

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-217558

(P2004-217558A)

(43) 公開日 平成16年8月5日(2004.8.5)

(51) Int. Cl.⁷

A 6 1 K 35/78

A 2 3 L 1/30

A 6 1 P 35/00

F I

A 6 1 K 35/78

A 2 3 L 1/30

A 6 1 P 35/00

テマコード (参考)

4 B O 1 8

4 C O 8 8

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号

特願2003-6097 (P2003-6097)

(22) 出願日

平成15年1月14日 (2003.1.14)

(71) 出願人 596151504

株式会社 エフェクト

埼玉県志木市柏町3-3-35

(71) 出願人 501345345

吉原 昭雄

東京都港区西麻布4丁目13番23-80
4号

(71) 出願人 501345356

吉原 幸子

東京都港区西麻布4丁目13番23-80
4号

(74) 代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔

(74) 代理人 100118773

弁理士 藤田 節

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 落花生処理物を用いた抗腫瘍剤

(57) 【要約】

【課題】 抗腫瘍効果が高く、かつ毒性の少ない、真に有効な抗腫瘍剤を提供する。

【解決手段】 落花生の種皮又は種子の処理物を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

落花生の種皮又は種子の処理物を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。

【請求項 2】

前記処理物が落花生の種皮もしくは種子の抽出物又はそれらの処理物である請求項 1 記載の抗腫瘍剤。

【請求項 3】

前記抽出物が水抽出物である請求項 2 記載の抗腫瘍剤。

【請求項 4】

落花生種皮由来で水に溶解性を示す物質を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。 10

【請求項 5】

落花生種皮由来で低級アルコールに溶解性を示す物質を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。

【請求項 6】

落花生種皮由来で水及び低級アルコールに溶解性を示す物質を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。

【請求項 7】

食品、チューインガム又は飲料に添加するための請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の抗腫瘍剤。 20

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、落花生種皮由来の有効成分を用いた抗腫瘍剤に関する。

【0002】

【従来技術】

抗腫瘍剤は種々提案されており、また臨床的に使用されているが、抗腫瘍効果が高く、かつ毒性の少ない、真に有効な抗腫瘍剤は少ない。

【0003】

一方、落花生種皮処理物は、骨髓細胞増殖活性、抗 HIV 活性等を有することが知られているが（特許文献 1 及び 2 参照）、抗腫瘍効果については何ら報告されていない。 30

【0004】

【特許文献 1】

特許第 3 2 1 7 2 7 8 号公報（例えば、請求項 1）

【特許文献 2】

特開平 1 1 - 2 4 6 4 3 1 号公報（例えば、請求項 1）

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、抗腫瘍効果が高く、かつ毒性の少ない、真に有効な抗腫瘍剤を提供することを目的とする。 40

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明は、以下の発明を包含する。

（1）落花生の種皮又は種子の処理物を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。

（2）前記処理物が落花生の種皮もしくは種子の抽出物又はそれらの処理物である前記（1）に記載の抗腫瘍剤。

（3）前記抽出物が水抽出物である前記（2）に記載の抗腫瘍剤。

（4）落花生種皮由来で水に溶解性を示す物質を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。 50

(5) 落花生種皮由来で低級アルコールに溶解性を示す物質を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。

(6) 落花生種皮由来で水及び低級アルコールに溶解性を示す物質を有効成分として含有することを特徴とする抗腫瘍剤。

(7) 食品、チューインガム又は飲料に添加するための前記(1)～(6)のいずれかに記載の抗腫瘍剤。

【0007】

【発明の実施の形態】

落花生の果実は強固な果皮を有し、この内部に通常2個の種子が存在する。内存する種子にはこれを包する種皮がある。

【0008】

本発明の抗腫瘍剤は、落花生種皮由来で水に溶解性を示す物質を含有すればよく、落花生の種皮、及び種子(皮付き種子をいう。)のいずれを用いてもよい。落花生種皮は、破碎、粉碎等により粉末化处理したものをを用いてもよいが、抽出物又はその処理物として用いることが好ましい。本発明においては、種皮分離時の乾燥工程及び分離工程が不要であること、更に、種皮を種子から分離する際に種子由来の油分が種皮に付着することがあるが、これを防止して油分の混入を防止できることから、種子をそのまま溶媒で抽出することが特に好ましい。ここで、「種子をそのまま」とは、落花生種子から種皮を分離したり、落花生種子を破碎、粉碎等により粉末化处理することなく抽出を行うことをいう。落花生種子としては、種皮の全部又は一部が剥離したものを除外し、種皮が種子全体を覆っているものを選別して用いることが好ましい。

