

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3818680号
(P3818680)

(45) 発行日 平成18年9月6日(2006.9.6)

(24) 登録日 平成18年6月23日(2006.6.23)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/36 (2006.01)	A 6 1 K 31/36
A 6 1 K 31/355 (2006.01)	A 6 1 K 31/355
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/08
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1

請求項の数 2 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願平7-104209	(73) 特許権者	000001904
(22) 出願日	平成7年4月27日(1995.4.27)		サントリー株式会社
(65) 公開番号	特開平8-26989		大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
(43) 公開日	平成8年1月30日(1996.1.30)	(74) 代理人	100077517
審査請求日	平成14年3月27日(2002.3.27)		弁理士 石田 敬
(31) 優先権主張番号	特願平6-98798	(74) 代理人	100087871
(32) 優先日	平成6年5月12日(1994.5.12)		弁理士 福本 積
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(74) 代理人	100088269
			弁理士 戸田 利雄
		(74) 代理人	100082898
			弁理士 西山 雅也
		(72) 発明者	秋元 健吾
			大阪府三島郡島本町山崎1-9-5-10
			06

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アレルギー症状の予防又は改善剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

セサミン及びノ又はエピセサミン並びにトコフェロールのみからなるアレルギー症状の予防又は改善剤。

【請求項2】

前記のトコフェロールが - トコフェロールである、請求項1記載の予防又は改善剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン誘導体を有効成分とするアレルギー症状の予防又は改善剤、並びにジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物を含有するアレルギー症状の予防又は改善作用を有する飲食品、及びその製造方法に関するものである。

10

さらに本発明は、ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン誘導体と抗酸化剤を有効成分とするアレルギー症状の予防又は改善剤、並びにジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物と抗酸化剤を含有するアレルギー症状の予防又は改善作用を有する飲食品、及びその製造方法に関するものである。

【0002】

【従来技術】

種々の化学伝達物質が、肺やその他の組織から遊離され、気管支筋、肺血管等の平滑筋を

20

収縮したり、皮膚血管の透過性を亢進するなどして、生体組織に障害を与えることにより、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性疾患等が発症すると考えられている。このような化学伝達物質の中でもヒスタミン及びSRS-A (slow-reacting release substance of anaphylaxis) は、最も重要視されている。近年、SRS-Aの本体がペプチドロイコトリエン C_4 、 D_4 、 E_4 (LTC_4 、 LTD_4 、 LTE_4) であることが解明され、これらロイコトリエンのもつ多彩な生理作用及び病態との関連性が広範に研究されている。

【0003】

そして、SRS-Aは、気管支喘息、アレルギー性鼻炎や皮膚炎、アトピー性皮膚炎、更に心筋梗塞などの虚血性疾患、心臓アナフィラキシー、エンドトキシンショック、乾癬などにもその関与が示唆されている。従って、SRS-Aの産生を抑えるかそれに拮抗する薬剤の開発が注目を集めている。また近年はアトピー性皮膚炎や花粉症等の各種アレルギー性疾患患者が増加しており、その治療が社会的な問題になっている。

10

【0004】

しかし現在のところ対症療法に頼るところが大きく、アレルギー疾患の根本的治療につながる優れた治療薬が切望されながら、その開発は今尚暗中模索の域にあると言わざるを得ない。最近、抗ヒスタミン薬や、先のSRS-Aの産生を抑えるかそれに拮抗する薬剤が種々開発されてきているが、副作用の面で十分とは言えない。そして難活例では副腎皮質ホルモン製剤が用いられているが、これとても、重篤な副作用がしばしば患者を悩ませ用すべき薬物ではありえない。

20

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

従って本発明は、安定性が高く、副作用が少ない新規なアレルギー症状の予防又は改善剤、並びにアレルギー症状の予防又は改善作用を有する飲食品及びその製造方法を提供しようとするものである。

【0006】

【課題を解決するための手段】

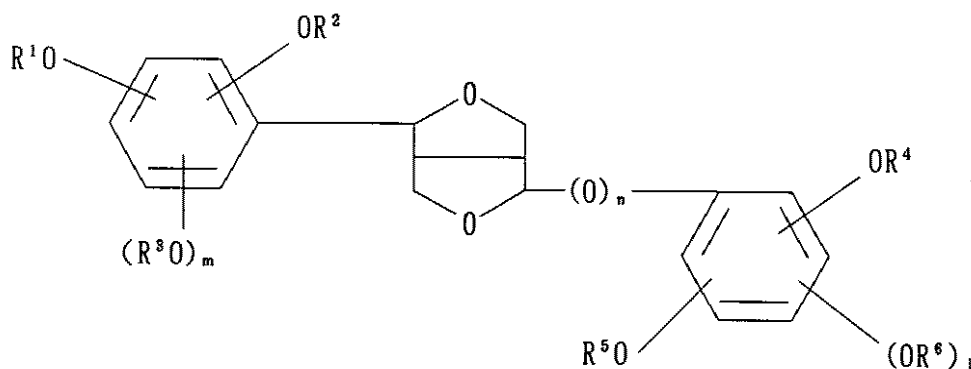
本発明者等は、上記の目的を達成するため種々研究した結果、胡麻種子、胡麻粕又は胡麻油等から単離した、又は合成により得られたジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン誘導体がアレルギー症状の予防又は改善に有効であること、さらに該誘導体と抗酸化剤との併用がアレルギー症状の予防又は改善に有効であることを見出し本発明を完成した。

30

【0007】

従って本発明は、次の一般式(I)：

【化4】



40

(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、及び R^6 はそれぞれ独立に水素原子又は炭素数1~3のアルキル基であり、あるいは R^1 と R^2 、及び/又は R^4 と R^5 は一緒になってメチレン基もしくはエチレン基を表し、そして n 、 m 、及び 1 は0又は1を表す)で表わされるジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン誘導体を有効成分として含有してなるア

