度を段階的に上昇させるステップワイズグラジエント法（クロロホルム：メタノール＝100：1、25：1、10：1、5：1及び1：1の各混合比）により溶出し、前記混合液の混合比毎に溶出液を分画した。各フラクションの溶媒除去後の粗精製物収量は、それぞれ1.44g、3.0g、1.17g、1.28g、2.27gであった。これらのフラクションのうち、クロロホルム：メタノール＝5：1で溶出されたフラクション（粗精製物A）に活性成分が存在することを、前記モデル動物を用いた方法で確認した。また、薄層クロマトグラフィーで分析したところ、バルバロインおよびアロエエモジンの存在は確認されなかった。

【0056】

さらに、上記粗精製物Aから活性成分の分離精製を行うため、この粗精製物Aを薄層クロマトグラフィー（メルク社製、シリカゲル60F254及びRP-18F2543）を用いて検討したところ、メタノールを用いた逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離方法が適切であると考えられた。そこで、上記粗精製物Aを1mlのクロロホルム／メタノール混合液（1：1）に溶解させ、コスモシル140（ナカライテスク社製）を180g充填したカラムに流してカラムに吸着させた後、メタノール85%溶液、600ml、メタノール95%溶液、600ml、メタノール100%、100mlで、順次溶出した。3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール₁は、95%メタノールの溶出フラクションに濃縮分離されており、その溶媒除去後の重量は370mgであった。以下、このものを化合物1という。

【0057】

化合物1を、薄層クロマトグラフィーの検討を行った結果、β-シトステロールグルコシドにきわめて近いR_f値を示すことから、アグリコン部に糖が1分子結合している配糖体であることが予測された。さらに、化合物1の糖組成について調べる為、化合物1を、メタノリシス後、TMS誘導体として、GC-MSを用いた測定を行った。その結果、化合物1の糖部分のTMS誘導体を測定した場合のメインピークは、リテンションタイム14.28min, 14.61min, 16.34minに見られ、標品グルコース（ナカライテスク社製）のメインピークである14.27min, 14.60min, 16.33minとほぼ一致した。また、標品ガラクトース（キシダ社製）および標品キシロース（キシダ社製）のメインピークに該当するピークは見られなかった。よって、化合物1に含まれている糖の種類は、グルコースであることが確

認された。

【0058】

以上の結果より、化合物1はアグリコン部にグルコースが1分子結合している配糖体であることが推定された。しかし、化合物1を ^{13}C -NMR (125 MHz、 CDCl_3)にて測定した結果、夾雑物の存在が確認されたため、構造決定にはさらなる精製が必要と考えられた。そこで、化合物1をメタノリシスした後、アセチル化してアグリコン部の構造、およびアグリコン部と糖との結合部位の確認を行った。以下にその方法を示す。

【0059】

50 mgの化合物1を5%塩酸を含むメタノール (50 ml) に溶解した後、6時間加熱還流してメタノリシスした後、乾燥させて残渣を得た (約30 mg)。当該残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン：クロロホルム=9：1) で精製して化合物2 (10 mg) を得た。当該化合物2 (5 mg) に無水酢酸・ピリジン (各2滴) を加えて70℃で30分加熱してアセチル化した後、反応液の溶媒を留去して、化合物3を得た。当該化合物3を、GC-MSおよび、 ^{13}C -NMR (125 MHz、 CDCl_3) にて分析を行った結果を、各々、図1および図2に示す。測定条件及び結果は、以下の通りである。また、標準物質として用いた3-アセトキシ-4-メチルエルゴスト-7-エンは、アロエより抽出精製した後、 ^{13}C -NMRにて構造を確認した後、アセチル化して製造した。

【0060】

[^{13}C -NMRスペクトル (d values, in CDCl_3)] ; C-1:36.8, C-2:27.3, C-3:78.7, C-4:37.0, C-5:46.9, C-6:26.8, C-7:117.4, C-8:139.4, C-9:49.7, C-10:34.9, C-11:21.6, C-12:39.7, C-13:43.6, C-14:55.1, C-15:23.1, C-16:28.2, C-17:56.3, C-18:12.0, C-19:14.2, C-20:36.5, C-21:19.0, C-22:33.9, C-23:30.6, C-24:39.1, C-25:32.6, C-26:20.4, C-27:18.4, C-28:15.6, C-29:15.3

