

【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18年7月20日(2006.7.20)

【公開番号】特開2001-199995(P2001-199995A)

【公開日】平成13年7月24日(2001.7.24)

【出願番号】特願2000-13711(P2000-13711)

【国際特許分類】

C 07 J	63/00	(2006.01)
A 23 L	1/30	(2006.01)
A 61 K	31/56	(2006.01)
A 61 P	3/06	(2006.01)
A 61 P	43/00	(2006.01)
A 61 K	36/18	(2006.01)

【F I】

C 07 J	63/00	
A 23 L	1/30	B
A 61 K	31/56	
A 61 P	3/06	
A 61 P	43/00	1 1 1
A 61 K	35/78	C

【手続補正書】

【提出日】平成18年6月1日(2006.6.1)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0006

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0006】

【課題を解決するための手段】

この様な状況に鑑みて、本発明者らは、ACAT阻害作用を有する新たな物質を求めて鋭意研究努力を重ね、ACAT阻害作用が知られているイレックス・コルヌータのエッセンスより、その有効成分の単離を試みたところ、ベツリンに代表される一般式(I)に表される化合物に優れたACAT阻害作用を見出し、発明を完成させるに至った。即ち、本発明は以下に示す技術に関するものである。

(1) 下記一般式(I)に表されるトリテルペンからなる、アシルC<sub>0</sub>Aコレステリルアシルトランスフェラーゼ阻害剤(ACAT阻害剤)。

(2) 一般式(I)に表される化合物が、下記に構造を示すベツリンであることを特徴とする、(1)に記載のACAT阻害剤。

(3) (1)又は(2)に記載のACAT阻害剤を含有する、抗高脂血症用の組成物。

(4) 食品であることを特徴とする、(3)に記載の抗高脂血症用の組成物。

以下、本発明について、実施の形態を中心に詳細に説明を加える。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

【発明の実施の形態】

## (1) 本発明の A C A T 阻害剤及び本発明の化合物

本発明の A C A T 阻害剤は、上記一般式 (I) に表されるトリテルペン化合物の配糖体、即ちトリテルペンからなる。これらの化合物は、イレックス・コルヌータの抽出物を精製することにより得ることが出来るが、化学的にも合成し得る。イレックス・コルヌータの抽出物を精製して得る場合は、好適な極性溶媒としては、例えば、水、エタノールやメタノールなどのアルコール類、ジエチルエーテルやテトラヒドロフランなどのエーテル類、塩化メチレンやクロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、アセトンやメチルエチルケトンなどのケトン類等から選ばれる 1 種乃至は 2 種以上が例示でき、この中でも特に水やアルコール類が安全性と抽出効率の面で好ましい。抽出は、乾燥した、或いは生のままのイレックス・コルヌータの植物体を細切などしたりして、これに 1 ~ 10 倍量の溶媒を加え、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し、冷却した後、不溶物を濾過などで取り除けば得られる。本発明の A C A T 阻害剤であるトリテルペン類は、非極性物質であるため、こうして得た極性溶媒抽出物を、溶媒を除去した後、エーテル - 水、クロロホルム - 水、ブタノール - 水等の 2 相溶媒系で液液抽出し、有機溶媒溶性物質を取り、精製することが、効率的で好ましい。この様な抽出で得られた有機溶媒層は溶媒を除去した後、A C A T 阻害作用を指標に、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等で精製することにより、本発明の A C A T 阻害剤であるトリテルペン類を分離することが出来る。これら一般式 (I) に表される化合物の内、特に好ましいものは、上記に構造を示すベツリンであり、このものが特に A C A T 阻害作用に優れる。

## 【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0010】

## (2) 本発明の組成物

本発明の組成物は、上記 A C A T 阻害剤から選ばれる一種以上を含有し、抗高脂血症用であることを特徴とする。これらの A C A T 阻害剤を配合することにより A C A T を阻害し、コレステロールの恒常性の不調を正常に戻すことが出来る。即ち、血中のコレステロール量が多く高脂血症の人に食品又は医薬組成物として投与すれば血中のコレステロール量を低下せしめ、動脈硬化の人に食品又は医薬組成物として投与すればこれを改善し、動脈アテロームの人に食品或いは医薬組成物として投与すればやはりこれを改善する。更に、未発症の人に同様に投与すれば、発症を未然に防ぐことが出来る。これらの組成物の内、特に好ましいものは、安全性が高く、習慣性も誘発しないことから食品組成物である。

## 【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

本発明の医薬組成物は、本発明の A C A T 阻害剤と通常医薬組成物で用いられている製剤化の為の任意成分を含有する。任意成分としては、賦形剤、增量剤、結合剤、被覆剤、糖衣剤、安定剤、崩壊剤、着色剤、滑沢剤、p H 調製剤、可溶化剤、分散剤、増粘剤、等張剤等が例示できる。これら任意成分と本発明の A C A T 阻害剤を通常の方法に製剤化すれば本発明の医薬組成物が得られる。又、必要に応じて本発明の医薬組成物は、メバロチニ等の高脂血症剤やクロロプロマジン等の循環器用薬を配合することも可能である。

## 【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】削除

【補正の内容】

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

<実施例1> イレックス・コルヌータの乾燥葉1kgに101のメタノールを加え、2時間加熱還流して、冷却した後、濾過により不溶物を取り除き、減圧濃縮し、アモルファスを得た。このものを、クロロホルム・水で液液抽出し、クロロホルム層をとり、減圧濃縮した。このものをシリカゲルカラムクロマトグラフィーにチャージし、ノルマルヘキサン：イソプロピルエーテル100：0 0：100、20%メタノール含有イソプロピルエーテルで溶出させ、精製し、更に、これらの分画を逆相(ODS)のHPLCで更に分画・精製しベツリンを得た。ベツリンの同定は核磁気共鳴スペクトルより決定された。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

<実施例2> ACT活性阻害作用の測定

ベツリンのACT活性阻害作用を測定した。即ち、チューブに80μMのウシ血清アルブミン水溶液4μl、2mMジチオスレイトール水溶液0.8μl、150mM磷酸2水素1カリウムバッファー(pH7.)8μl、120μg/8μlのラット肝ミクロソーム水分散液8μl、100μMの[1-14C]オレオイルCoA水溶液5μl、水15.2μl、検体(最終濃度が0.2、0.05mg/mlになるような水溶液)4μlを秤込み、30で5分インキュベートし、メタノール200μl、コレステリルオレート100μg、[7-14C]コレステリルオレート2μl、ヘキサン900μlを順次加え混合した。ヘキサン相0.6mlを採取し窒素ガスで乾固しクロロホルムに溶かし薄層クロマトグラフ板にスポットし石油エーテル-ジエチルエーテル-酢酸(85:15:3)で展開した。沃素でコレステリルオレートを発色させ、切りとり液体シンチレーターで放射線量を測定し生成したコレステリルオレート量を算出し、(コントロールのコレステリルオレート量-検体存在時のコレステリルオレート量)×100/(コントロールのコレステリルオレート量)の式からACT阻害値(IC50M)を算出した。結果は2.26×10<sup>-3</sup>Mであり、優れたACT阻害作用を認められることがわかる。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】削除

【補正の内容】

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】削除

【補正の内容】

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】削除

【補正の内容】