

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2010年5月27日(27.05.2010)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2010/058795 A1

- (51) 国際特許分類:  
C07J 9/00 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)  
A61K 31/575 (2006.01) A61P 27/12 (2006.01)  
A61K 36/00 (2006.01) A61P 39/06 (2006.01)  
A61P 1/16 (2006.01) C07J 53/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2009/069563
- (22) 国際出願日: 2009年11月18日(18.11.2009)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2008-295488 2008年11月19日(19.11.2008) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 森永乳業株式会社(MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1088384 東京都港区芝五丁目3番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 田中 美順 (TANAKA, Miyuki) [JP/JP]; 〒2288583 神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社 食品基盤研究所内 Kanagawa (JP). 野間口 光治(NOMAGUCHI, Kouji) [JP/JP]; 〒2288583 神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社 食品基盤研究所内 Kanagawa (JP). 江原 達弥(EHARA, Tatsuya) [JP/JP]; 〒2288583 神奈川県座間市東原五丁目1番83号 森永乳業株式会社 食品基盤研究所内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 川口 嘉之, 外(KAWAGUCHI, Yoshiyuki et al.); 〒1030004 東京都中央区東日本橋3丁目4番10号 アクロポリス21ビル6階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告 (条約第21条(3))



WO 2010/058795 A1

(54) Title: ANTIOXIDANT

(54) 発明の名称: 抗酸化剤

(57) Abstract: Provided is an antioxidant which is highly safe, inhibits oxidation of biological components, in particular, lipids and is usable as a drug, a food or a drink, a food additive, an external skin preparation and so on. A compound selected from a cyclolanostane compound and a rophenol compound is used as the active ingredient of an antioxidant.

(57) 要約: 安全性が高く、生体成分、特に脂質の酸化を抑制し、医薬、飲食品、食品添加剤、皮膚外用剤などとして利用できる抗酸化剤を提供する。シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、抗酸化剤の有効成分とする。

## 明 細 書

**発明の名称**：抗酸化剤

**技術分野**

[0001] 本発明は、医薬、飲食品、食品添加剤及び皮膚外用剤などとして利用できる抗酸化剤に関する。

**背景技術**

[0002] 「酸化ストレス」とは、生体における活性酸素種（ROS：reactive oxygen species）の産生と抗酸化防御機構のバランスが崩れ、酸化に傾いた状態と定義されている。すなわち、ROSの過剰産生又は抗酸化能力の低下が酸化ストレスを招くことになる。

ROSは、脂質、特にリン脂質の低比重リポタンパク（LDL）を酸化して過酸化脂質や酸化LDLを生成し、また、タンパク質を酸化変性・失活させ、DNAの酸化損傷を引き起こす。それゆえ、酸化ストレスは、細胞・組織を傷害し、生体機能を障害することによって、動脈硬化、癌、各種生活習慣病、アルツハイマー病、パーキンソン病など多くの疾患の発症に関与し、また、老化を促進させると言われている（例えば、非特許文献1）。

[0003] また、皮膚は紫外線等の環境因子の刺激によりROSが産生されやすい状態にある。皮膚内のROSは、例えばコラーゲン等の生体組織を破壊することなどによって細胞に傷害を与え、しわ、弾力性の低下、炎症、色素沈着などの皮膚症状を引き起こす。また、ROSは頭皮のタンパク質や脂質を酸化し、脱毛を引き起こすことも知られている（例えば、特許文献1、2）。

[0004] ところで、過酸化脂質は、血中においてその濃度が増加すると、それ自体又はその酸化分解物が核酸や蛋白質に直接作用することにより、血管障害、肝機能障害、白内障等を引き起こすことが知られている。さらに、血管内皮細胞の傷害、血小板の凝集亢進、泡沫細胞の形成等を引き起こすことから、動脈硬化の原因になると考えられている。

例えば、動脈硬化の初期病変が、酸化した低比重リポタンパク質（LDL

）によって生じることがわかっており、LDLの酸化を知る最も簡単な方法は過酸化脂質を測定することであることが知られている（例えば、非特許文献2）。

- [0005] 天然物由来の抗酸化剤としては、従来、ビタミンEやビタミンC、ヘリクリサム属植物の抽出物の中性画分（例えば、特許文献1）、オオウメガサソウの抽出物（例えば、特許文献2）などが知られている。
- [0006] 特に、生体内における過酸化脂質生成抑制のための医薬品等については、セサミン及び／又はエピセサミンを有効成分とするもの（例えば、特許文献3）、フラクトオリゴ糖を含有することを特徴とするもの（例えば、特許文献4）、グアバ葉から抽出して得られるエキスを有効成分とするもの（例えば、特許文献5）、メキシコ原産植物である学名：Gnaphalium semiamlexicauleの抽出物を含有することを特徴とする過酸化脂質生成抑制剤（例えば、特許文献6）、アスタキサンチン及び／又はそのエステルを含有するもの（例えば、特許文献7）、羅布麻抽出物及びビタミンC類の併用剤（例えば、特許文献8）等が知られている。
- [0007] また、特許文献9には、カンペステロール、 $\beta$ -シトステロール、シクロアルテノール、24-メチレンシクロアルタノール、シクロブラノールのそれぞれにフェラル酸エステルが結合した化合物の混合物である $\gamma$ -オリザノールの高脂血症治療・予防剤の用途が記載されている。特許文献10には、シクロアルテノール及び24-メチルシクロアルテノールをそれぞれ単独で投与した場合、血漿中のコレステロールが低下すると共に、善玉コレステロールであるHDL-Cが低下し、TG、PL、及びLPOは有意な変動を示さなかったことが記載されている。
- [0008] さらに、脂質等の酸化を抑制するために、BHT (3,5-tert-butyl-4-hydroxytoluene) や、BHA (2,3-tert-butyl-hydroxyanisole) 等の抗酸化剤が開発されていたが、発癌性の疑いもあり（例えば、非特許文献3）、安全に使用できるとは言いがたかった。

このような状況で、安全に使用でき、副作用が無い、新規な抗酸化物質の

開発が望まれていた。

- [0009] なお、9，19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9，19-シクロラノスタン-3-オールなどのシクロラノスタン化合物、並びに4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールなどのロフェノール化合物を有効成分として含む高血糖改善剤、膵臓機能改善剤、インスリン抵抗性改善剤、及び内臓脂肪蓄積抑制剤は知られている（それぞれ、特許文献11～13、特許文献14～15、特許文献16～17、及び特許文献18）。

## 先行技術文献

### 特許文献

- [0010] 特許文献1：特開2007-016077号公報  
特許文献2：特開2004-149729号公報  
特許文献3：特開平5-51388号公報  
特許文献4：特開平8-325157号公報  
特許文献5：特開平11-75770号公報  
特許文献6：特開2000-198726号公報  
特許文献7：特開2006-8719号公報  
特許文献8：特開2006-160668号公報  
特許文献9：特開平6-298645号公報  
特許文献10：特公平5-33713号公報  
特許文献11：国際公開第2007/060911号パンフレット  
特許文献12：国際公開第2006/035525号パンフレット  
特許文献13：国際公開第2005/094838号パンフレット  
特許文献14：国際公開第2005/123466号パンフレット  
特許文献15：国際公開第2005/123465号パンフレット  
特許文献16：国際公開第2007/043306号パンフレット  
特許文献17：国際公開第2007/043305号パンフレット

特許文献18：国際公開第2007/043294号パンフレット

### 非特許文献

[0011] 非特許文献1：薬学雑誌（YAKUGAKU ZASSHI）、第127巻、第12号、2007年、第1997～2014頁

非特許文献2：「酸化ストレスナビゲーター」、倉林正彦監修、メディカルレビュー社、2005年、第192～193頁

非特許文献3：キャンサー・リサーチ（Cancer Research）、第44巻、1984年、第1604～1610頁

### 発明の概要

[0012] 本発明の目的は、安全性が高く、生体成分、特に脂質の酸化を抑制し、医薬、飲食品、食品添加剤、皮膚外用剤などとして利用できる抗酸化剤を提供することにある。特に、本発明の目的は、血中の過酸化脂質生成を効果的に抑制する、過酸化脂質生成抑制のための医薬、飲食品等を提供することにある。

[0013] 前記課題を解決する第一の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する抗酸化剤（以下、「本発明の抗酸化剤」という。）であって、以下の（1）～（9）を好ましい形態としている。

（1）シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有すること、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、

（2）シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有すること、

（3）シクロラノスタン化合物が、9-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれること、

（4）ロフェノール化合物が、4-メチルコレステロール-7-エン-3-オール

- 、 4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールから選ばれること、
- (5) 脂質の酸化を抑制するためのものであること、
- (6) 過酸化脂質の生成を抑制するためのものであること、
- (7) 皮膚外用剤であること、
- (8) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を含む飲食品からなること、
- (9) 乳化剤を含むこと。

[0014] 前記課題を解決する第二の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として配合する工程を含む、抗酸化剤の製造方法であり、前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。

[0015] 第一の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する過酸化脂質生成抑制のための医薬の形態を含む。該形態は、以下の(10)~(13)を好ましい形態としている。

(10) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有すること、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物=6.3：2.7~5.1：4.9、

(11) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有すること、

(12) シクロラノスタン化合物が、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれること、

(13) ロフェノール化合物が、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールから選ばれること。

[0016] 第二の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として配合する工程を含む、過酸化脂質生成抑制のための医薬の製造方法の形態を含む。該形態における前記化合物の好ましい形態は、上記と同じである。

[0017] 第一の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する過酸化脂質生成抑制のための飲食品の形態を含む。該形態は、以下の(14)～(20)を好ましい形態としている。

(14) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有すること、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、

(15) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有すること、

(16) シクロラノスタン化合物が、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれること、

(17) ロフェノール化合物が、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールから選ばれること、

(18) さらに乳化剤を含有すること、

(19) 油脂を含むこと、

(20) 機能性飲食品であること。

[0018] 第二の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として配合する工程を含む、過酸化脂質生成抑制のための飲食品の製造方法の形態を含む。該形態における前記化合物の好ましい形態は、上記と同じである。

