

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-541371

(P2009-541371A)

(43) 公表日 平成21年11月26日 (2009. 11. 26)

(51) Int. Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 0 7 H 15/04 (2006. 01)	C 0 7 H 15/04 D	4 B 0 6 4
C 1 2 P 19/44 (2006. 01)	C 1 2 P 19/44	4 C 0 5 7

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 27 頁)

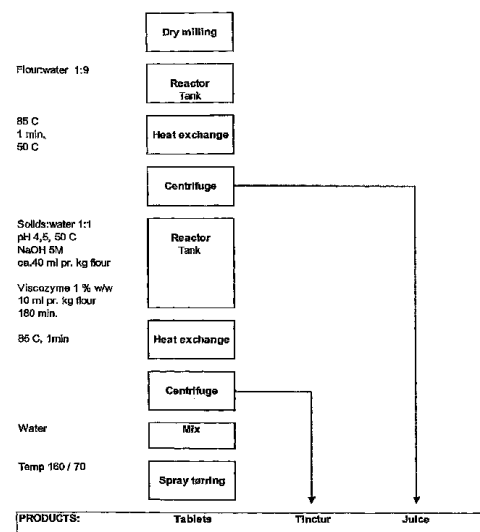
(21) 出願番号	特願2009-516897 (P2009-516897)	(71) 出願人	509000655 ヒーベン・ビタル・ライセンス・アンパル トセルスカブ HYBEN VITAL LICENS AP S デンマーク、デ・コー5953 トラネカ ー、クラウドブルーレバイ、2
(86) (22) 出願日	平成18年7月3日 (2006. 7. 3)	(74) 代理人	100064746 弁理士 深見 久郎
(85) 翻訳文提出日	平成21年2月24日 (2009. 2. 24)	(74) 代理人	100085132 弁理士 森田 俊雄
(86) 国際出願番号	PCT/DK2006/000391	(74) 代理人	100083703 弁理士 仲村 義平
(87) 国際公開番号	W02008/003314	(74) 代理人	100096781 弁理士 堀井 豊
(87) 国際公開日	平成20年1月10日 (2008. 1. 10)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを植物性材料から製造する方法

(57) 【要約】

本発明は、モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを植物性材料から製造する方法を提供する。この方法は、(i) 該植物性材料を任意に粉砕する工程、(i i) 任意に粉砕された該植物性材料を第 1 抽出水溶液で抽出して第 1 液相と第 1 固相とを得る工程、(i i i) 該液相を該固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを得る工程、(i v) 工程 (i i i) から得られた固相を第 2 抽出溶液で抽出して第 2 液相と第 2 固相とを得る工程、および (v) 第 2 液相を第 2 固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物の第 2 および第 3 グリコシドを得る工程を含み、ここで、第 2 抽出溶液は、1 つの細胞壁分解酵素、または複数の細胞壁分解酵素の混合物をさらに含む。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを植物性材料から製造する方法であって、前記方法は、

- (i) 該植物性材料を任意に粉砕する工程、
- (i i) 任意に粉砕された該植物性材料を第 1 抽出水溶液で抽出して第 1 液相と第 1 固相とを得る工程、および
- (i i i) 該液相を該固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを得る工程を含む、方法。

10

【請求項 2】

液相が、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第 1 グリコシドを含み、該モノまたはジアシルグリセロール生成物の第 1 グリコシドが、液状生成物の形態にある、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

第 1 抽出水溶液と植物性材料とが、100 : 1 ~ 1 : 100 の割合、好ましくは 50 : 1 ~ 1 : 50 の割合、例えば 25 : 1 ~ 1 : 25、好ましくは 10 : 1 の割合で混合される、先行する請求項のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

工程 (i i) における抽出が、20 ~ 110 の範囲内、例えば 40 ~ 100 の範囲内、例えば 60 ~ 95 の範囲内、例えば 75 ~ 90 の範囲内、例えば 90 の第 1 抽出温度で実施される、先行する請求項のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 6】

工程 (i i) における抽出が、10 秒 ~ 20 分の範囲の時間、例えば 30 秒 ~ 10 分の範囲の時間、例えば 45 秒 ~ 5 分の範囲の時間、例えば 1 分 ~ 2 分の範囲の時間、例えば 1 分間にわたって実施される、先行する請求項のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

方法が、さらに

- (i v) 工程 (i i i) から得られた固相を第 2 抽出溶液で抽出して第 2 液相と第 2 固相とを得る工程を含む、先行する請求項のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 8】

第 2 抽出水溶液と植物性材料とが、50 : 1 ~ 1 : 50 の割合、好ましくは 25 : 1 ~ 1 : 25 の割合、例えば 10 : 1 ~ 1 : 10、好ましくは 5 : 1 の割合で混合される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

工程 (i v) における抽出が、20 ~ 75 の範囲内、例えば 30 ~ 60 の範囲内、例えば 40 ~ 55 の範囲内、例えば 45 ~ 50 の範囲内、例えば 50 の第 2 抽出温度で実施される、請求項 7 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

工程 (i v) における抽出の pH が、pH 1 ~ 10 の範囲内、例えば pH 2 ~ 9 の範囲内、例えば pH 3 ~ 7 の範囲内、例えば pH 4 ~ 6 の範囲内、例えば pH 4 . 5 の pH 値に調節される、請求項 7 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 11】

pH が NaOH で調節される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

第 2 抽出溶液が、1 つの細胞壁分解酵素、または複数の細胞壁分解酵素の混合物をさらに含む、請求項 7 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

細胞壁分解酵素が、セルラーゼ、 β - グルカナーゼ、キシラナーゼ、アラバナーゼおよ

50

びペントサナーゼからなる群から選択される１つ以上の酵素である、請求項１２に記載の方法。

【請求項１４】

酵素活性が、（１つ以上の）モノまたはジアシルグリセロール生成物のさらに単離された（１つ以上の）グリコシドを得る前に不活性化される、請求項１２または１３に記載の方法。

【請求項１５】

酵素活性が、熱、または酸もしくは塩基の添加によって不活性化される、請求項１４に記載の方法。

【請求項１６】

方法が、さらに
（ｖ）第２液相を第２固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物の第２および第３グリコシドを得る工程
を含む、請求項７～１５のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１７】

第２液相が、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第２グリコシドを含み、チンキ生成物の形態にある、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】

第２固相が、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第３グリコシドを含み、固体濃縮物の形態にある、請求項１６または１７のいずれか１項に記載の方法。

【請求項１９】

モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドが、液状生成物、チンキ生成物および／または固体濃縮物の形態にある、先行する請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２０】

固体濃縮物が乾燥される、請求項１８または１９のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２１】

工程（ｉｉｉ）および／または工程（ｖｉｉ）における分離が、デカンティング、遠心分離またはろ過によって実施される、先行する請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２２】

方法が有機溶媒の使用を伴わない、先行する請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２３】

第１および／または第２抽出水溶液が水である、先行する請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２４】

植物性材料が、ローズヒップ、例えば *Rosa canina*（「ドッグローズヒップ」）、*Rosa gallica*、*Rosa condita*、*Rosa rugosa*、*Rosa hugonis*、*Rosa nitida*、*Rosa pendulina*、*Rosa pimpinellifolia* および *Rosa sericea* である、先行する請求項のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２５】

モノまたはジアシルグリセロール生成物の第１、第２および第３グリコシドが、工程（ｉ）～工程（ｖ）全体を組み合わせた１つの過程で製造される、請求項１９～２４のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２６】

モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドが、以下の式Ⅰ：

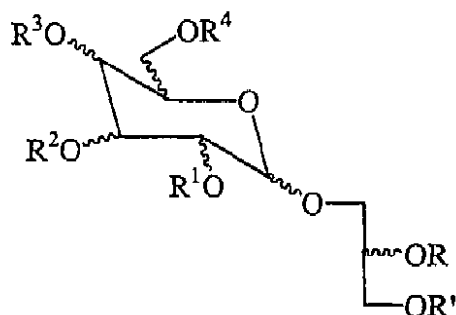
10

20

30

40

【化 1】



10

(式中、R および R' は独立して水素、C₁₀ - 24 - アルキルおよび C₁₀ - 24 - アシルから選択され、前記アルキルおよびアシル基は 0 ~ 5 個の不飽和結合を有し、R¹、R²、R³ および R⁴ は独立して水素およびグリコシド成分から選択され、ただし第 1 に R および R' の両方が水素であることはなく、第 2 に R および R' はいずれもエイコサペンタエノイルではない)

を有するモノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドを含む、請求項 1 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

すべてのアルキルおよびアシル基が 0 ~ 4 個の不飽和結合、例えば 1 ~ 3 個の不飽和結合、例えば 2 または 3 個の不飽和結合、特に 3 個の不飽和結合を有する、請求項 26 に記載の方法。

20

【請求項 28】

すべての不飽和結合が二重結合である、請求項 26 または 27 のいずれかに記載の方法。

【請求項 29】

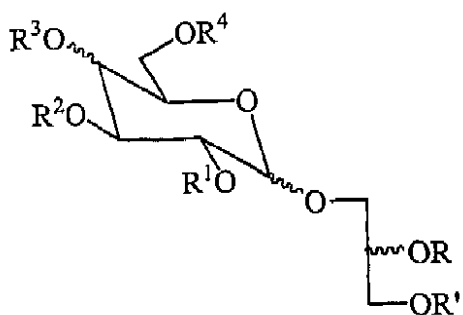
R および R' が両方とも、1 ~ 3 個の二重結合を有する C₁₆ - 20 - アシル、例えば 3 個の二重結合を有する C₁₈ - アシルである、請求項 26 ~ 28 のいずれかに記載の方法。

【請求項 30】

該化合物が、式 I I :

30

【化 2】



40

(式中、R、R'、R¹、R²、R³ および R⁴ はすべて請求項 1 ~ 5 のいずれかで定義したとおりである)

を有する、請求項 26 ~ 29 のいずれかに記載の方法。

【請求項 31】

該化合物が、β - D - ガラクトピラノシル誘導体、α - D - ガラクトピラノシル誘導体、β - D - グルコピラノシル誘導体および α - D - グルコピラノシル誘導体から選択される、請求項 26 ~ 30 のいずれかに記載の方法。

【請求項 32】

該化合物が、3 - β - D - ガラクトピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z, 12 Z, 15 Z - トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z, 12 Z, 15 Z - ト

50

リエノアート、3-β-D-グルコピラノシルオキシ-2-(オクタデカ-9Z,12Z,15Z-トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ-9Z,12Z,15Z-トリエノアート、3-α-D-ガラクトピラノシルオキシ-2-(オクタデカ-9Z,12Z,15Z-トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ-9Z,12Z,15Z-トリエノアートおよび3-α-D-グルコピラノシルオキシ-2-(オクタデカ-9Z,12Z,15Z-トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ-9Z,12Z,15Z-トリエノアートから選択される、請求項26~31のいずれか1項に記載の方法。

【請求項33】

請求項1~32に記載の方法によって得られるモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドからなる、液状生成物。

10

【請求項34】

請求項1~32に記載の方法によって得られるモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドからなる、チンキ生成物。

【請求項35】

請求項1~32に記載の方法によって得られるモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドからなる、固体濃縮物。

【請求項36】

請求項33に記載の液状生成物、請求項34に記載のチンキ生成物または請求項35に記載の固体濃縮物を含む、生成物。

【請求項37】

該生成物が、食品生成物、生薬生成物または栄養補助食品である、請求項36に記載の生成物。

20

【請求項38】

哺乳動物における炎症状態の治療、緩和または予防のための医薬を製造するための、請求項33に記載の液状生成物、請求項34に記載のチンキ生成物または請求項35に記載の固体濃縮物の使用。

【請求項39】

医薬が、経口、口腔、非経口、局所、直腸、経皮または鼻内投与に適合させられている、請求項38に記載の使用。

【請求項40】

医薬が、単回用量または複数回用量における、1日あたり約0.005~50mg/kg体重の投与に適用できる1日用量の形態である、請求項38または39のいずれかに記載の使用。

30

【請求項41】

炎症状態が、肝炎、髄膜炎、関節リウマチ、炎症性腸疾患、アレルギー性症候群、糖尿病、うつ血性心疾患、乾癬、反応性関節炎または変形性関節炎その他の関節炎、多発性硬化症、敗血症/敗血性ショック、皮膚炎症、移植片拒絶、および腫瘍性疾患の化学療法または放射線療法に対する二次的炎症から選択される、請求項38~40のいずれかに記載の使用。

【請求項42】

炎症状態が関節炎である、請求項38~41のいずれかに記載の使用。

40

【請求項43】

炎症状態が変形性関節炎である、請求項38~42のいずれかに記載の使用。

【請求項44】

それを必要としている哺乳動物において炎症状態を治療、緩和または予防する方法であって、前記方法は、請求項33に記載の液状生成物、請求項34に記載のチンキ生成物または請求項35に記載の固体濃縮物を含む医薬または生成物を投与する工程を含む、方法。

【請求項45】

医薬が、経口、口腔、非経口、局所、直腸、経皮または鼻内投与に適合させられている

50

、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

医薬が、単回用量または複数回用量における、1日あたり約 0.005 ~ 50 mg / kg 体重の投与に適用できる 1日用量の形態である、請求項 4 4 または 4 5 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 7】

炎症状態が、肝炎、髄膜炎、関節リウマチ、炎症性腸疾患、アレルギー性症候群、糖尿病、うつ血性心疾患、乾癬、反応性関節炎または変形性関節炎その他の関節炎、多発性硬化症、敗血症 / 敗血性ショック、皮膚炎症、移植片拒絶、および腫瘍性疾患の化学療法または放射線療法に対する二次的炎症から選択される、請求項 4 4 ~ 4 6 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 4 8】

炎症状態が関節炎である、請求項 4 4 ~ 4 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 9】

炎症状態が変形性関節炎である、請求項 4 4 ~ 4 8 のいずれかに記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを植物性材料から製造する方法および该方法によって得られる生成物に関する。特に、本発明は、3-β-D-ガラクトピラノシルオキシ-2-(オクタデカ-9Z, 12Z, 15Z-トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ-9Z, 12Z, 15Z-トリエノートを含む生成物の、特にローズヒップ材料からの製造に関する。

20

【背景技術】

【0002】

発明の背景

US 6,024,960では、ビタミンC含有量の高いローズヒップ濃縮物が炎症に関連する症状を緩和することがわかった。具体的には、該濃縮物は、比較的高いビタミンC含有量および数々の他のビタミンの含有量を維持する条件下で、粉碎したローズヒップを乾燥させる過程に従って得られたものである。

30

【0003】

関連するUS 6,485,752には、ローズヒップ濃縮物と魚油との組合せの経口投与が、特に関節炎に関連する関節痛および関節硬直の緩和に有用であると記載されている。ローズヒップ濃縮物の製造に使用される方法は、上記のUS 6,024,960に記載のものと同様である。

【0004】

さらに、WO 03/043613は、炎症性疾患の治療のためのモノまたはジアシルグリセロールのグリコシドの使用に関し、より詳細には、炎症の治療のための、ローズヒップ(Rosa caninaの果実)などの天然源から得られたか、または全合成によって製造された3-β-D-ガラクトピラノシルオキシ-2-(オクタデカ-9Z, 12Z, 15Z-トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ-9Z, 12Z, 15Z-トリエノート(別名G O P O)に関する。この化合物の作用は、多形核単球の化学発光および単核白血球の走化性を緩和することが示された。さらに、WO 03/043613において、この化合物が抽出によって得られることが見出され、特に、有機溶媒と、この活性の高い抗炎症剤を含有することがわかったローズヒップのバイオ誘導(bio-guided)分留手順とを使用した抽出によって得られることが見出された。同様に、ローズヒップの経口投与は炎症の痛みを効率的に緩和することがわかり、単離された抗炎症剤の経口製剤は炎症性疾患に関連する症状の治療に有用であることがわかった。