【0009】

抽出溶媒としては、水；低級アルコール類、例えばメタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、イソブタノール；エーテル類、例えばエチルエーテル、ジオキサン；ケトン類、例えばアセトン等が挙げられるが、水、エタノール、又は水-エタノール混合溶媒が好ましい。抽出に用いる水の種類は、上水、天然水、RO(逆浸透膜)処理水、深層水、磁気化水、単分子水、水の結鎖角度を変化させた処理水等、飲用又は皮膚に適用できるものであれば如何なるものでもよい。

【0010】

種子から分離された落花生種皮を用いる場合には、通常、落花生種皮1kg当り抽出溶媒5～25Lを使用する。

種子を用いる場合には、通常、種子1kg当り抽出溶媒1～5Lを使用する。

【0011】

抽出温度は、特に制限はなく、溶媒の融点ないし溶媒の沸点の範囲内であり、超臨界抽出をしてもよい。また、抽出は、通常常圧下で行うが、加圧下又は減圧下で行ってもよい。抽出時間は、抽出温度等により異なり、通常5分間～1日間であるが、種子由来の油分が溶出してこない時間内とするのが好ましい。種子を用いる場合、抽出時間は、通常10～60分、好ましくは15～30分である。

【0012】

抽出液に再度未処理の落花生種皮又は種子を加え前記と同様の抽出操作を1又は複数回繰り返してもよい。

【0013】

前記のようにして得られた抽出液を、布、ステンレスフィルター、濾紙等で濾過して落花生種皮又は種子、不純物等を取り除くことで、目的の抽出液を得ることができる。また、濾過後の抽出液に、スプレードライ処理、フリーズドライ処理、超臨界処理等の処理を施してもよい。

【0014】

このようにして得られる抽出物は、そのまま本発明の抗腫瘍剤の有効成分として用いることができる。また、当該抽出物をイオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、透析等の各種精製手段により処理し、更に活性を高めた処理物として用いてもよ

10

20

30

40

50

い。その際、活性成分の化学的性質を利用して精製することが好ましい。即ち、本発明の抗腫瘍剤の好ましい活性成分は、水及び/又は低級アルコール（例えば、エタノール）に溶解する性質を有するため、この性質を利用して、水に溶解性を示す物質、低級アルコールに溶解性を示す物質、又は水及び低級アルコールに溶解性を示す物質を採取することにより、より純度の高い活性成分を得ることができる。

【0015】

本発明の抗腫瘍剤は、落花生種皮又は種子の処理物を公知の医薬用担体と組合せて製剤化することができる。投与形態としては、特に制限はなく、必要に応じ適宜選択されるが、一般には錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、液剤、シロップ剤、懸濁剤、乳剤、エリキシル剤等の経口剤、又は注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、経粘膜吸収剤、貼付剤、軟膏剤等の非経口剤として使用される。

10

【0016】

本発明の抗腫瘍剤の投与量は、患者の年令、体重、疾患の程度、投与経路により異なるが、経口投与では、落花生種皮又は種子の抽出物乾燥粉末として、通常1日50～1000mgであり、投与回数は、通常、経口投与では1日1～3回である。

【0017】

経口剤は、例えばデンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類等の賦形剤を用いて常法に従って製造される。

【0018】

この種の製剤には、適宜前記賦形剤の他に、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料等を使用することができる。

20

【0019】

結合剤の具体例としては、結晶セルロース、結晶セルロース・カルメロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート、カルメロースナトリウム、エチルセルロース、カルボキシメチルエチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、パレイショデンプン、デキストリン、アルファー化デンプン、部分アルファー化デンプン、ヒドロキシプロピルスターチ、プルラン、ポリビニルピロリドン、アミノアルキルメタクリレートコポリマーE、アミノアルキルメタクリレートコポリマーRS、メタクリル酸コポリマーL、メタクリル酸コポリマー、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリビニルアルコール、アラビアゴム、アラビアゴム末、寒天、ゼラチン、白色セラック、トラガント、精製白糖、マクロゴールが挙げられる。

