

⑫ 公開特許公報(A)

平2-215351

⑤Int. Cl.⁵

A 23 J 7/00
A 23 L 1/30
1/33

識別記号

庁内整理番号

A
B

6712-4B
8114-4B
2114-4B※

④公開 平成2年(1990)8月28日

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全6頁)

⑤発明の名称 オキアミリン脂質の分取方法と脳機能改善効果を有する機能性食品と脳機能改善剤

②特 願 平1-34846

②出 願 平1(1989)2月14日

⑦発明者 丸山 一輝 東京都中央区月島3丁目2番9号 大洋漁業株式会社大洋研究所内

⑦発明者 西川 正純 東京都中央区月島3丁目2番9号 大洋漁業株式会社大洋研究所内

⑦発明者 木村 省二 東京都中央区月島3丁目2番9号 大洋漁業株式会社大洋研究所内

⑦出願人 大洋漁業株式会社 東京都千代田区大手町1丁目1番2号

⑦代理人 弁理士 大津 洋夫
最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

オキアミリン脂質の分取方法と脳機能改善効果を有する機能性食品と脳機能改善剤

2. 特許請求の範囲

(1) 生オキアミを真空凍結乾燥法により脱水したうえ、エタノールで総脂質を抽出し、得られた総脂質を、エタノール系溶媒、アセトン系溶媒、またはヘキサン系溶媒のいずれかを溶離液となし、シリカゲルを充填剤として、吸着カラムクロマトグラフィーを用いてホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンを分画し、これをフラクションコレクターにより単離するようにしたことを特徴とするオキアミリン脂質の分取方法。

(2) オキアミより単離したホスファチジルコリンもしくはホスファチジルエタノールアミンまたはこれらの誘導体のうち少なくとも一種以上を有効成分として食品基材に混入させるようにしたことを特徴とする脳機能改善効果を有する機能性食

品。

(3) オキアミより単離したホスファチジルコリンもしくはホスファチジルエタノールアミンまたはこれらの誘導体のうち少なくとも一種以上を有効成分として含有し構成させるようにしたことを特徴とする脳機能改善剤。

3. 発明の詳細な説明

「産業上の利用分野」

本発明は、オキアミからリン脂質を分離抽出する方法、特に、生体内において重要な生理活性を示すホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンを単離する方法であり、こうして分取されたホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミン等が、食品としてまたは薬品として利用可能なものである点に特徴を有する技術に関する。

「従来技術」

最近、高齢化社会を迎えて、老人性痴呆症が大

きな社会問題になっている。老人性痴呆症は、神経系の障害を原因として起こるアルツハイマー型痴呆症と、脳血管障害を原因として起こる脳血管性痴呆症との二つの型に大別できる。前者のアルツハイマー型痴呆症の場合には、脳内の神経化学的な変化として、神経伝達物質であるアセチルコリンの生産が著しく低下していることが知られており、この病気の予防や治療法として、低下したコリン系の代謝を補給することにより生理機能を回復せんとすることが行なわれている。例えば、PCT特許出願公表昭56-500374号「レシチンを投与することにより病気を治療するための方法および組成物」、特開昭59-167514号「脳機能亢進剤組成物」、特開昭60-214734号「神経障害及び走化の治療組成物および治療方法」等がそれである。

即ち、コリン含有リン脂質であるホスファチジルコリンを摂取することにより、脳内にアセチルコリンを供給し、これによりアルツハイマー型痴呆症やその他の神経障害の予防と治療が期待され

溶性区分と不溶性区分に分ける。当該アセトン可溶性区分には中性脂質、コレステロール、遊離脂肪酸等が分画されており、またアセトン不溶性区分にはリン脂質が分画されている。そこで、次に、アセトン不溶性区分を90%エタノールで処理して、アルコールに溶けるホスファチジルコリンと不溶性のホスファチジルエタノールアミンとを得る。

「発明が解決しようとする問題点」

しかし、上記のような、大豆を原料としたリン脂質の精製法の場合には、得られるホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンとも純度が70%~80%程度であり、90%以上の高純度の精製物を得ることはなかなか困難であった。また、上記のように、クロロホルムメタノールを使用する方法は、いかに精製分画しても有害成分が残留している恐れがあるため、食品には使用しにくいという問題があった。