40

【0005】

50

モノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドの活性が、哺乳動物における炎症状態を緩和し治療することができる有効成分として作用するという知見に基づいて、上記のモノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドを抽出し遊離させるとともに、商業的に重要なこの有効成分を含む新たな生成物を開発するための改良された方法を開発すること、また、利用可能な有効成分のさらに高い含有量とともに、より安全な方法を使用してより安全で安定な生成物を提供することが、重要である。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明の概要

10

したがって、本発明の1つの態様において、モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを植物性材料から製造する方法が提供され得る。該方法は、(i)該植物性材料を任意に粉砕する工程、(ii)任意に粉砕された該植物性材料を第1抽出水溶液で抽出して第1液相と第1固相とを得る工程、および(iii)該液相を該固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを得る工程を含む。

【0007】

本発明のさらなる態様において、本発明による方法によって得られるモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドからなる、液状生成物が提供される。

【0008】

本発明のさらに別の態様において、本発明による方法によって得られるモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドからなる、チンキ生成物が提供される。

20

【0009】

本発明のさらなる態様において、本発明による方法によって得られるモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドからなる、固体濃縮物が提供される。

【0010】

本発明のさらなる態様において、液状生成物、チンキ生成物および/または固体濃縮物を含む生成物が提供され得る。

【0011】

液状生成物、チンキ生成物、固体濃縮物、または液状生成物、チンキ生成物および/または固体濃縮物を含む生成物は、1つの態様において、それを必要としている哺乳動物において炎症状態を治療、緩和または予防するために提供される。

30

【発明を実施するための形態】

【0012】

発明の詳細な説明

本発明の発明者らは、驚いたことに、活性の高い抗炎症剤として作用し得るモノまたはジアシルグリセロール化合物を含むいくつかの異なる抽出生成物を製造する源として、ローズヒップなどの植物性材料が使用できることを見出した。

【0013】

ローズヒップなどの植物性材料から得られるこのような抽出生成物の例としては、本発明の方法を使用して製造され、ガラクト脂質、例えばモノまたはジアシルグリセロール化合物の含有量の高い液状生成物および固体濃縮物ならびにチンキが挙げられる。加えて、インビトロ試験によって、これらの製剤が強力な抗炎症活性とともに抗酸化剤活性を示すことがわかった。これらのインビトロでの発見は、哺乳動物における炎症状態、例えば変形性関節炎に罹患した患者における関節硬直の治療での有益な抗炎症活性および抗酸化剤活性に関する以前の報告と、十分な相関関係を示している。

40

【0014】

本発明の1つの好ましい実施形態において、モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを植物性材料から製造する方法が提供され得る。該方法は、

(i)該植物性材料を任意に粉砕する工程、

(ii)任意に粉砕された該植物性材料を第1抽出水溶液で抽出して第1液相と第1固相

50

とを得る工程、および

(i i i) 該液相を該固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを得る工程を含む。

【 0 0 1 5 】

工程 (i) において、工程 (i i) で植物性材料を第 1 抽出手順に供する前に、該植物性材料を粉碎してもよい。本明細書において、用語「粉碎された」とは、植物性材料を切断、粉碎機での破砕または上記の取り扱い工程の組合せに供することに関する。また、植物性材料を、収穫中に該植物性材料に混入した可能性のあるナッツ、毛髪その他の異物を除去するための分離工程を通過させることによって、処理してもよい。本発明の 1 つの実施形態において、植物性材料を粉碎前に乾燥させてもよい。

10

【 0 0 1 6 】

工程 (i i) における第 1 抽出手順は、20 ~ 110 の範囲内、例えば 40 ~ 100 の範囲内、例えば 60 ~ 95 の範囲内、例えば 75 ~ 90 の範囲内、例えば 90 の第 1 抽出温度で実施することができる。好ましくは、工程 (i i) における第 1 抽出手順は、10 秒 ~ 20 分の範囲の時間、例えば 30 秒 ~ 10 分の範囲の時間、例えば 45 秒 ~ 5 分の範囲の時間、例えば 1 分 ~ 2 分の範囲の時間、例えば約 1 分間にわたって実施することができる。

【 0 0 1 7 】

上記の方法は、さらに

20

(i v) 工程 (i i i) から得られた固相を第 2 抽出溶液で抽出して第 2 液相と第 2 固相とを得る工程を含んでもよい。

【 0 0 1 8 】

工程 (i v) における第 2 抽出手順は、20 ~ 75 の範囲内、例えば 30 ~ 60 の範囲内、例えば 40 ~ 55 の範囲内、例えば 45 ~ 50 の範囲内、例えば 50 の第 2 抽出温度で実施することができる。好ましくは、工程 (i v) における第 2 抽出手順は、1 ~ 500 分の範囲の時間、例えば 10 ~ 400 分、例えば 50 ~ 300 分、例えば 100 ~ 200 分、例えば 120 ~ 180 分、例えば 180 分間にわたって続けることができる。

30

【 0 0 1 9 】

本発明の 1 つの実施形態において、工程 (i v) における第 2 抽出手順の pH は、pH 1 ~ 10 の範囲内、例えば pH 2 ~ 9 の範囲内、例えば pH 3 ~ 7 の範囲内、例えば pH 4 ~ 6 の範囲内、例えば pH 4 . 5 の pH 値に調節することができる。本発明の 1 つの実施形態において、pH は、NaOH または HCl で調節することができる。

【 0 0 2 0 】

本発明の 1 つの好ましい実施形態において、第 2 抽出溶液は、1 つの細胞壁分解酵素、または複数の細胞壁分解酵素の混合物をさらに含む。本明細書において、用語「細胞壁分解酵素」は、細胞壁を分解して、植物性材料から細胞内成分を放出させることができる酵素に関する。数々の異なる細胞壁分解酵素および酵素混合物が、市販されている。例えば、Novozymes A / S からの Celluclast 1 . 5 L、Finizym 200 L、Ultraflo L および Viscozyme L が挙げられる。酵素混合物は、セルラーゼ、β - グルカナーゼ、キシラナーゼ、アラバナーゼ、ペントサナーゼなどのさまざまな酵素活性を含んでいてよい。

40

【 0 0 2 1 】

細胞壁分解酵素は、セルラーゼ、β - グルカナーゼ、キシラナーゼ、アラバナーゼおよびペントサナーゼからなる群から選択される 1 つ以上の酵素、例えば上記酵素のうち 2 つ以上、例えば上記酵素のうち 3 つ以上、例えば上記酵素のうち 4 つであってよい。2 つ以上の細胞壁分解酵素が工程 (i v) における第 2 抽出過程に添加される場合、それは複数の細胞壁分解酵素の混合物である。

50

【 0 0 2 2 】

本発明の1つの実施形態において、上記のpH調節は、1つの細胞壁分解酵素の最適条件から、または複数の細胞壁分解酵素の混合物の最適活性から、最大で4pH単位だけ逸脱するpH値を提供するように調節することができる。

【 0 0 2 3 】

工程(i v)における第2抽出過程が完了すると、酵素活性は、好ましくは(1つ以上の)モノまたはジアシルグリセロール生成物の1つ以上のグリコシドを得る前に不活性化することができる。この不活性化は、熱、または酸もしくは塩基の添加によって達成することができる。本発明の1つの好ましい実施形態において、酵素活性の不活性化は、第2抽出媒体の温度を、好ましくは30以上の温度、例えば40以上の温度、例えば50
10
以上の温度、例えば60以上の温度、例えば70以上の温度、例えば80以上の温度、例えば90以上の温度、例えば100以上の温度、例えば110以上の温度まで上昇させることによって達成される。