[0019] 第一の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ば

れる化合物を有効成分として含有する過酸化脂質生成抑制のための食品添加剤の形態を含む。該形態は、以下の(21)～(25)を好ましい形態としている。

(21) さらに、乳化剤を含有すること、

(22) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有すること、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、

(23) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.001質量%含有すること、

(24) シクロラノスタン化合物が、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれること、

(25) ロフェノール化合物が、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールから選ばれること。

[0020] 第二の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として配合する工程を含む、過酸化脂質生成抑制のための食品添加剤の製造方法の形態を含む。該形態における前記化合物の好ましい形態は、上記と同じである。また、乳化剤を配合する形態も好ましい。

[0021] また、前記課題を解決する第三の発明は、抗酸化剤の製造におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の使用であり、前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。

また、第三の発明には、以下の形態が含まれる。

(26) 抗酸化剤の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する組成物の使用、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、



(27) 抗酸化剤の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を少なくとも0.0001質量%含有する組成物の使用。

[0022] 第三の発明は、過酸化脂質生成抑制のための医薬の製造におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の使用の形態を含む。該形態における前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。

また、該形態には、以下のものも含まれる。

(28) 過酸化脂質生成抑制のための医薬の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する組成物の使用、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、

(29) 過酸化脂質生成抑制のための医薬の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を少なくとも0.0001質量%含有する組成物の使用。

[0023] 第三の発明は、過酸化脂質生成抑制のための飲食品の製造におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の使用の形態を含む。該形態における前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。

また、該形態には、以下のものも含まれる。

(30) 過酸化脂質生成抑制のための飲食品の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する組成物の使用、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、

(31) 過酸化脂質生成抑制のための飲食品の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を少なくとも0.0001質量%含有する組成物の使用。

[0024] 第三の発明は、過酸化脂質生成抑制のための食品添加剤の製造におけるシ

クロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の使用の形態も含む。該形態において前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。

また、該形態には、以下のものも含まれる。

(32) 過酸化脂質生成抑制のための食品添加剤の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する組成物の使用、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、

(33) 過酸化脂質生成抑制のための食品添加剤の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を少なくとも0.001質量%含有する組成物の使用。

[0025] また、前記課題を解決する第四の発明は、抗酸化のために用いられるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物であり、前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。また、前記化合物は脂質の酸化を抑制するために用いられることが好ましく、過酸化脂質の生成を抑制するために用いられることが好ましい。

[0026] 第四の発明は、抗酸化のために用いられるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を含有する組成物の形態を含む。該組成物の好ましい形態は以下のとおりである。

(34) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物、並びに乳化剤を含有する組成物。

(35) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する組成物、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、

(36) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有する組成物。

[0027] また、前記課題を解決する第五の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、抗酸化が必要な対象に投与することを含む、酸化が寄与する疾患又は症状の治療又は予防方法であり、前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。

また、第五の発明は、以下の(37)～(39)を好ましい形態としている。

(37) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で投与すること、

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9、

(38) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を前記質量比で含む組成物を投与すること、

(39) シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有する組成物を投与すること。

[0028] また、前記課題を解決する第六の発明は、飲食品に抗酸化活性を付与する方法であって、飲食品におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の濃度が、総量で、少なくとも0.0001質量%となるように、該化合物を飲食品に配合する工程を含む方法である。前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。

[0029] また、前記課題を解決する第七の発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を含む飲食品の抗酸化活性を増強させる方法であって、飲食品におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の濃度が、総量で、少なくとも0.0001質量%となるように、該化合物を飲食品に配合する工程を含む方法である。前記化合物の好ましい形態は、第一の発明と同じである。

[0030] 本発明の抗酸化剤は、医薬、飲食品、食品添加剤、皮膚外用剤などの種々の態様で使用することができ、生体成分の酸化、特に脂質の酸化を抑制する。

本発明の医薬は、安全に投与でき、生体成分の酸化、特に血中での過酸化脂質の生成を効果的に抑制する。また、本発明の飲食品は、安全に摂取でき、生体成分の酸化、特に血中での過酸化脂質の生成を効果的に抑制する。また、本発明の食品添加剤は、上記飲食品を製造するのに、或いは、飲食品の成分の酸化を防止するのに好適である。また、本発明の皮膚外用剤は、安全に塗布でき、皮膚成分の酸化、特に皮膚内での過酸化脂質の生成を効果的に抑制する。

また、本発明の抗酸化剤の有効成分であるシクロラノスタン化合物、ロフェノール化合物は、化学合成によって製造することができるため、本願発明の製造方法によれば、本発明の抗酸化剤を簡便に製造することができる。また、本発明の抗酸化剤の前記有効成分は、食経験上安全性が確認されており、入手が容易であるユリ科植物、例えば、アロエベラ (*Aloe barbadensis* Miller) 等の植物から簡便に製造することができるため、本願発明の製造方法によれば、本発明の抗酸化剤を簡便に製造することができる。

### 発明を実施するための形態

[0031] 次に、本発明の好ましい形態について詳細に説明する。ただし、本発明は以下の好ましい形態に限定されず、本発明の範囲内で自由に変更することができるものである。尚、本明細書において百分率は特に断りのない限り質量による表示である。

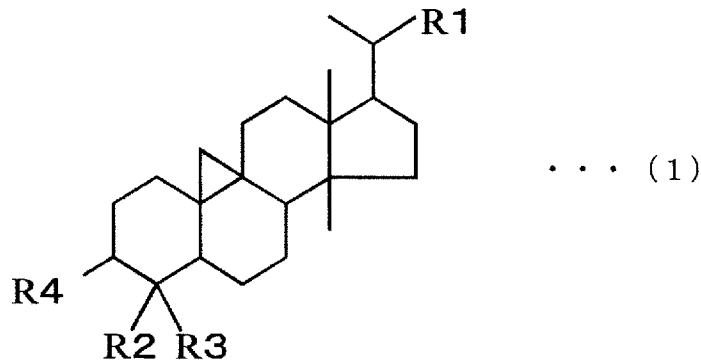
[0032] 本発明の抗酸化剤は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する。

[0033] [シクロラノスタン化合物]

シクロラノスタン化合物（シクロラノスタン骨格を有する化合物）は、以下の一般式（1）で表される。

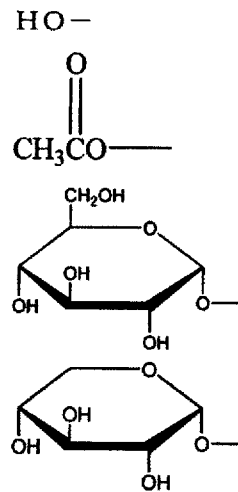
[0034]

[化1]



[0035] 一般式(1)において、R1は炭素原子数6~8の、直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、2重結合を1つ又は2つ含むアルケニル基、又はこれらのアルキル基及びアルケニル基の水素原子の1つ又は2つがヒドロキシル基及び/若しくはカルボニル基で置換された置換アルキル基又は置換アルケニル基であり、R2、R3は各々独立に水素原子又はメチル基であり、R4は環を構成する炭素原子とともにC=Oを形成するか、又は下記式の何れかである。

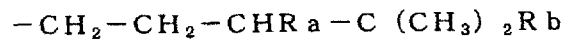
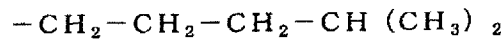
[0036] [化2]



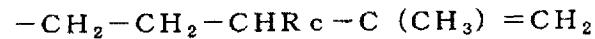
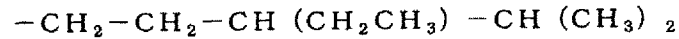
[0037] 前記一般式(1)において、R1は、下記式で表される基の何れかであることが好ましい。

[0038]

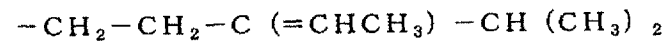
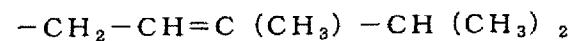
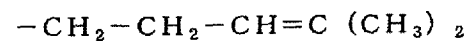
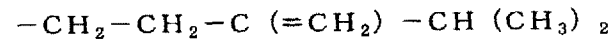
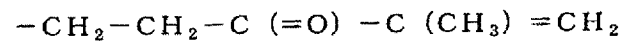
[化3]



(R<sub>a</sub>は水素原子、ヒドロキシル基又はメチル基であり、R<sub>b</sub>は水素原子又はヒドロキシル基である)



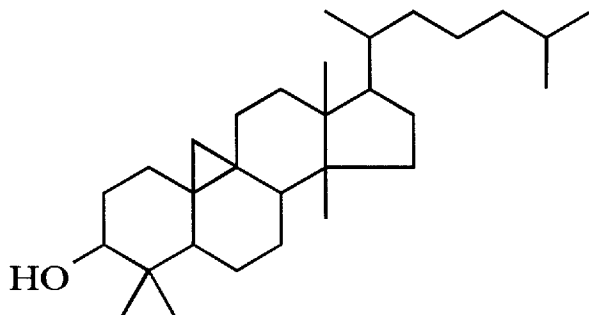
(ただし、R<sub>c</sub>は水素原子、ヒドロキシル基又はメチル基である)



[0039] 好ましいシクロラノスタン化合物としては、9, 19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールが挙げられる。

[0040] 各化合物は、それぞれ、以下の式(2)及び(3)で表される構造を有する。

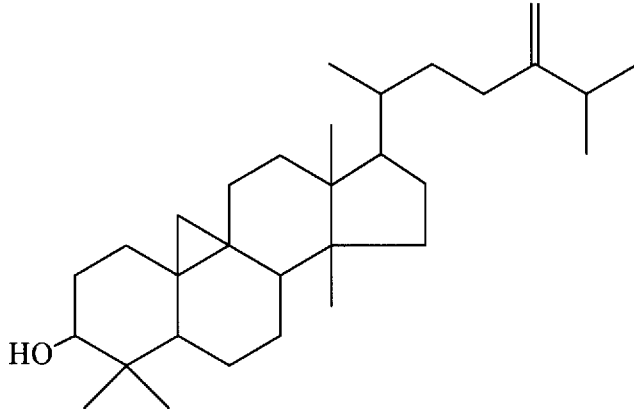
[0041] [化4]



