

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4450355号
(P4450355)

(45) 発行日 平成22年4月14日(2010.4.14)

(24) 登録日 平成22年2月5日(2010.2.5)

(51) Int. Cl.	F 1	
A 6 1 K 31/353 (2006.01)	A 6 1 K 31/353	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 1/12 (2006.01)	A 6 1 P 1/12	
A 6 1 P 17/16 (2006.01)	A 6 1 P 17/16	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
請求項の数 2 (全 11 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2002-251692 (P2002-251692)
 (22) 出願日 平成14年8月29日 (2002.8.29)
 (65) 公開番号 特開2004-91338 (P2004-91338A)
 (43) 公開日 平成16年3月25日 (2004.3.25)
 審査請求日 平成17年5月17日 (2005.5.17)

(73) 特許権者 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 100112830
 弁理士 鈴木 啓靖
 (72) 発明者 田村 幸吉
 広島県芦品郡新市町相方1089-8 丸
 善製薬株式会社総合研究所内
 審査官 松波 由美子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ウレアーゼ阻害剤、アンモニア臭抑制剤およびおむつかぶれ防止剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ルテオリン、バイカレイン、アピゲニン、ケンフェロール、クエルセチン、モリンおよびタキシフォリンからなる群から選ばれる1種または2種以上の化合物を有効成分として含有することを特徴とするウレアーゼ阻害剤（アンモニア臭抑制用および胃潰瘍治療用を除く。）。

【請求項2】

おむつ、おしり拭き、衛生用シートまたはウェットティッシュに含有させて用いられるおむつかぶれ防止剤であって、

ルテオリン、バイカレイン、アピゲニン、ケンフェロール、クエルセチン、モリンおよびタキシフォリンからなる群から選ばれる1種または2種以上の化合物を有効成分として含有することを特徴とするおむつかぶれ防止剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、尿素からアンモニアを生成する反応を触媒する酵素であるウレアーゼの作用を阻害するウレアーゼ阻害剤、糞尿によるアンモニア臭を抑制するアンモニア臭抑制剤、およびアンモニアに起因するおむつかぶれを防止するおむつかぶれ防止剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

ウレアーゼは、尿素が水と反応してアンモニアおよび炭酸ガスを生成する反応を触媒する酵素である。例えば、糞便中に存在する微生物が産生したウレアーゼは、ヒトや家畜の生体外に排泄された尿中に含まれる尿素と上記酵素反応を起こし、アンモニアを発生させる。したがって、ヒトや家畜の糞尿が環境中に放置された場合、上記酵素反応が起こってアンモニアが発生し、その発生したアンモニアは大気中に拡散して強い悪臭を放つことになる。

【0003】

また、糞尿で汚れたおむつ中で上記酵素反応が生じると、生成したアンモニアが皮膚のpHを上昇させ、それにより糞便中のプロテアーゼやリパーゼの活性が高まり、おむつかぶれを誘発すると考えられている。

10

【0004】

一方、腸内では、腸内細菌が産生するウレアーゼの作用によりアンモニアが生成され、アンモニアの有する細胞毒性により下痢等の症状を発症させることが知られている。また、胃の中では、胃に存在する細菌であるヘリコバクター・ピロリが産生するウレアーゼの作用によりアンモニアが生成され、そのアンモニアにより胃潰瘍が誘発されることが知られている。

【0005】

そこで、尿素からアンモニアが生じる可能性のある場においては、ウレアーゼの作用を阻害してアンモニアの生成を抑制することができれば、糞尿によるアンモニア臭、おむつかぶれ、下痢、胃潰瘍等を防止することが可能となる。

20

【0006】

ウレアーゼ阻害剤としては、現在までに、ヒドロキサム系両性界面活性剤（特開昭58-104276号）、クロロゲン酸（特開平6-183989号）や、ルスカス、グアバ、マイカイ、ルプス、ヨモギ、タマリンド、ユキノシタ、ビワ、柿等の植物抽出物（特開平8-19595号）などが報告されている。

