

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4081645号
(P4081645)

(45) 発行日 平成20年4月30日(2008.4.30)

(24) 登録日 平成20年2月22日(2008.2.22)

(51) Int.Cl.	F 1	
A 6 1 K 31/194 (2006.01)	A 6 1 K 31/194	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 2 3 L 1/03 (2006.01)	A 2 3 L 1/03	
A 2 3 L 1/30 (2006.01)	A 2 3 L 1/30	Z
請求項の数 1 (全 6 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2001-300207 (P2001-300207)	(73) 特許権者	000238164
(22) 出願日	平成13年9月28日(2001.9.28)		扶桑化学工業株式会社
(65) 公開番号	特開2003-104880 (P2003-104880A)		大阪府大阪市中央区高麗橋4丁目3番10号
(43) 公開日	平成15年4月9日(2003.4.9)	(74) 代理人	100065215
審査請求日	平成15年9月22日(2003.9.22)		弁理士 三枝 英二
		(74) 代理人	100076510
			弁理士 掛樋 悠路
		(74) 代理人	100086427
			弁理士 小原 健志
		(74) 代理人	100090066
			弁理士 中川 博司
		(74) 代理人	100094101
			弁理士 舘 泰光
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 抗変異原性剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

リンゴ酸、コハク酸、酒石酸及びこれらの塩よりなる群から選ばれた少なくとも一種の有機酸類を有効成分として含有することを特徴とする抗変異原性剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、抗変異原性剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、健康に対する関心の高さから、特定保健用食品や健康食品の開発が急増している。また、各種の機能性を有する新規な素材の開発も増加しており、キノコを始めとする各種の植物の樹皮や根等の抽出物に抗変異原性が確認されている。

【0003】

一方、従来より、果実は健康に良いものとされ、生活習慣病などの予防などへの期待から果実に含まれる成分に対する関心が高まっており、例えば、キウイフルーツの抽出物に抗変異原効果や抗ウイルス効果があることが報告されている(特開平3-254340号公報)。また、バラ科の果実の搾汁や抽出物に酸化防止効果、血圧降下作用、抗変異原性などがあることなども報告されている(特開平7-285876号公報)。

【0004】

しかしながら、これらの物質は、何れも天然物の抽出物又は搾汁であることから製造に手間がかかり、しかも、産地や採れる時期等によっても含量や成分がばらつくなど安定性が悪く、価格も高く利用し難いという問題がある。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の主な目的は、品質が一定で容易に入手可能な物質を有効成分として用いた新規な抗変異原性剤を提供することである。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、上記した如き目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、簡単に入手でき、しかも比較的安価な特定の有機酸又はその塩が優れた変異原抑制作用を有することを見出し、ここに本発明を完成するに至った。

【0007】

即ち、本発明は、下記の抗変異原性剤を提供するものである。

1. クエン酸、リンゴ酸、乳酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、酢酸、
-ケトグルタル酸、イソクエン酸、オキザロ酢酸、シス-アコニット酸及びこれらの塩よりなる群から選ばれた少なくとも一種の有機酸類を有効成分として含有することを特徴とする抗変異原性剤。

2. 食品添加物として用いられるものである上記項1に記載の抗変異原性剤。

【0008】

【発明の実施の形態】

本発明の抗変異原性剤は、クエン酸、リンゴ酸、乳酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、酢酸、
-ケトグルタル酸、イソクエン酸、オキザロ酢酸、シス-アコニット酸及びこれらの塩よりなる群から選ばれた少なくとも一種の有機酸類を有効成分として含むものである。

【0009】

これらの成分は、いずれも簡単に入手できる物質であり、これらの成分を有効成分とすることによって、品質が一定で安価であって、しかも優れた抗変異原作用を有する抗変異原性剤を得ることができる。

【0010】

上記した有機酸の中で、クエン酸は無水物及び1水和物の何れでも良い。リンゴ酸は、D-L-体だけでなく、光学異性体のD-体、L-体の何れも用いることができる。また、酒石酸としても、L-体、D-体、DL-体のいずれを用いても良く、乳酸としても、L-体、D-体、DL-体のいずれを用いても良い。