【 0 0 2 4 】

上記の方法は、さらに
(v)第2液相を第2固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物の第2および第3グリコシドを得る工程
を含んでもよい。

【 0 0 2 5 】

上記したように、第1および/または第2液相から第1および/または第2固相を分離するために、工程(i i i)および/または工程(v)において、分離は、デカンティング、遠心分離、ろ過またはこれらの組合せによって実施することができる。

【 0 0 2 6 】

本発明の1つの好ましい実施形態において、第1および/または第2抽出水溶液は水である。好ましくは、上記の抽出工程(i i)および/または抽出工程(i v)は、有機溶媒の使用を伴わない。

【 0 0 2 7 】

本発明の1つの好ましい実施形態において、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第1、第2および第3グリコシドは、工程(i)~工程(v)全体を組み合わせた1つの過程で製造することができる。

【 0 0 2 8 】

本明細書において、用語「植物性材料」は、以下のものからなる群から得られる材料に関する：ローズヒップ(好ましくは、ローズヒップは野バラの茂みから得られ、特にローズヒップは*Rosa canina*(「ドッグローズヒップ」)、*Rosa gallica*、*Rosa condita*、*Rosa rugosa*、*Rosa hugonis*、*Rosa nitida*、*Rosa pendulina*、*Rosa pimpinellifolia*および*Rosa sericea*からなる群から選択される)；果物、野菜および穀類(好ましくは、果物、野菜および穀類はオリーブ(例えば*Olea europaea*)、アルファルファ(例えば*Medicago sativa* L.)、大豆(例えば*Glycine max*)、ジャガイモ(例えば*Solanum tuberosum* L.)、トウガラシ(例えば*Capsicum annuum* L.)、オートムギ(例えば*Avena sativa*)、アブラナ(例えば*Arabidopsis thaliana*)、*Petunia hybrida*、ハマニク(例えば*Elymus arenarius*)、エニシダ(例えば*Sarothamnus scoparius*)、カントウ(例えば*Tussilago farfara*)、アカザ科植物、ハマナ(例えば*Crambe maritima*)、スロー(例えば*Prunus spinosa*)、エリンゴ(例えば*Eryngium*)、ハマアカザ属(例えば*Honckenyapeploides*)、ブラックベリー、ナナカマド(例えば*Sorbus aucuparia*)、ナナカマド(例えば*Sorbus domestica*)、シーバックソーン(例えば*Hippophae rhamnoides*)、ヒヨドリバナ(例
40
50

えは *Eupatorium cannabinum*)、キュウリ (例えば *M. charantia* または *M. rusticata*)、*Catharanthus roseus*、イチイ (例えば *Taxus baccata*)、ヤドリギ (例えば *Viscum album*)、スギナ (例えば *M. arvense*)、シモツケ (例えば *Filipendula ulmaria*)、ロクベンシモツケ (例えば *F. hexapetala*)、マオウ (例えば *E. sp*)、アシ (例えば *Phragmites communis*)、カキドウシ (例えば *Glechoma hederacea*)、オシダ (例えば *Lastrea filix mas*)、オシダ (例えば *Dryopteris*) および ハゴロモグサ (例えば *Alchemilla vulgaris*) からなる群から選択される) ; 海藻 (好ましくは、海藻は *Anfelta tobuchiensis* (紅色植物門)、*Laminaria japonica*、*Sargassum pallidum* (褐藻植物門)、*Ulva fenestrata* (緑藻植物門)、*Zostera marina* (陸上植物)、アマモ (*Fucus vesiculosus*)、緑藻 (*Chlorella vulgaris*)、藍色細菌 (例えば *Phormidium tenue*) および 沖縄産海綿 (*Phyllospongia foliascens*) からなる群から選択される)。

10

【0029】

本発明の1つの実施形態において、有用であり得る植物、野菜および穀類の部分は、葉、茎、果実、根またはそれらの任意の組合せからなる群から選択される。

20

【0030】

植物性材料の十分な抽出を達成するためには、第1抽出水溶液と植物性材料とを、100:1~1:100の範囲の割合、好ましくは50:1~1:50の範囲の割合、例えば25:1~1:25の範囲の割合、好ましくは10:1の範囲の割合で混合する。さらに、第2抽出水溶液と植物性材料とを、50:1~1:50の範囲の割合、好ましくは25:1~1:25の範囲の割合、例えば10:1~1:10の範囲の割合、好ましくは5:1の割合で混合することができる。

【0031】

上記の方法は、植物性材料からモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを製造するのに好適である。好ましくは、モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドは、液状生成物、チンキ生成物および/または固体濃縮物の形態にあってよい。

30

【0032】

本発明の1つの好ましい実施形態において、工程(iii)で得られる第1液相は、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第1グリコシドを含む。好ましくは、工程(iii)から得られるモノまたはジアシルグリセロール生成物の第1グリコシドは、液状生成物中に含まれていてよい。

【0033】

本発明のさらなる好ましい実施形態において、工程(v)から得られる第2液相は、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第2グリコシドを含み得る。好ましくは、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第2グリコシドは、チンキ生成物中に含まれていてよい。

40

【0034】

本発明のさらなる好ましい実施形態において、工程(v)で得られる第2固相は、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第3グリコシドを含み得る。好ましくは、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第3グリコシドは、固体濃縮物中に含まれていてよい。

【0035】

本発明による固体濃縮物は、乾燥させることができる。乾燥濃縮物は、粉体または粒状物質の形態にあってよく、好ましくは粒径が1mm未満であり、最も好ましくは約0.1~0.5mmである。本明細書において、用語「粉体」は、どのような固体形態を取る場合であっても、あらゆる乾燥固体濃縮物を包含するものとして使用される。

【0036】

50

本発明の１つの好ましい実施形態において、生成物、液状生成物、チンキ生成物および／または固体濃縮物は、モノまたはジアシルグリセロールに富む生成物のグリコシドである。

【００３７】

液状生成物、チンキ生成物および／または固体濃縮物は、人が毎日消費し得る食品および飲料の多くに組み込むことができるし、それらに使用することもできる。製造することができる好適な食品および飲料としては、限定されないが、栄養飲料、清涼飲料、果実飲料およびジュース、電解質を含有する飲料、プリン、焼成食品（すなわちクッキー、ブラウニー、ファッジ、ケーキ、パン）、非焼成膨化食品（すなわちバー状の食品）、サラダドレッシング、香辛料、砂糖菓子（すなわちキャンディ）、スナック食品（すなわちチップス、プレッツェル、トルティーヤ）、ドリップコーヒー（*d r i p s*）およびスプレッド、アイスクリーム、チューインガム、キャンディ、氷菓および新型商品（*n o v e l t i e s*）、乳製品（例えばヨーグルト、マーガリン様スプレッド）、調味料（例えば肉、鶏肉、魚介類およびサラダ用調味料）が挙げられる。これらの食品の無脂肪、低脂肪および低カロリー版も、本発明の範囲に包含される。

10

【００３８】

本発明の液状生成物、チンキ生成物および／または固体濃縮物を食品／飲料に組み込むことによって、長い使用期間にわたって、また、例えば医薬の形態におけるよりも消費者にとって望ましいであろう形態で、患者コンプライアンスという利点が提供され得る。