【0061】

[GC-MS]

装置：GC-17A/GCMS5050A (SHIMADZU)

GCカラム：NEUTRA BOND-5 (GL Sciences)

カラム温度：100℃ (2分) → (10℃/分) → 300℃ (28分)

注入温度：250℃,

キャリアガス：He (1.3 mL/分)

インターフェイス温度：300℃

MSモード：EI

イオン化エネルギー：70 eV

【0062】

[結果]

標準物質：3-アセトキシ-4-メチルエルゴスト-7-エン: tR [min]=39.4; m/z 456[M]⁺, 441[M-CH₃]⁺, 396[M-AcOH]⁺, 381[M-CH₃-AcOH]⁺

化合物3: tR [min]=39.2; m/z 456[M]⁺, 441[M-CH₃]⁺, 396[M-AcOH]⁺, 381[M-CH₃-AcOH]⁺

【0063】

NMRの測定結果より、化合物3は3-アセトキシ-4-メチルエルゴスト-7-エンの文献値と一致した (油化学、第36巻、第5号、第301～319ページ、1987年)。この結果より化合物2は4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールであることが判明した。また、FAB-MSを用いた測定の結果、化合物1の分子量は576であった。化合物2 (アグリコン部) とグルコースを脱水縮合した場合、得られる化合物の分子量は、414 (化合物2) + 180 (グルコース) - 18 (水) = 576となり、化合物1の分子量と一致した。