【0011】

上記した有機酸の塩としては、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩等を例示できる。

【0012】

本発明では、上記した有機酸類は、一種単独又は二種以上混合して用いることができる。

【0013】

本発明の抗変異原性剤では、上記した有機酸類をそのまま粉体として用いても良く、或いは、水等の適当な溶剤に溶解して液体として用いても良い。液体として用いる場合には、濃度については特に限定はなく、溶解可能な範囲内で適宜溶解して用いればよい。また、必要に応じて、アスコルビン酸、酢酸等の他の酸味料、グリシン等のアミノ酸や核酸等の調味料、ビタミン、ミネラル等の栄養成分等と併用しても良く、予め混合し、製剤として用いても良い。

【0014】

本発明の抗変異原性剤の摂取方法については、特に限定はなく、経口、非経口の何れも可能であるが、特に経口的に摂取することが好ましく、例えば、食品添加剤として食品に添加して摂取することが好ましい。

10

20

30

40

50

【0015】

食品添加剤として用いる場合には、その添加量については、特に限定的ではなく、食品の種類に応じて、酸味の程度などを考慮して適宜決めればよい。例えば、清涼飲料、炭酸飲料などの液体食品に添加して用いる場合には、上記した有機酸類の濃度として、通常、0.005重量%程度以上とすればよいが、酸味や抗変異原作用等を考慮すると、0.005～3重量%程度の範囲とすることが好ましい。また、菓子類やその他の各種食品等の固形食品に添加して用いる場合にも、同様に食品の種類に応じて適宜決めればよいが、一般的には、上記した有機酸類の含有率として、0.01～5重量%程度とすることが好ましい。

【0016】

食品の種類による好ましい添加量の一例を示すと、例えば、液体飲料の中で、清涼飲料の場合には、上記した有機酸類の濃度として0.05～0.5重量%程度とすれば良く、炭酸飲料の場合には、上記した有機酸類の濃度として0.1～0.5重量%程度とすればよい。また、菓子類の中で、グミ類の場合には、2重量%程度の添加量とすれば良く、ゼリー類の場合には、0.5～0.8重量%程度の添加量とすればよい。

【0017】

また、その他に、本発明の抗変異原性剤を人体に投与する場合の投与方法及び投与量の一例を示すと次の通りである。

【0018】

投与は、種々の方法で行うことができ、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、シロップ剤等による経口投与とすることができる。投与量については、経口投与の場合には、通常、成人において、有効成分量として0.01～1000mg/kg程度が適当であり、これを1日1回～数回に分けて投与すればよい。経口投与剤は、通常の製造方法に従って製造することができる。例えば、デンプン、乳糖、マンニト等の賦形剤、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤、タルク、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、軽質無水ケイ酸等の流動性向上剤等を適宜組み合わせて処方することにより、錠剤、カプセル剤、顆粒剤等として製造することができる。

【0019】

本発明の抗変異原性剤は、上記した食品添加剤として用いる方法、或いは、その他の投与方法によって摂取又は投与することによって、突然変異に基づく諸疾患、例えば、癌等の予防、治療等に有効に利用することができる。また、これだけではなく、広く生化学の分野において、細菌の突然変異を抑制する必要がある場合、例えば、培養、生化学的分析等の場合にも使用できる。

【0020】

【発明の効果】

本発明の抗変異原性剤は、比較的簡単に入手し得る有機酸類を有効成分として含むものであり、安価で品質の安定性が良く、しかも優れた抗変異原作用を有するものである。

【0021】

【実施例】

以下、試験例及び配合例を示して本発明を更に詳細に説明する。

【0022】

試験例1

本発明の抗変異原性剤の変異原抑制効果を、SOS反応の誘導を指標とした変異原物質検出法(UMUテスト; 科学と工業、第62巻、第4号、142頁、1988年)により調べた。ここで、「UMUテスト」とは、大腸菌のDNA損傷時にみられるSOS反応を利用した変異原検出試験であり、短時間で結果が出るなど多くの利点を備えている。

【0023】

尚、変異原物質としてはTrp-P-1(和光純薬製、0.3µg/ml)とフリルフラミドを用い、菌株としてはネズミチフス菌(Salmonella typhimurium TA1535/pSK1002)を用い