式(2): 9, 19-シクロラノスタン-3-オール

[0042]

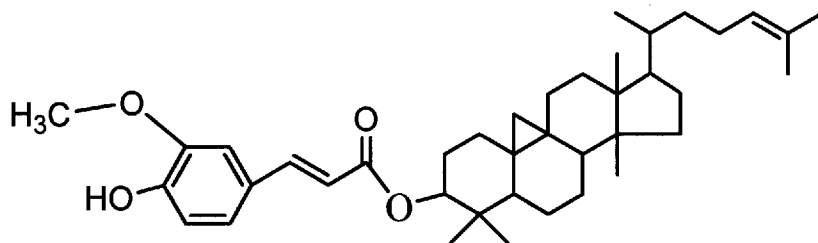
[化5]



式(3): 24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール

[0043] シクロラノスタン化合物は、公知の製造方法に準じて化学的に製造することができる。例えば、式(3)で表される24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール(慣用名: 24-メチレンシクロアルタノール)は、特開昭57-018617号公報に開示される方法にて製造することが可能である。また、シクロラノスタン化合物は、特開2003-277269号公報に開示される方法にて、 $\gamma$ -オリザノールからのシクロアルテノールフェルレート(式(4))の加水分解物を出発物質として製造することが可能である。

[0044] [化6]



式(4): シクロアルテノールフェルレート

[0045] また、シクロラノスタン化合物は、ユリ科、マメ科、イネ科、ナス科及びバショウ科などの植物に含まれていることが知られている(〔フィトケミストリー (Phytochemistry)、米国、1977年、第16巻、第140~141ページ〕、〔ハンドブック・オブ・フィトケミカル・コンスティチュエン

ツ・オブ・GRAS・ハーブ・アンド・アザー・エコノミック・プランツ (Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants)、1992年、米国、シーアールシープレス]、又は[ハーゲルズ・ハントブーフ・デア・ファルマツォイティシエン・プラクシス (Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis)、第2~6巻、1969~1979年、ドイツ、シュプリンガー・フェアラークベルリン] 参照)。よって、これらの植物より、有機溶媒抽出法又は熱水抽出法などの方法を用いて抽出することも可能である。

また、シクロラノスタン化合物は、微生物等を利用して生物学的に製造してもよい。あるいは、微生物由来の酵素を用いて製造しても良い。

前記のようにして製造した化合物は、例えば、マススペクトル (MS) 法、及び核磁気共鳴スペクトル (NMR) 法等によって、その分子量や構造等を決定又は確認することができる。

[0046] また、シクロラノスタン化合物は、医薬に許容される塩であってもよい。医薬に許容可能な塩として、金属塩 (無機塩) と有機塩との両方が含まれ、それらのリストは「レミントン・ファーマシューティカル・サイエンス (Remington's Pharmaceutical Sciences)、第17版、1985年、第1418頁」に掲載されているものが例示される。

具体的には塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、ニリン酸塩、臭化水素酸塩、及び硫酸塩などの無機酸塩や、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、パモ酸塩、サリチル酸塩、及びステアリン酸塩などの有機酸塩が非限定的に含まれる。

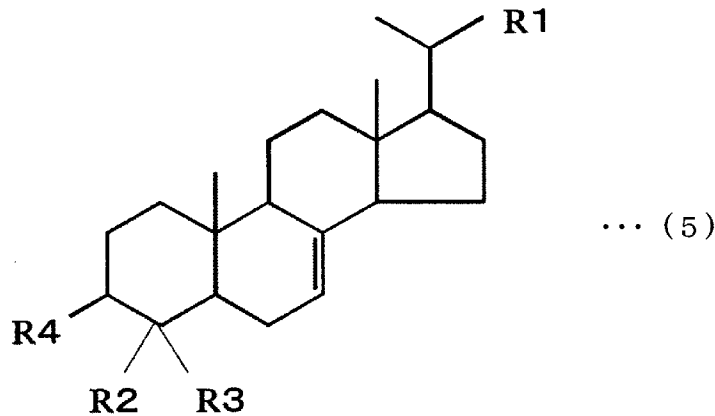
また、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム等の金属の塩、リジン等のアミノ酸との塩とすることもできる。また、前記化合物若しくはその医薬上許容される塩の水和物等の溶媒和物も使用できる。

[0047] [ロフェノール化合物]



ロフェノール化合物（ロフェノール骨格を有する化合物）は、以下の一般式（5）で表される。

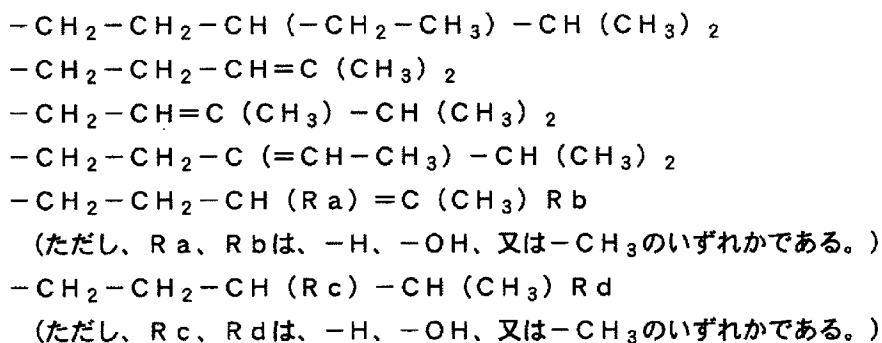
[0048] [化7]



[0049] 一般式（5）中、R1は炭素原子数5～16の、直鎖状若しくは分枝鎖状のアルキル基、又は2重結合を1つ又は2つ含むアルケニル基である。尚、これらのアルキル基又はアルケニル基は、少なくとも1つの水素原子がヒドロキシ基及び／若しくはカルボニル基で置換された、置換アルキル基又は置換アルケニル基であってもよい。R2、R3は各々独立に水素原子、炭素原子数1～3のアルキル基、又は置換アルキル基であり、R4は環を構成する炭素原子とともにC=Oを形成するか、又は-OH、-OCOCH<sub>3</sub>の何れかである。尚、前記炭素原子数1～3のアルキル基としては、メチル基、エチル基等が好ましく、メチル基が特に好ましい。

[0050] 前記一般式（5）において、R1は、下記式で表される基の何れかであることが好ましい。

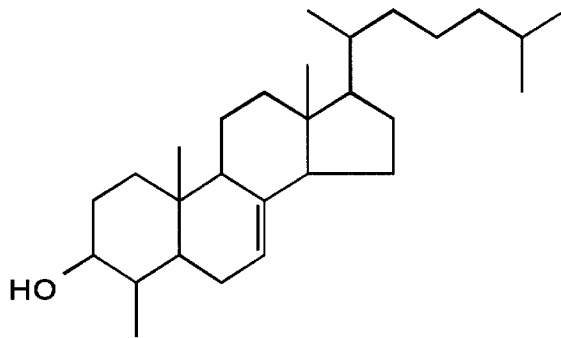
[0051] [化8]



[0052] 好ましいロフェノール化合物としては、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルステグマスト-7-エン-3-オールが挙げられる。

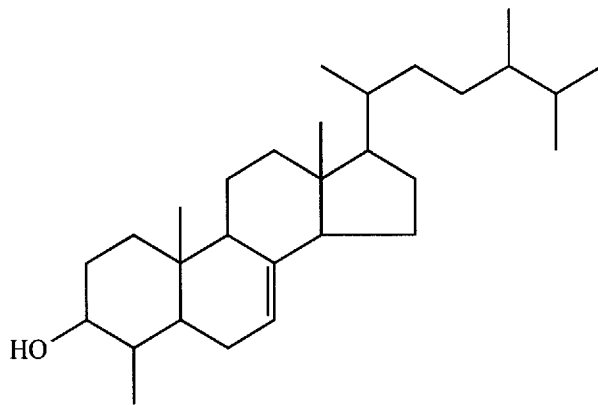
[0053] 各化合物は、それぞれ、以下の式(6)~(8)で表される構造を有する。

[0054] [化9]



式(6): 4-メチルコレスト-7-エン-3-オール

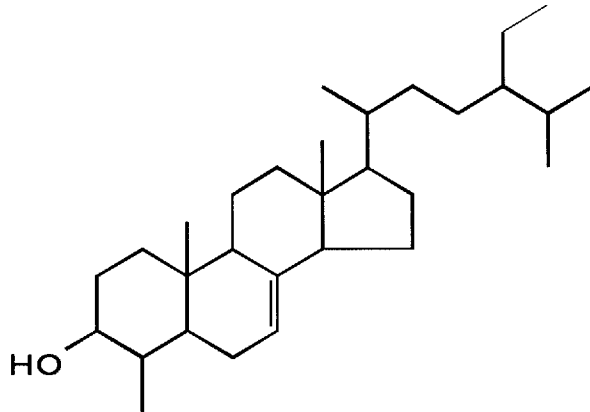
[0055] [化10]



式(7): 4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール

[0056]

[化11]



式(8): 4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オール

[0057] ロフェノール化合物は、シクロラノスタン化合物と同様に、植物に含まれていることが公知であり、植物を原料として公知のロフェノールの製造方法に準じて製造することができる（例えば、特許第3905913号公報参照）。さらに、ロフェノール化合物は、例えばVitali Matyash et al., PLOS BIOLOGY, Volume 2, Issue 10, e280, 2004に記載されたサプリメントデータに準じて合成することも可能である。

前記のようにして製造した化合物は、例えば、マススペクトル（MS）法、及び核磁気共鳴スペクトル（NMR）法等によって、その分子量や構造等を決定又は確認することができる。

[0058] また、ロフェノール化合物は、医薬に許容される塩であってもよい。このような塩としては、シクロラノスタン化合物の場合と同様の塩が挙げられる。

[0059] [本発明の抗酸化剤]

本発明の抗酸化剤は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、有効成分として含有する。該化合物は、1種でも、複数種でもよい。

