(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2012-136473
(P2012-136473A)
(43)公開日　平成24年7月19日(2012.7.19)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 31/352	(2006.01)	A61K	31/352	4B018
A61P 17/00	(2006.01)	A61P	17/00	4C062
A61P 19/02	(2006.01)	A61P	19/02	4C083
A61P 17/02	(2006.01)	A61P	17/02	4C086
A61P 29/00	(2006.01)	A61P	29/00　101	

審査請求 未請求　請求項の数 1　ＯＬ　（全 9 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2010-290228 (P2010-290228)
(22)出願日　平成22年12月27日 (2010.12.27)

(71)出願人　591082421
丸善製薬株式会社
広島県尾道市向東町１４７０３番地の１０
(74)代理人　100108833
弁理士　早川　裕司
(74)代理人　100162156
弁理士　村雨　圭介
(72)発明者　岩橋　弘恭
広島県福山市新市町相方１０８９－８　丸善製薬株式会社総合研究所内
(72)発明者　周　艶陽
広島県福山市新市町相方１０８９－８　丸善製薬株式会社総合研究所内

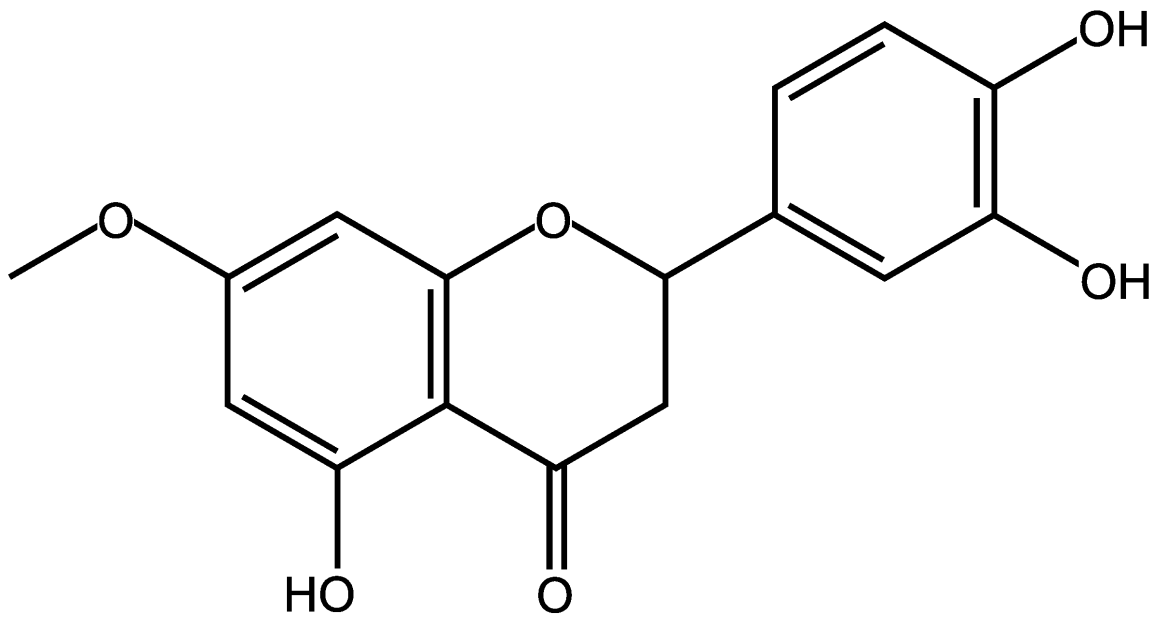
最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒアルロン酸産生促進剤