50

アレルギー症状の予防又は改善剤を提供しようとするものである。

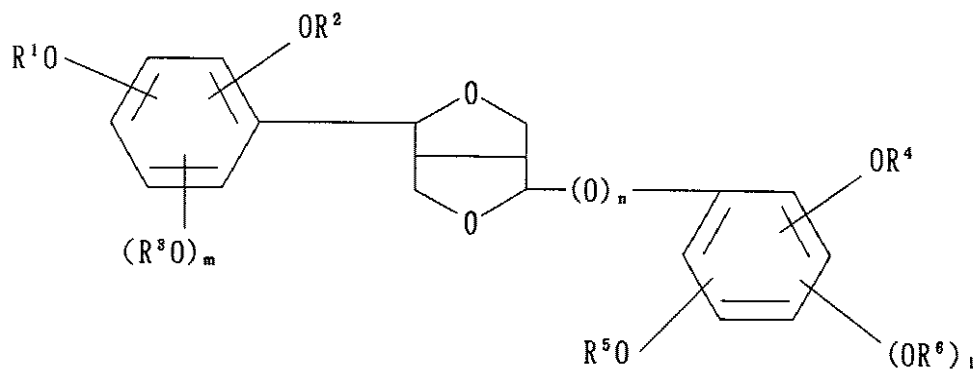
本発明はまた、該誘導体又はこれを主成分とする抽出物を添加してなる、アレルギー症状の予防又は改善作用を有する飲食品を提供しようとするものである。

さらに該誘導体を実質上含有しない飲食物に、該誘導体又はこれを主成分とする抽出物を添加することを特徴とするアレルギー症状の予防又は改善作用を有する飲食品、及びその製造方法を提供しようとするものである。

【0008】

本発明はまた、次の一般式(I)：

【化5】



(式中、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、及びR⁶はそれぞれ独立に水素原子又は炭素数1～3のアルキル基であり、あるいはR¹とR²、及び/又はR⁴とR⁵は一緒になってメチレン基もしくはエチレン基を表し、そしてn、m、及び1は0又は1を表す)で表わされるジオキサピシクロ[3.3.0]オクタン誘導体と抗酸化剤を有効成分として含有してなるアレルギー症状の予防又は改善剤を提供しようとするものである。

本発明はまた、該誘導体又はこれを主成分とする抽出物と抗酸化剤を添加してなる、アレルギー症状の予防又は改善作用を有する飲食品を提供しようとするものである。

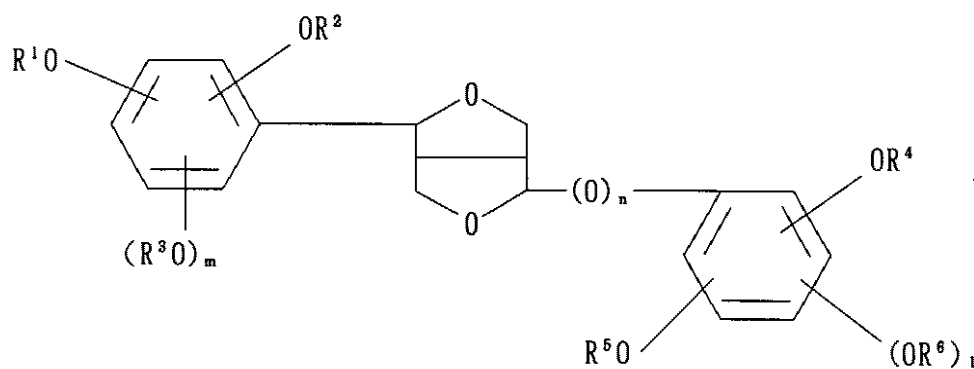
さらに該誘導体を実質上含有しない飲食物に、該誘導体又はこれを主成分とする抽出物と抗酸化剤を添加することを特徴とするアレルギー症状の予防又は改善作用を有する飲食品、及びその製造方法を提供しようとするものである。

【0009】

【具体的な説明】

本発明の有効成分であるジオキサピシクロ[3.3.0]オクタン誘導体は、次の一般式(I)：

【化6】



10

20

30

40

50

(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、及び R^6 はそれぞれ独立に水素原子又は炭素数1～3のアルキル基であり、あるいは R^1 と R^2 、及び/又は R^4 と R^5 は一緒になってメチレン基もしくはエチレン基を表し、そしてn、m、及びlは0又は1を表す)で表わされる化合物であり、ここで、炭素数1～3個のアルキル基とは、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基等を挙げることができる。

【0010】

さらに具体的な化合物としては、セサミン、セサミノール、エピセサミン、エピセサミノール、セサモリン、2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン、2,6-ビス-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン、又は2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェノキシ)-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン等を挙げることができる。これらの化合物は、配糖体の形であってもよく、またその光学異性体も本願発明に含まれる。

10

【0011】

本発明では、前記ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン誘導体(以下「本発明の誘導体」という)を、単独で、又は2種以上を組み合わせ使用することができる。また本発明において本発明の誘導体は高純度精製品に限ったものではなく、前記ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン誘導体の1種又は複数種を主成分とする抽出物(以下、「本発明の誘導体を主成分とする抽出物」という)を単独で又は組み合わせ使用することができる。

20

本発明の誘導体を主成分とする抽出物は、本発明の誘導体を含有する天然物から常法に従って抽出することができる。本発明の誘導体を含有する天然物としては、胡麻油、胡麻粕、胡麻油製造過程の副産物、胡麻種子、五加皮、桐木、白果樹皮、ヒハツ、細辛等を挙げることができる。

また本発明の誘導体を主成分とする抽出物の、本発明の誘導体の含有量は0.1重量%以上、好ましくは1.0重量%以上、より好ましくは5.0重量%以上がよく、特にセサミンとエピセサミンの含有量の合計が、0.05重量%以上、好ましくは0.5重量%以上、より好ましくは2.0重量%以上が望ましい。

【0012】

例えば胡麻油から、本発明の誘導体を主成分とする抽出物を得るには、胡麻油とは実質的に非混和性であり且つ本発明の誘導体を抽出・溶解することができる種々の有機溶剤(例えばアセトン、メチルエチルケトン、ジエチルケトン、メタノール、エタノール等)を用いて抽出・濃縮することができる。

30

その一例として、胡麻油と上記溶剤のいずれかをと均一に混合した後、低温において静置し、遠心分離の常法に従って相分離を行い、溶剤画分から溶剤を蒸発除去することにより得る方法が挙げられ、さらに具体的には、胡麻油を2～10倍、好ましくは6～8倍容量のアセトンに溶かした後、-80℃で一晩放置し、その結果油成分が沈澱となり、濾過により得た濾液からアセトンを留去し、本発明の誘導体を主成分とする抽出物を得る。