本発明の抗酸化剤は、好ましくはシクロラノスタン化合物から選ばれる化合物、及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の両者を組み合わせて含

有する。シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物は、それぞれ1種でも、複数種でもよい。

この場合において、シクロラノスタン化合物とロフェノール化合物の質量比の範囲は、好ましくは以下の通りである。

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1  
：4.9

該特定の質量比の範囲は、天然のアロエベラ中に含まれる、シクロラノスタン化合物（特に、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オール）と、ロフェノール化合物（特に、4-メチルコレステ-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴス-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマス-7-エン-3-オール）の質量比にほぼ相当する。

[0060] 本発明の抗酸化剤におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の含有量は、対象疾患、投与対象などに応じて適宜選択することができるが、総量で、好ましくは少なくとも0.0001質量%、より好ましくは少なくとも0.001質量%、さらに好ましくは少なくとも0.005質量%、特に好ましくは少なくとも0.01質量%である。また本発明の医薬における当該量の上限は特に制限されないが、総量で、90質量%以下、好ましくは70質量%以下、より好ましくは50質量%以下が例示される。

[0061] 本発明の抗酸化剤は、医薬、飲食品、食品添加剤、皮膚外用剤などの態様で用いることができる。

[0062] (本発明の医薬)

本発明の抗酸化剤を医薬として用いる形態（「本発明の医薬」という。）では、経口的、又は非経口的にヒトを含む哺乳動物に投与することができる。

本発明の医薬は、生体成分例えば脂質の酸化、特に過酸化脂質の生成が関与する疾患又は症状を、予防及び／又は治療するために用いることが可能で

ある。このような疾患又は症状の例としては、動脈硬化症、脳卒中、狭心症、心筋梗塞、肝機能障害、肝硬変、肝炎、網膜症、白内障、アルツハイマー病、パーキンソン病、アレルギー性疾患、癌、肌荒れ、老化、アトピー性皮膚炎、しみやそばかすなどの色素沈着、しわや弾力性の低下、脱毛、関節リウマチ、ベーチェット病等の組織障害、肩凝り、冷え性等を例示することが可能である。その中でも特に、動脈硬化症、狭心症、心筋梗塞の予防及び／又は治療に対して、本発明の医薬は顕著な効果を示すものである。

そして、本発明の医薬は、疾患イベントの予防又は発現リスクの低減が必要な人、すなわち、生体内での過酸化脂質が上昇するリスクを有する人に対して有用である。

[0063] 本発明の医薬の製剤形態は特に限定されず、治療目的、用法に応じて適宜選択できる。具体的には、錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、貼付剤、点眼剤、点鼻剤等を例示できる。

[0064] 本発明の医薬の投与時期は特に限定されず、対象となる疾患に応じて、適宜選択することが可能である。また、投与量は製剤形態、用法、患者の年齢、性別、その他の条件、症状の程度等に応じて決定されることが好ましい。

本発明の医薬の投与量は、用法、患者の年齢、性別、疾患の程度、その他の条件等により適宜選択される。通常、有効成分の量に換算して、好ましくは0.001~50mg/kg/日、より好ましくは、0.01~1mg/kg/日の範囲を目安とする。

従って、本発明の医薬の好ましい形態の一つは、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、総量で、好ましくは0.001~50mg/kg/日、より好ましくは0.01~1mg/kg/日投与されるように用いられる医薬である。

[0065] 本発明の医薬は、過酸化脂質生成抑制のための医薬に汎用される添加剤を含有していてもよい。添加剤としては、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味矯臭剤、希釈剤、界面活性剤、注射剤用溶剤等が挙げられる。

また、本発明の医薬は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の抗酸化作用を損なわない限り、予防や治療の対象となる疾患や症状に応じた有効成分、例えば、動脈硬化、脳卒中、肝機能障害等の改善及び／又は予防作用を有する他の成分を含有していてもよい。

[0066] 本発明の医薬は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として医薬用担体に配合することで製造することができる。本発明の医薬は、例えば、前記化合物を、前述した添加剤と共に製剤化することで製造することができる。

また、本発明の医薬は、前記化合物を含む公知の植物等を原料として、熱水や各種溶媒を用いた抽出、超臨界抽出、亜臨界抽出することにより得た抽出物を、前述した添加剤と共に製剤化することで製造することもできる。

特に、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を前記特定の質量比の範囲で含む本発明の医薬は、各化合物を前記質量比の範囲で混合することで製造することができる。また、このような医薬は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物が含まれている公知の植物等を原料として、各種溶媒を用いた抽出、超臨界抽出、亜臨界抽出等の方法にて製造することも可能である。

[0067] 本発明の医薬は、例えば、アロエベラの葉皮を含まない葉肉（透明ゲル）部分を凍結乾燥又は熱風乾燥して調製した粉末アロエベラ葉肉を、超臨界抽出することによって製造することができる。

[0068] この場合、抽出溶媒としては、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の抽出効率を向上させる観点からは、超臨界プロパン、超臨界エチレン、超臨界1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタンなどを使用することも可能であるが、安全性を向上させる観点からは、炭酸ガスを使用することが好ましい。また、抽出温度としては、28℃～120℃の温度範囲で適宜選択することも可能であるが、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の抽出効率を向上させ、かつ緩下作用を有するアントラキノン系化合物（例えば、アロエエモジン）の抽出量を少なくする観点からは、50～69℃の

範囲が好ましく、50～59℃の範囲がさらに好ましい。また、圧力としては、5.5～60MPaの範囲で適宜選択することが可能であるが、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の抽出効率を向上させ、かつアントラキノン系化合物の含有量を少なくする観点からは、15～60MPaの範囲が好ましく、15～24MPaの範囲がさらに好ましい。また、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の抽出効率を向上させる観点からは、エタノール等のエントレーナーを使用することも可能であるが、アントラキノン系化合物の抽出量を少なくする観点からは、エントレーナーを使用しないことが好ましい。

[0069] 本発明の医薬は、単独で使用しても良いが、公知の前記疾患の予防・治療剤と併用して使用することも可能である。併用することによって、前記疾患の予防・治療効果を高めることができる。併用する前記疾患の予防・治療剤は、本発明の医薬の成分として含有させても良いし、本発明の医薬と別に製剤化し、本発明の医薬と組み合わせて配置し、使用時に併用するタイプのキットとしても良い。

[0070] 本発明の医薬は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の抗酸化作用により、優れた過酸化脂質生成抑制効果を発揮する。

[0071] (本発明の飲食品)

本発明の抗酸化剤を飲食品として用いる形態（「本発明の飲食品」という。）では、該飲食品を生体成分例えば脂質の酸化、特に過酸化脂質の生成が関与する疾患又は症状のリスクを低減させたり、このような疾患又は症状を予防するために用いることができる。

本発明の飲食品は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、有効成分として含有する。該化合物は、1種でも、複数種でもよい。

本発明において、「飲食品」には、人間が摂取する飲食品の他、人間以外の動物が摂取する飼料も含まれる。

本発明の飲食品は、好ましくはシクロラノスタン化合物から選ばれる化合物、及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の両者を組み合わせて含有する。シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物は、それぞれ1種でも、複数種でもよい。

この場合において、シクロラノスタン化合物とロフェノール化合物の質量比の範囲は、好ましくは以下の通りである。

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1  
：4.9

[0072] 本発明の飲食品におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の量は、飲食品の形態によって適宜設定されるが、総量で、好ましくは少なくとも0.0001質量%、より好ましくは少なくとも0.001質量%、さらに好ましくは少なくとも0.005質量%、特に好ましくは少なくとも0.01質量%である。また本発明の飲食品における当該量の上限は特に制限されないが、総量で、90質量%以下、好ましくは70質量%以下、より好ましくは50質量%以下が例示される。

また、本発明の飲食品における前記化合物の量は、飲食品の形態に応じて、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、総量で、好ましくは0.001～50mg/kg/日、より好ましくは0.01～1mg/kg/日の範囲で摂取するのに適した量とすることもできる。従って、本発明の飲食品の好ましい形態の一つは、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、総量で、好ましくは0.001～50mg/kg/日、より好ましくは0.01～1mg/kg/日摂取するように用いられる飲食品である。

[0073] 本発明の飲食品は、好ましくは、さらに乳化剤を含む。このような乳化剤としては、食用として利用できるものであれば特に制限されない。例えば、日本において、食品添加剤として認可されているような、グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、レシチン類等を使用することが好ましい。



さらに乳化剤を含有する飲食品は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の分散性が高いため、効果の安定性に優れる。

[0074] また、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、油脂を含む飲食品、好ましくは油脂を主体とする飲食品に加工することで、脂質の酸化による劣化が抑制された保存性に優れた飲食品を提供することもできる。上記化合物の含有量、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を組み合わせる場合の質量比については上述したとおりである。また、このような飲食品は、乳化食品であることも好ましい。油脂を含む飲食品としては、食用油、ドレッシング、マヨネーズ、バター、マーガリン、クリーム等が挙げられる。乳化食品においては乳化剤を含有する形態が好ましい。好ましい乳化剤については上述したとおりである。

[0075] 本発明の飲食品は、好ましくは機能性飲食品である。

「機能性飲食品」とは、疾患の予防効果、又は疾患の発生リスクの低減効果が、直接的又は間接的に表示された食品を意味する。例えば、現在、日本において、特定保健用食品、健康補助食品の態様で販売される食品が挙げられる。

[0076] 本発明の飲食品の形態としては、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果汁飲料、乳酸菌飲料等の飲料（これらの飲料の濃縮原液及び調製用粉末を含む）；アイスクリーム、アイスシャーベット、かき氷等の氷菓；そば、うどん、はるさめ、ぎょうざの皮、しゅうまいの皮、中華麺、即席麺等の麺類；飴、チューインガム、キャンディー、ガム、チョコレート、錠菓、スナック菓子、ビスケット、ゼリー、ジャム、クリーム、焼き菓子等の菓子類；かまぼこ、ハム、ソーセージ等の水産・畜産加工食品；加工乳、乳飲料、発酵乳、バター等の乳製品；惣菜；パン類；その他、経腸栄養食品、流動食、育児用ミルク、スポーツ飲料が挙げられる。