20

【００３９】

さらに、液状生成物、チンキ生成物および／または固体濃縮物は、生薬生成物、栄養補助食品または薬品に組み込むか調合したり、それらに使用したりすることができる。

【００４０】

用語「モノまたはジアシルグリセロールのグリコシド」および類似の用語は、モノまたはジアシルグリセロール（エーテルも含む）のグリコシドの類、例えば植物から単離され得るもの（例えば本発明によって例示されるものであって、エイコサペンタエン酸のエステルではないもの）を意味するものである。「グリコシド」の部分は典型的にはペントース、ヘキソースまたはヘプトースであり、特にガラクトースやグルコースなどのヘキソース、例えばガラクトースであるが、２つ以上の糖成分を組み合わせる含む二糖およびオリゴ糖、特にジガラクトシドやジグルコシドなどのジグリコシド、例えば 6 - O - (α - D - ガラクトピラノシル) - α - D - ガラクトピラノースであってもよい。

30

【００４１】

本明細書において、用語「モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシド」は、モノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドを含む植物性材料から得られる生成物に関する。モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドは、クロマトグラフィ、精密ろ過、ろ過、遠心分離、抽出またはこれらの任意の組合せによる単離によって、植物性材料から得ることができる。

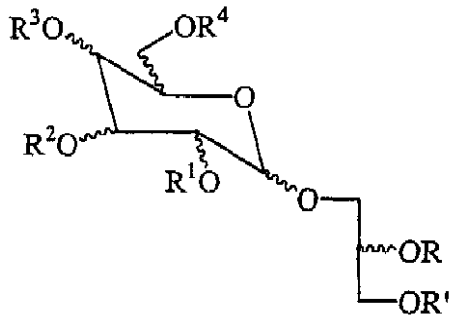
【００４２】

本発明の１つの実施形態において、モノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドは、式 I :

40

【００４３】

【化 1】



10

【 0 0 4 4 】

(式中、RおよびR'は独立して水素、C₁₀ - 24 - アルキルおよびC₁₀ - 24 - アシルから選択され、前記アルキルおよびアシル基は0～5個の不飽和結合を有し、R¹、R²、R³およびR⁴は独立して水素およびグリコシド成分から選択され、ただし第1にRおよびR'の両方が水素であることはなく、第2にRおよびR'はいずれもエイコサペンタエノイルではない)を有し得る。

【 0 0 4 5 】

本明細書中に提示する式中の「波状結合」は、問題の置換基をその上に配置した炭素が(R)または(S)配置にあり得ることを意味するものである。「糖」成分(グリコシド)において、この2つの異なる配置をαおよびβと示すことがある。特に興味深い組合せは、β - ピラノース型のグルコースまたはガラクトースである。

20

【 0 0 4 6 】

本明細書中に提示する式中の「糖」成分はピラノース型に描かれているが、抗炎症剤は、固体として、および溶液中で、フラノース型(またはピラノース型とフラノース型との混合物)で存在してもよいことが理解されよう。

【 0 0 4 7 】

本明細書において、用語「C₁₀ - 24 - アルキル」は、炭素数が10～24の直鎖または分岐状の炭化水素基、例えばデシル、ウンデシル、ドデシル、テトラデシル、ヘキサデシル、オクタデシル、ノナデシル、エイコデシル等を意味するものである。

30

【 0 0 4 8 】

本明細書において、用語「C₁₀ - 24 - アシル」は、炭素数が10～24の直鎖または分岐状の炭化水素基であって、該基の第1の炭素がカルボニル(C₉ - 23 - アルキル - C(=O) -)、すなわち炭素数が10～24の脂肪酸残基であるものを意味するものである。これらの例としては、ラウリン酸(C₁₂)、ミリスチン酸(C₁₄)、パルミチン酸(C₁₆)、ステアリン酸(C₁₈)等の残基が挙げられる。

【 0 0 4 9 】

アルキル基およびアシル基は、0～5個の不飽和結合、例えば二重結合または三重結合、特に二重結合を有し得る。1個以上の不飽和二重結合を有するアシル基の例としては、パルミトレイン酸(C₁₆:1)、オレイン酸(C₁₈:1)、リノール酸(C₁₈:2)、リノレン酸(C₁₈:3)、アラキドン酸(C₂₀:3)、レチノイン酸(C₂₀:5)等の残基が挙げられる。

40

【 0 0 5 0 】

より具体的には、グリセロールのモノまたはジエステル(またはエーテル)のグリコシドは、ジエステル、ジエーテルまたはモノエーテル - モノエステルであり、すなわち、RおよびR'は独立してC₁₀ - 24 - アルキルおよびC₁₀ - 24 - アシルから選択される。

【 0 0 5 1 】

一般に最も好ましいものは、ジエステルのグリコシドであり、すなわちRおよびR'は独立してC₁₀ - 24 - アシルである。すべての場合に、アルキルおよびアシル基は0～

50

5 個の不飽和結合を有する。

【 0 0 5 2 】

アルキルおよびアシル基の飽和度に関しては、一般に、0 ~ 4 個の不飽和結合、例えば 1 ~ 3 個の不飽和結合、例えば 2 または 3 個の不飽和結合、特に 3 個の不飽和結合を有するあらゆるアルキルおよびアシル基が、R および R' として最も好適であると考えられている。

【 0 0 5 3 】

また、一般に、あらゆる不飽和結合は好ましくは二重結合であると考えられている。

特に興味深い抗炎症剤は、R および R' が両方とも 1 ~ 3 個の二重結合を有する C₁₆ -₂₀ - アシル、例えば 3 個の二重結合を有する C₁₈ - アシル、特に「糖」成分がグルコースまたはガラクトース、特にガラクトースであるものであると想定されるといわれている。

【 0 0 5 4 】

上記のとおり、R¹、R²、R³ および R⁴ は独立して水素およびグリコシド成分から選択され、好ましくは、多くとも R¹、R²、R³ および R⁴ のうちの 1 つだけがグリコシド成分である。後者の実施形態は、R¹、R²、R³ および R⁴ の全部が水素である化合物とともに、植物源に見出されることの多い化合物に関する。いくつかの興味深い実施形態において、R¹、R²、R³ および R⁴ の全部に水素が選択される。

【 0 0 5 5 】

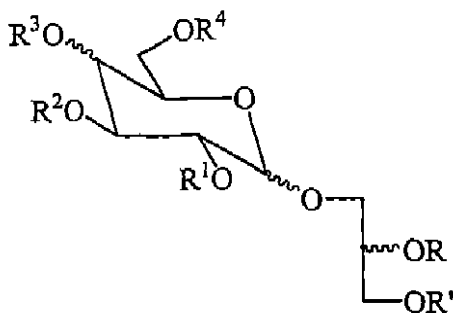
用語「グリコシド成分」は、単糖または二糖成分、例えば O - ガラクトピラノース、O - グルコピラノース、O - ガラクトピラノシルガラクトピラノース、O - グルコピラノシルガラクトピラノース、O - ガラクトピラノシルグルコピラノースおよび O - グルコピラノシルグルコピラノース由来のものを意味するものである。

【 0 0 5 6 】

また、モノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドは、好ましくは式 I I :

【 0 0 5 7 】

【 化 2 】



【 0 0 5 8 】

(式中、R、R'、R¹、R²、R³ および R⁴ はすべて先に定義したとおりである) を有することが想定される。

【 0 0 5 9 】

特に興味深いモノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドのより具体的な例としては、β - D - ガラクトピラノシル誘導体、α - D - ガラクトピラノシル誘導体、β - D - グルコピラノシル誘導体および α - D - グルコピラノシル誘導体から選択されるもの、例えば β - D - ガラクトピラノシルおよび 6 - O - (α - D - ガラクトピラノシル) - β - D - ガラクトピラノシル誘導体が挙げられる。

【 0 0 6 0 】

モノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドのさらに具体的な例としては、3 - β - D - ガラクトピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノイルオキシ) プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアート、3 - β - D - グルコピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエ

ノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアート、3 - α - D - ガラクトピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアート、3 - α - D - グルコピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアート、6 - O - (α - D - ガラクトピラノシル) - 3 - β - D - ガラクトピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアートおよび6 - O - (α - D - ガラクトピラノシル) - 3 - α - D - ガラクトピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアート、例えば3 - β - D - ガラクトピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアートまたは3 - β - D - グルコピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアート、例えばローズヒップから単離され得る3 - β - D - ガラクトピラノシルオキシ - 2 - (オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ - 9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - トリエノアートが挙げられる。

【0061】

本発明の1つの実施形態において(図1の作業計画に図示され得るように)、植物性材料を任意に乾式粉碎し、次いで粉碎した植物性材料を反応槽中で第1抽出水溶液、例えば水と、本明細書に記載の植物性材料対第1抽出水溶液の割合、例えば1:9の割合で混合する。第1抽出過程を、本明細書に記載の温度、例えば85の温度で実施し、本明細書に定義する時間、例えば1分間にわたって続ける。第1抽出過程を、好ましくは遠心分離による分離工程で終わると、第1液相と第1固相とが得られる。続いて、得られた第1固相を本明細書に記載の反応槽中で第2抽出水溶液と、例えば1:1の割合で混合する。第2抽出過程の温度は本明細書に記載のとおり、例えば50であり、pHは本明細書に記載のとおり、例えば5MのNaOHでpH4.5に調節する。さらに、1つの細胞壁分解酵素、または複数の細胞壁分解酵素の混合物、例えばVisczyme(1% w/w)を第2抽出過程に添加し、第2抽出過程を本明細書に記載の時間、例えば180分間続ける。続いて、本明細書に記載のとおり、例えば温度を約1分間(酵素活性を不活性化するのに十分な時間)にわたって85まで上昇させることによって、酵素活性を止める。この第2抽出過程を、遠心分離などの分離工程で終え、第2液相と第2固相とを得る。得られた第1液相、第2液相および第2固相は、それぞれ、最終的にモノまたはジアシルグリセロール生成物の第1グリコシド、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第2グリコシドおよびモノまたはジアシルグリセロール生成物の第3グリコシドになる。モノまたはジアシルグリセロール生成物の第1、第2および第3グリコシドは、液状生成物、チンキ生成物および固体濃縮物中に含まれていてよい。好ましくは、固体濃縮物は、好ましくはスプレー乾燥機を使用して乾燥され、乾燥固体濃縮物が得られる。

【0062】

本発明の1つの実施形態において、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第1グリコシド、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第2グリコシドおよびモノまたはジアシルグリセロール生成物の第3グリコシドは、構造的に類似した生成物であるか、実質的に類似した生成物であるが、植物性材料の別々の抽出物から得られるために互いに異なっている。

【0063】

本発明のさらなる実施形態において、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第1グリコシド、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第2グリコシドおよびモノまたはジアシルグリセロール生成物の第3グリコシドは、本発明によるモノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドの範囲に該当するさまざまな化合物の組合せを含み得る。

【0064】

10

20

30

40

50

本発明の1つの実施形態において、モノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを植物性材料から製造する方法は、(i)該植物性材料を任意に粉碎する工程、(ii)任意に粉碎された該植物性材料を第1抽出水溶液で抽出して第1液相と第1固相とを得る工程、(iii)該液相を該固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物のグリコシドを得る工程、(iv)工程(iii)から得られた固相を第2抽出溶液で抽出して第2液相と第2固相とを得る工程、および(v)第2液相を第2固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物の第2および第3グリコシドを得る工程を含み、ここで、第2抽出溶液は、1つの細胞壁分解酵素、または複数の細胞壁分解酵素の混合物をさらに含む。

【0065】

液状生成物、チンキ生成物または固体濃縮物を含む医薬は、病気または病状のいずれかに起因する炎症、例えばウイルス性疾患や細菌性疾患（一般に「炎症状態」といわれる）などの予防、治療または緩和に使用することができる。「炎症」は、Stedman's Medical Dictionary第26版に、「物理的、化学的または生物学的因子に起因する傷害または異常な刺激に応答して、患部である血管および周囲組織内で生じる細胞学的反応や化学反応の強力な混合物からなる基本的な病理過程であって、局所反応およびそれによって生じる形態変化、傷害を与える物質の除去の破壊、ならびに修復および治癒へと導く応答が含まれる」と定義されている。当該炎症状態の例としては、肝炎、髄膜炎、関節リウマチ、クローン病などの炎症性腸疾患、アレルギー性症候群、糖尿病、うつ血性心疾患、乾癬、反応性関節炎または変形性関節炎その他の関節炎、例えば変形性関節炎、多発性硬化症、アテローム性動脈硬化症、敗血症/敗血性ショック、皮膚炎症、移植片拒絶、および腫瘍性疾患の化学療法または放射線療法に対する二次的炎症が挙げられる。

【0066】

本発明は、現在、関節炎および/または変形性関節炎の治療に特に好適であると考えられている。

【0067】

投与は、経口、口腔、非経口、局所、直腸、経皮または鼻内投与によって行うことができるが、経口投与が好ましい。

【0068】

用語「哺乳動物」は、ヒトに加えて家畜、例えばウマ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ等の大型哺乳動物を含むことを意図する。これらの哺乳動物の中で、ヒトは、本発明による利益を受けるものとして特に興味深い対象である。

【0069】

上述したとおり、液状生成物、チンキ生成物または固体濃縮物は、さまざまな投与経路による送達のために調合することができる。経口投与は、使用が容易であるため好ましい。単位用量には、1日1回の投与（例えば経口投与、または例えば経腸栄養剤における栄養チューブによる投与）のための治療有効量の液状生成物、チンキ生成物または固体濃縮物が含まれ得るか、または単位用量は、1日あたり複数回の用量を提供するように調合され得る。単位用量は、年齢、状態および病状などの多くの要素によって決まるが、いずれにしても1日用量の全体は、個人にとって生理学的に許容可能であり、長期間にわたって毎日投与することができる量である。

【0070】

まだ研究中ではあるが、液状生成物、チンキ生成物または固体濃縮物状のモノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシド1日あたり0.001~50mg/kg体重の用量、例えば1日あたり0.005~20mg/kg体重(mg/kg/日)の用量は、炎症状態、特に関節炎および変形性関節炎の治療、ならびにそれらに関連する症状の緩和に有効であると思われる。類似する用量割合やこれより少ない用量割合を、予防剤として毎日投与することができる。

【0071】

本発明のさらなる実施形態において、医薬は、単回用量または複数回用量における、液状生成物、チンキ生成物または固体濃縮物状のモノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシド1日あたり約0.005~50mg/kg体重の投与に適用できる1日用量の形態であってもよい。

【0072】

好ましい単位用量は、約0.001~約50mg/kg/日、例えば0.001~20mg/kg/日である。1日総用量は、約0.1~約5000mg/日、例えば0.5~500mg/日となる。例えば、単位用量は、液状生成物、チンキ生成物または固体濃縮物状のモノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシド、例えば3-β-D-ガラクトピラノシルオキシ-2-(オクタデカ-9Z,12Z,15Z-トリエノイルオキシ)プロパニル オクタデカ-9Z,12Z,15Z-トリエノートを、それぞれ0.01~500mg含有する錠剤またはカプセル剤に混合することによって、使用者が1日あたり1~4個のカプセル剤を摂取して、投与することができる。

10

【0073】

本発明を、以下の非限定的な図面および以下の非限定的な実施例において、さらに開示する。

【図面の簡単な説明】

【0074】

【図1】図1は、本発明の作業計画を示す。

【図2】図2は、抗炎症活性として、ローズヒップ濃縮物がヒト末梢血白血球の遊走（走化性）に及ぼす効果を示す。結果は、3回の実験の平均値である。

20

【図3】図3は、ローズヒップ濃縮物がヒト末梢血白血球の酸化的破壊応答（化学発光）に及ぼす効果を示す。結果は、3回の実験の平均値である。

【実施例1】

【0075】

植物性材料であるローズヒップの原料外皮を粉砕する。

水と粉砕したローズヒップの外皮とを、90 で1分間、混合する（10:1）。

【0076】

混合物を遠心分離で10分間、3000rpmで分離する。

得られる水相は、モノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドを含むことがわかり、基本的にすぐに液状生成物として瓶詰めすることができる。