(57)【要約】
【課題】優れたヒアルロン酸産生促進作用を有する物質を見出し、それを有効成分とするヒアルロン酸産生促進剤を提供する。
【解決手段】本発明のヒアルロン酸産生促進剤の有効成分として、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを含有させる。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを有効成分として含有することを特徴とするヒアルロン酸産生促進剤。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、ヒアルロン酸産生促進剤に関するものである。
【背景技術】
【０００２】
ヒアルロン酸は、皮膚、軟骨、関節液、臍帯、眼硝子体、その他の結合組織に存在するムコ多糖の一種である。ヒアルロン酸は、細胞間の間隙に充填されることにより細胞を保持する機能を有し、さらに細胞間隙への水分の保持、組織への潤滑性や柔軟性の付与、機械的障害等の外力に対する抵抗等、数多くの機能を有している。
【０００３】
皮膚の真皮及び表皮は、表皮細胞、線維芽細胞、及び真皮細胞外マトリックス等によって構成されている。ヒアルロン酸は、コラーゲン、エラスチン等とともに真皮細胞外マトリックスを構成し、表皮細胞や線維芽細胞等の細胞の外にあって皮膚構造を支持している。若い皮膚では、これら皮膚組織の相互作用が恒常性を保つことによって、水分保持、柔軟性、弾力性等が確保され、肌は外見的にも張りや艶があって、みずみずしい状態が維持される。
【０００４】
ところが、紫外線、著しい乾燥、過度の皮膚洗浄等のある種の外的因子の影響を受けたり、加齢が進んだりすると、ヒアルロン酸の分解及び変質が起こる。また、外的因子の影響や加齢に伴う線維芽細胞の増殖率低下も、天然保湿因子であるヒアルロン酸の産生量の低下を生じる。その結果、皮膚の弾力性や保湿機能は低下し、角質は異常剥離を引き起こし、肌は張りや艶を失い、荒れ、しわ、くすみ等の老化症状を呈するようになる。
【０００５】
このような皮膚の老化に伴う、荒れ、しわ、くすみ、きめの消失、弾力性の低下及び保湿機能の低下等には、ヒアルロン酸の減少、変性が関与している。近年、紫外線等がこの変化を誘導する因子とされており、皮膚のしわ形成等の大きな要因となると考えられる。したがって、ヒアルロン酸産生の促進は、皮膚の老化を防止及び改善する上で重要である。
【０００６】
また、関節液に含まれるヒアルロン酸は、関節軟骨の表面を覆い、ヒアルロン酸が有する潤滑機能、軟骨に対する被覆・保護機能等により、関節の円滑な作動に役立っている。一方、慢性関節リウマチ等の関節炎において、関節液におけるヒアルロン酸の濃度が低下していることが知られている。したがって、ヒアルロン酸の産生を促進することで、慢性関節リウマチ、変形性関節炎、化膿性関節炎、痛風性関節炎、外傷性関節炎、又は骨関節炎等の関節炎を予防又は治療することができると考えられる。
【０００７】
さらに、創傷又は熱傷の治癒過程において、肉芽（組織）が形成するが、肉芽中にヒアルロン酸が著しく増加することが知られている。そのため、ヒアルロン酸の産生を促進することで、創傷又は熱傷の治癒を促進することができると考えられる。
【０００８】
従来、ヒアルロン酸産生促進作用を有するものとしては、クスノハガシワからの抽出物（特許文献１参照）、スターフルーツからの抽出物（特許文献２参照）等が知られている。
【０００９】
なお、従来、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールは、ヨモギ属の植物から単離されてお

り、けいれん緩和作用を有することが知られている（非特許文献１参照）。
【先行技術文献】
【特許文献】
【００１０】
【特許文献１】特開２００３－１４６８３７号公報
【特許文献２】特開２００３－３００８９３号公報
【非特許文献】
【００１１】
【非特許文献１】Planta Med., １９９９年２月, Vol.59, No.1, p.42-45
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１２】
本発明は、優れたヒアルロン酸産生促進作用を有する化合物を見出し、それを有効成分とするヒアルロン酸産生促進剤を提供することを目的とする。
【課題を解決するための手段】
【００１３】
上記課題を解決するために、本発明のヒアルロン酸産生促進剤は、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを有効成分として含有することを特徴とする。
【発明の効果】
【００１４】
本発明によれば、ヒアルロン酸産生促進作用に優れたヒアルロン酸産生促進剤を提供することができる。
【発明を実施するための形態】
【００１５】
以下、本発明の実施の形態について説明する。
本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、下記式で表される７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを有効成分として含有するものである。
【００１６】
【化１】



【００１７】
７－Ｏ－メチルエリオジクチオールは、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを含有する植物の抽出物から単離・精製することにより製造することもできるし、合成により製造することもできる。合成により製造する場合、公知の方法により合成することができる。