[0077] 特に、機能性飲食品の形態としては、顆粒状、タブレット状又は液状のサプリメントであることが、摂取者が有効成分の摂取量を把握し易いという点で好ましい。

[0078] 本発明の飲食品は、「抗酸化のため」、「脂質の酸化抑制のため」、「過酸化脂質生成抑制のため」の用途の表示が付された形態とすることが好ましい。すなわち、本発明の飲食品は、例えば、「過酸化脂質生成抑制のため」の用途が付された、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する、過酸化脂質生成抑制のための飲食品として販売することが好ましい。

前記「表示」は、需要者に対して前記用途を知らしめる機能を有する全ての表示を含む。すなわち、前記用途を想起・類推させようとする表示であれば、表示の目的、表示の内容、表示する対象物・媒体等の如何に拘わらず、すべて前記「表示」に該当する。

また、前記「表示が付された」とは、前記表示と、飲食品（製品）を関連付けて認識させようとする表示行為が存在していることをいう。

表示行為は、需要者が前記用途を直接的に認識できるものであることが好ましい。具体的には、本発明の飲食品に係る商品又は商品の包装への前記用途の記載行為、商品に関する広告、価格表若しくは取引書類（電磁的方法により提供されるものを含む）への前記用途の記載行為が例示できる。

[0079] 一方、表示される内容（表示内容）としては、行政等によって認可された表示（例えば、行政が定める各種制度に基づいて認可を受け、そのような認可に基づいた態様で行う表示）であることが好ましい。

例えば、健康食品、機能性飲食品、経腸栄養食品、特別用途食品、保健機能食品、特定保健用食品、栄養機能食品、医薬用部外品等の表示を例示することができる。特に、厚生労働省によって認可される表示、例えば、特定保健用食品制度、これに類似する制度にて認可される表示を例示できる。後者の例としては、特定保健用食品としての表示、条件付き特定保健用食品としての表示、身体の構造や機能に影響を与える旨の表示、疾病リスク低減表示等を例示することができ、詳細に言えば、健康増進法施行規則（平成15年4月30日日本国厚生労働省令第86号）に定められた特定保健用食品としての表示（特に保健の用途の表示）、及びこれに類する表示が、典型的な例

として列挙することが可能である。

- [0080] 前記用途を表す文言は、「抗酸化のため」、「脂質の酸化抑制のため」、「過酸化脂質生成抑制のため」という文言に限られるものでなく、それ以外の文言であっても、抗酸化作用又は効果、過酸化脂質生成抑制の作用又は効果を表現する文言、ROS、過酸化脂質が関与する疾患又は症状を予防する作用又は効果、該疾患又は症状の発生リスクを低減する作用又は効果に関する表現を含む文言であれば、本発明の範囲に含まれることは言うまでもない。例えば、「過酸化脂質が高めの方（のため）」、「過酸化脂質が高めの方用」、「過酸化脂質が気になる方（のため）」、「過酸化脂質が気になる方用」等を例示することができる。

また、本発明の飲食品は、前記用途の表示に加え、前記有効成分の表示、さらには、前記用途と前記有効成分の関連性を示す表示を含むことも好ましい。

- [0081] 本発明の飲食品は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、有効成分として配合することで製造することができる。本発明の飲食品は、例えば、前記化合物を、飲食品原料に混合して、加工することで製造することができる。

また、本発明の飲食品は、前記化合物を含む公知の植物等を原料として、熱水や各種溶媒を用いた抽出、超臨界抽出、亜臨界抽出することにより得た抽出物を、飲食品原料と共に加工することで製造することもできる。抽出物を得る具体的な方法については、「本発明の医薬」の項で例示したとおりである。

- [0082] また、本発明の飲食品の形態を、顆粒状、タブレット状又は液状のサプリメントとする場合には、有効成分である前記化合物を、例えば、ラクチュロース、マルチトール、及びラクチトール等の糖類、及びそれ以外の糖類、例えばデキストリン、デンプン等；ゼラチン、大豆タンパク、トウモロコシタンパク等のタンパク質；アラニン、グルタミン、イソロイシン等のアミノ酸類；セルロース、アラビアゴム等の多糖類；大豆油、中鎖脂肪酸トリグリセ

リド等の油脂類等と共に、製剤化することも好ましい。

[0083] (本発明の食品添加剤)

本発明の抗酸化剤を食品添加剤として用いる形態（「本発明の食品添加剤」という。）では、該食品添加剤を生体成分例えば脂質の酸化、特に過酸化脂質の生成が関与する疾患又は症状のリスクを低減させたり、このような疾患又は症状を予防するために飲食品に添加して用いることができる。

また、本発明の食品添加剤は、飲食品中の成分、例えば脂質の酸化を抑制するために飲食品に添加して用いることもできる。本発明の食品添加剤は、油脂を含む飲食品、好ましくは油脂を主体とする飲食品に添加するのに特に好適である。油脂を含む飲食品の例は、「本発明の飲食品」の項で挙げたとおりである。

本発明の食品添加剤は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、有効成分として含有する。該化合物は、1種でも、複数種でもよい。

本発明の食品添加剤は、好ましくはシクロラノスタン化合物から選ばれる化合物、及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の両者を組み合わせて含有する。シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物は、それぞれ1種でも、複数種でもよい。

この場合において、シクロラノスタン化合物とロフェノール化合物の質量比の範囲は、好ましくは以下の通りである。

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1  
：4.9

[0084] 本発明の食品添加剤におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の量は適宜設定されるが、総量で、好ましくは少なくとも0.001質量%、より好ましくは少なくとも0.01質量%、さらに好ましくは少なくとも0.05質量%、特に好ましくは少なくとも0.1質量%である。また本発明の食品添加剤における当該量の上限は特に制限されないが、総量で、90質量%以下、好ましくは70質量%以下、より好まし

くは50質量%以下が例示される。

[0085] 本発明の食品添加剤は、好ましくは、さらに乳化剤を含む。このような乳化剤としては、食用として利用できるものであれば特に制限されない。例えば、日本において、食品添加剤として認可されているような、グリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、レシチン類等を使用することが好ましい。

本発明の食品添加剤に乳化剤を含有させることで、本発明の食品添加剤の有効成分であるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の、水溶性の飲食品に対する分散性が向上する。

[0086] 本発明の食品添加剤の形態には特に制限はなく、粉末、顆粒、タブレット、液体等、食品添加剤の通常の形態をとることができる。

本発明の食品添加剤は、前記乳化剤を含有する場合には、乳化剤形であることが特に好ましい。このような剤形とすることで、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の、水溶性の飲食品に対する分散性がさらに向上する。

[0087] 本発明の食品添加剤は、有効成分としてのシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物、並びに乳化剤の他に、通常使用される賦形剤等の添加剤を含んでいてもよい。また、食品添加剤に通常使用される公知の他の成分を含んでいてもよい。

[0088] 本発明の食品添加剤は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、有効成分として配合することで製造することができる。本発明の食品添加剤は、例えば、前記有効成分を、好ましくは前記乳化剤と共に、所望により前記添加剤又は他の成分と共に製剤化することにより製造することができる。

また、本発明の食品添加剤は、前記化合物を含む公知の植物等を原料として、熱水や各種溶媒を用いた抽出、超臨界抽出、亜臨界抽出することにより得た抽出物を、好ましくは前記乳化剤と共に、所望により前記添加剤や他の成分と共に製剤化することで製造することもできる。抽出物を得る具体的な

方法については、「本発明の医薬」の項で例示したとおりである。

[0089] 本発明の食品添加剤は、前述した本発明の飲食品を製造するために用いることができる。飲食品への添加量は、前述した本発明の飲食品における、有効成分としてのシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の量を目安にして適宜調節することができる。

[0090] また、本発明の食品添加剤は、「抗酸化のため」、「脂質の酸化抑制のため」、「過酸化脂質生成抑制のため」の用途の表示が付された形態とすることが好ましい。

「表示」及び「表示行為」については、「本発明の飲食品」の項で説明した通りである。

[0091] (本発明の皮膚外用剤)

本発明の抗酸化剤を皮膚外用剤として用いる形態（「本発明の皮膚外用剤」という。）では、生体成分例えば脂質の酸化、特に過酸化脂質の生成が関与する皮膚の症状を治療又は改善したり予防するために用いることができる。

例えば、しみやそばかすなどの色素沈着、アトピー性皮膚炎やにきびなどの皮膚炎、肌荒れの治療若しくは改善又は予防、しわや弾力性の低下、脱毛などの改善又は予防のために用いることができる。

皮膚外用剤には、医薬、医薬部外品、化粧品の何れに分類されるものも含まれる。

皮膚外用剤は、通常知られている基剤に、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を配合することにより製造することができる。該化合物の好ましい形態、抽出方法などは、「本発明の医薬」で説明したとおりである。

[0092] [本発明の抗酸化活性の付与方法]

本発明は、飲食品に抗酸化活性、好ましくは脂質の酸化抑制活性、さらに好ましくは過酸化脂質生成抑制活性を付与方法であって、飲食品におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の濃

度が、総量で、少なくとも0.0001質量%、好ましくは少なくとも0.001質量%、更に好ましくは少なくとも0.005質量%、特に好ましくは少なくとも0.01質量%となるように、該化合物を飲食品に配合する工程を含む方法を含む。この場合の「飲食品」の定義については、上記「本発明の飲食品」の項における飲食品の定義が適用される。

また、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合比や前記化合物のうち特に好ましい化合物についても、上記「本発明の飲食品」の項における説明が適用される。

「化合物を・・・配合する」には、精製又は合成した化合物を配合することのほか、前記化合物を含む公知の植物等を原料として、熱水や各種溶媒を用いた抽出、超臨界抽出、亜臨界抽出により前記化合物を濃縮した抽出物を配合することも含まれる。抽出物を得る具体的な方法については、「本発明の医薬」の項で例示したとおりである。

[0093] [本発明の抗酸化活性の増強方法]