【0013】

また、胡麻油と熱メタノール又は熱エタノールとを混合した後、室温において静置し、溶剤画分から溶剤を蒸発除去することにより得る方法が挙げられ、さらに具体的には、胡麻油を2～10倍、好ましくは5～7倍容量の熱メタノール(50℃以上)又は熱エタノール(50℃以上)で激しく混合した後、室温で静置、あるいは遠心分離等の常法に従って相分離を行い、溶剤画分から溶剤を留去して、本発明の誘導体を主成分とする抽出物を得る。

40

さらに、超臨界ガス抽出を利用して本発明の誘導体を主成分とする抽出物を得ることもできる。

【0014】

用いる胡麻油は精製品であっても、また胡麻油の製造過程で脱色工程前のいずれの粗製品

50

であってもよい。

また胡麻種子あるいは胡麻粕（脱脂胡麻種子、残油分8～10%）から、本発明の誘導体を主成分とする抽出物を得るには、胡麻種子あるいは胡麻粕を必要により破碎した後、任意の溶剤、例えば前述の胡麻油からの抽出において用いられているのと同じ溶剤を使用して常法により抽出することができる。抽出残渣を分離した後、抽出液から蒸発等により溶剤を除去することにより抽出物が得られる。

【0015】

本発明の誘導体は、前述の方法等によって調製された胡麻油抽出物、胡麻粕抽出物あるいは胡麻種子抽出物から、カラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー、再結晶、蒸留、液々交流分配クロマトグラフィー等の常法に従って処理することにより目的の化合物を単離することができる。さらに具体的には、逆相カラム（ $5C_{18}$ ）、溶離液にメタノール/水（60：40）を使って、上記抽出物を高速液体クロマトグラフィーで分取し、溶媒を留去した後、得られた結晶をエタノールで再結晶化することでセサミン、エピセサミン、セサミノール、エピセサミノール、セサモリン、2-（3,4-メチレンジオキシフェニル）-6-（3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル）-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン、2,6-ビス-（3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル）-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン、又は2-（3,4-メチレンジオキシフェニル）-6-（3-メトキシ-4-ヒドロキシフェノキシ）-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン等の本発明の誘導体が得られる。なお、本発明の誘導体や該誘導体を主成分とする抽出物を得る方法及び精製方法は、これらに限られるものではない。

【0016】

また本発明の誘導体は、常法に従って合成により得ることもできる。

例えば、セサミン、エピセサミンについてはBerozaraらの方法〔J. Am. Chem. Soc. 78, 1242 (1956)〕で合成することができる他、ピノレシノール（一般式(I)において $R^1 = R^4 = H$, $R^2 = R^5 = CH_3$, $n = m = 1 = 0$ ）は、Freundenbergらの方法〔Chem. Ber., 86, 1157 (1953)〕によって、シリングレシノール（一般式(I)において $R^1 = R^4 = H$, $R^2 = R^3 = R^5 = R^4 = CH_3$, $n = 0$, $m = 1 = 1$ ）は、Freundenbergらの方法〔Chem. Ber., 88, 16 (1955)〕によって合成することができる。

【0017】

さらに本発明の誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物は、抗酸化剤と組み合わせて本発明の有効成分として使用することができる。抗酸化剤としては、例えばトコフェロール類、フラボン誘導体、フィロズルシン類、コウジ酸、没食子酸誘導体、カテキン類、フキ酸、ゴシポール、ピラジン誘導体、セサモール、グアヤコール、グアヤク脂、p-クマリオン酸、ノルジヒドログアヤレチック酸、ステロール類、テルペン類、核酸塩基類、カロチノイド類のような天然抗酸化剤、あるいはブチルヒドロキシアニソール（BHA）、ブチルヒドロキシトルエン（BHT）、モノタアシャリ-ブチルヒドロキノン（TBHQ）、4-ヒドロキシメチル-2,6-ジ-タアシャリ-ブチルフェノール（HMBP）に代表されるような合成抗酸化剤を挙げることができる。

【0018】

抗酸化剤の中でも特にトコフェロール類が好ましく、トコフェロール類としては例えば、
 - トコフェロール、 - トコフェロール、 - トコフェロール、 - トコフェロール、
 - トコフェロール、 - トコフェロール、 - トコフェロール又はトコフェロールエステル（酢酸トコフェロール等）等を挙げることができる。さらに、カロチノイド類では例えば、
 - カロチン、カンタキサンチン、アスタキサンチン等を挙げることができる。
 組み合わせにおいて、本発明の誘導体と抗酸化剤の割合については特に制限はないが、本発明の誘導体1重量部に対して抗酸化剤が0.001重量部以上、1000重量部以下が望ましい。さらに0.01～100重量部の範囲が好ましく、0.029～40重量部の範囲がさらに好ましい。

10

20

30

40

50

【0019】

本発明の有効成分、すなわち本発明の誘導体単独あるいは抗酸化剤との併用は、アレルゲンの吸収を阻害するIgAのレベルを、またアレルゲンとIgEとの反応を阻止するIgGのレベルを増加させ、化学伝達物質（ヒスタミン、LTB₄、LTC₄等）の遊離を抑えることにより、アレルギー症状の予防又は改善に有効であると考えられる。本発明の対象となるアレルギー症状とは、例えばアトピー性皮膚炎、青年期アトピー性皮膚炎、じんましん、接触皮膚炎、老人性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、花粉症、虚血性疾患、心臓アナフィラキシー、エンドトキシンショック、乾癬、薬物アレルギー、食物アレルギー、昆虫アレルギー等のアレルギー性疾患の症状を挙げることができる。また本発明において、症状の改善とは、広い意味で使用し、疾患の治療も包含する。

10

【0020】

例えば花粉症の場合、鼻粘膜の表面から吸収された花粉（アレルゲン）が、マスト細胞に付着しているIgEと反応する前に、本発明の有効成分の作用により粘膜中に高レベルで分布しているIgGと結びつくため、アレルゲンとIgEとの反応が阻止され、マスト細胞からのヒスタミン遊離が抑制され、アレルギー症状が軽減されるものと考えられる。

