



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102946898 A

(43) 申请公布日 2013.02.27

(21) 申请号 201180029798.7 *A61K 36/06* (2006.01)
(22) 申请日 2011.06.07 *A61P 1/02* (2006.01)
(30) 优先权数据 *A61P 35/00* (2006.01)
2010-140026 2010.06.19 JP *A61P 43/00* (2006.01)
(85) PCT申请进入国家阶段日
2012.12.17
(86) PCT申请的申请数据
PCT/JP2011/062991 2011.06.07
(87) PCT申请的公布数据
W02011/158689 JA 2011.12.22
(71) 申请人 天野酶株式会社
地址 日本爱知县
(72) 发明人 山城宽 小山贵史
(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
代理人 金世煜 苗莹
(51) Int. Cl.
A61K 38/43 (2006.01)
A61K 35/74 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 1 页

(54) 发明名称

口腔内乙醛降低剂

(57) 摘要

本发明的课题在于提供一种对降低口腔内的乙醛有效果的新型酶剂。发现了酵母菌属微生物的醛脱氢酶和来自大肠杆菌的苏氨酸醛缩酶对降低低浓度的乙醛有效。本发明中提供一种将这些酶作为有效成分的口腔内乙醛降低剂。

1. 一种口腔内乙醛降低剂,包含醛脱氢酶或苏氨酸醛缩酶。
2. 根据权利要求1所述的口腔内乙醛降低剂,其特征在于,醛脱氢酶来自酵母菌属微生物。
3. 根据权利要求2所述的口腔内乙醛降低剂,其中,酵母菌属微生物为酿酒酵母。
4. 根据权利要求1所述的口腔内乙醛降低剂,其特征在于,苏氨酸醛缩酶来自大肠杆菌。
5. 根据权利要求1~4中任一项所述的口腔内乙醛降低剂,其特征在于,对底物浓度 $1\ \mu\text{M}$ ~ 1mM 的乙醛显示分解活性。
6. 根据权利要求1~4中任一项所述的口腔内乙醛降低剂,其特征在于,对底物浓度 $1\ \mu\text{M}$ ~ $100\ \mu\text{M}$ 的乙醛显示分解活性。
7. 一种口腔用组合物,包含权利要求1~6中任一项所述的口腔内乙醛降低剂。
8. 一种方法,通过使权利要求7所述的口腔用组合物作用于唾液,从而降低唾液中的乙醛。
9. 根据权利要求8所述的方法,其中,所述方法对降低口腔内的臭气有效。
10. 根据权利要求8所述的方法,其中,对预防乙醛成为原因或一个原因的癌有效。

口腔内乙醛降低剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种口腔内乙醛降低剂。详细而言,涉及利用乙醛分解酶来降低口腔内的乙醛的制剂及其用途。本申请主张基于2010年6月19日申请的日本特许申请第2010-140026号的优先权,通过参照援引该专利申请的全部内容。

背景技术

[0002] 就唾液中的乙醛而言,不仅已报告成为口臭的原因,而且近年来还报告会提高上消化道器官癌等的疾病风险。唾液中的乙醛的由来各种各样,但是作为代表性的乙醛而言的如下乙醛近年来尤其被视为问题,即,因饮酒时的醇代谢而产生的乙醛、因吸烟而产生的乙醛、或来自口中的牙周病菌的乙醛。

[0003] 其中,饮酒时,在乙醇分解过程中作为代谢产物的乙醛被蓄积在唾液中,成为食道癌和胃癌的风险因素。已报告尤其对于喝酒面红者(乙醛脱氢酶基因为AG型和GG型的人)而言,由于饮酒而导致唾液中的乙醛浓度上升至将近100 μ M。

[0004] 还已知由于吸烟而导致增加唾液中的乙醛浓度增加。认为烟草的烟雾中所含的乙醛是其一个原因(香烟烟雾的过滤(大谷吉生著),吸烟科学研究的发展历程:1996年~2005年,三须良实、上里一郎、大和田英美、中尾一和、井谷舜郎编,吸烟科学研究财团,2007年)。

[0005] 据东京大学的研究组所报告,如果喝酒面红者1天饮用1瓶以上的罐装啤酒且吸烟,则与不是喝酒面红者且既不饮酒也不吸烟的人相比,形成食道癌的风险最大提高190倍之多(Cui R, Kamatani Y, et. al. Functional variants in ADH1B and ALDH2 coupled with alcohol and smoking synergistically enhance esophageal cancer risk. Gastroenterology 137:1768-1775 (2009))。