30

【0077】

水を固相に加え（5:1）、温度を50 に調節し、pHを2MのNaOHで4.5に調節する。

【0078】

Viscozyme L (Novozymes A/S)を、ローズヒップの初期原料の2% v/wとして添加し、酵素反応を180分間にわたって行う。

【0079】

180分後、混合物を1分間にわたって85 まで加熱し、酵素活性を不活性化する。

不活性化の後、混合物を10分間、3000rpmで遠心分離によって分離する。

40

【0080】

得られる固相は、モノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドを含むことがわかり、すぐに固体濃縮物として適用することができ、基本的にすぐに錠剤等で適用することができる。

【0081】

得られる水相は、モノまたはジアシルグリセロール化合物のグリコシドを含むことがわかり、基本的にすぐにチンキとして適用することができる。

【実施例2】

【0082】

生物活性

50

方法

さまざまな抽出物（濃縮物）の抗炎症活性および抗酸化剤活性を、それらの生物活性の指標として測定した。

【 0 0 8 3 】

走化性。抽出物の抗炎症活性を、走化性アッセイによって測定した。このアッセイは、ヒト末梢血多形核白血球（PMN）の、生物活性のある化学誘因物質への遊走を測定する。このアッセイは、インビトロでの炎症の指標として広く使用されている。簡潔に述べると、細胞をさまざまな濃度の抽出物と一緒に予備インキュベートする。予備インキュベーション後に、細胞の遊走を測定する。

【 0 0 8 4 】

化学発光。抽出物の抗酸化剤活性を、化学発光アッセイによって測定した。このアッセイは、活性化したヒト末梢血多形核白血球（PMN）の酸化的破壊応答を測定する。活性化した細胞は、反応性酸素ラジカルを発生する。細胞をさまざまな濃度の抽出物と一緒に予備インキュベートする。予備インキュベーション後に、細胞を既知の活性剤、例えばオプソニン化ザイモサン粒子で活性化させ、次いで活性化した細胞による酸素ラジカルの発生を測定する。

【 0 0 8 5 】

どちらのアッセイにおいても、細胞は、健康な被験者の末梢血から得た。

結果

図 2 および図 3 に示すように、ペレット（GC507）、水抽出物（GC508）のいずれもが、10 mg / mL という低い濃度または 1 / 10 の希釈で、濃度依存的に走化性を阻害した。

【 0 0 8 6 】

同様の発見が、抗酸化活性（図 3）の指標として、化学発光応答の阻害（図 2）に関して見出された。

【 0 0 8 7 】

結論

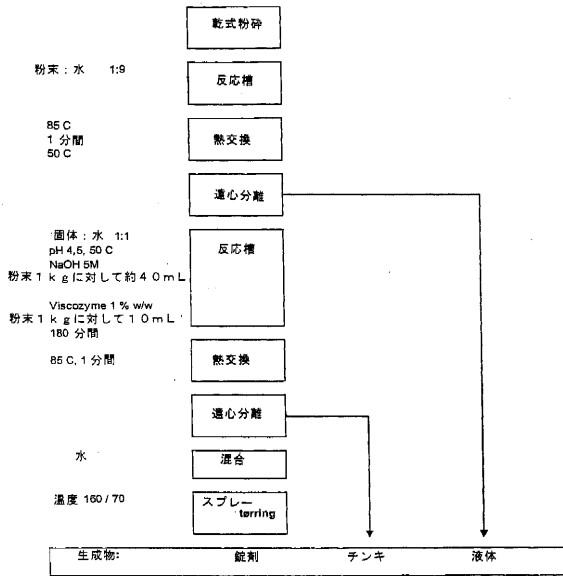
本発明において提示されたこれらの結果は、抽出物とペレットの両方が、かなりの抗炎症活性および抗酸化剤活性を示すことを示している。この過程の別の利点は、有効成分である G O P O を破壊する可能性のある酵素がこの過程によって中和され、それによって G O P O が安定化することである。この過程の別の利点は、有効成分である G O P O の最終的な酸化が、この過程によって阻止されることである。

10

20

30

【図 1】



【図 2】

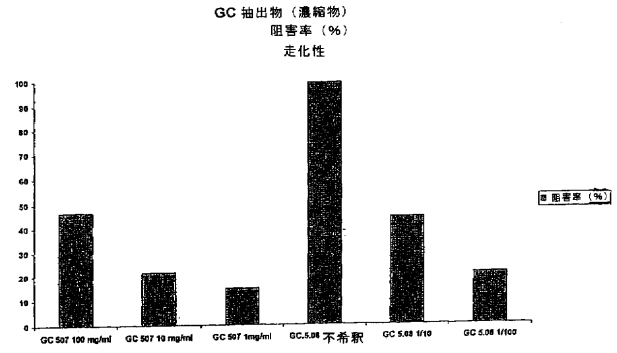


Fig. 2

【図 3】

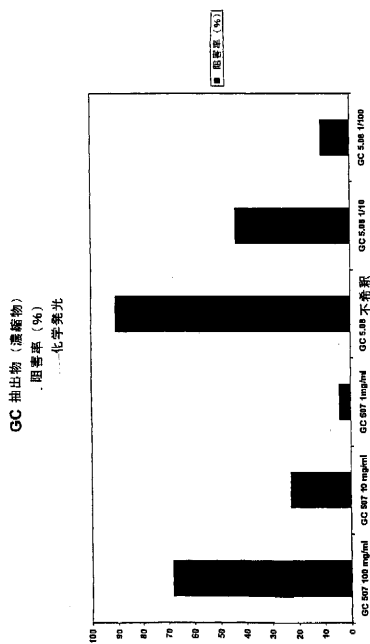


Fig. 3

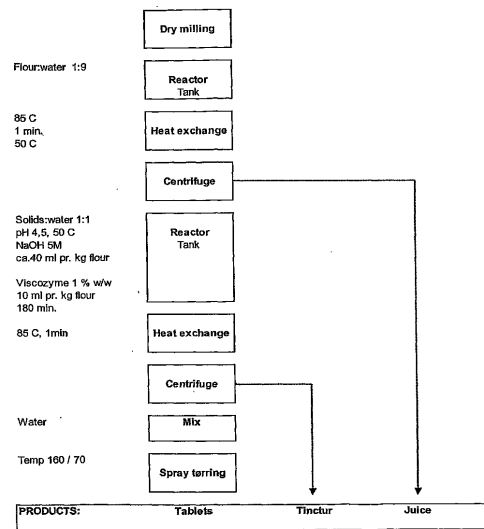


Fig. 1



細胞壁分解酵素が、セルラーゼ、 β -グルカナーゼ、キシラナーゼ、アラバナーゼおよ

びペントサナーゼからなる群から選択される 1 つ以上の酵素であることを特徴とする、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

第 1 (i i) または第 2 (i v) 抽出水溶液と植物性材料とが、50 : 1 ~ 1 : 50 の割合、好ましくは 25 : 1 ~ 1 : 25 の割合、例えば 10 : 1 ~ 1 : 10、好ましくは 5 : 1 の割合で混合されることを特徴とする、請求項 1 ~ 3 に記載の方法。

【請求項 5】

工程 (i v) における抽出が、20 ~ 75 の範囲内、例えば 30 ~ 60 の範囲内、例えば 40 ~ 55 の範囲内、例えば 45 ~ 50 の範囲内、例えば 50 の第 1 または第 2 抽出温度で実施されることを特徴とする、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