本発明者は、オキアミが豊富な蛋白質資源とし

ている。

また、リン脂質の一種であるホスファチジルエタノールアミンはS-アデノシルメチオンニンからのメチル基移転反応によりホスファチジルコリンに変換される。従って、当該ホスファチジルエタノールアミンもアルツハイマー型痴呆症やその他の神経障害の予防と治療剤としての利用が期待されている。

本発明者は、特に、グリセロリン脂質である、これらホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンといったリン脂質に注目し、これを食品や薬品の原料として利用が可能な状態で工業的に分取する方法を研究開発せんとしたものである。

従来、天然物からリン脂質を工業的に精製する場合の原料といえば大豆が一般的であり、大豆リン脂質は主に健康食品等として、商品化されている。従来大豆リン脂質精製法は、まず原料大豆をクロロホルム・メタノール系の溶媒で総脂質を抽出し、次に当該総脂質をアセトンで分画し、可

で注目されているが、腐敗し易く、水分が多過ぎることから保存と運送にコストがかかり過ぎるとして、その有効な利用法が確立していないこと、また、オキアミにはリン脂質が多く含んでいるが、この有効成分であるリン脂質に着目して付加価値が高く経済性のある高額な機能性食品または医薬品等に利用しようとする技術開発が、いまだなされていないことに気が付いた。

そこで本発明者は、未利用の水産資源であるオキアミを原料として、これから有用なリン脂質を高純度で得ることができれば、オキアミの有効利用法として非常に有益であると考え、その精製法の研究開発を進め、完成したのが本発明である。

即ち、本発明は、オキアミを原料として、総脂質を分画し、得られた総脂質から高純度のホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミン等を精製単離することを特徴とする分取方法と、そうして得られた生理活性物質を用いて脳機能改善効果を有する機能性食品及び脳機能改善剤として利用する技術である。

「問題点を解決する手段」

本発明は、上記問題点を解決するため、次のような手段を採用したものである。

本発明は、生オキアミを真空凍結乾燥法により脱水したうえ、エタノールで総脂質を抽出し、得られた総脂質を、エタノール系溶媒、アセトン系溶媒、またはヘキサン系溶媒のいずれかを溶離液となし、シリカゲルを充填剤として、吸着カラムクロマトグラフィーを用いてリン脂質を分画し、これをフラクションコレクターにより単離するようにしたことを特徴とするオキアミリン脂質の分取方法である。

第一工程：船内急速凍結生オキアミのブロック中には、90%以上が水分であるため、脱水方法が問題になる。そこで本発明では、吸着カラムクロマトグラフィーを用いた分取の前処理として、真空凍結乾燥装置を用いて脱水し乾燥オキアミとする。このとき水分含量が6%以下になるように脱水乾燥するのが望ましい。すると、水溶性蛋白質のエタノール抽出物への混入が抑制できるの

アミンなどのオキアミリン脂質を分取する方法である。

次は、上記の方法でオキアミより単離した高純度のホスファチジルコリンもしくはホスファチジルエタノールアミンがいずれも脳機能を改善する生理機能活性物質であることに着目し、当該オキアミより単離した高純度のホスファチジルコリンもしくはホスファチジルエタノールアミンまたはこれらの誘導体のうち少なくとも一種以上を有効成分として食品基材に混入させるようにして脳機能改善効果を有する機能性食品とする。

また、オキアミより単離したホスファチジルコリンもしくはホスファチジルエタノールアミンまたはこれらの誘導体のうち少なくとも一種以上を有効成分として含有させるようにして脳機能改善剤となす。ここで、脳機能改善剤は、錠剤、カプセル、顆粒、液状などの形態として、薬品化することができるものである。

「作 用」

で、分別成分の純度を高めることができる。

第二工程：第一工程により得られた乾燥オキアミをエタノールでホモジナイズして総脂質を抽出する。

第三工程：次に総脂質からエタノールを出来るだけ除去したうえ、アセトン系溶媒、またはヘキサン系溶媒のいずれかを溶離液となし、可溶区分と不溶区分とに分画する。例えば、アセトン系溶媒の場合には、リン脂質の大部分は不溶区分にあるので、これから溶媒を洗浄すれば、粗リン脂質が得られる。