【0064】

以上の結果より、化合物1の構造は、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチル

エルゴストー７－エン－３－オールであることが明らかとなった。

以下それぞれの分子式、分子量、化学式を示す。

【００６５】

（化合物１）

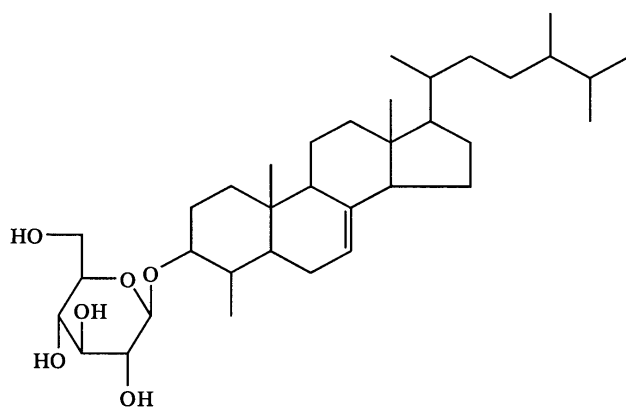
分子式： $C_{35}H_{60}O_6$

分子量：５７６

化学式：下記化学式（１）

【００６６】

【化２】



…（１）

10

20

【００６７】

（化合物２）

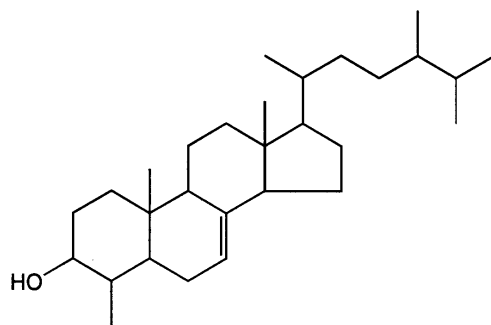
分子式： $C_{29}H_{50}O$

分子量：４１４

化学式：下記化学式（２）

【００６８】

【化３】



…（２）

30

【００６９】

（化合物３）

分子式： $C_{31}H_{52}O_2$

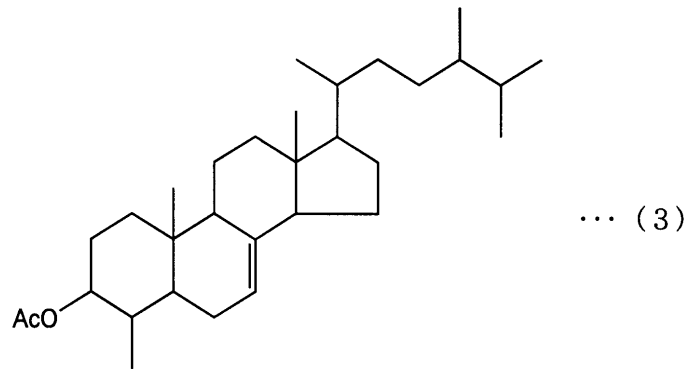
分子量：４５６

化学式：下記化学式（３）

【００７０】

40

【化 4】



10

【0071】

〔製造例 2〕

アロエベラの葉肉（透明ゲル部分）を加熱乾燥し、粉碎した乾燥アロエベラ粉末 0.3 g に、60%、80%、又は 100% エタノール 60 ml を加えた後、60℃で 1 時間加熱還流した。抽出液を 1500 rpm で 20 分間遠心分離し、上清を減圧下で濃縮して完全にエタノールを除去して、粗抽出物を得た。60%、80%、及び 100% エタノールを用いた抽出により得られた粗抽出物の乾燥重量は、各々 65 mg、42 mg、18 mg であった。これらの粗抽出物が 3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを含むことを、薄層クロマトグラフィーで確認した。

20

【0072】

〔製造例 3〕

アロエベラの葉肉（透明ゲル部分）を加熱乾燥し、粉碎した乾燥アロエベラ粉末 0.3 g に、水 60 ml を加えた後、95℃で 5 時間加熱還流した。抽出液を 1500 rpm で 20 分間遠心分離し、上清を凍結乾燥して、75 mg の粗抽出物を得た。この粗抽出物が 3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを含むことを、薄層クロマトグラフィーで確認した。

【0073】

〔製造例 4〕

アロエベラの葉肉（透明ゲル部分）を加熱乾燥し、これを粉碎し、さらに乾燥して調製したアロエベラ粉末 21 kg に、クロロホルム／メタノール混合液（2：1）90 リットルを加えた後、室温にて一晚浸漬した後、濾過し、濾過残渣に再びクロロホルム／メタノール混合液（2：1）90 リットルを添加して、同様の操作を計 4 回行った。得られた濾液（350 リットル）を 28℃で濃縮し、最終的に粗抽出物 784 g を得た。このうち、780 g の粗抽出物に、クロロホルム／メタノール混合液（2：1）2 リットルを添加し、1 時間攪拌した後、濾過して、クロロホルム／メタノール混合液層を回収した（A）。濾過残渣は、水 2.5 リットル及び酢酸エチル 2 リットルを順次添加して 1 時間攪拌後、酢酸エチル層（B）を回収し、残った水層にクロロホルム 5 リットルを再度添加し、1 時間攪拌後、クロロホルム層（C）を回収した。

30

40

【0074】

回収した A、B、及び C の有機溶媒抽出液を混合して、23℃にて濃縮した後、シリカゲルカラム〔ガラスカラム：52 mm×350 mm、充填剤：IR-63/210-W（ダイソー株式会社製）〕に添加した。引き続いて、薄層クロマトグラフィーで溶出物をモニタリングしながら、ヘキサン／クロロホルム混合液（1：1）を 10 リットル、クロロホルムを 10 リットル、クロロホルム／メタノール混合液（10：1）を 20 リットル、クロロホルム／メタノール混合液（5：1）を 20 リットルの順にカラムに通液し、各溶出溶媒の順に、フラクション 1（約 1 リットル）、フラクション 2（約 1.5 リットル）、フラクション 3（約 1.5 リットル）、フラクション 4（約 1.5 リットル）を回収した。

【0075】

50

このうち、フラクション3に目的の配糖体を含むことを薄層クロマトグラフィーで確認した後、溶媒を除去し、粗抽出物131.6gを得た。この粗抽出物130gについて、再度、シリカゲルカラム〔ガラスカラム：70mm×500mm、充填剤：SP-60-40/60（ダイソー株式会社製）〕に添加し、クロロホルム／メタノール混合液（30：1）を10リットル、クロロホルム／メタノール混合液（20：1）を50リットル、クロロホルム／メタノール混合液（10：1）を10リットル、クロロホルム／メタノール混合液（1：1）を10リットルをそれぞれ溶出溶媒として、圧：10kgfcm⁻²、流速：40ml/minの条件で順次溶出させた。溶出液は、フラクションコレクターによって100mlずつ分画し、フラクション1～8を回収した。