また、本発明は、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を含む飲食品の抗酸化活性、好ましくは脂質の酸化抑制活性、さらに好ましくは過酸化脂質生成抑制活性を増強させる方法であって、飲食品におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の濃度が、総量で、少なくとも0.0001質量%、好ましくは少なくとも0.001質量%、更に好ましくは少なくとも0.005質量%、特に好ましくは少なくとも0.01質量%となるように、該化合物を飲食品に配合する工程を含む方法を含む。この場合の「飲食品」の定義についても、上記「本発明の飲食品」の項における定義が適用される。

また、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合比や前記化合物のうち特に好ましい化合物についても、上記「本発明の飲食品」の項における説明が適用される。

シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を含む飲食品としては、ユリ科植物の抽出物を含む飲食品が挙げられる。例えば

、アロエ属植物の果肉を含む飲食品が挙げられる。「化合物を・・・配合する」には、上述したとおり、精製又は合成した化合物を配合することのほか、上記抽出物を配合することも含まれる。

[0094] [過酸化脂質生成抑制作用の評価]

本発明の抗酸化剤を含む、種々の被検体の過酸化脂質生成抑制作用は、例えば、チオバルビツール酸（TBA）反応性物質（TBARS）の量を指標として評価することができる。具体的には、TBARSの量が多いほど、過酸化脂質が多く生成していると定義することができる。

TBARSとしては、高温・酸性条件下でTBAと反応する、脂質過酸化反応の自然副生物であるマロンジアルデヒド（MDA）が挙げられる。MDA-TBA付加物は、530～540nmの吸光度の測定により検出でき、これにより、MDAを比色測定することができる。

[0095] また、被検体の過酸化脂質生成抑制作用は、高コレステロール血症（高LDLコレステロール血症）により動脈硬化を発症するモデル動物としてよく使われている、ApoE遺伝子欠損マウスを用いて評価することも可能である（例えば、参考文献1：『細胞工学』別冊「医学実験マニュアル」シリーズ、“動脈硬化+高脂血症研究ストラテジー”、秀潤社、第1版、第1刷、1996年4月1日発行、第441～443頁参照）。

このモデルマウスは、肥満は呈しておらず、高LDL血症から動脈硬化症を経て、循環器疾患を発症することが知られている。また、このモデルマウスは、正常マウスに比べ、過酸化脂質が上昇しており、さらに、時間経過とともに動脈に粥状硬化巣（プラーク）の形成が観察される。よって、被検体をモデルマウスに投与し、このモデルマウスの血中の過酸化脂質を測定することで、被検体の過酸化脂質生成抑制作用を評価することが可能である。

さらに、動脈硬化の初期病変は、酸化LDLによって生じることが一般的に知られていることから、当該被検体を投与したモデルマウスの動脈における粥状硬化巣（プラーク）数を測定することにより、当該被検体の、過酸化脂質生成抑制により動脈硬化のリスクを低減する作用を評価することも可能



である。

[0096] [製造例 1]

(シクロラノスタン化合物の製造)

$\gamma$ -オリザノール (オリザ油化社製) 8.0 g に蒸留水 250 ml、水酸化ナトリウム 50 g、イソプロパノール 150 ml、エタノール 150 ml、メタノール 150 ml を加え、マントルヒーターを用いて 2 時間加熱還流を行った。反応後、反応液を 1300 ml の水に注ぎ、生じた白色の析出物を吸引ろ過でろ取した。残存するアルカリを洗浄するために、ろ取した残渣を 1000 ml の水の中に懸濁させた後、再び吸引ろ過を行った。この操作を 2 回繰り返し、最終的な残渣を凍結減圧乾燥させることによりオリザノール加水分解物 5.91 g を得た。当該加水分解物は HPLC にて精製を行い、2435 mg のシクロアルテノール、及び 1543 mg の 24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールを得た。

次に、得られたシクロアルテノールを用いて、9, 19-シクロラノスタン-3-オールの合成を行った。シクロアルテノール 302 mg、イソプロパノール 150 ml、及び粉末状の 5%パラジウム担持炭素触媒 1.0 g を仕込み、これをオートクレーブ内で密閉し、窒素ガスで置換した後、水素ガス 3 kg/cm<sup>2</sup> の圧力をかけながら導入した。攪拌しながら過熱していき、50°C になったところで、水素の圧力を 5 kg/cm<sup>2</sup> とし、吸収された水素を補うことで圧力を保ちながら 6 時間反応させた。反応液はろ過により触媒を除去し、濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (展開溶媒: クロロホルム 100%) により精製を行い、9, 19-シクロラノスタン-3-オール 275 mg を得た。

[0097] [製造例 2]

(ロフェノール化合物の製造)

アロエベラの葉肉 (透明ゲル部分) 100 kg を、ホモジナイザーを用いて液状化し、ここに 100 L の酢酸エチル/ブタノール混合液 (3:1) を添加して攪拌した。一晩放置した後、酢酸エチル/ブタノール混合液と水層

を分液して、酢酸エチル／ブタノール混合液を回収した。この酢酸エチル／ブタノール混合液を減圧下濃縮して得られた、酢酸エチル／ブタノール混合液抽出物の重量は、13.5 gであった。

シリカゲル60（メルク社製）を400 g充填しカラムに、当該抽出物13 gを1 mlのクロロホルム／メタノール混合液（1：1）に溶解させた溶液を通液してカラムに吸着させた後、クロロホルム／メタノール混合液（クロロホルム：メタノール＝100：1、25：1、10：1、5：1及び1：1の各混合比）を使用し、メタノール濃度を段階的に上昇させるステップワイズグラジエント法により溶出し、前記混合液の混合比毎に溶出液を分画した。これらのフラクションのうち、クロロホルム：メタノール＝25：1で溶出してきたフラクションに本発明のロフェノール化合物が存在することを、順相及び逆相薄層クロマトグラフィー（メルク社製、シリカゲル60 F254及びRP-18 F2543）にて確認した。

このフラクションの溶媒を除去した後、1 mlのクロロホルム／メタノール混合液（1：1）に溶解し、シリカゲル60を100 g充填したカラムに通液してカラムに吸着させた後、ヘキサン／酢酸エチル混合液（4：1）1100 mlで溶出した。溶出フラクションを、順に300 ml（フラクションA）、300 ml（フラクションB）、500 ml（フラクションC）づつ分取した。

本発明のロフェノール化合物が、フラクションAに濃縮されたことを、順相及び逆相薄層クロマトグラフィーにて確認し、さらに、コスモシルC18（ナカライテスク社製）を装着したHPLCを用いて、クロロホルム／ヘキサン混合液（85：15）にて分離し、4-メチルコレステロー7-エン-3-オール）、4-メチルエルゴストロー7-エン-3-オール、4-メチルスチグマストロー7-エン-3-オールを、それぞれ1.3 mg、1.2 mg、1 mg得た。各々の化合物の構造はMS及びNMRにて確認した。

[0098] [製造例3]

（シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物の製造）

アロエベラゲルの葉皮を剥ぎ取って葉肉部分を回収し、回収した葉肉部分を凍結乾燥してアロエベラ葉肉粉末を調製した。次いで、調製したアロエベラ葉肉粉末 806 g を、三菱化工機製、超臨界抽出装置（4 L）の抽出槽に仕込んだ後、温度 60°C、圧力 30 MPa の抽出条件で炭酸ガスを用いて、70 分間抽出を行った。得られた抽出物は、水分を飛ばして、3.58 g の固形抽出物を製造した。

製造した固形抽出物中の成分を同定した結果、9,19-シクロラノスタン-3-オール、24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オール、4-メチルコレステロ-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴステロ-7-エン-3-オール、4-メチルスチグマステロ-7-エン-3-オールの質量比は、2.8 : 3.3 : 1.4 : 1.5 : 1 であった。

よって、本製造例 3 で製造したシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の質量比は、シクロラノスタン化合物 : ロフェノール化合物 = 6.1 : 3.9 であった。

[0099] [製造例 4]

（シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物を含有する食品添加剤の製造）

製造例 3 で製造したシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物を 4% 含有し、その他に中鎖脂肪酸（MCT: 理研ビタミン株式会社製）2%、グリセリン脂肪酸エステル（理研ビタミン株式会社製）4%、サポニン（丸善製薬株式会社製）0.5%、エタノール（日本アルコール産業株式会社製）0.2%、マルチトール（株式会社林原製）1.3%、グリセリン（日油株式会社製）78%、水 10% を混合して、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物を含有する食品添加剤を製造した。

## 実施例

[0100] 次に実施例を示して本発明を更に詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

## [実施例 1]

動脈硬化を発症するモデル動物である A p o E 遺伝子欠損マウスを用いて、シクロラノスタン化合物、ロフェノール化合物、並びにシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物の過酸化脂質生成抑制作用を検討した。

## [0101] (1) 試料の調製

前記製造例 1 で製造した、9, 19-シクロラノスタン-3-オール、24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールを、それぞれ試験試料 1 及び試験試料 2 とした。

また、前記製造例 2 で製造した、4-メチルコレステ-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴス-7-エン-3-オール及び 4-メチルスチグマスト-7-エン-3-オールを、それぞれ試験試料 3、試験試料 4、及び試験試料 5 とした。

さらに、前記製造例 3 で製造したシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物（シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物=6. 1 : 3. 9）を、試験試料 6 とした。

そして、HMG-C o A 還元酵素阻害薬（高脂血症薬）であるメバロチン（第一三共）を、対照試料とした。

これらの試料は、それぞれ、プロピレングリコールに溶解し、各化合物の濃度が  $30 \mu\text{g}/\text{ml}$  となるように蒸留水にて希釈して試験溶液を調製し、試験に供した。なお、生理食塩水を陰性試料とした。

## [0102] (2) 試験方法

6 週齢、雄性 A p o E 欠損マウス（日本エスエルシーより購入）を、高コレステロール食（リサーチダイエツ社製）を用いて 2 週間予備飼育を行った後、1 群 15 匹に群分けした。