【００１８】
７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを含有する植物抽出物は、植物の抽出に一般に用いられている方法によって得ることができる。７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを含有する植物としては、例えば、マジョラム（学名：Origanum majorana）等が挙げられる。
【００１９】
マジョラム（Origanum majorana，別名：マヨラナ，オレガノ）は、シソ科ハナハッカ属に属する多年生草本であって、地中海沿岸、北アフリカ、西アジア等に分布しており、これらの地域から容易に入手することができる。抽出原料として使用し得る構成部位としては、例えば、葉部、茎部、花部、蕾部、根茎部、地上部又はこれらの混合物が挙げられ、これらの中でも特に葉部を用いるのが好ましい。
【００２０】
上記植物は、抽出原料を乾燥した後、そのまま又は粗砕機を用いて粉砕し、抽出溶媒による抽出に供することにより得ることができる。乾燥は天日で行ってもよいし、通常使用される乾燥機を用いて行ってもよい。また、ヘキサン等の非極性溶媒によって脱脂等の前処理を施してから抽出原料として使用してもよい。脱脂等の前処理を行うことにより、上記植物の極性溶媒による抽出処理を効率よく行うことができる。
【００２１】
抽出溶媒としては、極性溶媒を使用するのが好ましく、例えば、水、親水性有機溶媒等が挙げられ、これらを単独で又は２種以上を組み合わせて、室温又は溶媒の沸点以下の温度で使用することが好ましい。
【００２２】
抽出溶媒として使用し得る水としては、純水、水道水、井戸水、鉱泉水、鉱水、温泉水、湧水、淡水等のほか、これらに各種処理を施したものが含まれる。水に施す処理としては、例えば、精製、加熱、殺菌、濾過、イオン交換、浸透圧調整、緩衝化等が含まれる。したがって、本実施形態において抽出溶媒として使用し得る水には、精製水、熱水、イオン交換水、生理食塩水、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等も含まれる。
【００２３】
抽出溶媒として使用し得る親水性有機溶媒としては、メタノール、エタノール、プロピルアルコール、イソプロピルアルコール等の炭素数１～５の低級脂肪族アルコール；アセトン、メチルエチルケトン等の低級脂肪族ケトン；１，３－ブチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン等の炭素数２～５の多価アルコール等が挙げられる。
【００２４】
２種以上の極性溶媒の混合液を抽出溶媒として使用する場合、その混合比は適宜調整することができる。例えば、水と低級脂肪族アルコールとの混合液を使用する場合には、水１０容量部に対して低級脂肪族アルコール１～９０容量部を混合することが好ましく、水と低級脂肪族ケトンとの混合液を使用する場合には、水１０容量部に対して低級脂肪族ケトン１～４０容量部を混合することが好ましく、水と多価アルコールとの混合液を使用する場合には、水１０容量部に対して多価アルコール１０～９０容量部を混合することが好ましい。
【００２５】
抽出処理は、抽出原料に含まれる可溶性成分を抽出溶媒に溶出させ得る限り特に限定はされず、常法に従って行うことができる。例えば、抽出原料の５～１５倍量（質量比）の抽出溶媒に、抽出原料を浸漬し、常温又は還流加熱下で可溶性成分を抽出させた後、濾過して抽出残渣を除去することにより抽出液を得ることができる。得られた抽出液から溶媒を留去するとペースト状の濃縮物が得られ、この濃縮物をさらに乾燥すると乾燥物が得られる。
【００２６】
以上のようにして得られた抽出液、当該抽出液の濃縮物又は当該抽出液の乾燥物から７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを単離・精製する方法は、特に限定されるものではなく、常法により行うことができる。例えば、抽出物を、シリカゲルやアルミナ等の多孔質物

質、スチレン－ジビニルベンゼン共重合体やポリメタクリレート等の多孔性樹脂等を用いたカラムクロマトグラフィーに付して、水、アルコール、アセトンの順で溶出させ、アルコールで溶出される画分として得ることができる。カラムクロマトグラフィーにて溶出液として用いられるアルコールは、特に限定されるものではなく、例えば、メタノール、エタノール、プロピルアルコール、イソプロピルアルコール等の炭素数１～５の低級脂肪族アルコール又はそれらの水溶液等が挙げられる。さらに、カラムクロマトグラフィーにより得られた画分を、ＯＤＳを用いた逆相シリカゲルクロマトグラフィー、再結晶、液－液向流抽出、イオン交換樹脂を用いたカラムクロマトグラフィー等の任意の有機化合物精製手段を用いて精製してもよい。