【0021】

また食物アレルギーは、日常摂取している食物により引き起こされるアレルギーであって、食物がまず接触する場である消化器の症状（口腔粘膜腫脹、痒み感、悪心、嘔吐、腹痛、下痢）のほか、皮膚症状（湿疹、じんましん）、呼吸器症状（鼻アレルギー、気管支喘息）、泌尿器症状（頻尿、夜尿症）、神経症状（偏頭痛）などを引き起こす。アレルゲンとしては、卵、牛乳、大豆、ピーナッツ、チョコレート、小麦粉、魚介類、香料、保存料、着色料などの食品添加物、微生物、薬物などが挙げられる。気管支喘息児では最初に食物アレルギーによる湿疹が発症し、次に吸入性抗原による鼻アレルギーから気管支喘息に進行する。このような食物アレルギーの発症を回避するには、アレルゲンを摂取しないことが一番であるが、現実的ではない。

20

【0022】

本発明の有効成分は、腸間膜のリンパ節で作られるIgAのレベルを高め、腸管粘膜から吸収された食物（アレルゲン）がこのIgAと吸着することにより、抗アレルギー作用を示すものと思われる。

【0023】

本発明の誘導体を医薬品として用いる場合、投与形態は、経口投与または非経口投与が都合よく行われるものであればどのような剤形のものであってもよく、例えば注射液、輸液、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、腸溶剤、トローチ、内用液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、外用液剤、湿布剤、点鼻剤、点耳剤、点眼剤、吸入剤、軟膏剤、ローション剤、坐剤等を挙げることができ、これらを症状に応じてそれぞれ単独で、または組み合わせて使用することができる。

30

【0024】

これら各種製剤は、常法に従って目的に応じて主薬に賦形剤、結合剤、防腐剤、安定剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。例えば注射剤を調製する場合、非イオン界面活性剤等の医薬品用の可溶化剤を利用することができ、さらに具体的には、本発明の誘導体を80倍容量のPOE（60）硬化ヒマシ油あるいはPOEソルピタンモノオレート等の非イオン界面活性剤に加熱溶解させ、生理食塩水で希釈することで調製することができる。また必要に応じて適宜等張化剤、安定剤、防腐剤、無痛化剤を加えてもよい。

40

【0025】

また外用剤としては基剤としてワセリン、パラフィン、油脂類、ラノリン、マクロゴール等を用い、通常の方法によって軟膏剤、クリーム剤等を調製することができる。またその投与量は、投与の目的や投与対象者の状況（性別、年齢、体重等）により異なるが、通常、成人に対して経口投与の場合、本発明の誘導体の総量として、1日あたり1mg～10g、好ましくは1mg～2g、さらに好ましくは1mg～200mgの範囲で、また非経口投与の

50

場合、本発明の誘導体の総量として、1日あたり0.1mg~1g、好ましくは0.1mg~200mg、さらに好ましくは0.1mg~100mgの範囲で適宜調節して投与することができる。

【0026】

また本発明の誘導体を、抗酸化剤、特にトコフェロール類とともに投与する場合には、本発明の誘導体の投与量は、投与の目的や投与対象者の状況（性別、年齢、体重等）により異なるが、通常、成人に対して経口投与の場合、本発明の誘導体の総量として、1日あたり0.1mg~2g、好ましくは0.1mg~500mg、さらに好ましくは0.1mg~100mgの範囲で、また非経口投与の場合、本発明の誘導体の総量として、1日あたり0.01mg~200mg、好ましくは0.01mg~50mg、さらに好ましくは0.01mg~20mgの範囲で、かつ本発明の誘導体と抗酸化剤との配合比率は、本発明の誘導体1重量部に対して抗酸化剤が0.001~1000重量部、好ましくは0.01~100重量部、さらに好ましくは0.029~40重量部の範囲で、適宜調節して投与することができる。本発明の誘導体と抗酸化剤、特にトコフェロール類とを併用することによって、アレルギー症状の予防又は改善の相乗効果が期待される。

10

【0027】

本発明の誘導体は、従来の食品中より見出した化合物又はその類縁化合物であるので安全性の面からも優れているのは明らかである。また、7週令のIRC雄性マウスに対し、セサミン2.14g/day/Kgを2週間連続投与（経口投与）したところ、何ら異常な症状は認められなかったことから明らかである。

20

【0028】

本発明の誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物を飲食品として用いる場合、その形態は、上記医薬剤の形態でもよく、また固形、あるいは液状の食品ないしは嗜好品、例えばパン、めん類、ごはん、菓子類（ビスケット、ケーキ、キャンデー、チョコレート、和菓子）、豆腐およびその加工品などの農産食品、清酒、薬用酒、みりん、食酢、醤油、味噌などの発酵食品、ドレッシング、マヨネーズ、マーガリン、ショートニング、食用油脂などの油脂食品、ヨーグルト、ハム、ベーコン、ソーセージなどの畜農食品、かまぼこ、揚げ天、はんぺんなどの水産食品、果汁飲料、清涼飲料、スポーツ飲料、アルコール飲料、茶などの飲料等の形態であってもよい。

【0029】

また健康食品、機能性食品として用いる場合は、その形態は、上記医薬剤や飲食品の形態でもよいが、例えば蛋白質（蛋白質源としてはアミノ酸バランスのとれた栄養価の高い乳蛋白質、大豆蛋白質、卵アルブミン等の蛋白質が最も広く使用されるが、これらの分解物、卵白のオリゴペプチド、大豆加水分解物等の他、アミノ酸単体の混合物も使用される）、糖類、脂肪、微量元素、ビタミン類、乳化剤、香料等が配合された自然流動食、半消化態栄養食および成分栄養食や、ドリンク剤等の加工形態であってもよい。

30

【0030】

本発明の飲食品は、本発明の誘導体を実質的に含有しない食品原料を用いて、本発明の誘導体を実質的に含有しない飲食物を製造する際、本発明の誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物の所要量を適宜、加えて、一般の製造法により製造することができる。また本発明の誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物とともに抗酸化剤を加えて製造することもできる。これらの配合量はそれぞれ剤形、食品の形態性状により異なるが、一般には0.001~50%が好ましいが特に限定されるものではない。また健康食品、機能性食品としての摂取は、アレルギー症状に対する予防や改善に用いられ、医師の食事箋に基づく栄養士の管理の下に、病院給食の調理の際に本発明の誘導体を実質的に含有しない任意の食品に、本発明の誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物を加え、その場で調整した機能性食品の形態で患者に与えることもできる。