【0007】**【発明が解決しようとする課題】**

しかしながら、上記ウレアーゼ阻害剤において、ヒドロキサム系両性界面活性剤、クロロゲン酸等の合成化合物に関しては安全性の面で問題があり、上記植物抽出物に関してはウレアーゼ活性阻害効果が十分に高いものが少ないのが現状である。

30

【0008】

本発明は、このような実状に鑑みてなされたものであり、ウレアーゼ活性阻害効果に優れているとともに、安全性の高いウレアーゼ阻害剤、アンモニア臭抑制剤およびおむつかぶれ防止剤を提供することを目的とする。

【0009】**【課題を解決するための手段】**

本発明者は、上記目的を達成するために鋭意検討を重ねた結果、フラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類およびカテキン類が強いウレアーゼ活性阻害効果を有することを見出した。

40

【0010】

すなわち、本発明は、ルテオリン、バイカレイン、アピゲニン、ケンフェロール、クエルセチン、モリンおよびタキシフォリンからなる群から選ばれる1種または2種以上の化合物を有効成分として含有することを特徴とするウレアーゼ阻害剤（アンモニア臭抑制用および胃潰瘍治療用を除く。）を提供する。

【0012】

さらに、本発明は、おむつ、おしり拭き、衛生用シートまたはウェットティッシュに含有させて用いられるおむつかぶれ防止剤であって、ルテオリン、バイカレイン、アピゲニン、ケンフェロール、クエルセチン、モリンおよびタキシフォリンからなる群から選ばれる1種または2種以上の化合物を有効成分として含有することを特徴とするおむつかぶれ

50

防止剤を提供する。

【0013】

本発明において、「植物または前記植物の抽出物」には、無処理の植物、植物の乾燥物、破砕物、粉碎物、粉末、植物を抽出原料として得られる抽出液、抽出液の希釈液もしくは濃縮液、抽出液を乾燥して得られる乾燥物、またはこれらの粗精製物もしくは精製物のいずれもが含まれる。

【0015】

本発明のウレアーゼ阻害剤によれば、その強いウレアーゼ活性阻害効果によりアンモニアの生成を抑制し、糞尿によるアンモニア臭、おむつかぶれ、下痢、胃潰瘍等を効果的に防止することができる。また、本発明のウレアーゼ阻害剤の有効成分は、主に飲用、食用、薬用等に付される植物から抽出されるものであるため、本発明のウレアーゼ阻害剤は、合成化合物と比較して安全性が高く、環境に悪影響を与える可能性も低い。

10

【0016】

同様に、本発明のアンモニア臭抑制剤は、その強いウレアーゼ活性阻害効果によりアンモニアの生成を抑制し、糞尿によるアンモニア臭を効果的に抑制することができる。また、本発明のおむつかぶれ防止剤は、その強いウレアーゼ活性阻害効果によりアンモニアの生成を抑制し、アンモニアに起因するおむつかぶれを効果的に防止することができる。さらに、本発明のアンモニア臭抑制剤およびおむつかぶれ防止剤の有効成分は、主に飲用、食用、薬用等に付される植物から抽出されるものであるため、本発明のアンモニア臭抑制剤およびおむつかぶれ防止剤は、合成化合物と比較して安全性が高く、環境に悪影響を与える可能性も低い。

20

【0017】

【発明の実施の形態】

以下、本発明について詳細に説明する。

本発明のウレアーゼ阻害剤は、薬剤として下痢、胃潰瘍等の予防・治療に使用することができるとともに、糞尿によるアンモニア臭を抑制することを目的とする場合には本発明のアンモニア臭抑制剤として使用することができ、アンモニアに起因するおむつかぶれを防止することを目的とする場合には本発明のおむつかぶれ防止剤として使用することができるため、ここではウレアーゼ阻害剤を中心に本発明を説明する。