第四工程：この粗リン脂質をエタノール系溶媒、アセトン系溶媒、またはヘキサン系溶媒のいずれかを溶離液となし、吸着カラムクロマトグラフィーを用いてホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンに分画し、これからフラクションコレクターにより各リン脂質成分を90%以上95%前後の高純度にて単離する。

本発明は、以上のようにして高純度のホスファチジルコリンもしくはホスファチジルエタノール

アルツハイマー型痴呆症の場合には、脳内の神経化学的な変化として、神経伝達物質であるアセチルコリンの生産が著しく低下していることが知られており、この病気の予防や治療法として、低下したコリン系の代謝を補給することにより生理機能を回復せんとすることが行なわれている。

特に、人の場合、コリンまたはコリンに解離する天然産出化合物レシチンを経口投与した場合、脳アセチルコリンの合成および放出を増進するのに十分な容量の血液コリン量の増加をもたらすと同時に、脳脊髄液のコリン量も増加する生理機能のあることが解っている。

従って、オキアミからリン脂質であるホスファチジルコリンをいかに効率良く、しかも安全性を保って抽出するか、それを食品または薬剤として摂取することにより、脳内にアセチルコリンを供給し、これによりアルツハイマー型痴呆症やその他の神経障害の予防と治療を期待しようとするのが本発明である。

「実施例」

以下、本発明を実施例に基づき詳細に説明する。

<実施例 1.>

船内急速凍結生オキアミ 20 Kg を真空乾燥装置を用いて水分含量 4 % 前後になるまで乾燥させて乾燥オキアミ 2.2 Kg を得た。この原料である乾燥オキアミの脂質組成をイアトロスキャン法で分析した結果は、表 1. の通りであった。

次に、こうして得た乾燥オキアミ 2 kg をエタノール 40 kg でホモジナイズして総脂質の抽出を行なった。その後、再抽出はエタノール 20 kg で同様に行なった。

抽出物である総脂質を濃縮して、できるだけエタノールを除去した後、当該総脂質をアセトンに溶解し、可溶区分と不溶区分に分画する。すると大部分のリン脂質は不溶区分に区画される。そこで、当該不溶区分に分画された物質にアセトン洗浄を数回繰り返して、粗リン脂質 408 g を得た。

20 ml を自動注入した。溶離液はエタノール 100 % を流速 30 ml/min で流し、カラム恒温槽は 40 °C で、ピーク検出は紫外外部吸収検出器 (205 μm) を用いてモニターしたところ、第 1 図に示したクロマトグラムが得られたので、最初のピークの分画区分を A とし、2 番目の大きなピークの分画区分を B としてフラクションコレクターを用いて分取した。分画区分 B のホスファチジルコリンの純度はイアトロスキャン法で分析したところ 98 % 以上であった。1 バッチのサイクルタイムは 30 分で、原料溶液を 30 分毎に自動充填して 100 サイクルで約 50 時間要して、乾燥オキアミ 2 kg から高純度ホスファチジルコリンを約 239 g 分取した。

また、分画区分 A から同様に純度 95 % 以上の高純度のホスファチジルエタノールアミンを約 45 g 分取した。

<実施例 2.>

ウエクスラー方式の記憶ないし知能指数試験を

表 1. 乾燥オキアミの脂質組成

脂 質 組 成	重 量 %
ホスファチジルコリン	31.1
ホスファチジルエタノールアミン	7.5
トリグリセリド	43.2
遊離脂肪酸	6.5
その他	5.7

次に、前記粗リン脂質 400 g をエタノールに 2000 ml に溶解し、全自動分取型高速液体クロマトグラフィーに装着した分取カラム (カラム長さ×カラム径: 50 cm×50 mm、断面積 19.6 cm²) に粒径 10 μm の球状シリカゲル (吸着剤) を充填したものに、1 バッチ当たり

したところ記憶指数 123 であった記憶喪失にかかっている患者に、オキアミのから第 1 実施例にて分取した高純度ホスファチジルコリン (純度 98 %) を 6 週間に渡って 1 日 3 回食事毎に 10 g づつ食品に混入して経口投与した。