30

【0020】

崩壊剤の具体例としては、結晶セルロース、メチルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、カルメロース、カルメロースカルシウム、カルメロースナトリウム、クロスカルメロースナトリウム、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、パレイショデンプン、部分アルファー化デンプン、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルスターチナトリウム、トラガントが挙げられる。

40

【0021】

界面活性剤の具体例としては、大豆レシチン、ショ糖脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール、セスキオレイン酸ソルビタン、トリオレイン酸ソルビタン、モノステアリン酸ソルビタン、モノパルミチン酸ソルビタン、モノラウリン酸ソルビタン、ポリソルベート、モノステアリン酸グリセリン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウロマクロゴールが挙げられる。

【0022】

滑沢剤の具体例としては、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、ステアリン酸、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、含水二酸化ケイ素、軽

50

質無水ケイ酸、合成ケイ酸アルミニウム、乾燥水酸化アルミニウムゲル、タルク、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、リン酸水素カルシウム、無水リン酸水素カルシウム、ショ糖脂肪酸エステル、ロウ類、水素添加植物油、ポリエチレングリコールが挙げられる。

【0023】

流動性促進剤の具体例としては、含水二酸化ケイ素、軽質無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウムゲル、合成ケイ酸アルミニウム、ケイ酸マグネシウム。

【0024】

また、本発明の抗腫瘍剤は、液剤、シロップ剤、懸濁剤、乳剤、エリキシル剤として投与する場合には、矯味矯臭剤、着色剤を含有してもよい。

【0025】

本発明の抗腫瘍剤は、食品（必要に応じて、乳酸菌等を配合してもよい。）、チューインガム、飲料（必要に応じて、乳酸菌等を配合してもよい。）等に添加して、いわゆる特定保健用食品（例えば、癌予防食品）等とすることもできる。

【0026】

本発明の抗腫瘍剤は、ヒト及び非ヒト動物の各種良性及び悪性腫瘍の治療又は予防に有効である。また、貼付剤、軟膏剤等の外用剤として皮膚癌等の治療又は予防に用いることもできる。

【0027】

本発明の抗腫瘍剤の製造原料である落花生種皮又は種子は食用に供されており、安全性は確立されている。

【0028】

【実施例】

以下、実施例により本発明を更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。

【0029】

（実施例1）落花生種皮抽出物の調製

中国産落花生（*Arachis hypogaea* L.）（Leguminosae）の種子を約1カ月間乾燥し、種皮を分離した。乾燥した落花生種皮25gを正確に量り、2Lの三角フラスコに入れ、これに精製水1Lを加えて室温（ 22 ± 3 ）で24時間放置した。濾過綿を用いて分取した濾液を凍結乾燥させ、落花生種皮抽出エキス粉末を得た（落花生種皮25g当たり4.4484gの収量）。本品は吸湿性の赤褐色の微細な粉末で、無臭で味は渋い。本品は水及びエタノールに溶解易い。

【0030】

（実施例2）落花生種子抽出物の調製

1. 皮のむけていない落花生種子（以下「落花生種子」という。）を60kg用意し、簡単に水洗した。
2. RO処理水（以下「水」という。）（ $15 \sim 25$ ）30Lを容器に入れ、そこに前記1. で用意した落花生種子20kgを入れ、20分間放置した後、落花生種子だけを取り出し28Lの抽出液Aを得た。
3. 前記抽出液Aに未抽出の落花生種子20kgを入れ、20分間放置した後、落花生種子だけを取り出し26Lの抽出液Bを得た。
4. 前記抽出液Bに未抽出の落花生種子20kgを入れ、20分間放置した後、落花生種子だけを取り出し約24Lの抽出液Cを得た。
5. 前記抽出液Cを目の細かい布で濾過し、抽出液Dを得た。
6. 前記抽出液Dを加圧式濾過器にかけ、抽出液Eを得た。濾過器のフィルターとしては、布6枚を重ねたものを用いた。
7. 前記抽出液Eを加圧式濾過器にかけ、抽出液Fを得た。濾過器のフィルターとしては、 $7 \mu\text{m}$ のステンレス製フィルターを用いた。
8. 前記抽出液Fを凍結濃縮し、抽出液Gを得た。
9. 前記抽出液Gを凍結乾燥し、150gの落花生種子抽出物Hを得た。