40

【0031】

本発明において、本発明の誘導体を実質的に含有しない飲食物とは、例えば胡麻等を原料としていない飲食物が挙げられるが、胡麻等を原料とする飲食物であっても、最終形態の

50

飲食品における本発明の誘導体の含有量が微量であって、その飲食品の1日摂取量あたり、本発明の誘導体の含有量が0.1mg未満、好ましくは0.8mg以下のもの、あるいはその飲食品の1日摂取量あたり、セサミン、セサミノール、エピセサミン、エピセサミノール、セサモリン、2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン、2,6-ビス-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン、又は2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェノキシ)-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタンの総含有量が0.1mg未満、好ましくは0.8mg以下のものは、本発明の誘導体を実質的に含有しない飲食物に含まれる。

10

【0032】

本発明の飲食品は、アレルギー症状に対する予防改善や健康維持を目的として、目安として1日あたり本発明の誘導体の総量が1mg~10g、好ましくは1mg~2g、さらに好ましくは1mg~20mgの範囲で経口摂取されることが望ましい。

さらに本発明の飲食品において、本発明の誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物は、抗酸化剤、特にトコフェロール類とともに摂取する場合には、目安として1日あたり本発明の誘導体の総量が0.1mg~2g、好ましくは0.1mg~500mg、さらに好ましくは0.1mg~100mgの範囲で、かつ本発明の誘導体と抗酸化剤との配合比率は、本発明の誘導体1重量部に対して抗酸化剤が0.001~1000重量部、好ましくは0.01~100重量部、さらに好ましくは0.029~40重量部の範囲で、経口摂取されることが望ましい。本発明の誘導体と抗酸化剤、特にトコフェロール類とを併用することによつて、アレルギー症状に対する予防改善や健康維持の相乗作用が期待される。

20

【0033】

なお本発明の誘導体は実質的に含有しないが、抗酸化剤、特にトコフェロール類を含有している飲食物に、本発明の誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物を添加する場合には、最終形態の飲食品における本発明の誘導体と抗酸化剤の含有比率が、本発明の誘導体1重量部に対して抗酸化剤が0.001~1000重量部、好ましくは0.01~100重量部、さらに好ましくは0.029~40重量部の比率となるよう、本発明の誘導体又は該誘導体を主成分とする抽出物を添加することができる。この際、必要に応じ抗酸化剤をさらに添加することも可能である。

30

次に、実施例により、本発明をさらに具体的に説明する。

【0034】

【実施例】

実施例1.

実験動物と飼料

4週令(平均体重96g)のBrown-Norway(BN)系雄ラット(成和実験動物研究所)を1群8匹とし4群にわけた。ひとつのグループは20%カゼイン、5%コーン油、5%セルロース、3.5%ミネラル混合物(AIN-TM:アメリカ栄養研究所処方)、1%ビタミン混合物(AIN-TM)、0.2%重酒石酸コリン、0.3%DL-メチオニン、15%コーンスターチ及び50%シュクロースからなる普通食で飼育した。そして、残りの3グループはシュクロースを減じて、0.5%セサミンあるいは0.5%-トコフェロールを加えた飼料で、さらに0.5%セサミン及び0.5%-トコフェロールを加えた飼料で、それぞれ飼育した。セサミンには、特開平3-27319号公報記載の方法に従って精製したセサミンとエピセサミンの混合物(セサミン:55.2%、エピセサミン:44.4%、純度99.6%)を使用した。3週間飼育後エーテル麻酔後、腹部大動脈より採血し、肺および脾臓を摘出した。

40

【0035】

ロイコトリエンC₄の抽出と測定

ラットより摘出した肺組織中のロイコトリエンC₄(LTC₄)濃度は、常法に従ってラジオイムノアッセイにより定量した。

50

結果を図1に示す。このグラフから明らかな通り、 $LT C_4$ 含量はセサミンとトコフェロールの両者の投与により有意に低下した。

【0036】

フローサイトメトリーによる $CD 4^+$ (%) , $CD 8^+$ (%) の解析

血液中の $CD 4^+$, $CD 8^+$ 細胞の比率はフローサイトメーター (FCM) を用いて測定した。ラットより摘出した脾臓を、RPMI 1640培地を入れた5mlディッシュに移し、脾臓の脂肪を取り除いた後、その両端を切除し、残りの部分を3 - 4個に切断した。これらを新たに5mlのRPMI 1640培地の入ったディッシュに移し、スライドガラスですりつぶしてリンパ球を含む細胞を採取した。

【0037】

これにリンパ球分離用密度勾配液 (LSM) 4mlを入れて遠心分離し、得られたリンパ球層を吸引して分離し、RPMI 1640培地に移した。この細胞懸濁液にウシ胎児血清 (FBS) 10mlを添加し、 1×10^6 細胞/mlになるようにこの培地で希釈し、これを10mlディッシュに分注した。10mlディッシュにリシン溶液を最終濃度 (1×10^{-4} ng/ml ~ 10 ng/ml) になるように100 μ l 添加した。

【0038】

48時間後、培養液の一部を抗体量の測定のために採取し、残りの細胞懸濁液は十分にピペティングした後10mlのRPMI 1640培地を加えた遠心管に移し、1200 rpmで5分間遠心分離した。上清を捨て、新たに1.5mlのRPMI 1640を加えてよくピペティングし、その中から100 μ l ずつをマイクロチューブに分注した。

【0039】

遠心分離後、上清は捨て、沈澱したリンパ球に2mlのRPMI 1640培地を加え、よくピペティングしてマイクロチューブに1mlずつそれぞれ分注し、再度1200 rpmで5分間遠心分離した。上清は捨て、10%非働化FBS含有PBSを100 μ l 加え、さらに、抗ラット CD_4 - FITC 標識抗体、抗ラット CD_8 - PE 標識抗体を5 μ l ずつ添加し、氷中で30分間静置 (10分毎、攪拌) した。さらに10%非働化FBS / PBSを1ml加え、1200 rpmで5分間遠心分離し、再度、上清を捨て、同様の操作を行った。上清を捨て、4%パラホルムアルデヒド溶液とPBSをそれぞれ0.5ml加えてよくピペティングした (リンパ球の固定化)。各濃度のリシンを添加したリンパ球についてこれらの操作を行った。翌日これらの固定化したリンパ球について、フローサイトメトリー (FCM) により $CD 4^+$ 細胞と $CD 8^+$ 細胞の割合を測定した。結果を表1に示す。