各群のマウスに、1 日 1 回ゾンデを用いて、試験試料 1 ~ 6、対照試料、陰性試料の各試験溶液を、それぞれマウス体重  $25 \text{g}$  につき  $1 \text{ml}$  ずつ 3 連日経口投与した。投与開始後早期（投与開始 14 日後）に、各マウス尾静脈

より採血を行い、血清に分離した後、TBARSの量をOxiSelect TBARS Assay Kit（エムディーエー・クオンティテーション（MDA Quantitation）社製）により測定した。また、比較対象として正常マウスから同様に採血を行った。

[0103] （3）試験結果

本実施例の試験結果は表1に示すとおりである。表1は、マウスあたり、1日30 $\mu$ gの試料を投与した場合の血中過酸化脂質の量（血清中のMDA濃度）を示している。

陰性試料を投与したマウスでは、正常マウスに比べて血中の過酸化脂質が増加する傾向が観察されたが、試験試料1～6を連続投与したモデルマウスにおいては、明らかに血中の過酸化脂質の生成抑制効果（有意差あり、表中の「\*」）が確認された。これより、ApoE遺伝子欠損マウスに、シクロラノスタン化合物、ロフェノール化合物、又はシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物を投与することによって、血中過酸化脂質濃度が、正常マウスとほぼ同等のレベルの濃度にまで低下するという結果が認められ、動脈硬化症の予防又は治療に有効であることが確認された。

一方、対照試料であるメバロチンを投与したマウスにおいては、陰性試料に比べて、血中過酸化脂質量の有意な低下は認められなかった。

なお、試験試料投与期間中に副作用は認められず、投与後の病理所見においても異常は認められなかった。

以上の結果より、シクロラノスタン化合物、ロフェノール化合物、及びシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物は、過酸化脂質生成抑制作用を有し、動脈硬化症の予防又は治療に有効であることが確認された。

[0104]

[表1]

表 1

マウス/試料		血中過酸化脂質量 (MDA濃度( $\mu$ M))	p値
正常マウス		0.5 $\pm$ 0.19	—
ApoE遺伝子 欠損マウス	試験試料1	0.62 $\pm$ 0.01	0.00000002*
	試験試料2	0.5 $\pm$ 0.19	0.0001*
	試験試料3	0.71 $\pm$ 0.08	0.00003*
	試験試料4	0.69 $\pm$ 0.05	0.000002*
	試験試料5	0.72 $\pm$ 0.02	0.000003*
	試験試料6	0.69 $\pm$ 0.02	0.000003*
	対照試料	0.93 $\pm$ 0.05	0.11
	陰性試料	0.99 $\pm$ 0.06	—

## [0105] [実施例 2]

本実施例 2 は、動脈硬化モデル動物として知られている ApoE 欠損マウスを用いて、動脈における粥状硬化巣（プラーク）数の測定を行い、過酸化脂質生成抑制により動脈硬化リスクを低減する効果について、シクロラノスタン化合物、ロフェノール化合物、並びにシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物の評価を行った。

## (1) 試料の調製

前記実施例 1 と同様の試験試料 1～6、対照試料、陰性試料の調製を行って、それぞれ試験に供した。

## [0106] (2) 試験方法

6 週齢、雄性 ApoE 欠損マウス（日本エスエルシーより購入）を、高コレステロール食（リサーチダイエツト社製）を用いて 2 週間予備飼育を行った後、1 群 15 匹に群分けした。

各群のマウスに、1 日 1 回ゾンデを用いて、試験試料、対照試料、陰性試料の各試料溶液をそれぞれマウス体重 25 g につき 1 ml ずつ、39 日間連日経口投与した。投与開始から 40 日目に胸部大動脈部分をホルマリン固定後、オイルレッド染色によりプラーク数を測定した。

## [0107] (3) 試験結果

本実施例の試験結果は表2に示すとおりである。表2は、各試料溶液を投与したモデルマウスの動脈における粥状硬化巣（プラーク）数を示している。

その結果、陰性試料を投与したモデルマウスにおいて、プラーク数が12.2であったのに対し、試験試料1～6を投与したモデルマウスでは、プラーク数が5.0～6.2にまで半減して、動脈内皮上のプラーク形成を抑制する効果が確認された。

一方、高脂血症薬であるメバロチンを対照試料として投与したマウスでは、陰性試料に比べてプラーク形成の減少がみられものの、有意な差は認められなかった。

なお、投与期間中、投与後ともに、マウスの体重及び病理的な所見からも副作用は全くみられなかった。

以上の結果より、シクロラノスタン化合物、ロフェノール化合物、並びにシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物の混合物は、血管内のプラーク形成抑制作用を有し、過酸化脂質生成抑制効果による動脈硬化リスクを低減することが明らかとなった。

[0108] [表2]

表2

マウス/試料		胸部大動脈のプラーク形成数	p値
ApoE遺伝子 欠損マウス	試験試料1	6.0±0.7	0.009*
	試験試料2	5.6±1.5	0.0006*
	試験試料3	6.2±1.9	0.008*
	試験試料4	5.0±1.4	0.003*
	試験試料5	5.6±2.1	0.005*
	試験試料6	5.4±2.0	0.004*
	対照試料	10.6±3.2	0.25
	陰性試料	12.2±3.0	—

## 産業上の利用可能性

[0109] 本発明の抗酸化剤は、安全に投与でき、生体成分の酸化を抑制し、特に血中での過酸化脂質の生成を効果的に抑制するので、動脈硬化症、脳卒中、狭

心症、心筋梗塞、肝機能障害、肝硬変、肝炎、網膜症、白内障、アルツハイマー病、パーキンソン病、アレルギー性疾患、癌、肌荒れ、老化等の疾患、症状の治療及び／又は予防に有効である。その中でも、本発明の抗酸化剤は、動脈硬化症、狭心症、心筋梗塞の治療及び／又は予防に著効を示す。従って、本発明の医薬は前記疾患、症状の治療や予防に有用である。また、本発明の飲食品は、安全に摂取でき、生体内、特に血中での過酸化脂質の生成を効果的に抑制するので、前記疾患、症状の予防や発生リスクの低減のために摂取するのに有用である。また、本発明の食品添加剤は、このような飲食品を製造したり、飲食品中の成分の酸化を防止するのに有用である。また、本発明の皮膚外用剤は、しみやそばかすなどの色素沈着、アトピー性皮膚炎、にきびなどの皮膚炎の治療若しくは改善、又は予防、しわやはりの低下、脱毛などの改善又は予防に有用である。



## 請求の範囲

- [請求項1] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する、抗酸化剤。
- [請求項2] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する、請求項1に記載の抗酸化剤。  
シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9
- [請求項3] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有する、請求項1又は2に記載の抗酸化剤。
- [請求項4] シクロラノスタン化合物が、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれる、請求項1～3の何れか一項に記載の抗酸化剤。
- [請求項5] ロフェノール化合物が、4-メチルコレステ-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴス-7-エン-3-オール及び4-メチルステグマスト-7-エン-3-オールから選ばれる、請求項1～4の何れか一項に記載の抗酸化剤。
- [請求項6] 脂質の酸化を抑制するための請求項1～5の何れか一項に記載の抗酸化剤。
- [請求項7] 過酸化脂質の生成を抑制するための請求項6に記載の抗酸化剤。
- [請求項8] 皮膚外用剤である、請求項1～7の何れか一項に記載の抗酸化剤。
- [請求項9] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を含む飲食品からなる請求項1～7の何れか一項に記載の抗酸化剤。
- [請求項10] 前記飲食品が乳化剤を含有する、請求項9に記載の抗酸化剤。
- [請求項11] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として配合することを含む、請求項1～10の何れか一項に記載の抗酸化剤の製造方法。

- [請求項12] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する、過酸化脂質生成抑制のための医薬。
- [請求項13] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する、請求項12に記載の医薬。  
シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物=6.3：2.7～5.1：4.9
- [請求項14] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有する、請求項12又は13に記載の医薬。
- [請求項15] シクロラノスタン化合物が、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれる、請求項12～14の何れか一項に記載の医薬。
- [請求項16] ロフェノール化合物が、4-メチルコレスト-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴスト-7-エン-3-オール及び4-メチルステグマスト-7-エン-3-オールから選ばれる、請求項12～15の何れか一項に記載の医薬。
- [請求項17] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として配合する工程を含む、請求項12～16の何れか一項に記載の医薬の製造方法。
- [請求項18] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する、過酸化脂質生成抑制のための飲食品。
- [請求項19] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する、請求項18に記載の飲食品。  
シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物=6.3：2.7～5.1：4.9
- [請求項20] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有する、請求項18又は19に記載の飲食品。

- [請求項21] シクロラノスタン化合物が、9, 19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれる、請求項18~20の何れか一項に記載の飲食品。
- [請求項22] ロフェノール化合物が、4-メチルコレステロ-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴステロ-7-エン-3-オール及び4-メチルスチグマステロ-7-エン-3-オールから選ばれる、請求項18~21の何れか一項に記載の飲食品。
- [請求項23] さらに乳化剤を含有する、請求項18~22の何れか一項に記載の飲食品。
- [請求項24] 油脂を含む請求項18~23の何れか一項に記載の飲食品。
- [請求項25] 機能性飲食品である、請求項18~24の何れか一項に記載の飲食品。
- [請求項26] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として配合する工程を含む、請求項18~25の何れか一項に記載の飲食品の製造方法。
- [請求項27] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として含有する、過酸化脂質生成抑制のための食品添加剤。
- [請求項28] さらに、乳化剤を含有する、請求項27に記載の食品添加剤。
- [請求項29] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する、請求項27又は28に記載の食品添加剤。  
シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物=6.3：2.7~5.1：4.9
- [請求項30] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.001質量%含有する、請求項27~29の何れか一項に記載の食品添加剤。
- [請求項31] シクロラノスタン化合物が、9, 19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オール

から選ばれる、請求項 27～30 の何れか一項に記載の食品添加剤。

[請求項32]       ロフェノール化合物が、4-メチルコレステロール-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴステロール-7-エン-3-オール及び4-メチルステグマステロール-7-エン-3-オールから選ばれる、請求項 27～31 の何れか一項に記載の食品添加剤。

