

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

特許第3010258号
(P3010258)

(45)発行日 平成12年2月21日(2000.2.21)

(24)登録日 平成11年12月10日(1999.12.10)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	J
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B
	2/38		C
	2/52	A 6 1 K 31/00	6 3 1 M
A 6 1 P 31/18		A 2 3 L 2/00	F

請求項の数 8 (全 6 頁)

(21)出願番号	特願平10-47426	(73)特許権者	000001144 工業技術院長 東京都千代田区霞が関1丁目3番1号
(22)出願日	平成10年2月27日(1998.2.27)	(74)上記1名の指定代理人	220000404 工業技術院生命工学工業技術研究所長 (外)
(65)公開番号	特開平11-246431	(73)特許権者	597084179 岡 修一 茨城県つくば市東1丁目1番3 工業技 術院生命工学工業技術研究所内
(43)公開日	平成11年9月14日(1999.9.14)	(73)特許権者	595132360 株式会社常磐植物化学研究所 千葉県佐倉市木野子158番地
審査請求日	平成10年3月4日(1998.3.4)	(74)上記2名の代理人	100095843 弁理士 釜田 淳爾 (外2名)
		(72)発明者	岡 修一 茨城県つくば市東1丁目1番3 工業技 術院生命工学工業技術研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗H I V剤

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】落花生薄皮の抽出物を活性成分として含有することを特徴とする抗H I V剤。

【請求項2】該活性成分が落花生薄皮を熱水で抽出した抽出成分であることを特徴とする抗H I V剤。

【請求項3】該活性成分が落花生薄皮を90~95の熱水で抽出した抽出成分であることを特徴とする抗H I V剤。

【請求項4】該活性成分が、スチレン10~80モル%とジビニルベンゼン90~20モル%との共重合物の含水物(含水率は30~70重量%)に吸着することを特徴とする請求項1~3のいずれかの抗H I V剤。

【請求項5】該活性成分が水およびエタノールに可溶性であることを特徴とする請求項4の抗H I V剤。

【請求項6】該活性成分が、落花生薄皮を熱水抽出し、

2

得られた抽出液をスチレン10~80モル%とジビニルベンゼン90~20モル%との共重合物の含水物(含水率は30~70重量%)に吸着させた後アセトンで溶出し、さらに水およびエタノールに可溶性の成分を分取することによって調製しうることを特徴とする抗H I V剤。

【請求項7】錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、シロップ剤、注射剤および貼付剤からなる群より選択される形態を有する請求項1~6のいずれかの抗H I V剤。

【請求項8】食品または飲料の形態を有する請求項1~6のいずれかの抗H I V剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、落花生薄皮に由来

10

する活性成分を含有する抗HIV剤に関する。また、本発明は落花生薄皮に由来する活性成分を含有する機能性食品および機能性飲料に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、後天性免疫不全症候群(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)が急速に広まり、その予防法や治療法の確立が世界的に必要とされている。AIDSはレトロウィルス的一种であるヒト免疫不全ウイルス(human immunodeficiency virus, HIV)によって引き起こされることから、HIVの増殖を抑制する薬剤の開発研究が活発に行われている。

【0003】その結果、これまでに、アジドチミジン、ジダノシン、インターフェロン、リコンビナントCD4、プロテアーゼ阻害剤、デキストラン硫酸、カードラン硫酸およびレンチナン硫酸などの化学的修飾多糖などに抗HIV活性があることが報告されている。その中の幾つかは、現在AIDS治療のために臨床で用いられている。抗HIV活性を有する物質として報告されているもののうち、例えばアジドチミジンやジダノシンは*in vitro*で優れた抗HIV作用を有し、AIDS患者に対する延命効果があることが認められている。しかしながら、これらの薬剤は造血機能の抑制や脾炎を起こすといった副作用が強いうえ、耐性株HIVが出現するという問題を抱えている。

【0004】また、化学的修飾多糖の1種であるデキストラン硫酸は、 α -グルカンであるデキストランの硫酸エステル化物であるが、生体内における安定性が極めて悪いという欠点がある。そのうえ、血液凝固阻害作用が強いという問題もある。さらに、別の化学的修飾多糖であるカードラン硫酸は、 α -1,3グリコシド結合のみからなるカードランやその低分子体から誘導されるものであるが、生体内における半減期が短いために効果が持続しないという欠点がある。このように、今日までに開発された抗HIV物質は、抗HIV活性が高いと副作用も大きいというジレンマを抱えている。このため、より低毒性でかつ有効性の高い抗HIV物質を開発することが急務とされている。