[0006] 在流行病学的调查中已经明确在口腔的细菌中存在合成乙醛的细菌,来自该细菌的乙醛成为口臭,食道、胃等上消化道器官癌的风险因素(平成21年度在日本癌(cancer)学会中发表)。根据爱知县癌中心研究所(名古屋市)进行的以约3800人为对象的流行病学调查的结果,1天刷牙2次以上的人形成口腔癌、食道癌的危险性比1天刷牙1次的人低3成。认为这是由于利用牙膏可冲洗掉口腔中产生乙醛的细菌或所产生的乙醛。

[0007] 然而,作为除去唾液、食品中的乙醛的方法,有使用L-半胱氨酸(非专利文献1)、来自微生物的乙醛氧化酶的方法(专利文献1)。前者是利用了L-半胱氨酸与乙醛键合的性质的方法。但是,该反应是可逆反应,有乙醛再次游离的可能性。另外,因L-半胱氨酸本身具有特有的气味,所以难以应用于口腔护理产品。另一方面,虽然来自微生物的乙醛氧化酶有不要求辅酶这样的优点,但存在伴随着该反应会产生有害的过氧化氢这样的问题。另外,上述报告中的来自微生物的乙醛氧化酶在酸性条件下显示活性(pH3.5附近),而在生理条件下的反应性不明。进而,该酶的反应性只不过仅对较高浓度(mM级)的底物得到确认而已。唾液中所含的乙醛浓度通常为 μ M级,由于酶反应对 K_m 以下的浓度的底物反应性降低,所以期望开发对低浓度底物具有充分活性的酶。应予说明,有报告称来自葡糖杆菌

(Gluconobacter) 属微生物的超氧化物歧化酶显示出乙醛分解活性(专利文献 2)。

[0008] 专利文献

[0009] 专利文献 1 :日本特开 2010-57482 号公报

[0010] 专利文献 2 :日本特开 2010-110248 号公报

[0011] 非专利文献

[0012] 非专利文献 1 :Salaspuro V、Hietala J、Kaihoavaara P, et. al., Int J Cancer. 2002 Jan 20;97 (3):361-4。

发明内容

[0013] 如上所述,可判明口腔内(口中)乙醛会引起健康问题的风险,要求开发能够分解除去该乙醛的口腔护理产品。因此,本发明的课题在于提供一种对降低口腔内乙醛有效果的新型酶剂。

[0014] 本发明人等为了发现对降低口腔内的乙醛有效果的酶,使用人工唾液进行了深入研究。其结果是,确认醛脱氢酶(Aldehyde Dehydrogenase)和苏氨酸醛缩酶(Threonine Aldolase)在低底物浓度下的良好活性,从而完成了如下所述的本发明。

[0015] [1] 一种口腔内乙醛降低剂,包含醛脱氢酶或苏氨酸醛缩酶。

[0016] [2] 如[1]记载的口腔内乙醛降低剂,其特征在于,醛脱氢酶来自酵母菌属微生物。

[0017] [3] 如[2]记载的口腔内乙醛降低剂,酵母菌属微生物为酿酒酵母。

[0018] [4] 如[1]记载的口腔内乙醛降低剂,其特征在于,苏氨酸醛缩酶来自大肠杆菌。

[0019] [5] 如[1]~[4]中任一项记载的口腔内乙醛降低剂,其特征在于,对底物浓度 $1 \mu\text{M} \sim 1\text{mM}$ 的乙醛显示分解活性。

[0020] [6] 如[1]~[4]中任一项记载的口腔内乙醛降低剂,其特征在于,对底物浓度 $1 \mu\text{M} \sim 100 \mu\text{M}$ 的乙醛显示分解活性。

[0021] [7] 一种口腔用组合物,包含[1]~[6]中任一项记载的口腔内乙醛降低剂。

[0022] [8] 一种方法,通过使[7]所记载的口腔用组合物作用于唾液,从而降低唾液中的乙醛。

[0023] [9] 如[8]记载的方法,其中,所述方法对降低口腔内的臭气有效。

[0024] [10] 如[8]记载的方法,对预防乙醛成为原因或一个原因的癌有效。

附图说明

[0025] 图 1 是表示在人工唾液中分别添加酶时的乙醛浓度的图。用 Nash 法来对各酶的活性进行评价。AD 表示醛脱氢酶、TA 表示苏氨酸醛缩酶、BSA 表示牛血清白蛋白。