【0076】

10

回収したフラクションを薄層クロマトグラフィーで確認した結果、フラクション7に目的とする配糖体と夾雑物が存在していることが明らかとなったことから、このフラクションを濃縮し、再度、シリカゲルカラム〔ガラスカラム：70mm×500mm、充填剤：SP-60-40/60（ダイソー株式会社製）〕に添加して、クロロホルム／メタノール混合液（20：1）を10リットル、クロロホルム／メタノール混合液（10：1）を10リットルをそれぞれ溶出溶媒として、圧：10kgfcm⁻²、流速：40ml/minの条件で順次溶出させた。その結果、クロロホルム／メタノール混合液（10：1）の溶出画分に含まれる目的の配糖体である3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを25.3gを製造した。

【0077】

20

〔参考例1〕

本試験は、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの高血糖状態の改善効果を評価するために行った。

【0078】

（1）試料の調製

前記製造例1で製造した3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを試験試料とした。

【0079】

（2）試験方法

II型糖尿病モデルマウスとして、6週齢、雄性db/dbマウス（日本クレア社より購入）を使用した。当該マウスを1群7匹に群分けした。試験試料をDMSOに溶解した後、生理食塩水にて、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの濃度を15μg/mlに調整した。最終DMSO濃度は、0.2%に調整した。当該II型糖尿病モデルマウスに1日1回ゾンドを用いて試験試料溶液を1mlずつ連日経口投与した。尚、試験試料を含まない溶液を陰性試料とした。空腹時血糖値および、通常血糖値は、アントセンスII（バイエル三共社製）にて経時的に測定した。空腹時血糖値は、15時間の絶食の後に測定を行った。

30

【0080】

（3）高血糖改善効果

図3および図4に、通常血糖値、および空腹時血糖値の試験試料投与期間中の経時的変化を示す。陰性試料を投与したマウスでは、通常血糖値及び空腹時血糖値のいずれにおいても急激な血糖値の上昇が観察されたが、試験試料を連続投与したマウスにおいては、明らかに血糖値の上昇を抑制する効果が観察された。

40

【0081】

〔試験例1〕

本試験は、膵臓機能低下また膵臓組織障害のモデル動物として知られているdb/dbマウスを用いて、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの膵臓内分泌細胞の機能（インスリン産生能）の保護作用を評価するために行った。

【0082】

50

(1) 試料の調製

前記製造例1で製造した3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを試験試料とした。

【0083】

(2) 試験方法

本試験において、マウスは6週齢、雄性db/dbマウス（日本クレア社より購入）を使用した。前記マウスを1群7匹に群分けした。各試験試料をDMSOに溶解した後、生理食塩水にて、0.1または1μg/mlに調整した。最終DMSO濃度は、0.2%に調整した。該モデルマウスに各々1mlずつ、1日1回、ゾンデを用いて経口投与を42日間連続で行った。連続投与43日目に血清中のインスリン量を、レビスインスリンマウスELISAキット（シバヤギ社製）を用いて測定した。

10

【0084】

(3) 試験結果

試料連続投与43日目の血清中インスリン量を表1に示す。試験試料1を1μg/匹の濃度で投与した場合、血清中インスリン量は、陰性試験の216%と高く、明らかに膵臓機能（インスリン産生能）の保護効果が見られた。一方、0.1μg/匹の濃度で投与した場合、有意な効果は見られなかった。また、投与期間中、体重および病的な所見からも副作用は全くみられなかった。

【0085】

【表1】

20

表1 連続投与43日目の血清中のインスリン量

試料	投与43日目 血中インスリン量(ng/ml)	〈陰性試料に対するp値〉
陰性試料	1.99 ± 0.66	
試験試料 (1μg)	4.29 ± 0.71	<0.0001*〉
試験試料 (0.1μg)	2.24 ± 0.66	<0.16〉

*：統計学的に有意差があることを示す。

30

【0086】

〔試験例2〕

本試験は、膵臓機能低下また膵臓組織障害のモデル動物として知られているdb/dbマウスを用いて、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールの膵臓組織の保護作用について検討した。