【0005】一方、古来より我国や中国では、疾病の治療や予防に生薬や漢方薬を使用している。これらの生薬や漢方薬は、安全性が十分に確認されており、安心して服用することができるものが多い。中には、ウィルスの増殖を阻害する抗ウイルス効果をもつものもあり、注目を集めている。しかしながら、生薬や漢方薬のHIVに対する作用を本格的に検討した結果は、カンゾウに含まれるグリチルリチンの検討例を除けばほとんど報告されていない。このため、多種多様な生薬や漢方薬に由来する物質のいずれに抗HIV活性があるのかを示唆する報告は皆無に近い。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】このような状況を踏まえて、本発明は、従来技術がかかえる上記の問題点を解決することを課題とした。すなわち、本発明は、強力な抗HIV活性を有していながら、細胞毒性が極めて低いという特徴を有する、安全で高活性な抗HIV剤を提供することを課題とした。また、本発明は、このような特徴を有する抗HIV機能性食品および飲料を提供することも課題とした。さらに、本発明は、従来焼却廃棄されていた自然界の産物を有効に利用することも課題とした。

【0007】

【課題を解決するための手段】これらの課題を解決するために鋭意研究を進めた結果、本発明者らは、落花生薄皮の抽出物中に高い抗HIV活性を示す成分があることを見出し、本発明を提供するに至った。

【0008】すなわち、本発明は、落花生薄皮の抽出物を活性成分として含有することを特徴とする抗HIV剤を提供するものである。本発明の好ましい実施態様では、落花生薄皮の熱水抽出物を活性成分として使用する。また、本発明の別の好ましい実施態様では、落花生薄皮を90～95%の熱水で抽出した抽出成分を活性成分として使用する。本発明の好ましい活性成分は、スチレン10～80モル%とジビニルベンゼン90～20モル%との共重合物の含水物(含水率は30～70重量%) (以下「ダイアイオンHP20」(登録商標)という)に吸着し、水およびエタノールに可溶性である。

【0009】本発明の活性成分の調製法として、落花生薄皮を熱水抽出し、得られた抽出液をダイアイオンHP20に吸着させた後アセトンで溶出し、さらに水およびエタノールに可溶性の成分を分取する方法を挙げることができる。本発明の抗HIV剤は、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、シロップ剤、注射剤および貼付剤からなる群より選択される形態にすることができる。また、本発明の抗HIV剤は、食品または飲料の形態にすることもできる。

【0010】

【発明の実施の形態】以下において、本発明の抗HIV剤の実施形態を説明する。本発明の抗HIV剤は、落花生薄皮の抽出物を活性成分とする点に特徴がある。本発明で使用する落花生は、ラッカセイ属に属する植物であればその種類は問わない。特に好ましいのは、ラッカセイ属に属するラッカセイ(*Arachis hypogaea*)である。本発明で使用する落花生の生育地、収穫期および種類などは特に制限されない。また、実の大きさ、果皮中に入っている種子の数、果皮や薄皮の色なども特に制限されない。

【0011】落花生から薄皮を取得する方法は、特に制限されない。このため、厚い皮質を帯びた果皮を除去して薄皮付きの種子を取得してから、種子と薄皮を分離す

ることによって取得してもよいし、果皮と薄皮を同時に種子から分離した後に、果皮と薄皮を分離することによって取得してもよい。薄皮付きの種子から薄皮のみを取得する方法には様々なものがあり、例えば空気流を当てて薄皮を飛ばして収集する方法、種々の条件下で薄皮を溶かす方法、人手によって剥く方法などがある。また、水流を当てることによって水とともに薄皮を洗い流す方法や、90～95の熱水中に5～10分間浸した後に剥離機で剥く方法もある。これら方法によれば薄皮の除去と水または熱水抽出を同時に行うことができるため効率的である。特に種子を水で湿らせたうえで使用する場合には、この方法は有効である。本発明の薄皮はこれらのいずれの方法によって取得したものであってもよい。