10

20

30

40

50

た。試験方法の概略を以下に説明する。

【0024】

即ち、LB培地（トリプトン1%、酵母エキス0.5%、食塩0.5%）にて37℃で一
夜培養した試験菌液を、TGA培地（トリプトン1%、食塩0.5%、グルコース0.2
%にアンピシリンを50μg/mlの割合で加えたもの）に1/50量植菌し、37℃で振
とう培養した。

【0025】

そして、菌濃度が対数増殖期（ A_{600} が0.25~0.30）に達したとき、菌液を2.
0mlずつ試験管にとり、これに変異原物質（Trp-P-1（0.3μg/ml）又はフリル
フラミド0.1ml及び0.1Mリン酸緩衝液（pH7.0）0.3mlを加え、更に下
記図1及び図2の各グラフに示された各濃度となる量の試験物質を加えて、37℃で2時
間培養した。

【0026】

試験物質としては、クエン酸（無水）、クエン酸（結晶）、DL-リンゴ酸、D-リンゴ
酸、L-リンゴ酸、DL-乳酸、L-乳酸、発酵乳酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸
、L-酒石酸又はD-乳酸を用いた。

【0027】

培養後に菌液を遠沈し集菌した後、菌を生理的食塩水に再懸濁し、この菌液の一部で菌量
を測定し、他の一部でβ-ガラクトシダーゼ活性を測定した。尚、ここで、対数増殖期と
は、細菌や細胞の数が対数的に増加していく時期で、指数増殖期ともいわれるものである
。

【0028】

β-ガラクトシダーゼ活性の測定は、Millerの方法（Miller, J.H.: Experiments in molec
ular genetics, Cold spring Harbor Laboratory, New York, P352-355 (1972))に準じて
行った。即ち、Z緩衝液2.25mlに上記試験菌液0.25mlを加えた後、0.1%
のドデシル硫酸ナトリウム水溶液50μl及びクロロホルム10μlを加え強く攪拌した
。その液に基質（o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside 4mg/ml）0.2
5mlを加え、28℃で反応させた。そして、15分後に1M Na_2CO_3 を1.25ml
加えて反応を止め、分光光度計で A_{420} 、 A_{550} 及び A_{600} （吸光度）を測定した。

【0029】

ここで、β-ガラクトシダーゼ活性値は、次式により算出した。

【0030】

β-ガラクトシダーゼ活性値 (unit) = $1000(A_{420} - 1.75 \times A_{550}) / 1.5 \times A_{600}$

00

また、SOS反応抑制率は、次式により算出した。

【0031】

SOS反応抑制率(%) = $[1 - (A - C) / (B - C)] \times 100$

但し、上式中Aは変異原物質に試験物質を加えた場合のβ-ガラクトシダーゼ活性値を、
Bは変異原物質のみにより誘導されたβ-ガラクトシダーゼ活性値を、Cはコントロール
のβ-ガラクトシダーゼ活性値をそれぞれ示す。尚、コントロールには同量の純水を使用
した。また、各試験は試行を1組として行い、その平均をとった。