10

20

30

40

50

10. 前記抽出物 H を 60 メッシュの篩にかけ、ピンク色の抽出物 I を微粒子状の粉体として得た。

【0031】

11. 前記抽出物 I を分析した結果を以下に示す。

(1) 薄層クロマトグラフィー

逆相薄層クロマトグラフィー (ODS) 分析により、主として 1 種の成分からなることがわかった。

(a) 展開溶媒：50%アセトニトリル

スポット A : Rf 0.71

10

(b) 展開溶媒：35%アセトニトリル

スポット A : Rf 0.47

【0032】

(2) 高速液体クロマトグラフィー

以下の条件で行った高速液体クロマトグラフィーは、分子量の異なるポリフェノールの混合物であることを示した。結果を図 1 に示す。

カラム：昭和電工 (株) 製 Shodex SUGAR KS-801 (8.0 mm i.d. x 300 mm)

試料：前記抽出物 I (水に溶解後、1 日放置)

試料サイズ：10 μ L (10 mg/mL)

溶離液：水

流量：0.35 mL/分

カラム温度：80

圧力：50 kg/cm²

検出：RI range 1

20

【0033】

(3) 逆相カラムクロマトグラフィー (ODS) によるポリフェノール含量の分析

前記抽出物 I 1.0 g を ODS カラム (ODS 10 g) に通導し、水 80 mL 及び 50%メタノール 80 mL を流した結果、50%メタノール溶出画分から 0.96 g のポリフェノールを得た。(ポリフェノール含有量 96%)

30

【0034】

(4) NMR スペクトル

前記抽出物 I の核磁気共鳴 (¹H NMR) スペクトル (D₂O) を図 2 に示す。

【0035】

(5) IR スペクトル

前記抽出物 I の赤外線吸収 (IR) スペクトルを以下に示す。

IR (KBr) : 3000 - 3700, 2900, 2850, 1616, 1525, 823, 782 cm⁻¹ (図 3 参照)

NMR による解析等から、得られた成分はプロアントシアニジン系ポリフェノールと考えられる。

40

【0036】

(実施例 3) 経口投与によるマウス移植癌に対する抗腫瘍性試験

ICR マウス (5 週令、雌、6 匹/群) の片足皮下に、予めマウス腹腔に投与して増殖させた癌細胞 (腫瘍細胞株 : Sarcoma 180 細胞。37 で継代培養した。) を 5 x 10⁶ cells/mouse の割合で移植した。癌細胞移植後 10 日間、1 日 1 回、実施例 2 で得られた抽出物 I の 10 mg/mL 濃度の水溶液を、当該抽出物 I 100 mg/kg の割合で経口投与した。また、対照群には、生理食塩水を与えた。5 週間にわたって半週間毎に腫瘍塊の大きさを計測した。5 週間後、腫瘍塊を取り出し、重量を計測し、腫瘍増殖阻害率を求めた。その結果、実施例 2 で得られた抽出物 I の経口投与による腫瘍

50

増殖阻害率は38.3%であり、顕著な腫瘍増殖阻害活性が認められた。また、腫瘍容積の推移を図4に示す。

【0037】

(実施例4)

落花生の種皮1100mgを85℃の湯100ml中に1分30秒浸漬した後、抽出した赤血色液を濾過しビンにつめた。これを110℃で10分間加熱し、液内の空気を脱気した。脱気後、ステンレス王冠をして密栓打栓した。密栓打栓したビンづめ液を90℃の湯中に2時間浸漬し滅菌した。ビン内の液は加熱操作により透明な赤血色を呈する飲料となった。

【0038】

(実施例5)

落花生の種皮1500mgを、土びん中、水500mlでとろ火で30分間で約半量になるように調節して煎じた。赤血色液を濾過して抽出した液をヒト1日量とした。

【0039】

(実施例6)

落花生の種皮を99.9%エタノール、18℃においてアルコール容積の30%に沈下する量を入れ40日間静置した後、抽出液を凍結乾燥し粉末とした。

このようにして得られた粉末はそのまま本発明の抗腫瘍剤の有効成分として用いることができる。

【0040】

(実施例7)

実施例2で得られた抽出物I10gをトウモロコシデンプン490gと混合し水を加えて練合し、1mm×1mmの網目を有するスクリーンにて造粒して乾燥し顆粒剤とした。

本顆粒剤1g中には前記抽出物I20mgが含有されている。本顆粒剤は症状にあわせて1回5～10gを1日3回服用する。

【0041】

【発明の効果】

本発明によれば、抗腫瘍効果が高く、かつ毒性の少ない、真に有効な抗腫瘍剤を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】落花生種子の抽出物の高速液体クロマトグラフィーの結果を示す図である。