【0018】

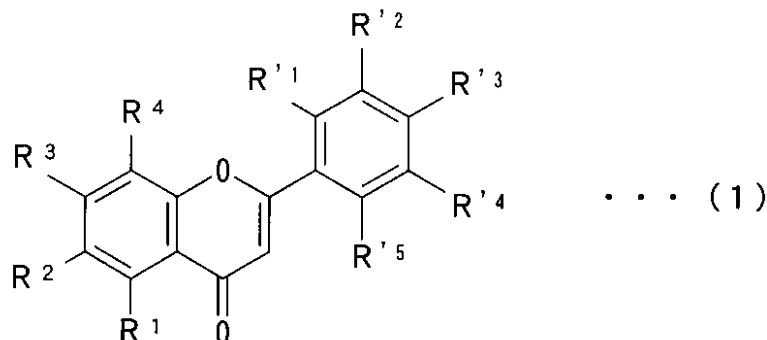
本発明のウレアーゼ阻害剤の有効成分は、フラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類およびカテキン類からなる群から選ばれる1種または2種以上の化合物である。

30

【0019】

本発明におけるフラボン類は、下記式(1)で表される骨格を有する化合物である。

【化1】



40

[式(1)中、R¹、R²、R³、R⁴、R^{'1}、R^{'2}、R^{'3}、R^{'4}およびR^{'5}は、各々独立して水素原子、水酸基、メトキシ基または炭素数4～10の直鎖状、分岐状もしくは環状のアルキル基を表す。]

【0020】

上記フラボン類の具体例としては、ルテオリン(式(1)において、R²、R⁴、R^{'1}

50

、 R'^2 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^3 および R'^4 が水酸基である化合物)、バイカレイン(式(1)において、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 、 R'^3 、 R'^4 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^2 および R^3 が水酸基である化合物)、アピゲニン(式(1)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 、 R'^4 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 および R'^3 が水酸基である化合物)等が挙げられる。

【0021】

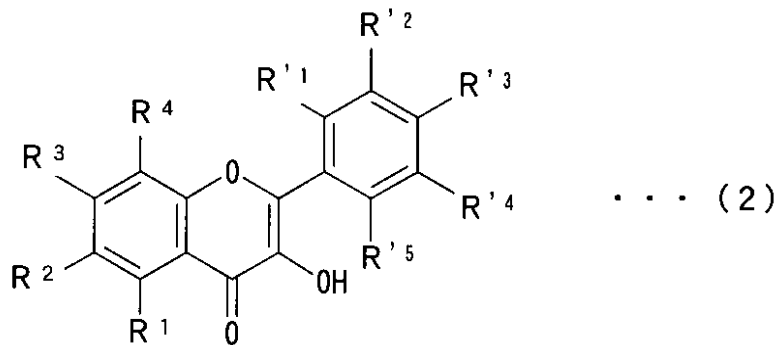
上記フラボン類の中でも、式(1)において、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 および R'^5 が水素原子または炭素数4~10の直鎖状、分岐状もしくは環状のアルキル基、特に水素原子であり、 R^1 および R^3 が水酸基またはメトキシ基、特に水酸基である化合物が好ましく、中でも特にルテオリン、バイカレインおよびアピゲニンが好ましい。

10

【0022】

本発明におけるフラボノール類は、下記式(2)で表される骨格を有する化合物である。

【化2】



20

[式(2)中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 、 R'^3 、 R'^4 および R'^5 は、各々独立して水素原子、水酸基、メトキシ基または炭素数4~10の直鎖状、分岐状もしくは環状のアルキル基を表す。]

【0023】

上記フラボノール類の具体例としては、ケンフェロール(式(2)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 、 R'^4 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 および R'^3 が水酸基である化合物)、クエルセチン(式(2)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^3 および R'^4 が水酸基である化合物)、モリン(式(2)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 および R'^4 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^3 および R'^5 が水酸基である化合物)等が挙げられる。