【0012】こうして分離した薄皮は一般に人の食用に供しないため、一部が家畜の飼料として利用されているものの、大部分は焼却または廃棄されている。本発明によれば、このような廃材同然であった落花生の薄皮を有効に利用することができる。このため、本発明は安価な原料費で大きな成果を上げることが可能であり、産業上の利用性が極めて高い。

【0013】落花生薄皮の抽出方法は特に制限されず、当業者に周知の方法にしたがって行うことができる。抽出溶媒としては、水または温水、アルコール系溶媒、およびアセトンなどのその他の有機溶媒を用いることができる。アルコール系溶媒としては、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、イソブタノールなどを例示することができる。これらの溶媒は単独で使用してもよいし、組み合わせて使用してもよい。

【0014】好ましい抽出溶媒は水または温水であり、特に好ましいのは熱水である。熱水の温度は40～100、より好ましくは60～100、さらに好ましくは80～100、もっとも好ましくは90～95である。抽出は、常温で行っても還流下で行ってもよい。また、ソックスレー抽出器などの抽出装置を使用してもよい。

【0015】抽出溶媒によって抽出した抽出液は、そのまま抗HIV剤として使用することができる。しかしながら、通常はさらに活性効率を高めるために濃縮や精製を行う。濃縮を行う場合、濃縮の程度は抗HIV剤の使用環境によって異なる。例えば、濃度10%程度になるまで濃縮して液剤として使用してもよいし、粉末状になるまで溶媒を除去してもよい。また、凍結乾燥してもよい。

【0016】さらに精製を行う場合は、当業者に既知の手段を組み合わせて行うことができる。例えば、合成吸着樹脂、活性炭、イオン交換樹脂、セファデックス、バイオゲルなどのゲル濾過剤、カラムクロマトグラフィ、再結晶などを適宜組み合わせることによって、さらに活性成分の精製効率や純度を上げることができる。そ

の際に、活性成分の化学的性質を利用して精製するのが好ましい。すなわち、本発明の好ましい活性成分は、ダイアイオンHP20に吸着し、水およびエタノールに溶解する性質を有するため、これらの性質を利用してさらに精製を進めることができる。

【0017】例えば、熱水抽出物をダイアイオンHP20が充填されたカラムにチャージし、吸着された成分を溶出することによって精製を行うことができる。吸着された成分は、アセトンやエタノールなどの活性成分を溶解し得る溶媒を用いて溶出させることができる。また、熱水抽出物を先にアセトンやエタノールなどの活性成分を溶解し得る溶媒に溶解し、デンプン質などの不溶性成分を濾過した後に、ダイアイオンHP20に吸着させて精製することもできる。これらの精製方法の具体的手順については、後述の製造例を参考にすることができる。

【0018】本発明で使用する活性成分は、強力な抗HIV活性を有するとともに、細胞毒性が低いという極めて望ましい特徴を有する。例えば、熱水抽出後にダイアイオンHP20に吸着精製し、さらに水およびエタノールに可溶性の成分を分取することによって得た成分は、抗HIV剤の活性成分として使用されているデキストラン硫酸と同等な抗HIV活性を有する。その一方で、細胞毒性はアジドチミジンの1/125程度であり、安全性は極めて高い。このように、本発明の活性成分は、抗HIV活性が強力であれば細胞毒性も高いという従来のジレンマを解消した極めて有用な物質である。

【0019】したがって、本発明の抗HIV剤は、医薬品、食品および飲料として安全かつ有効に使用することができる。本発明の抗HIV剤には、1種類の活性成分を単独で使用してもよいし、2種類以上のものを組み合わせて使用してもよい。

【0020】本発明の抗HIV剤は、HIVへの感染や発症を予防し、治療する際に有用である。本発明の抗HIV剤の医薬品としての投与形態は特に制限されず、経口的または非経口的に投与することが可能である。例えば、直腸投与、鼻内投与、頬側投与、舌下投与、膣内投与、筋肉内投与、皮下投与、静脈内投与を行なうことが可能である。中でも、本発明の抗HIV剤は、経口投与、皮下投与または経皮投与するのが好ましい。