【００２７】

以上のようにして得られる７－Ｏ－メチルエリオジクチオールは、優れたヒアルロン酸産生促進作用を有しているため、ヒアルロン酸産生促進剤の有効成分として用いることができる。

【００２８】

本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールのみからなるものでもよいし、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールを製剤化したものでもよい。

【００２９】

本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、デキストリン、シクロデキストリン等の薬学的に許容し得るキャリアーその他任意の助剤を用いて、常法に従い、粉末状、顆粒状、錠剤状、液状等の任意の剤形に製剤化することができる。この際、助剤としては、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味・矯臭剤等を用いることができる。ヒアルロン酸産生促進剤は、他の組成物（例えば，皮膚外用剤，飲食品等）に配合して使用することができるほか、軟膏剤、外用液剤、貼付剤等として使用することができる。

【００３０】

本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤を製剤化した場合、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールの含有量は、特に限定されるものではなく、目的に応じて適宜設定することができる。

【００３１】

なお、本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、必要に応じて、ヒアルロン酸産生促進作用を有する他の天然抽出物等を、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールとともに配合して有効成分として用いることができる。

【００３２】

本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤の患者に対する投与方法としては、経皮投与、経口投与等が挙げられるが、疾患の種類に応じて、その予防・治療等に好適な方法を適宜選択すればよい。

【００３３】

また、本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤の投与量も、疾患の種類、重症度、患者の個人差、投与方法、投与期間等によって適宜増減すればよい。

【００３４】

本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、有効成分である７－Ｏ－メチルエリオジクチオールが有するヒアルロン酸産生促進作用を通じて、ヒアルロン酸の産生を促進し、荒れ、しわ、くすみ、きめの消失、弾力性の低下及び保湿機能の低下等の皮膚の老化症状を予防又は改善することができる。また、本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、慢性関節リウマチ、変形性関節炎、化膿性関節炎、痛風性関節炎、外傷性関節炎、又は骨関節炎等の関節炎を予防又は治療することができるとともに、創傷又は熱傷の治癒を促進することができる。ただし、本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、これらの用途以外にもヒアルロン酸産生促進作用を発揮することに意義のあるすべての用途に用いることができる。

【００３５】

また、本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、優れたヒアルロン酸産生促進作用を有するため、例えば、皮膚外用剤又は飲食品に配合するのに好適である。この場合に、７－

Ｏ－メチルエリオジクチオールをそのまま配合してもよいし、７－Ｏ－メチルエリオジクチオールから製剤化したヒアルロン酸産生促進剤を配合してもよい。

【００３６】

ここで、皮膚外用剤としては、その区分に制限はなく、経皮的に使用される皮膚化粧料、医薬部外品、医薬品等を幅広く含むものであり、具体的には、例えば、軟膏、クリーム、乳液、美容液、ローション、パック、ファンデーション、リップクリーム、入浴剤、ヘアートニック、ヘアーローション、石鹸、ボディシャンプー等が挙げられる。

【００３７】

飲食品としては、その区分に制限はなく、経口的に摂取される一般食品、健康食品、保健機能食品、医薬部外品、医薬品等を幅広く含むものである。

【００３８】

また、本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、優れたヒアルロン酸産生促進作用を有するので、ヒアルロン酸の産生機構に関連する研究のための試薬としても好適に利用することができる。

【００３９】

なお、本実施形態のヒアルロン酸産生促進剤は、ヒトに対して好適に適用されるものであるが、それぞれの作用効果が奏される限り、ヒト以外の動物（例えば，マウス，ラット，ハムスター，イヌ，ネコ，ウシ，ブタ，サル等）に対して適用することもできる。

【実施例】

【００４０】

以下、製造例、試験例及び配合例を示し、本発明を具体的に説明するが、本発明は下記の各例に何ら制限されるものではない。

【００４１】

〔製造例１〕７－Ｏ－メチルエリオジクチオールの製造

抽出原料としてマジョラムの粉末５００ｇにメタノール５０００ｍＬを加え、穏やかに攪拌しながら３時間、７０℃にて抽出した後、ろ過した。得られたろ液を４０℃で減圧下にて濃縮し、さらに減圧乾燥機で乾燥して粉末状の抽出物１２４ｇを得た（収率：２４．８％）。