[0026] 图 2 是表示在人工唾液中分别添加酶时的乙醛浓度的经时变化的图。用 GC-MS 来对各酶的活性进行评价。AD 表示醛脱氢酶、TA 表示苏氨酸醛缩酶、BSA 表示牛血清白蛋白。

具体实施方式

[0027] 在本说明书中,所谓“口腔内乙醛降低剂”是指预定在口腔内应用的、通过该使用能够降低口腔内(更具体而言是唾液中)的乙醛浓度的酶剂。应予说明,在本说明书中,将术语“口腔内”和术语“口中”作为可以交换的术语进行使用。

[0028] 1. 乙醛降低剂

[0029] 本发明的第 1 方面涉及口腔内乙醛降低剂(以下,为了便于说明简称为“降低剂”)。本发明的降低剂包含醛脱氢酶或苏氨酸醛缩酶作为有效成分。可以并用这两种酶。作为醛脱氢酶,优选使用来自酵母菌属微生物(例如酿酒酵母)的醛脱氢酶。来自酿酒酵母的醛脱氢酶可以从 Sigma Aldrich 公司、Roche-Diagnostics 公司、Merck 公司等得到。另一方面,作为苏氨酸醛缩酶,优选使用来自大肠杆菌的苏氨酸醛缩酶(例如,参照 Eur. J. Biochem, 255, 220-226 (1998))。

[0030] 本发明的降低剂能够发挥作用的乙醛浓度(底物浓度)没有特别限定,优选为 $1\ \mu\text{M} \sim 1\text{mM}$,更优选为 $1\ \mu\text{M} \sim 100\ \mu\text{M}$ 。应予说明,本发明的降低剂的活性强度(程度)没有特别限定。

[0031] 本发明的降低剂除了有效成分(醛脱氢酶或苏氨酸醛缩酶)之外,还可以含有赋型剂、缓冲剂、悬浮剂、稳定剂、pH 调节剂、保存剂、防腐剂、香料、增稠剂、油脂、上光剂、粘合剂、粘合增强剂、乳化稳定剂、生理盐水等。作为赋型剂,可以使用淀粉、糊精、麦芽糖、海藻糖、乳糖、D-葡萄糖、山梨糖醇、D-甘露糖醇、白糖、甘油等。作为缓冲剂,可以使用磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐等。作为稳定剂,可以使用丙二醇、抗坏血酸等。作为 pH 调节剂,可以使用衣康酸、琥珀酸、酒石酸、富马酸、柠檬酸、苹果酸、己二酸、葡糖酸、焦磷酸、乙酸、乳酸、 α -酮戊二酸、植酸等有机酸或有机酸盐;碳酸等无机酸或无机酸盐;天门冬氨酸、谷氨酸等酸性氨基酸;精氨酸、赖氨酸、组氨酸等碱性氨基酸等。作为保存剂,可以使用苯酚、苯扎氯铵、苯甲醇、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯等。作为防腐剂,可以使用乙醇、苯扎氯铵、对羟基苯甲酸、氯丁醇等。作为香料,可以使用麝香、灵猫香、海狸香、龙涎香等动物性香料;茴香精油、当归精油、依兰精油、鸢尾花精油、小茴香精油、甜橙精油、卡南加精油、香芹精油、豆蔻精油、愈创木精油、孜然精油、钓樟精油、桂皮精油、肉桂精油、老鹤草精油、古巴香脂精油、芫荽精油、紫苏精油、雪松精油、香茅精油、茉莉精油、姜草精油、杉树精油、留兰香精油、西洋薄荷精油、八角茴香精油、晚香玉精油、丁香精油、橙花精油、冬青精油、妥卢香脂精油、广藿香精油、玫瑰精油、玫瑰草精油、丝柏精油、罗汉柏精油、檀香精油、苦橙叶精油、月桂精油、岩兰草精油、香柠檬精油、秘鲁香脂精油、蔷薇木精油、伽罗木精油、柑橘精油、桉树精油、莱姆精油、薰衣草精油、芳樟醇精油、柠檬草精油、柠檬精油、迷迭香精油、日本薄荷精油等植物性香料;其它合成香料等。作为增稠剂,可以使用天然高分子或淀粉系或者纤维素系天然高分子衍生物等。作为天然高分子,例如,可举出褐藻糖胶、卡拉胶等海藻提取物、瓜尔胶等种子粘出物、阿拉伯树胶等树脂状胶粘物、或黄原胶等微生物产生的胶粘物质等。作为淀粉系或纤维素系天然高分子衍生物,例如,可举出磷酸淀粉等淀粉系或甲基纤维素系纤维素的天然高分子衍生物。作为油脂,例如,可以使用鳄梨油、亚麻子油、杏仁油、小茴香油、紫苏油、橄榄油、甜橙油、罗非鱼油、可可脂、洋甘菊油、胡萝卜油、黄瓜油、椰子油、芝麻油、米糠油、红花油、乳木果脂、液态乳木果脂、大豆油、山茶油、玉米油、菜籽油、桃仁油、蓖麻油、葵花籽油、葡萄籽油、棉籽油、花生油、鳖油、貂油、蛋黄油、棕榈油、棕榈仁油、日本蜡、椰油、牛油、猪油等。另外,也可以利用对这些油脂进行加氢、分级、酯交换等处理来改性而成的油脂。作为上光剂,可以使用蜂蜡、巴西棕榈蜡、鲸蜡、羊毛脂、液态羊毛脂、还原羊毛脂、硬质羊毛脂、小烛树蜡、褐煤蜡、紫胶蜡、米糠蜡、角鲨烯、角鲨烷、姥鲨烷等蜡类(植物性、动物性均可);液体石蜡、凡士林、石蜡、地蜡、纯地蜡、微晶蜡等矿物油。作为粘合剂,可