30

【0024】

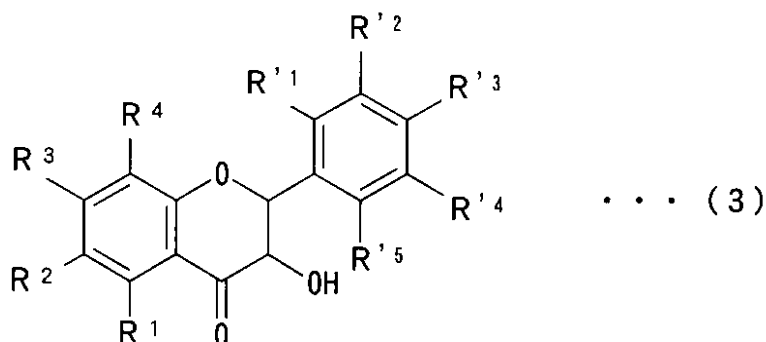
上記フラボノール類の中でも、式(2)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 および R'^2 が水素原子または炭素数4~10の直鎖状、分岐状もしくは環状のアルキル基、特に水素原子であり、 R^1 、 R^3 および R'^3 が水酸基またはメトキシ基、特に水酸基である化合物が好ましく、中でも特にケンフェロール、クエルセチンおよびモリンが好ましい。

【0025】

本発明におけるジヒドロフラボノール類は、下記式(3)で表される骨格を有する化合物である。

40

【化3】



10

[式(3)中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 、 R'^3 、 R'^4 および R'^5 は、各々独立して水素原子、水酸基、メトキシ基または炭素数4~10の直鎖状、分岐状もしくは環状のアルキル基を表す。]

【0026】

上記ジヒドロフラボノール類の具体例としては、タキシフォリン(式(3)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^3 および R'^4 が水酸基である化合物)、アンペロプシン(式(3)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^2 、 R'^3 および R'^4 が水酸基である化合物)等が挙げられる。

20

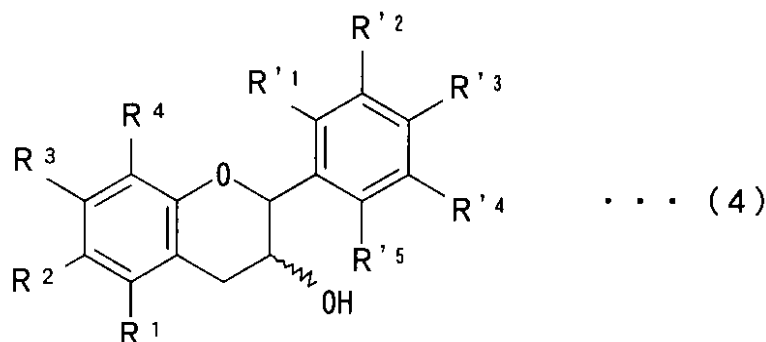
【0027】

上記ジヒドロフラボノール類の中でも、式(3)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 および R'^5 が水素原子または炭素数4~10の直鎖状、分岐状もしくは環状のアルキル基、特に水素原子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^3 および R'^4 が水酸基またはメトキシ基、特に水酸基である化合物が好ましく、中でも特にタキシフォリンおよびアンペロプシンが好ましい。

【0028】

本発明におけるカテキン類は、下記式(4)で表される骨格を有する化合物である。

【化4】



30

[式(4)中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 、 R'^3 、 R'^4 および R'^5 は、各々独立して水素原子、水酸基、メトキシ基または炭素数4~10の直鎖状、分岐状もしくは環状のアルキル基を表す。]

40

【0029】

上記カテキン類の具体例としては、(+)-カテキン(式(4)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^3 および R'^4 が水酸基である化合物)、(-)-エピカテキン(式(4)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 および R'^5 が水素原子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^3 および R'^4 が水酸基である化合物であり、(+)-カテキンとは3位の炭素原子に結合する水酸基の向きが異なるエピマーの関係にある。)等が挙げられる。

【0030】

上記カテキン類の中でも、式(4)において、 R^2 、 R^4 、 R'^1 、 R'^2 および R'^5 が水素原子または炭素数4~10の直鎖状、分岐状もしくは環状のアルキル基、特に水素原