【００４２】

得られたマジョラム抽出物１２４ｇに水１Ｌを加えて懸濁させ、多孔性樹脂（三菱化学社製，Ｄｉａｉｏｎ　ＨＰ－２０）１ｋｇに付し、水８Ｌ、６０％メタノール８Ｌ、メタノール８Ｌの順で溶出させた。次いで、メタノール８Ｌで溶出させた画分に含まれるメタノールを留去して、メタノール溶出画分１６．２ｇを得た。得られたメタノール溶出画分１６．２ｇを、クロロホルム：メタノール：水＝１０：３：１（容量比，下層）の混合溶媒に溶解し、シリカゲル（メルク社製，商品名：シリカゲル　６０）を充填したガラス製のカラム上部から注入して、シリカゲルに吸着させた。次いで、移動相としてクロロホルム：メタノール：水＝１０：３：１（容量比，下層）を流し、その溶出液を集め、脱溶媒して、フラボノイド濃縮物４．６ｇを得た。

【００４３】

得られたフラボノイド濃縮物４．１ｇをメタノール：水＝１：１（容量比）の混合溶媒に溶解し、ＯＤＳ（富士シリシア化学社製，商品名：クロマトレックスＯＤＳ　ＤＭ１０２０Ｔ）を充填したガラス製のカラム上部から注入して、ＯＤＳに吸着させた。次いで、移動相としてメタノール：水＝１：１（容量比）を流し、その溶出液を集め、脱溶媒して、フラボノイド濃縮物１１７ｍｇを得た。得られたフラボノイド濃縮物を下記の条件で液体クロマトグラフィーを用いて分画し、精製物（７１ｍｇ）を単離した。

【００４４】

＜高速液体クロマトグラフィー条件＞

固定相：Ｄｅｖｅｌｏｓｉｌ　ＲＰＡＱＵＥＯＵＳ－ＡＲ－５（野村化学社製）

カラム径：２０ｍｍ

カラム長：２５０ｍｍ

移動相：メタノール：水＝７：３
移動相流量：９ｍＬ／ｍｉｎ
検出：ＲＩ

【００４５】

上述のようにして得られた精製物について、ＥＳＩ－マススペクトル、^{13}Ｃ－ＮＭＲにより分析した結果を下記に示す。

【００４６】

＜ＥＳＩ－マススペクトル＞
ｍ／ｚ　３０３（Ｍ＋Ｈ）$^{+}$

【００４７】

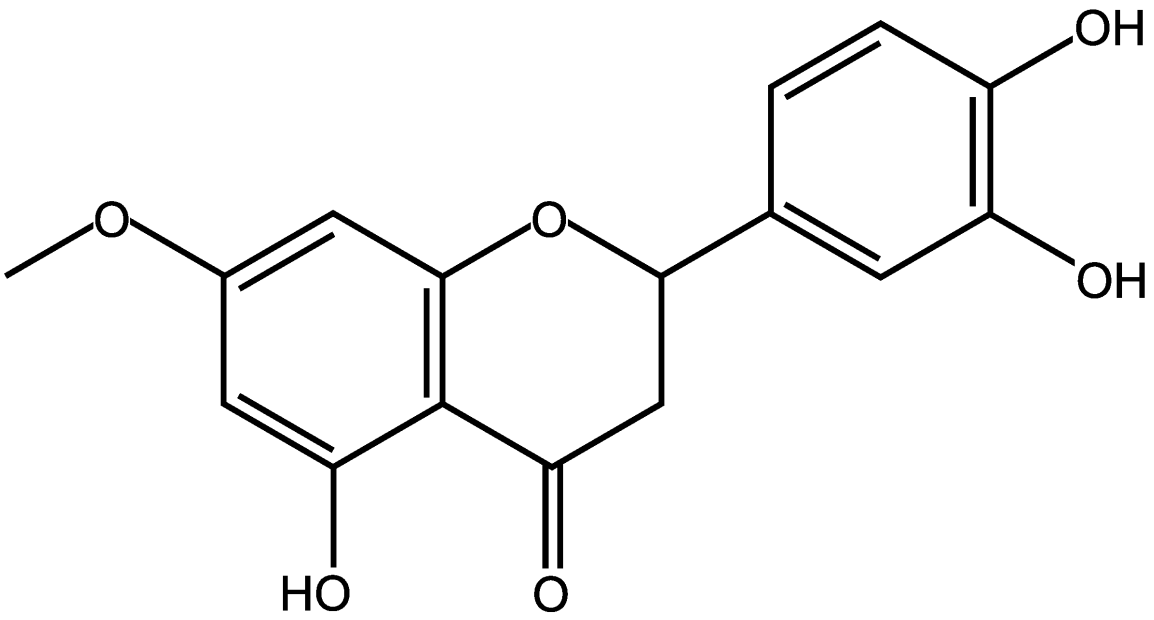
＜^{13}Ｃ－ＮＭＲケミカルシフトδ（帰属炭素）＞
４２．０（３－Ｃ）、５５．７（CH_3O－Ｃ）、７８．５（２－Ｃ）、９３．７（８－Ｃ）、９４．５（６－Ｃ）、１０２．６（１０－Ｃ）、１１４．３（２’－Ｃ）、１１５．３（５’－Ｃ）、１１７．８（６’－Ｃ）、１２９．２（１’－Ｃ）、１４５．１（３’－Ｃ）、１４５．６（４’－Ｃ）、１６２．７（９－Ｃ）、１６３．１（５－Ｃ）、１６７．３（７－Ｃ）、１９６．７（４－Ｃ）