【0032】

以上の試験結果を、図1及び図2においてSOS反応抑制率を示すグラフとして示す。

【0033】

配合例1

下記処方の粉末健康飲料を調製した。

【0034】

（処方）

クエン酸（無水） 35重量%

DL-リンゴ酸 3重量%

10

20

30

40

50

- クエン酸 Na 3 重量%
- ブドウ糖 45 重量%
- ビタミン類 5 重量%
- ミネラル類 4 重量%
- 重曹 5 重量%

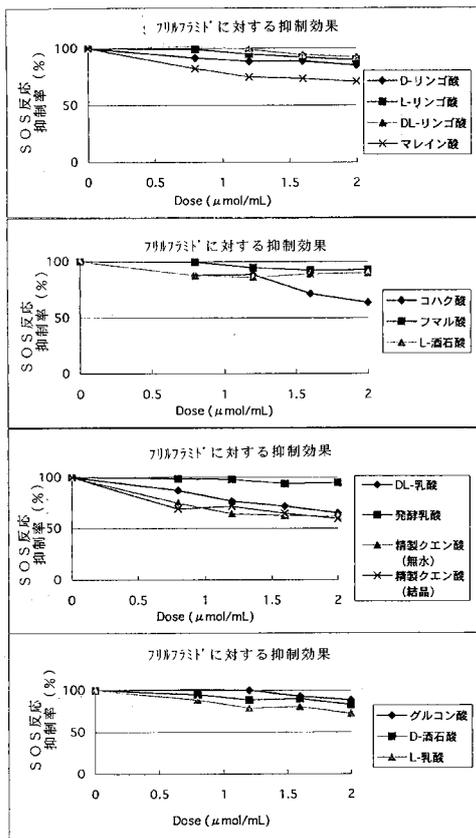
上記組成の粉末飲料5グラムを水100~200mlに溶解して、飲料として摂取する。

【図面の簡単な説明】

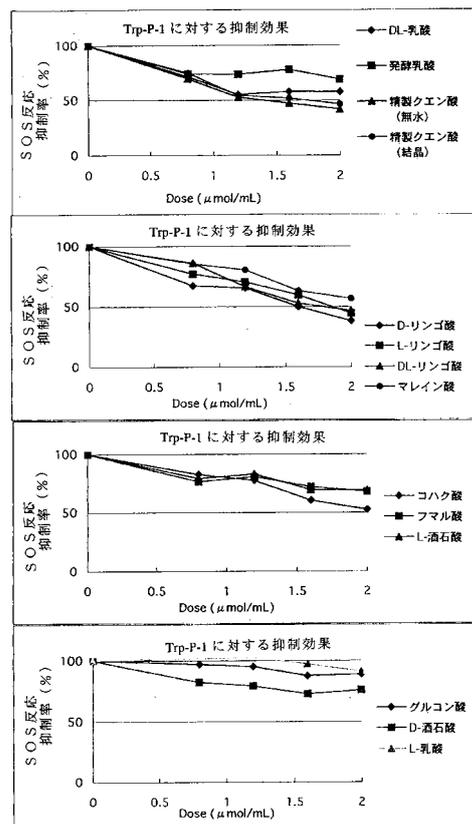
【図1】試験例1におけるフリルフラミドに対する抑制効果を示すグラフ。

【図2】試験例1におけるTrp-P-1に対する抑制効果を示すグラフ。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 A 6 1 K 31/19 (2006.01) A 6 1 K 31/19

(74)代理人 100099988

弁理士 齋藤 健治

(74)代理人 100105821

弁理士 藤井 淳

(74)代理人 100099911

弁理士 関 仁士

(74)代理人 100108084

弁理士 中野 睦子

(72)発明者 白石 俊訓

大阪府豊中市西泉丘2丁目744 ハイロイヤルB119

(72)発明者 宮澤 三雄

奈良県奈良市中登美ヶ丘一丁目 C - 1 3 0 1

(72)発明者 済陽 高穂

埼玉県さいたま市田島4丁目26番11号

審査官 齋藤 恵

- (56)参考文献 Antimutagenicity of some citrus fruits in Salmonella typhimurium, Mutation Research ,
 1989年, 222(3), 141-148
 Inhibitory effect of fumaric acid on 3'-methyl-4-(dimethylamino)azobenzene-induced hep
 atocarcinogenesis in rats, Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1989年, 37(5), 1345
 -1346
 Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids, Mutation Research,
 Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 1998年, 397(2), 169-182
 Inhibitory Effect of Fumaric Acid on 3-Methyl-4'-(dimethylamino)azobenzene-Induced Hep
 atocarcinogenesis in Rats, Journal of the National Cancer Institute, 1983年, 71(4)
 , 855-857
 Effect of oxygen tension and certain chemicals on the x-ray sensitivity of mutation pr
 oduction and survival, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology , 1951
 年, 16, 315-326
 第一版食品添加物公定書注解, 1961年, p.98-100,134-136,146-147,208-209,454-458, 518-
 520,625-627

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

A61K 31/00-194

A23L 1/00-30

CAPLUS(STN)

MEDLINE(DIALOG)

医学・薬学予稿集全文データベース

JMEDPLUS(JDREAM2)

JST7580(JDREAM2)

JSTPLUS(JDREAM2)