50

子であり、 R^1 、 R^3 、 R'^3 および R'^4 が水酸基またはメトキシ基、特に水酸基である化合物が好ましく、中でも特にカテキンおよびエピカテキンが好ましい。

【0031】

ここで、本発明のウレアーゼ阻害剤の有効成分としては、上記のフラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類およびカテキン類の中から1種の化合物を選択してもよいし、2種以上の化合物(同じ類に属する化合物が2種以上であってもよい。)を選択してもよい。

【0032】

本発明のウレアーゼ阻害剤の有効成分として使用するフラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類およびカテキン類は、これらの成分の1種または2種以上を含有する植物から抽出することができる。

10

【0033】

フラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類またはカテキン類を含有する植物の具体例としては、オリーブ(*Olea europaea*)、パセリ(*Petroselinum sativum*)、コガネバナ(*Scutellaria baicalensis*)、モクセイソウ(*Reseda luteola*)、スイカズラ(*Lonicera japonica*)、黄杞(*Engelhardtia chrysolepis*)、藤茶(*Ampelopsis grosse-dentata*)、茶(*Thea sinensis*)、ウラジロガシ(*Quercus salicina*)等が挙げられる。

【0034】

抽出原料として用いる植物の構成部位は特に限定されるものではなく、例えば、葉部、枝部、根部、樹皮、種子等の構成部位を抽出原料として用いることができるが、これらのうち特に葉部を抽出原料として用いることが好ましい。

20

【0035】

フラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類またはカテキン類を含有する植物からのフラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類またはカテキン類の抽出物は、植物を生のまま、または乾燥した後、その状態で、または粉碎機を用い粉碎して溶媒抽出に供することにより得ることができる。抽出に用いる溶媒としては、水、親水性有機溶媒または水と親水性有機溶媒との混合液を、室温ないし溶媒の沸点の温度範囲で用いることが好ましい。

【0036】

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、淡水等の他、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、ろ過、イオン交換、浸透圧の調整、緩衝化等が含まれる。したがって、本発明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。

30

【0037】

抽出溶媒として使用し得る親水性有機溶媒としては、例えばメタノール、エタノール、プロピレンアルコール、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、イソプロピレングリコール、グリセリン等の炭素数2~5の多価アルコールなどが挙げられ、これら親水性有機溶媒または親水性有機溶媒と水との混合溶媒などを用いることができる。

40

【0038】

抽出溶媒として水と親水性有機溶媒との混合溶媒を使用する場合には、親水性有機溶媒が低級アルコールのときには水10質量部に対して親水性有機溶媒1~90質量部、親水性有機溶媒が低級脂肪族ケトンのときには水10質量部に対して親水性有機溶媒1~40質量部、親水性有機溶媒が多価アルコールのときには水10質量部に対して親水性有機溶媒10~90質量部を配合することが好ましい。

【0039】

本発明において、植物からフラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類またはカテキン類を抽出するにあたり特殊な抽出方法を採用する必要はなく、室温ないし還流加

50

熱下で、任意の装置を用いて抽出することができる。具体的には、抽出溶媒を満たした処理槽に抽出原料を投入し、時々攪拌して可溶性成分を溶出させる。その後濾過して抽出残渣を除き、得られた抽出液を濃縮、乾燥することにより、フラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類またはカテキン類を含有する抽出物を得ることができる。

【0040】

抽出条件は、抽出溶媒として水を用いた場合は、通常40～90で30分～2時間程度であり、また、抽出溶媒として水とエタノールとの混合溶媒を用いた場合には、通常40～80で30分～2時間程度である。なお、溶媒で抽出することにより得られる抽出液は、抽出溶媒が安全性の高いものであれば、そのままウレアーゼ阻害剤の成分として使用することができる。

10

【0041】

また、得られた抽出液を脱色、脱臭、活性向上等を目的として精製することもできる。精製手段としては、特に制限されず、活性炭処理、樹脂吸着処理、イオン交換樹脂処理、液-液向流分配等の方法が挙げられる。例えばセバピーズSP-207、ダイヤイオンHP-20（いずれも三菱化学（株）製）等の多孔性樹脂と濃縮液とを接触させる樹脂吸着精製法等を採用することができる。この場合、樹脂に吸着された有効成分は水、エタノール等で溶出させることができる。