[請求項33]       シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を有効成分として配合する工程を含む、請求項 27～32 の何れか一項に記載の食品添加剤の製造方法。

[請求項34]       飲食品に抗酸化活性を付与する方法であって、  
飲食品におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の濃度が、総量で、少なくとも0.0001質量%となるように、該化合物を飲食品に配合する工程を含む、方法。

[請求項35]       シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を含む飲食品の抗酸化活性を増強させる方法であって、  
飲食品におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の濃度が、総量で、少なくとも0.0001質量%となるように、該化合物を前記飲食品に配合する工程を含む、方法。

[請求項36]       抗酸化剤の製造におけるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物の使用。

[請求項37]       抗酸化剤の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する組成物の使用。

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物=6.3：2.7～5.1：4.9

[請求項38]       抗酸化剤の製造における、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を少なくとも0.0001質量%含有する組成物の使用。

[請求項39]       シクロラノスタン化合物が、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オール

から選ばれる、請求項 36～38 の何れか一項に記載の使用。

[請求項40]       ロフェノール化合物が、4-メチルコレステローエン-3-オール、4-メチルエルゴステローエン-3-オール及び4-メチルスチグマストローエン-3-オールから選ばれる、請求項 36～39 の何れか一項に記載の使用。

[請求項41]       抗酸化のために用いられるシクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物。

[請求項42]       シクロラノスタン化合物が、9, 19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれる、請求項 41 に記載の化合物。

[請求項43]       ロフェノール化合物が、4-メチルコレステローエン-3-オール、4-メチルエルゴステローエン-3-オール及び4-メチルスチグマストローエン-3-オールから選ばれる、請求項 41 に記載の化合物。

[請求項44]       抗酸化のために用いられる、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含有する組成物。

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物=6.3：2.7～5.1：4.9

[請求項45]       抗酸化のために用いられる、シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有する組成物。

[請求項46]       シクロラノスタン化合物が、9, 19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9, 19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれる、請求項 44 又は 45 に記載の組成物。

[請求項47]       ロフェノール化合物が、4-メチルコレステローエン-3-オール、4-メチルエルゴステローエン-3-オール及び4-メチルスチグマストローエン-3-オールから選ばれる、請求項 44～46 の何れか一項に記載の組成物。

[請求項48] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、抗酸化が必要な対象に投与することを含む、酸化が寄与する疾患又は症状の治療又は予防方法。

[請求項49] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で投与することを含む、請求項48に記載の酸化が寄与する疾患又は症状の治療又は予防方法。

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9

[請求項50] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物を下記質量比で含む組成物を、抗酸化が必要な対象に投与することを含む、酸化が寄与する疾患又は症状の治療又は予防方法。

シクロラノスタン化合物：ロフェノール化合物＝6.3：2.7～5.1：4.9

[請求項51] シクロラノスタン化合物及びロフェノール化合物から選ばれる化合物を、少なくとも0.0001質量%含有する組成物を投与することを含む、請求項48～50の何れか一項に記載の酸化が寄与する疾患又は症状の治療又は予防方法。

[請求項52] シクロラノスタン化合物が、9,19-シクロラノスタン-3-オール及び24-メチレン-9,19-シクロラノスタン-3-オールから選ばれる、請求項48～51の何れか一項に記載の酸化が寄与する疾患又は症状の治療又は予防方法。

[請求項53] ロフェノール化合物が、4-メチルコレステロ-7-エン-3-オール、4-メチルエルゴステロ-7-エン-3-オール及び4-メチルステグマスト-7-エン-3-オールから選ばれる、請求項48～52の何れか一項に記載の酸化が寄与する疾患又は症状の治療又は予防方法。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/069563

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07J9/00(2006.01)i, A61K31/575(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, A61P27/12(2006.01)i, A61P39/06(2006.01)i, C07J53/00(2006.01)i

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)

C07J9/00, A61K31/575, A61K36/00, A61P1/16, A61P9/10, A61P27/12, A61P39/06, C07J53/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 57-018617 A (MORISHITA PHARM CO., LTD.), 30 January 1982 (30.01.1982), particularly, page 2, lower right column to page 3, upper left column	1, 3-5, 7, 9-12, 14-18, 20-28, 30-36, 38-43, 45-47
Y	& JP 84042656 B	1-7, 9-47
X	WO 2007/060911 A1 (MORINAGA MILK IND CO., LTD.), 31 May 2007 (31.05.2007),	1-7, 9, 11, 18-22, 25-27, 29-36, 41-43
Y	particularly, claim 5; paragraphs [0022] to [0051], [0065], [0088] to [0090] & AU 2006317258 A1 & IN 200703548 P4 & KR 2007096010 A & CN 101128211 A & JP 4095115 B2 & EP 1952817 A1 & US 2009/004307 A1 & RU 2356572 C1 & KR 897492 B1 & AU 2006317258 B2	1-7, 9-47

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 application or patent 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  
10 February, 2010 (10.02.10)

Date of mailing of the international search report  
02 March, 2010 (02.03.10)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/069563

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2005-029490 A (SOSHIN KABUSHIKI KAISHA), 03 February 2005 (03.02.2005), particularly, paragraphs [0010], [0013], [0033] to [0035] (Family: none)	8
A	Tatsuo TANIMOTO, "Koshiketsu Shiketsusho Chiryoyaku no Kiso -Kiso: Koshikessho Chiryoyaku no Kenkyu Kaihatsu-", Folia Pharmacologica Japonica, 2007, vol.129, pages 267 to 270	1-47
A	WO 2007/043305 A1 (MORINAGA MILK IND CO., LTD.), 19 April 2007 (19.04.2007), & EP 1930014 A1 & AU 2006300640 A1 & KR 2008031399 A & CN 101277705 A & JP 4176140 B2 & CA 2623639 A1 & IN 200800621 P4 & AU 2006300640 B2 & AU 2006300640 B8	1-47
A	WO 2007/043306 A1 (MORINAGA MILK IND CO., LTD.), 19 April 2007 (19.04.2007), & AU 2006300541 A1 & EP 1930341 A1 & IN 200706033 P4 & CN 101233145 A & KR 2008015872 A & JP 4165658 B2 & CA 2616544 A1 & US 2009/131388 A1	1-47
A	JP 60-258119 A (AMANO PHARM KABUSHIKI KAISHA), 20 December 1985 (20.12.1985), & EP 166542 A & AU 8543130 A & JP 60-258198 A & NO 8502246 A & FI 8502216 A & DK 8502469 A & JP 61-243022 A & JP 61-243099 A & CN 8509752 A & ES 8708125 A & US 4748161 A & JP 89040014 B & JP 89040040 B & CA 1265785 A & EP 166542 B & SU 1538892 A & DE 3579064 G & US 4748161 B & JP 93033713 B & KR 9207235 B1	1-47



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/069563

**Box No. 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.: 48-53  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
It pertains to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter on which this International Searching Authority is not required to carry out a search under the provision of PCT Rule 39.1 (iv).
- 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 No. 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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 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 and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07J9/00(2006.01)i, A61K31/575(2006.01)i, A61K36/00(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i, A61P27/12(2006.01)i, A61P39/06(2006.01)i, C07J53/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07J9/00, A61K31/575, A61K36/00, A61P1/16, A61P9/10, A61P27/12, A61P39/06, C07J53/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2010年
日本国実用新案登録公報	1996-2010年
日本国登録実用新案公報	1994-2010年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 57-018617 A (MORISHITA PHARM CO LTD) 1982.01.30, 特に2頁 右下欄-3頁左上欄などを参照。 & JP 84042656 B	1, 3-5, 7, 9-12 , 14-18, 20-28 , 30-36, 38-43 , 45-47
Y		1-7, 9-47

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10.02.2010

国際調査報告の発送日

02.03.2010

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 恵

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

4P

9164

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2007/060911 A1 (MORINAGA MILK IND CO LTD) 2007. 05. 31, 特 に請求項5や【0022】－【0051】、【0065】、【0088】 －【0090】などを参照。	1-7, 9, 11, 18- 22, 25-27, 29- 36, 41-43
Y	& AU 2006317258 A1 & IN 200703548 P4 & KR 2007096010 A & CN 101128211 A & JP 4095115 B2 & EP 1952817 A1 & US 2009/004307 A1 & RU 2356572 C1 & KR 897492 B1 & AU 2006317258 B2	1-7, 9-47
X	JP 2005-029490 A (SOSHIN KK) 2005. 02. 03, 特に【0010】、【0 013】、【0033】－【0035】などを参照。 (ファミリーなし)	8
A	谷本達夫「高脂血止血症治療薬の基礎－基礎：高脂血症治療薬の研 究開発－日本薬理学雑誌 (Folia Pharmacol. Jpn) , 2007, Vol. 129, p. 267-270	1-47
A	WO 2007/043305 A1 (MORINAGA MILK IND CO LTD) 2007. 04. 19, & EP 1930014 A1 & AU 2006300640 A1 & KR 2008031399 A & CN 101277705 A & JP 4176140 B2 & CA 2623639 A1 & IN 200800621 P4 & AU 2006300640 B2 & AU 2006300640 B8	1-47
A	WO 2007/043306 A1 (MORINAGA MILK IND CO LTD) 2007. 04. 19, & AU 2006300541 A1 & EP 1930341 A1 & IN 200706033 P4 & CN 101233145 A & KR 2008015872 A & JP 4165658 B2 & CA 2616544 A1 & US 2009/131388 A1	1-47
A	JP 60-258119 A (AMANO PHARM KK) 1985. 12. 20, & EP 166542 A & AU 8543130 A & JP 60-258198 A & NO 8502246 A & FI 8502216 A & DK 8502469 A & JP 61-243022 A & JP 61-243099 A & CN 8509752 A & ES 8708125 A & US 4748161 A & JP 89040014 B & JP 89040040 B & CA 1265785 A & EP 166542 B & SU 1538892 A & DE 3579064 G & US 4748161 B & JP 93033713 B & KR 9207235 B1	1-47

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求項 48-53 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、治療による処置方法に関するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2.  請求項 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求項 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。