【0021】また、本発明の抗HIV剤の剤型も特に制限されず、投与経路等に応じて適宜選択することができる。例えば、経口投与に適した製剤として、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、シロップ剤などを挙げることができ、非経口投与に適した製剤として、注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、経粘膜吸収剤、貼付剤などを挙げることができる。注射剤は、静脈注射、筋肉注射、皮下注射、点滴などのいずれに用いるものであってもよい。本発明の医薬品は、特に経口用製剤、注射剤、貼付剤のいずれかであるのが好ましい。

【0022】本発明の抗HIV剤には、必要に応じて薬

理学的および製剤学的に許容しうる添加物を添加することができる。例えば、賦形剤、崩壊剤または崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶解剤または溶解補助剤、等張化剤、pH調節剤、安定化剤、噴射剤、粘着剤、湿潤剤などを使用することができる。これらの添加剤を適宜組み合わせることで、本発明の抗HIV剤にさまざまな付加的機能を持たせることができる。例えば、必要に応じて抗HIV成分が徐放されるように設計することができる。また、体内の必要な個所において抗HIV成分が集中的に放出されるように設計することもできる。このような徐放性製剤やドラッグデリバリーシステムは、製剤業界において周知の方法にしたがって設計のうえ製造することができる。

【0023】また、本発明の抗HIV剤には、有機物または無機物の担体を使用することができる。そのような担体として、乳糖、でんぷん、植物性および動物性脂肪や油脂を例示することができる。本発明の抗HIV剤には、抗HIV成分を0.01~100重量%の範囲内で使用することができる。さらに、本発明の抗HIV剤には、本発明の抗HIV成分以外の抗HIV成分を組み合わせ使用することもできる。

【0024】本発明の抗HIV剤の投与量は、治療または予防の目的、患者の性別、体重、年齢、疾患の種類や程度、剤型、投与経路、投与回数などの種々の条件に応じて適宜決定する。例えば、経口投与する場合には、0.5µg~50mg/kg体重/日で、一日一回から数回に分けて投与することができるが、投与量はこの範囲に限定されるものではない。

【0025】本発明の活性成分は、各種食品や飲料に混合することによってその食品や飲料に抗HIV機能を持たせることができる。例えば、紅茶、清涼飲料水、ジュース、あめ、澱粉質食品、各種加工食品等に添加することができる。活性成分の添加量は、約0.1~99重量%の範囲内に設定することができる。また、必要に応じて、ゲル化剤などの添加剤を加えることもできる。

【0026】

成分	重量部
製造例で調製した茶色粉末	280
乳糖	39
ステアリン酸マグネシウム	1

【0030】【実施例3】市販の紅茶葉を粉碎し、これに製造例で調製した茶色粉末を3重量%になるように添加してよく混合し、ティーパックに詰めた。このティーパックを熱湯中に入れることによって、抗HIV成分が紅茶に溶出した抗HIV機能性紅茶を調製することができた。

*【実施例】以下に製造例、実施例および試験例を挙げて本発明をさらに具体的に説明する。以下の製造例および実施例に示す材料、試薬、割合、操作等は、本発明の精神から逸脱しない限り適宜変更することができる。したがって、本発明の範囲は以下に示す具体例に制限されるものではない。

【0027】【製造例】本実施例において、落花生から抗HIV活性粉末を取得する方法を説明する。落花生の薄皮279kgに水1000リットルを加えて90~95で2時間加熱後、濾過することによって抽出液を得た。抽出後の落花生に再度水1000リットルを加えて同様に加熱濾過することによって抽出液を得た。これらの抽出液を混合して、カラム(容積400リットル、ダイアイオンHP20充填)にチャージした。水で洗浄した後70%アセトン1200リットルで溶出し、得られた溶出液を濃縮した。濃縮物にエタノール20リットルを加えて攪拌し、濾過することによって茶色透明液を得た。この液体を濃縮して乾燥し、茶色粉末190gを得た。

【0028】【実施例1】以下の表に示す量の茶色粉末、塩化ナトリウムおよびベンジルアルコールを蒸留水に溶解した。この溶液をフィルター(孔径0.2µm)を通して濾過することによって、注射剤を製造した。