【0042】

本発明では、フラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類およびカテキン類からなる群から選ばれる1種または2種以上の化合物、またはフラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類およびカテキン類からなる群から選ばれる1種または2種以上の化合物を含有する植物またはその植物の抽出物をウレアーゼ阻害剤の有効成分として使用するが、必要に応じてウレアーゼ阻害作用を有する他の成分を添加することもできる。

20

【0043】

本発明のウレアーゼ阻害剤の剤形、形態は特に制限されない。例えば、ウレアーゼ阻害剤を糞尿によるアンモニア臭の抑制またはおむつかぶれの防止に用いる場合（ウレアーゼ阻害剤をアンモニア臭抑制剤またはおむつかぶれ防止剤として使用する場合）、ウレアーゼ阻害剤は、液状、ゲル状、粉末状等の形態で使用することができる。また、ウレアーゼ阻害剤をローション、スプレー剤、ムース等に配合することもできる。このようなウレアーゼ阻害剤には、例えば、保湿剤、pH調節剤、安定化剤、界面活性剤、抗酸化剤、消臭剤、抗菌剤等の成分を配合することができる。ウレアーゼ阻害剤を液状またはゲル状の形態とする場合は、有効成分が化合物のときは、その化合物を0.00001～1質量%、有効成分が抽出物のときは、その抽出物を0.0001～10質量%、使用組成物に含有させることが好ましい。

30

【0044】

本発明のウレアーゼ阻害剤は、尿素からウレアーゼの作用でアンモニアが発生する場所であれば特に制限なく使用することができる。

【0045】

本発明のウレアーゼ阻害剤（おむつかぶれ防止剤）は、おむつ、ティッシュ、おしり拭き、衛生用シート等に含有させたり、ウェットティッシュの薬剤、洗浄剤等として使用することができる。ウレアーゼ阻害剤のおむつへの含有は、例えば、ウレアーゼ阻害剤を含有する液体状の組成物をおむつ（布、紙、不織布等）に塗布または浸漬して乾燥することにより行うことができる。また、ウレアーゼ阻害剤を含有する粉末状の組成物をおむつに混合することや、ウレアーゼ阻害剤を含有する組成物をローションに配合し、そのローションをおむつに塗布することもできる。

40

【0046】

本発明のウレアーゼ阻害剤をトップシート/液吸収部/バックシートの構成からなる使い捨ての紙おむつに使用の場合は、トップシートにウレアーゼ阻害剤を含有させることが好ましい。ウレアーゼ阻害剤のトップシート（質量）に対する添加量は、有効成分が化合物のときは、化合物で0.00001～1質量%、有効成分が抽出物のときは、抽出物で

50

0.0001～10質量%とするのが好ましい。

【0047】

本発明のウレアーゼ阻害剤をウェットティッシュに使用する場合は、有効成分が化合物のときは、その化合物を0.00001～1質量%、有効成分が抽出物のときは、その抽出物を0.0001～10質量%、ウェットティッシュに含有させることが好ましい。

【0048】

一方、本発明のウレアーゼ阻害剤をアンモニアに起因する下痢、胃潰瘍等の防止に使用する場合、ウレアーゼ阻害剤は、顆粒剤、細粒剤、錠剤、カプセル剤等の剤形で使用することができるとともに、食品に添加すること、あるいは健康食品素材、ペットフード素材、医薬品原料等として使用することも可能である。

【0049】

なお、ここでいう「食品」とは、栄養素を1種以上含む天然物および加工品をいい、あらゆる飲食物を含むものとする。本発明のウレアーゼ阻害剤を添加し得る食品の具体例としては、チョコレート、ビスケット、飴菓子等の菓子類、ジュース等の清涼飲料、牛乳、ヨーグルト等の乳酸飲料などが挙げられる。