【0040】

【表1】

10

20

30

表 1

群	Cont.	Ses	Toc	Ses+Toc
CD4 ⁺	41.1±3.3 *	33.4±1.7 ^b	32.6±1.6 ^b	37.9±2.0 ^{a,b}
CD8 ⁺	9.6±0.6 *	7.4±0.5 ^b	7.1±0.5 ^b	7.3±0.2 ^b
CD4 ⁺ / CD8 ⁺	4.3±0.1 *	4.6±0.2 *	4.6±0.4 *	5.2±0.4 *

数値：平均値±標準誤差
 Cont：対照（無添加）
 Ses：セサミン 0.5%添加
 Toc：トコフェロール 0.5%添加
 Ses +Toc：セサミン 0.5%及びトコフェロール 0.5%添加
 a, b 異った文字間に有意差あり、P<0.05
 CD4⁺：ヘルパーT細胞
 CD8⁺：サブレッサーT細胞

10

20

30

表 1 から明らかな通り、脾臓リンパ球の免疫活性作用を有するヘルパ - T細胞 (CD4⁺) は、セサミンの添加により有意に低下した。

【0041】

E L I S A (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) 法による血清 I g M , I g A , I g G , I g E 量の測定：

前述のラットの腹部大動脈より採血した血液を用いた。

試薬は 50 mM 炭酸緩衝洗浄液 (0.05% Tween 20 / PBS 和光純薬)、ブロッキング剤 (雪印乳業)、I g A , I g M , I g G の一次および二次抗体 0.2 M クエン酸緩衝液 (三徳化学)、A B T S 溶液、基質溶液および反応停止液などを用いた。I g M , I g A , I g G に対する一次抗体を 50 mM 炭酸緩衝液 (pH 9.6) で 1000 倍に希釈し、これを 96 穴プレートに 100 μL ずつ分注し、37 °C で 1 時間静置した。

40

【0042】

洗浄液でプレートを 3 - 4 回洗浄後、4 倍希釈ブロックエースを 300 μL ずつ分注し、37 °C で 1 時間静置してブロッキングをおこなった。洗浄液でプレートを 3 - 4 回洗浄後 I g M , I g A , I g G を含む培養上清を 50 μL ずつ添加し、37 °C で 1 時間静置して反応させた。洗浄液でプレートを 3 - 4 回洗浄後、酵素標識抗 I g M , I g A , I g G 二次抗体を 96 穴プレートに 100 μL ずつ分注し、37 °C で 1 時間静置した。

50

【0043】

さらに洗浄液でプレートを3 - 4回洗浄後、基質液を96穴プレートに100 μ L各ウェルに添加し、37 で5 - 15分間反応後、反応停止液を100 μ Lずつ添加し、ELISA用マイクロプレート分光光度計を用いて各ウェルの415 nmの吸光度を測定した。IgM, IgA, IgG培養上清と並行し、IgM, IgA, IgG標準溶液を添加し、その一次回帰直線から各培養液上澄み中のIgM, IgA, IgG量を定量した。

【0044】

IgE濃度の測定法は上記IgM, IgA, IgG抗体濃度の測定方法とほぼ同一であるが、ビチオン標識抗IgE抗体をプレートに100 μ Lずつ分注した後、酵素標識アビジンを添加する、アビジン - ビチオン法を用いた。このプレートを37 で30分間静置した。3 ~ 4回洗浄後、基質液および反応停止液をそれぞれ添加、培養し、上記と同じようにIgE量を測定した。

【0045】

結果を図2に示す。 - トコフェロール (- Toc) 食餌群では、アレルギー吸収阻害因子であるIgAのレベルを有意に増加させ、またセサミンと - トコフェロール (Ses + - Toc) 食餌群では、I型アレルギーの主役を演じるIgEのレベルを有意に低下させた。これらのことから、セサミンおよび - Tocの併用が抗アレルギー的に働くことが示唆される。

【0046】

考察

アレルギーを引き起こす化学伝達物質であるLTC₄の産生は、 - Toc食餌群及びSes + - Toc食餌群で減少したが、セサミン (Ses) 食餌群では増加した。またアレルギーを引き起こす別の化学伝達物質であるPGE₂の産生に関しては、Ses食餌群及び - Toc食餌群で減少傾向が見られたが、Ses + - Toc食餌群で増加した。これらの結果からセサミンと - トコフェロールとは作用点異なるが、アレルギー反応に対して抑制的に作用していることがわかる。さらにセサミンと - トコフェロールを同時に投与することにより、両者の相乗作用が確認された。セサミンあるいはセサミンと - トコフェロールなどの本発明の有効成分が免疫反応の中の一箇所には作用するのではなく、複数の反応を調節することにより、免疫反応の調節を行なっていることを示している。このようなアレルギー抑制因子を組み合わせる使用することにより、アレルギー疾患のアレルギー応答を減弱させ、健常人のアレルギー体質への移行を予防することが可能になるものと思われる。

【0047】

実施例2

4週令(平均体重96g)のBrown - Norway (BN)系雄ラットを1群8匹とし、6群に分けた。ひとつのグループは20%カゼイン、5%コーン油、5%セルロース、3.5%ミネラル混合物(AIN - TN)、1%ビタミン混合物(AIN - TM)、0.2%重酒石酸コリン、0.3%DL - メチオニン、15%コーンスターチ及び50%シュクロースからなる普通食で飼育した。そして、残りの5グループはシュクロースを減じてすでに出願している特許(特開平1 - 243992)に従って、精製胡麻油より調製したセサミノール(化合物A)、粗精製胡麻油より調製したセサモリン(化合物B)、又胡麻種子のアセトン抽出物より調製した2 - (3, 4 - メチレンジオキシフェニル) - 6 - (3 - メトキシ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 3, 7 - ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン(化合物C)、2, 6 - ビス(3 - メトキシ - 4 - ヒドロキシフェニル) - 3, 7 - ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン(化合物D)、2 - (3, 4 - メチレンジオキシフェニル) - 6 - (3 - メトキシ - 4 - ヒドロキシフェノキシ) - 3, 7 - ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン(化合物E)をそれぞれ0.5%加え、さらに0.5% - トコフェロールを加えた飼料で飼育した。3週間後、実施例1に従って、肺中のロイコトリエンC₄ (LTC₄)濃度を調べた。普通食の肺中のLTC₄産生量が62.7 \pm 3.9 (mg/g)に対して、化合物A, B, C, D及びEと - トコフェロールを添加