試験治療前と高純度ホスファチジルコリン摂取終了の 6 週間後に、患者からコリン測定用血液資料を採取しておき、血漿資料を分離し、凍結し、そしてそのコリン含量について慣用の放射性酵素法により分析した。その結果は、試験治療前採取した血液中の血漿コリン量が 13.4 ± 1.2 ナノモル/ml であったのに対し、高純度ホスファチジルコリン投与から 4 時間後に得られた血液中の血漿コリン量が 31.3 ± 2.5 ナノモル/ml に増加していた (P < 0.01)。

しかも、高純度ホスファチジルコリン摂取の 6 週間後には、患者の記憶指数は、142 に向上していた。

「効 果」

第1請求項に係る保護を受けようとする発明は、未利用の水産資源であるオキアミを原料として、これから有用なホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンを90%以上という高純度で精製単離することができる分取方法である。この分取方法は、精製単離成分が高純度であるというだけでなく、その精製過程において、毒性を持った溶剤などが一切使用されていないので、安全性が高く、食品や薬品などにも安心して利用できる点に特徴がある。

また、第2請求項、第3請求項に係る特許を受けようとする発明は、そうして得られたオキアミンリン脂質であるホスファチジルコリン及びホスファチジルエタノールアミンには、アルツハイマー病の予防と治療が期待できる脳機能を改善するという生理機能を有しているので、これを利用して脳機能改善効果を有する機能性食品及び脳機能改善剤となすことができる。

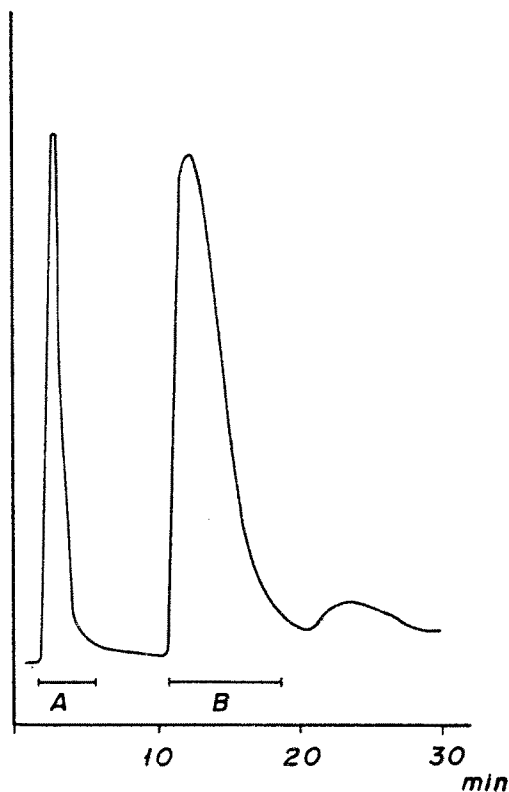
4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明に係るクロマトグラムが得られた組成成分の分画表である。

特許出願人 大洋漁業株式会社
代理人 弁理士 大津 洋 夫



第 1 図



Explore Litigation Insights

Docket Alarm provides insights to develop a more informed litigation strategy and the peace of mind of knowing you're on top of things.

Real-Time Litigation Alerts



Keep your litigation team up-to-date with **real-time alerts** and advanced team management tools built for the enterprise, all while greatly reducing PACER spend.

Our comprehensive service means we can handle Federal, State, and Administrative courts across the country.

Advanced Docket Research



With over 230 million records, Docket Alarm's cloud-native docket research platform finds what other services can't. Coverage includes Federal, State, plus PTAB, TTAB, ITC and NLRB decisions, all in one place.

Identify arguments that have been successful in the past with full text, pinpoint searching. Link to case law cited within any court document via Fastcase.

Analytics At Your Fingertips



Learn what happened the last time a particular judge, opposing counsel or company faced cases similar to yours.

Advanced out-of-the-box PTAB and TTAB analytics are always at your fingertips.

API

Docket Alarm offers a powerful API (application programming interface) to developers that want to integrate case filings into their apps.

LAW FIRMS

Build custom dashboards for your attorneys and clients with live data direct from the court.

Automate many repetitive legal tasks like conflict checks, document management, and marketing.

FINANCIAL INSTITUTIONS

Litigation and bankruptcy checks for companies and debtors.

E-DISCOVERY AND LEGAL VENDORS

Sync your system to PACER to automate legal marketing.