【0087】

(1) 試料の調製

前記製造例1で製造した3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールを試験試料とした。

【0088】

40

(2) 試験方法

本試験においてマウスは6週齢、雄性db/dbマウス（日本クレア社より購入）を使用した。前記マウスを1群7匹に群分けした。各試験試料をDMSOに溶解した後、生理食塩水にて、1μg/mlに調整した。最終DMSO濃度は、0.2%に調整した。モデルマウスに各々1mlずつ、1日1回、ゾンデを用いて経口投与を42日間連続で行った。連続投与43日目に膵臓を摘出し、十二指腸側から上流、中流、下流の3部分に分け、ホルマリン液にて固定した後、常法に従いパラフィンブロックを作製した。パラフィンブロックより切片スライドを作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。膵臓3箇所切片上に存在するラ氏島の数及び、切片中の最大面積を有するラ氏島の面積を、顕微鏡（ニコン社製「ECLIPSE E600」）の接眼マイクロメーターを用いて測定した。

50

【0089】

(3) 試験結果

試料連続投与43日目における、膵臓切片中のラ氏島数を表2に、ラ氏島の最大面積を表3に示す。試験試料を投与したマウスのラ氏島の数は、陰性試験投与マウスにおけるラ氏島数の188%となり、明らかに多いことがわかった。同様に、試験試料を投与したマウスにおける、ラ氏島の最大面積は、陰性試験の3.6倍の大きさを保っており、膵臓障害によるラ氏島の縮小を予防していることがわかった。これらの結果より、3-O-β-D-グルコピラノシル-4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オールは、膵臓組織、特に内分泌細胞の保護作用を有することが明らかになった。

【0090】

10

【表2】

表2 投与マウスにおける、膵臓病理切片中のラ氏島の数

試料	投与43日目 切片中のラ氏島の数(個)	〈陰性試料に対するp値〉
陰性試料	40.3 ± 9.7	
試験試料 (1 μg)	75.7 ± 24.7	<0.04*〉

*：統計学的に有意差があることを示す。

20

【0091】

【表3】

表3 投与マウスにおける、膵臓病理切片中のラ氏島の最大面積

試料	投与43日目 ラ氏島の最大面積×10 ³ (μm ²)	〈陰性試料に対するp値〉
陰性試料	44.5 ± 17.7	
試験試料 (1 μg)	160.0 ± 116.7	<0.04*〉