した飼料を与えることにより、それぞれ 32.1 ± 4.6 , 34.4 ± 5.4 , 40.2 ± 3.8 , 44.5 ± 3.4 , 39.7 ± 4.7 と有意に低下した。

【0048】

実施例 3

実験動物と飼料

4週令(平均体重147g)のSprague-Dawley(SD)系雄ラット(成和実験動物研究所)を1群6匹とし4群にわけた。ひとつのグループは20%カゼイン、5%コーン油、5%セルロース、3.5%ミネラル混合物(AIN-TM:アメリカ栄養研究所処方)、1%ビタミン混合物(AIN-TM)、0.2%重酒石酸コリン、0.3%DL-メチオニン、15%コーンスターチおよび50%シュクロースからなる普通食で飼育した。そして、残りの3グループはシュクロースを減して、0.5%セサミンあるいは0.5% α -トコフェロールを加えた飼料で、さらに0.5%セサミン及び0.5% α -トコフェロールを加えた飼料でそれぞれ飼育した。セサミンは実施例1で使用したものを
10
用いた。3週間飼育後エーテル麻酔後、腹部大動脈より採血し、肺および脾臓を摘出した。

【0049】

ラットより摘出した肺および脾臓組織中のロイコトリエン B_4 (LTB₄)およびロイコトリエン C_4 (LTC₄)濃度は、常法に従ってラジオイムノアッセイにより定量した。さらに、血漿1.5mlを1N HClO₄ 1mlが入っている遠心管に入れ、混合した後、遠心(3000rpm, 30分)し、常法に従って、ヒスタミンを抽出、定量した。
20

【0050】

結果を図3に示す。この図から明らかな通り脾臓組織中のLTB₄含量および血漿中のヒスタミン含量はセサミンと α -トコフェロールの投与により低下し、両者の投与により相乗的に有意に低下した。また、肺組織中のLTC₄濃度はセサミンと α -トコフェロールの両者の投与により相乗的に有意に低下した。このようにセサミン単独あるいはセサミンと α -トコフェロールの組み合わせによりアレルギーに関与する化学伝達物質のレベルを有意に低下させた。

【0051】

腸間膜リンパ節イムノグロブリン濃度の測定は、腸間膜リンパ節を切り取り、リンパ球をRPMI1640培地(日水製薬株式会社)中で搾り出し、線維芽細胞を取り除くために37℃で30分間インキュベートした後、細胞浮遊液5mlにLympholyte-Rat(Cedarlane、カナダ)4mlを重ね、遠心(1500xg, 30分)した。2相間のリンパ球層を回収し、RPMI1640培地で3回洗浄した。リンパ球は10%胎児牛血清(FBS, InterGen社、アメリカ)/RPMI1640培地で培養した。腸間膜リンパ節リンパ球を 2×10^6 細胞/mlに調製し、37℃で6時間インキュベートした後、IgM, IgA, IgG, IgE量をエンザイムイムノアッセイで測定した。
30

【0052】

結果を表2に示す。抗アレルギー性であるIgA量がセサミン投与により有意に上昇した。さらにアレルギーとIgE抗体との反応を阻止するIgG量がセサミンと α -トコフェロールの両者の投与により相乗的に有意に上昇した。
40

以上のように、セサミンあるいはセサミンと α -トコフェロールを組み合わせることで、アレルギー症状の予防及び改善剤として使用することができる。

【表2】

表 2

腸間膜リンパ節リンパ球中のイムノグロブリン濃度におよぼすセサミンとトコフェロールの影響

グループ	濃度 (ng/g)				
	IgA	IgG	IgM	IgE	
コントロール群 (無添加群)	27.4 ± 1.3 ^a	4.7 ± 0.3 ^a	0.7 ± 0.3 ^a	1.9 ± 1.1	
セサミン添加群	61.8 ± 3.1 ^b	4.6 ± 0.2 ^a	n.d.	0.2 ± 0.1	
トコフェロール添加群	30.1 ± 1.0 ^a	7.3 ± 0.9 ^b	1.7 ± 0.5 ^a	0.5 ± 0.2	
セサミン及びトコフェロール添加群	46.9 ± 0.8 ^c	14.8 ± 0.8 ^c	4.1 ± 0.6 ^b	1.7 ± 0.4	

数値：平均値 ± 標準偏差

a,b,c 異なった文字間に有意差あり、P < 0.05

n.d.: 検出されず

【 0 0 5 3 】

実施例 4

バター製造工程の攪拌操作（チャーニング）でバターミルクが除かれたバター脂肪 100 g に、セサミンとエピセサミンの混合物（セサミン：51.3%、エピセサミン：47.8%）を 1.2 g、さらに酢酸トコフェロールを 1.2 g 加えて練圧操作（ワーキング）を行い、均等な組成として、本発明の有効成分を添加してなるアレルギー症状の予防又は改善作用を有するバターを得た。

【 0 0 5 4 】

10

20

30

40

50

実施例 5

本発明の誘導体 0.5 g を無水ケイ酸 20.5 g と混合し、これにトウモロコシデンブ 79 g を加え、更に混合した。この混合物に 10% ハイドロキシプロピルセルロース・エタノール溶液 100 ml を加え、常法通りねつ和し、押し出し、乾燥して顆粒剤を得た。

【0055】

実施例 6

セサミンとエピセサミンの混合物（セサミン：51.3%、エピセサミン：47.8%）3.5 g、酢酸トコフェロール 0.5 g を無水ケイ酸 20 g と混合し、これに微結晶セルロース 10 g、ステアリン酸マグネシウム 3.0 g、乳糖 60 g を加え混合し、この混合物を単発式打錠機にて打錠し径 7 mm、重量 100 mg の錠剤を製造した。

10

【0056】

実施例 7

本発明の誘導体 2.5 g を非イオン界面活性剤である TO-10M（日光ケミカルズ）200 g に 122 で加熱溶解し、これに 60 に加温した滅菌生理食塩水 4.7975 l を加えてよく攪拌し、これを無菌的にバイアルに分配し、密封して注射剤を製造した。