【図2】落花生種子の抽出物のNMRスペクトルを示す図である。

【図3】落花生種子の抽出物のIRスペクトルを示す図である。

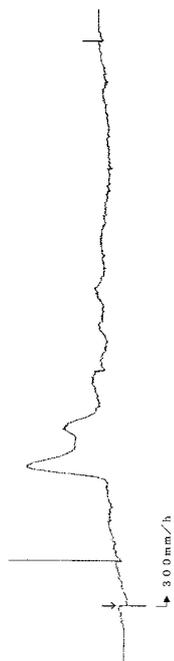
【図4】抗腫瘍性試験における腫瘍容積の推移を示す図である。

10

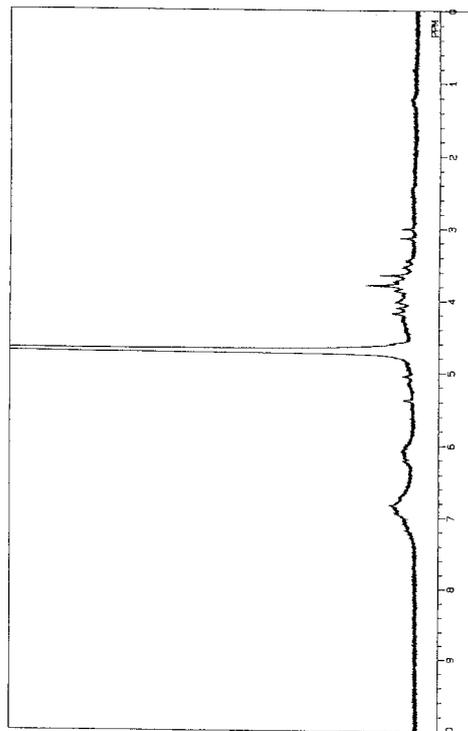
20

30

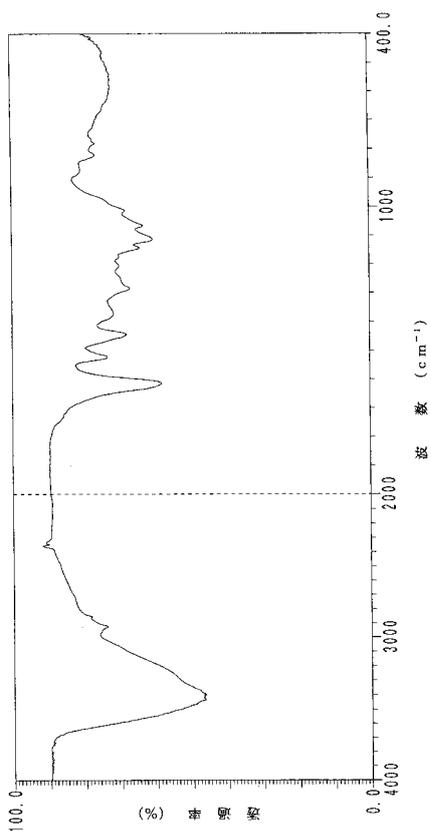
【 図 1 】



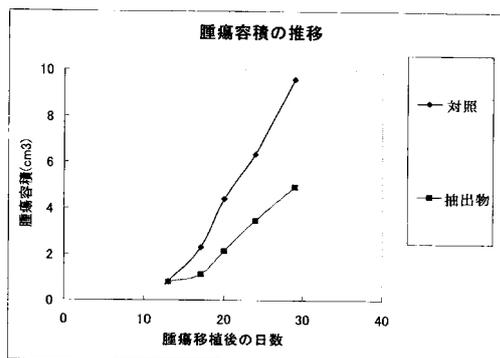
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



フロントページの続き

(74)代理人 100101904

弁理士 島村 直己

(72)発明者 吉原 昭雄

東京都港区西麻布4丁目13番23-804号

(72)発明者 太田 富久

石川県金沢市御所町1-310

Fターム(参考) 4B018 LB01 LB08 MD57 ME08 MF01

4C088 AB59 AC04 BA07 BA08 CA05 CA06 MA52 NA14 ZB26