*：統計学的に有意差があることを示す。

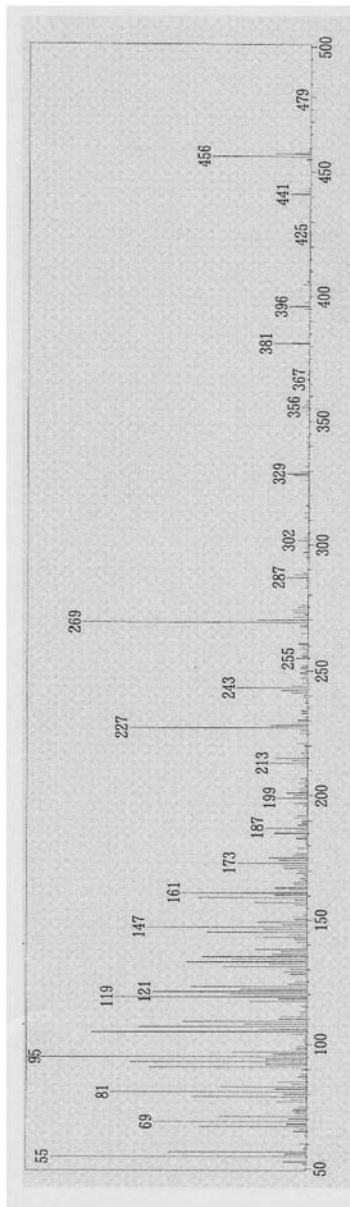
30

【産業上の利用可能性】

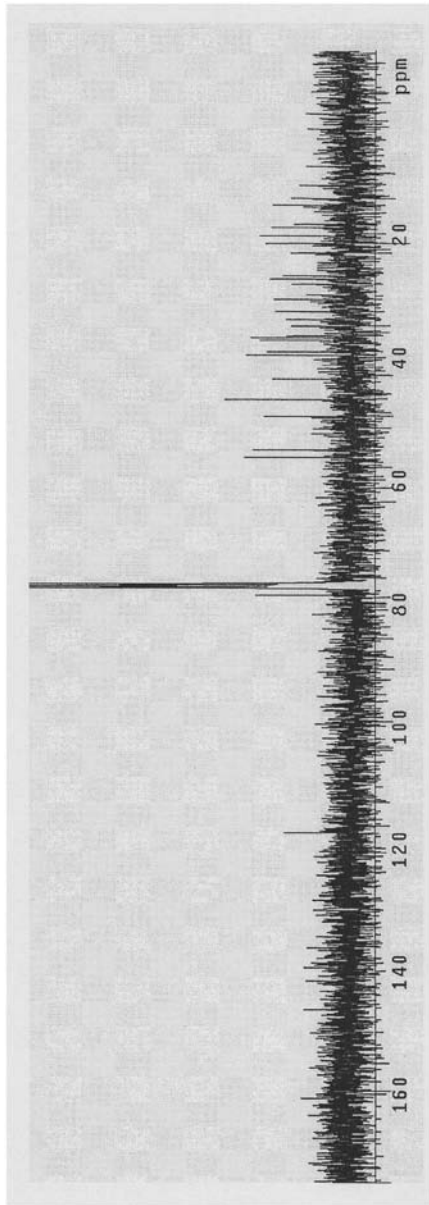
【0092】

本発明の医薬及び飲食品は、安全に投与又は摂取でき、かつ、膵臓内分泌腺細胞を保護し、機能を改善する作用を持つ。また、本発明の医薬及び飲食品は、好ましい態様では、医薬又は飲食品として好ましくない成分であるバルパロインあるいはアロエエモジンを含まない。