【0057】

実施例 8

ゼラチン 100 重量部及び食添グリセリン 35 重量部に水を加え 50 ~ 60 で溶解し、粘度 2000 cps のゼラチン皮膜を調製した。次に小麦胚芽油 95.1%、ビタミン E 油 2.9%、セサミン 2% を混合し、内容物を調製した。これらを用いて、常法によりカプセル成型及び乾燥を行い、1 粒あたり 180 mg の内容物を含有するソフトカプセルを製造した。該カプセル 1 粒中には、セサミンが 3.6 mg、トコフェロールが 2.34 mg 含まれていた。

20

【0058】

臨床例 1

アトピー性皮膚炎患者（5 名）に、実施例 6 で調製した錠剤 1 錠を 1 日朝昼夕 3 回（1 日あたりのジオキサビシクロ [3.3.0] オクタン誘導体の投与量は 10.82 mg、抗酸化剤の投与量は 1.55 mg）、8 週間経口投与し、その有効性を評価した。その結果、やや有効、有効、極めて有効と判断されるアトピー性皮膚炎患者に対する本発明による改善患者は 3 名であった。

30

【0059】

臨床例 2

アトピー性鼻炎患者（5 名）に、実施例 8 で調製したカプセル 1 錠を 1 日朝昼夕 3 回（1 日あたりのジオキサビシクロ [3.3.0] オクタン誘導体の投与量は 10.8 mg、抗酸化剤の投与量は 7.02 mg）、8 週間経口投与し、その有効性を評価した。その結果、やや有効、有効、極めて有効と判断されるアトピー性鼻炎患者に対する本発明による改善患者は 3 名であった。

【0060】

臨床例 3

花粉症患者（5 名）に、実施例 8 で調製したカプセル 1 錠を 1 日朝昼夕 3 回（1 日あたりのジオキサビシクロ [3.3.0] オクタン誘導体の投与量は 10.8 mg、抗酸化剤の投与量は 7.02 mg）、8 週間経口投与し、その有効性を評価した。その結果、やや有効、有効、極めて有効と判断されるアトピー性鼻炎患者に対する本発明による改善患者は 2 名であった。

40

【図面の簡単な説明】

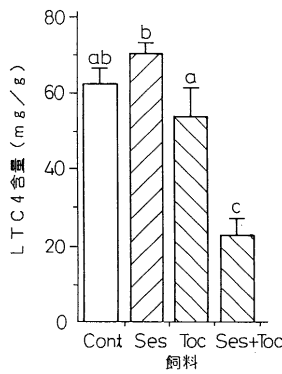
【図 1】図 1 は、BN 系雄ラットにセサミン及びノ又はトコフェロールを添加した飼料を与えた場合の肺組織中の LTC₄ 含量の相違を示すグラフである。

【図 2】図 2 は、セサミン及びノ又はトコフェロールを添加した飼料を投与した BN 系雄ラットの血清中のイムノグロブリン IgA, IgE, IgG 及び IgM の量を示すグラフである。

50

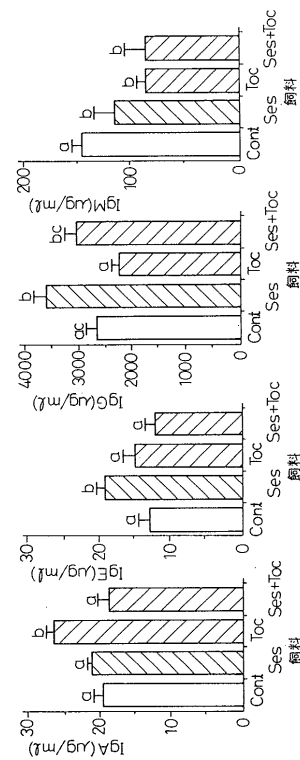
【図3】図3は、SD系雄ラットにセサミン及び/又はトコフェロールを添加した飼料を与えた場合の脾臓組織中のLTB₄含量の相違、肺組織中のLTC₄含量の相違、血漿中のヒスタミン濃度の相違を示すグラフである。

【図1】



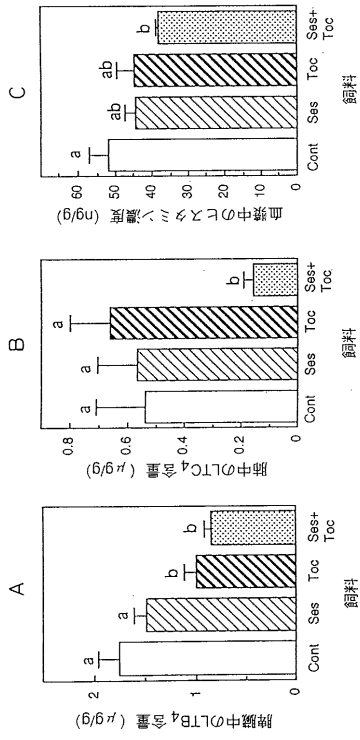
Cont : 対照 (無添加)
 Ses : セサミン添加
 Toc : トコフェロール添加
 Ses+Toc : セサミン及びトコフェロール添加

【図2】



Cont : 対照 (無添加) Ses : セサミン添加
 Ses+Toc : セサミン及びトコフェロール添加
 Toc : トコフェロール添加

【 図 3 】



Cont : コントロール群 (無添加群)

Ses : セサミン添加群

Toc : トコフェロール添加群

Ses+Toc : セサミン及びトコフェロール添加群

フロントページの続き

- (72)発明者 菅野 道廣
福岡県福岡市東区名島5 - 38 - 23
- (72)発明者 山田 耕路
福岡県福岡市東区和白東1 - 20 - 12 - 508
- (72)発明者 野中 美智子
福岡県粕屋郡志免町志免1478
- (72)発明者 顧 じゅん 炎
福岡県福岡市東区名島3 - 19 - 647

審査官 榎本 佳予子

- (56)参考文献 特開平04 - 368326 (JP, A)
特開平05 - 058902 (JP, A)
特開平03 - 027319 (JP, A)
特開平02 - 138120 (JP, A)
特開平04 - 290822 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/36
A61K 31/355
BIOSIS(STN)
CAplus(STN)
EMBASE(STN)
MEDLINE(STN)