【0050】

上記の場合、ウレアーゼ阻害剤には、本発明の効果を損なわない範囲で、食品、医薬品、医薬部外品、化粧品、ペット用素材等に一般的に用いられている各種成分、例えば結合剤、吸収促進剤、滑沢剤、乳化剤、界面活性剤、酸化防止剤、防腐剤、着色剤、香料、甘味料等を配合することができる。また、本発明のウレアーゼ阻害剤は、他のウレアーゼ阻害剤や、リパーゼ阻害剤、プロテアーゼ阻害剤等と組み合わせて用いることもできる。

【0051】

本発明のウレアーゼ阻害剤の投与量は、有効成分であるフラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類およびカテキン類の総量に換算して、通常一日あたり0.01～10,000mg/kg(体重)、好ましくは0.1～1,000mg/kg(体重)である。1日量を1回から数回程度投与することができるが、投与量および投与頻度は、年齢、性別、個人差、病状等に応じて適宜変更することができる。

【0052】

【実施例】

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0053】

〔実施例〕

50質量%エタノールを用いて、ルテオリン(和光純薬工業社製)、バイカレイン(和光純薬工業社製)、アピゲニン(和光純薬工業社製)、ケンフェロール(和光純薬工業社製)、クエルセチン(和光純薬工業社製)、モリン(東京化成工業社製)、タキシフォリン(和光純薬工業社製)、アンペロプシン、(+)-カテキン(和光純薬工業社製)および(-)-エピカテキン(和光純薬工業社製)を溶解および希釈して、試料濃度8000～800μg/mlの試料溶液をそれぞれ調製し、各試料溶液について、以下の方法でウレアーゼ活性阻害率を測定した。

【0054】

なお、アンペロプシンとしては、次のようにして藤茶から得た抽出物を使用した。藤茶乾燥枝葉200gに水2000mlを加え、90℃にて1時間抽出を行った後、濾紙にて濾過し、抽出液Aを得た。また、抽出残渣に再び水2000mlを加え、同様に90℃にて1時間加熱抽出を行った後、濾紙にて濾過し、抽出液Bを得た。抽出液Aと抽出液Bとを混合した抽出液(A+B)を、多孔性樹脂(三菱化学社製,HP-20)300mlを充填したガラスカラムに流して、アンペロプシンを主成分とするフラボノイド類を吸着させた。吸着させた多孔性樹脂に600mlの水を流して洗浄した後、80%エタノールを流して吸着成分を溶出させた。得られた溶出液を減圧下にて濃縮、乾燥し、藤茶抽出物(粉末)を得た。

10

20

30

40

50

【0055】

試料溶液100 μ l、ウレアーゼ（和光純薬工業社製，ナタマメ起源，19U/ml，0.1Mリン酸緩衝液（pH7.0））400 μ lおよびサリチル酸ナトリウム・ニトロプルシドナトリウム溶液（サリチル酸ナトリウム40g/l，ニトロプルシドナトリウム2g/l，0.1Mリン酸緩衝液（pH7.0））1500 μ lをよく混合し、37 $^{\circ}$ Cで15分間保管した。この酵素反応液に次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム溶液（5%次亜塩素酸ナトリウム20ml，水酸化ナトリウム15g/l）2mlを加えた後、37 $^{\circ}$ Cで10分間反応させた。この反応により生じたインドフェノールを、波長570nmの吸光度で測定した。また、コントロールとして、試料溶液の代わりに50質量%エタノールを加えたものについて、同様の操作と吸光度測定を行った。

10

【0056】

上記吸光度測定の結果から、下記の計算式によりウレアーゼ活性阻害率を算出した。

$$\text{ウレアーゼ活性阻害率 (\%)} = 1 - \left[\frac{(A1 - A0)}{(A3 - A2)} \right] \times 100$$