【００４８】

以上の結果から、マジョラム抽出物を多孔性樹脂により分画し、ＯＤＳにより分離し、さらに液体クロマトグラフィーにより精製して得られた精製物が、下記式で表される７－Ｏ－メチルエリオジクチオール（試料１）であることが確認された。

【００４９】

【化２】



【００５０】

〔試験例１〕ヒアルロン酸産生促進作用試験

製造例１で得られた７－Ｏ－メチルエリオジクチオール（試料１）について、以下のようにしてヒアルロン酸産生促進作用を試験した。

【００５１】

ヒト正常新生児皮膚表皮角化細胞（ＮＨＥＫ）を、ヒト正常新生児表皮角化細胞用培地（ＫＧＭ）を用いて培養した後、トリプシン処理により細胞を回収した。回収した細胞を１×１０^{5}ｃｅｌｌｓ／ｍＬの細胞密度になるようにＫＧＭで希釈した後、９６ウェルプレートに１ウェルあたり１００μＬずつ播種し、２４時間培養した。

【００５２】

培養終了後、ＫＧＭに溶解した試料溶液（試料１，試料濃度は下記表１を参照）を各ウ

ェルに１００μＬずつ添加し、７日間培養した。培養後、各ウェルの培地中のヒアルロン酸量をヒアルロン酸結合タンパク（ＨＡＢＰ）を用いたサンドイッチ法により測定した。測定結果から、下記式によりヒアルロン酸産生促進率（％）を算出した。

【００５３】

ヒアルロン酸産生促進率（％）＝Ａ／Ｂ×１００

式中、Ａは「試料添加時のヒアルロン酸量」を表し、Ｂは「試料添加時のヒアルロン酸量」を表す。

結果を表１に示す。

【００５４】

【表１】

試料濃度（μg/mL）	ヒアルロン酸産生促進率（%）
1.56	190.9
3.13	155.2

【００５５】

表１に示すように、７－Ｏ－メチルエリオジクチオール（試料１）は、優れたヒアルロン酸産生促進作用を有することが確認された。

【産業上の利用可能性】

【００５６】

本発明のヒアルロン酸産生促進剤は、皮膚の老化の予防又は改善、関節炎の予防又は治療、及び創傷又は熱傷の治癒促進に大きく貢献できる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 8/49	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ 8/49		
A61Q 19/08	***(2006.01)***	Ａ６１Ｑ 19/08		
C07D 311/28	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ 311/28		
A23L 1/30	*(2006.01)*	Ａ２３Ｌ 1/30	Z	
		Ａ２３Ｌ 1/30	B	

(72)発明者　新穂　大介
広島県福山市新市町相方１０８９－８　丸善製薬株式会社総合研究所内

Ｆターム(参考) 4B018 LB10 MD08 MD61 ME14 MF01
4C062 EE54
4C083 AC841 CC02 EE12
4C086 AA01 AA02 BA08 GA17 MA01 MA04 MA52 MA63 NA14 ZA89
ZA96 ZB15 ZC41 ZC52