【表1】

成分	重量部
製造例で調製した茶色粉末	2
塩化ナトリウム	9
ベンジルアルコール	9
蒸留水	1000

【0029】【実施例2】以下の表に示す量の乳糖とステアリン酸マグネシウムを製造例で調製した茶色粉末と混合して、十分に攪拌した。この混合物をゼラチンカプセルに充填することによってカプセル剤を製造した。

【表2】

成分	重量部
製造例で調製した茶色粉末	280
乳糖	39
ステアリン酸マグネシウム	1

【0031】【実施例4】市販のオレンジジュース1kgに、製造例で調製した茶色粉末を3重量%になるよう添加してよく混合し、抗HIV成分を含むオレンジジュースを製造した。

【0032】【試験例】本試験例において、製造例で調製した茶色粉末の抗HIV活性および細胞毒性を試験し

た結果を示す。

(試験方法) MT-4細胞にHIV-1(LAV-1株)を0.001TCID₅₀/個の割合で1時間感染させ、その後、RPMI-1640培養液(10%ウシ胎児血清、ペニシリン100U/ml、ストレプトマイシン100μg/ml含有)を用いて1回洗浄した。このHIV-1感染MT-4細胞を、抽出物Aを含むRPMI-1640培養液に1×10⁵個/mlの濃度で浮遊させ、5日間培養した。培養は、96穴の平底培養プレートにて行ない、1ウェルあたり200μlの量で培養した。培養液中の抽出物Aの濃度は、最大値を1000μg/mlに設定し、1/2ずつ段階希釈したものを用意して検討を行なった。

【0033】5日間培養した後、HIV感染によるバルーニングや巨核細胞出現などのMT-4細胞変性効果*

* (CPE)を顕微鏡により観察した。CPEが認められた場合は、HIV増殖抑制効果なしと判定した。この判定基準にしたがって、HIV増殖抑制効果が認められる最小試料濃度を決定した(HIVに対する最小増殖抑制濃度)。また、上記の方法と同様にしてMT-4細胞に対する細胞毒性の有無も検討した。細胞観察の結果、細胞生育障害または細胞死が認められた場合は、MT-4細胞に対する細胞毒性ありと判定した。この判定基準にしたがって、細胞毒性が認められる最小試料濃度を決定した(MT-4細胞に対する最小細胞障害濃度)。比較のために、アジドチミジンとデキストラン硫酸についても同じ試験を行なった。

【0034】(試験結果)試験結果は、以下の表に示すとおりであった。

【表3】

	HIVに対する 最小増殖抑制濃度 (μg/ml)	MT-4細胞に対する 最小細胞障害濃度 (μg/ml)
茶色粉末(製造例)	≥ 3.9	≥ 125
アジドチミジン	0.002	> 1
デキストラン硫酸	1.95	> 1000

【0035】茶色粉末は100で30分間熱処理しても安定であり、この熱処理後もHIV活性が確認された。

【0036】

【発明の効果】本発明の抗HIV成分は、優れた抗HIVを示す一方で低毒性であるという特徴を有する。この

ため、本発明の抗HIV成分は、抗HIV剤や抗HIV機能性食品などの活性成分として広く使用することができる。また、本発明の抗HIV剤は、従来焼却廃棄されていた落花生の薄皮を用いて製造し得ることから、資源の有効利用を図るうえで極めて有用である。

フロントページの続き

- (72)発明者 山崎 幸苗
茨城県つくば市東1丁目1番3 工業技術院生命工学工業技術研究所内
- (72)発明者 冨塚 登
茨城県つくば市東1丁目1番3 工業技術院生命工学工業技術研究所内
- (72)発明者 井上 真美
茨城県牛久市岡見町960-144
- (72)発明者 沖田 幸子
茨城県つくば市松代3-23-1-309
- (72)発明者 藤田 康子
茨城県つくば市千現1-5-5 片桐ハイツ102

- (72)発明者 大竹 徹
奈良県奈良市西大寺野神町1-6-31-103
- (72)発明者 川畑 拓也
大阪府堺市百舌鳥夕雲町2-210
- (72)発明者 内田 勝
千葉県八街市八街に-72-25
- (72)発明者 佐々木 務
千葉県八日市場市平木3666-8

審査官 冨永 保

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

A61K 35/78

A23L 1/30

A23L 2/38

A23L 2/52