A0：試料溶液を添加した場合の吸光度；酵素反応開始前

A1：試料溶液を添加した場合の吸光度；酵素反応開始後

A2：コントロールを添加した場合の吸光度；酵素反応開始前

A3：コントロールを添加した場合の吸光度；酵素反応開始後

【0057】

試料溶液の試料濃度を20～200 μ g/mlに段階的に変化させて、上記ウレアーゼ活性阻害率の測定を行い、阻害率が50%になる試料溶液の試料濃度（IC50）を求めた。結果を表1に示す。

20

【0058】

〔比較例〕

フラバノン類としてのリクイリチゲニン（和光純薬工業社製）およびナリングニン（和光純薬工業社製）、カルコン類としてのイソリクイリチゲニン（丸善製薬社製）およびリコカルコンA（丸善製薬社製）、イソフラボン類としてのダイゼイン（和光純薬工業社製）およびフォルモノネチン（和光純薬工業社製）についても、実施例と同様にしてウレアーゼ活性阻害率の測定を行った。結果を表1に示す。

【0059】

【表1】

30

	化合物名	IC50 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
フラボン類	ルテオリン	130
	バイカレイン	90
	アピゲニン	80
フラボノール類	ケンフェロール	90
	クエルセチン	65
	モリン	130
ジヒドロフラボノール類	タキシフォリン	70
	アンペロプシン	60
カテキン類	(+) - カテキン	110
	(-) - エピカテキン	120
フラバノン類	リクイリチゲニン	>200
	ナリングゲニン	>200
カルコン類	イソリクイリチゲニン	>200
	リコカルコンA	>200
イソフラボン類	ダイゼイン	>200
	フォルモノネチン	>200

10

20

【0060】

表1の結果から、フラボン類、フラボノール類、ジヒドロフラボノール類およびカテキン類は、強いウレアーゼ活性阻害効果が認められる。

30

【0061】

【発明の効果】

本発明によれば、ウレアーゼ活性阻害効果に優れ安全性の高いウレアーゼ阻害剤、糞尿によるアンモニア臭を効果的に抑制することのできる安全性の高いアンモニア臭抑制剤、およびアンモニアに起因するおむつかぶれを効果的に防止することのできる安全性の高いおむつかぶれ防止剤が得られる。

フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I		
A 6 1 K	8/49	(2006.01)	A 6 1 K	8/49	
A 6 1 Q	19/00	(2006.01)	A 6 1 Q	19/00	
A 6 1 Q	19/10	(2006.01)	A 6 1 Q	19/10	
C 1 2 N	9/99	(2006.01)	C 1 2 N	9/99	
A 6 1 K	36/00	(2006.01)	A 6 1 K	35/78	X
C 0 7 D	311/30	(2006.01)	C 0 7 D	311/30	
C 0 7 D	311/62	(2006.01)	C 0 7 D	311/62	

- (56)参考文献 特開2002-159566(JP,A)
 特開2002-097431(JP,A)
 特開昭61-008055(JP,A)
 特開平01-311013(JP,A)
 特開平03-287864(JP,A)
 実開平02-125992(JP,U)
 特開昭63-021060(JP,A)
 特開2001-261394(JP,A)
 特開2001-089340(JP,A)
 特開2001-114686(JP,A)
 特開平09-030987(JP,A)
 特開2002-173424(JP,A)
 国際公開第96/002528(WO,A1)
 特開2004-033717(JP,A)
 Toxicology in Vitro, 2001年, Vol.15, p.191-198
 Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 1981年, Vol.43, No.5, p.159-161
 Phytotherapy Research, 1994年, Vol.8, No.3, p.179-181
 日本薬理学雑誌, 1996年, Vol.108, No.4, p.217-225
 Planta Medica, 1999年, Vol.65, No.5, p.442-443

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/353
 A61K 8/49
 A61P 1/04
 A61P 1/12
 A61P 17/16
 A61P 43/00
 A61Q 19/00
 A61Q 19/10
 C12N 9/99
 A61K 36/00
 C07D 311/30
 C07D 311/62
 BIOSIS(STN)
 CAplus(STN)
 EMBASE(STN)
 MEDLINE(STN)
 REGISTRY(STN)