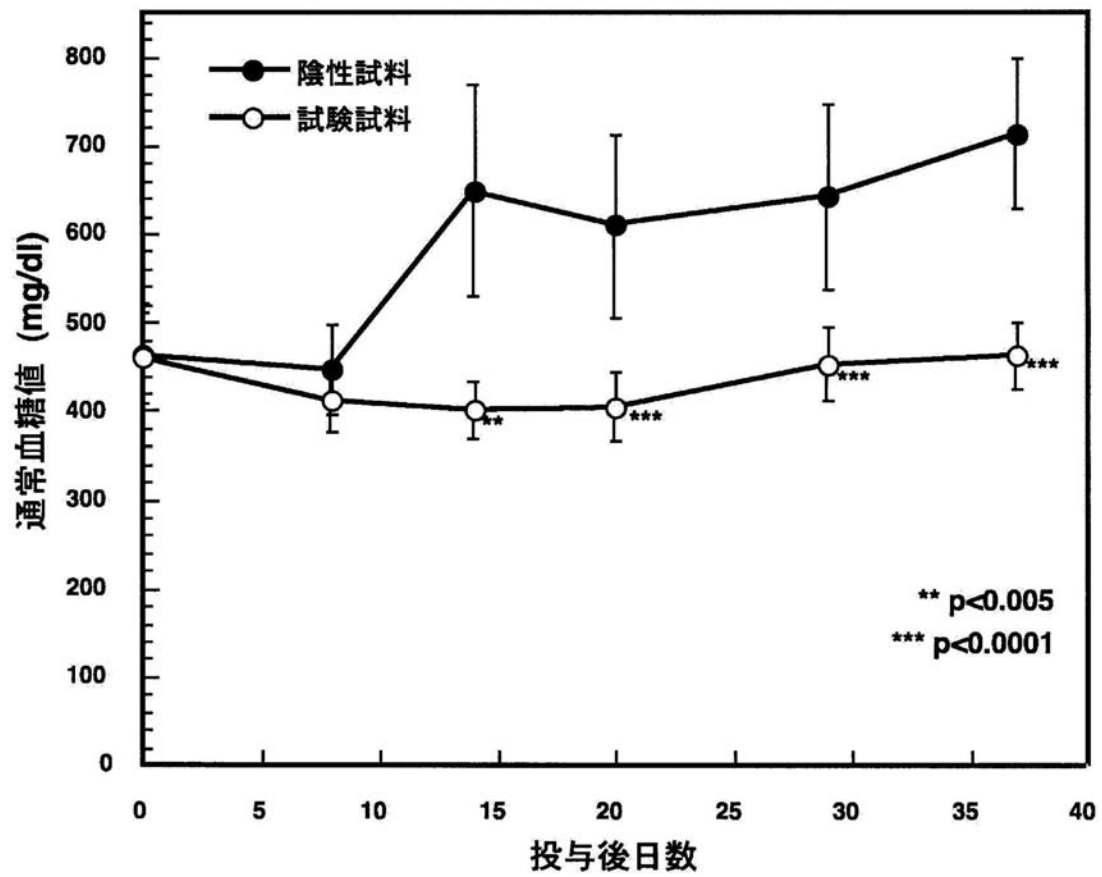
【図 1】



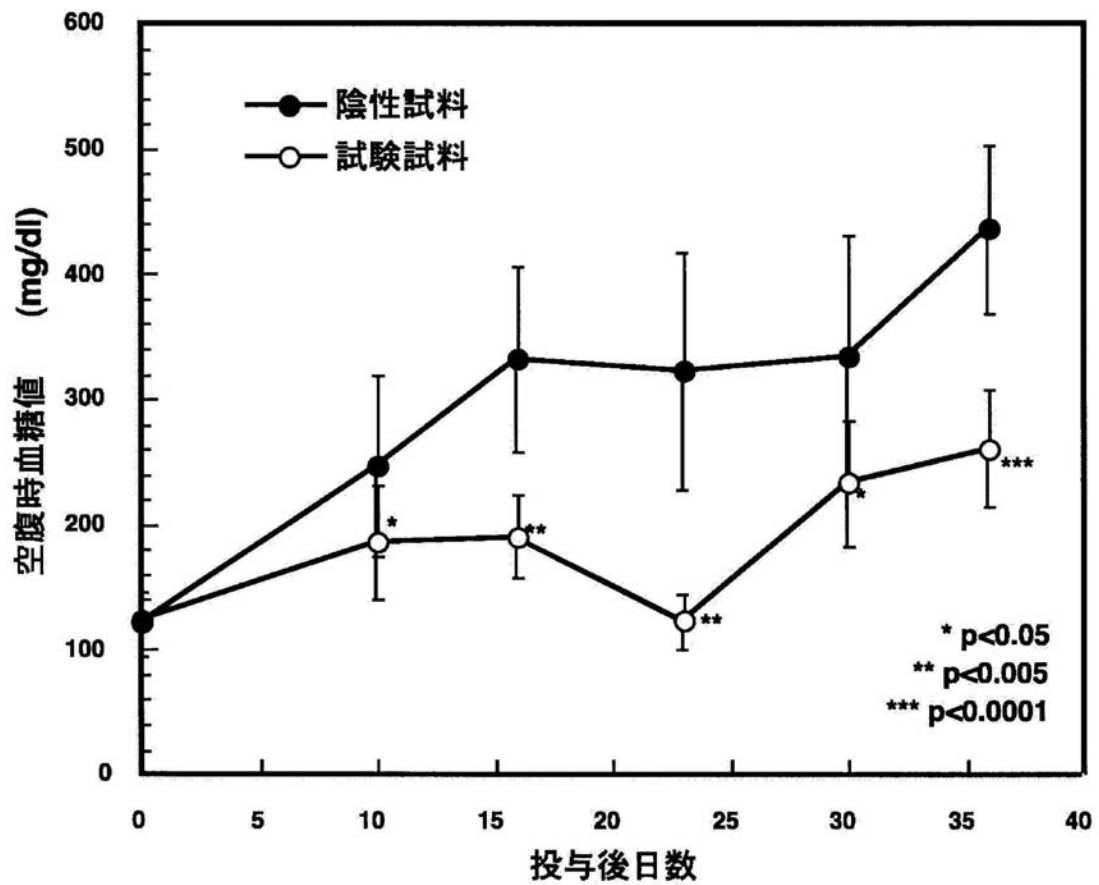
【図 2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(72)発明者 羽原 式子

日本国神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社 生物科学研究所内

(72)発明者 山田 宗夫

日本国神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社 生物科学研究所内

審査官 荒木 英則

(56)参考文献 特開2003-286185 (JP, A)

特開平09-188630 (JP, A)

国際公開第00/025803 (WO, A1)

特開2003-113111 (JP, A)

YEH, G.Y., et al., Diabetes Care, 26(4), pp.1277-1294 (2003)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/00-31/80

A61K 36/00-36/9068

A61P 1/00-43/00

C07J 1/00-75/00

BIOSIS(STN)

Caplus(STN)

EMBASE(STN)

MEDLINE(STN)

REGISTRY(STN)

WPI(DIALOG)

JMEDPlus(JDream2)

JSTPlus(JDream2)

JST7580(JDream2)