工程 (i v) における抽出の pH が、pH 1 ~ 10 の範囲内、例えば pH 2 ~ 9 の範囲内、例えば pH 3 ~ 7 の範囲内、例えば pH 4 ~ 6 の範囲内、例えば pH 4 . 5 の pH 値に調節されることを特徴とする、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

酵素活性が、熱、または酸もしくは塩基の添加によって不活性化されることを特徴とする、請求項 2 または 3 に記載の方法。

【請求項 8】

方法が、さらに
(v) 液相を第 2 固相から分離してモノまたはジアシルグリセロール生成物の第 2 および第 3 グリコシドを得る工程
を含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

第 2 液相が、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第 2 グリコシドを含み、液体の形態にあることを特徴とする、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

第 2 固相が、モノまたはジアシルグリセロール生成物の第 3 グリコシドを含み、固体濃縮物の形態にあることを特徴とする、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

固体濃縮物が乾燥されることを特徴とする、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

モノまたはジアシルグリセロール生成物の第 1、第 2 および第 3 グリコシドが、工程 (i) ~ 工程 (v) 全体を組み合わせた 1 つの過程で製造されることを特徴とする、請求項 7 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

3/3

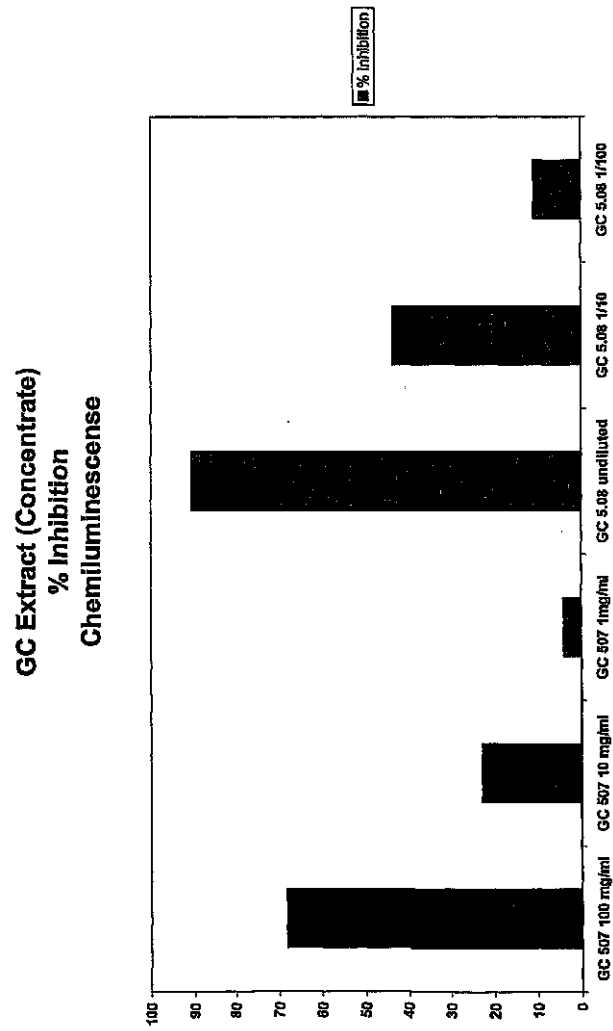


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/DK2006/000391
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07H1/08 C07H15/10 A61P29/00 A61K31/7032		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07H A61P A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE WPI Week 200636 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 2006-346249 XP002427572 -& JP 2006 117582 A (FANCL CORP) 11 May 2006 (2006-05-11) abstract, compound III and example ----- -/--	1-6, 19, 26-49
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
2 Apr11 2007		18/04/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 661 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Duval, Eric

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/DK2006/000391

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MANCINI I ET AL: "Polar Metabolites of the Tropical Green Seaweed <i>Caulerpa taxifolia</i> Which Is Spreading in the Mediterranean Sea" HELVETICA CHIMICA ACTA, VERLAG HELVETICA CHIMICA ACTA, BASEL, CH, vol. 81, 1998, pages 1681-1691, XP002427569 ISSN: 0018-019X page 1687 page 1682; compound 3	1-6, 19, 26-37
X	KHARAZMI A ET AL: "Rose hip inhibits chemotaxis and chemiluminescence of human peripheral blood neutrophils in vitro and reduces certain inflammatory parameters in vivo" INFLAMMOPHARMACOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DORDRECHT, NL, vol. 7, no. 4, 1999, pages 377-386, XP002237424 ISSN: 0925-4692 page 378, paragraph 2.1	1-6, 19, 26-49
X	WINTHER K ET AL: "THE ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES OF ROSE-HIP" INFLAMMOPHARMACOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DORDRECHT, NL, vol. 7, no. 1, 1999, pages 63-68, XP000974250 ISSN: 0925-4692 page 64, paragraph 2.2	1-6, 19, 26-49
X	DATABASE CA [Online] CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; JASSBI, AMIR REZA: "Secondary metabolites as stimulants and antifeedants of <i>Salix integra</i> for the leaf beetle <i>Plagioderia versicolora</i>" XP002427586 retrieved from STN Database accession no. 2003:716946 abstract & ZEITSCHRIFT FÜR NATURFORSCHUNG, C: JOURNAL OF BIOSCIENCES, 58(7/8), 573-579 CODEN: ZNCBDA; ISSN: 0939-5075, 2003,	1-6, 19, 26-37
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/DK2006/000391

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DAI J Q ET AL: "Glyceroglycolipids from <i>Serratula strangulata</i> " PHYTOCHEMISTRY, PERGAMON PRESS, GB, vol. 58, no. 8, December 2001 (2001-12), pages 1305-1309, XP004328234 ISSN: 0031-9422 page 1306; compound 3 page 1308, paragraph 3.3	1-6, 19, 26-31, 33-37
X	US 5 620 962 A (WINGET RODNER R [US]) 15 April 1997 (1997-04-15) column 14, lines 1-5	1-6, 19, 22, 26-31, 33-48
A	WO 03/043613 A (DANMARKS JORDBRUGSFORSKNING [DK]; H S RIGSHOSPITALET [DK]; DANMARKS FA) 30 May 2003 (2003-05-30) cited in the application page 12	1
A	JAYAPRAKASAM BOLLEDDULA ET AL: "Tumor cell proliferation and cyclooxygenase enzyme inhibitory compounds in <i>Amaranthus tricolor</i> ." JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY 17 NOV 2004, vol. 52, no. 23, 17 November 2004 (2004-11-17), pages 6939-6943, XP002427570 ISSN: 0021-8561 page 6940; compound 1	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/DK2006/000391

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 44-49 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/DK2006/000391

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 2006117582	A	11-05-2006	NONE	
US 5620962	A	15-04-1997	AU 6821294 A WO 9424984 A2	21-11-1994 10-11-1994
WO 03043613	A	30-05-2003	AU 2002366210 A1 CN 1606563 A EP 1453844 A2 JP 2005513023 T	10-06-2003 13-04-2005 08-09-2004 12-05-2005

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100098316

弁理士 野田 久登

(74)代理人 100109162

弁理士 酒井 将行

(74)代理人 100111246

弁理士 荒川 伸夫

(72)発明者 バガー, クリスチャン・ローレンツ

デンマーク、デ・コ - 2 6 9 0 カールスルンデ、ハウアズガーデン、1 2

(72)発明者 カラズミ, アーサラン

デンマーク、デ・コ - 2 9 0 0 ヘレロップ、ツボルク・ハネパーク、2、1・ティ・ベ

(72)発明者 マドセン, ポール・フニッシ

デンマーク、デ・コ - 4 9 7 0 ルドビィ、スネズカーバイ、9

(72)発明者 ブリンク, トマス・ニスガー

デンマーク、デ・コ - 4 8 0 0 ニューケピング・ファルスター、ベスタースコベイ、6 7

Fターム(参考) 4B064 AF01 AF41 CA21 CB07 CE08 DA01

4C057 AA02 AA06 BB02 DD01 JJ05