以使用大豆蛋白质、卵蛋白、乳蛋白、血蛋白、酪蛋白、淀粉、转谷氨酰胺酶等。作为粘合增强剂,可以使用聚磷酸盐等。作为乳化稳定剂,可以使用酪蛋白钠等。

[0032] 在一个方式中,本发明的降低剂由产生本发明的酶(醛脱氢酶或苏氨酸醛缩酶)的微生物的菌体破碎物构成。即,该方式的降低剂包含规定的微生物的菌体破碎物。可以将菌体破碎液(通常可利用由微生物的培养、集菌及菌体破碎构成的一系列工序而得到)直接用作菌体破碎物。另一方面,也可以将菌体破碎液提供给进一步的处理(精制处理、冷冻处理、干燥处理、添加其它成分等)后用作菌体破碎物。

[0033] 2. 降低剂的用途

[0034] 本发明的第2方面涉及本发明的降低剂的用途。本发明的降低剂即使在低底物浓度下也能够发挥作用。因此,适于在底物(即乙醛)以低浓度存在的口腔内使用。因此,本发明提供一种含有本发明的降低剂作为有效成分并被用于口腔护理的口腔用组合物。在本说明书中“口腔护理”是指改善口腔内的环境。如果使本发明的口腔用组合物作用于唾液,则能够降低唾液中的乙醛。通过该“降低乙醛”的效果,可实现口腔内的环境改善,例如,实现臭气的降低、乙醛成为原因或一个原因的上消化道器官癌(咽癌、喉癌、食道癌、胃癌、十二指肠癌等)的预防。

[0035] 只要能够实现作用于唾液这样的使用方式,口腔用组合物的形式就没有特别限定。如果例示口腔用组合物的形态,则为口香糖、糖果、营养补充食品(增补剂、营养饮料等)、口腔清洁剂(例如牙膏粉、保湿牙膏、牙膏、液体牙膏)。也可以以包含本发明降低剂的一般食品(谷类、蔬菜、食用肉、各种加工食品、糕点类、牛奶、清凉饮料水、酒精饮料等)、食品添加物的形态来构成本发明的口腔用组合物。另外,也可以提供本发明的口腔用组合物作为用于致癌预防的医药品。此时的剂型也没有特别限定。剂型的例子是片剂、散剂、细粒剂、颗粒剂、糖浆剂。

[0036] 对于本发明的口腔用组合物而言,为了得到期待的效果而含有必要量的有效成分。本发明的口腔用组合物中的有效分量可以考虑口腔用组合物的形态·形状、应用对象、使用频率等进行适当设定。例如,以给予(应用)所希望的量的有效成分的方式,将有效分量设为例如约0.1重量%~约95重量%的范围内。

[0037] 通常,除了作为有效成分的降低剂之外,还可以根据其形态而包含各种成分。例如,使用作为代表性形态的牙膏时,可以包含粘稠剂(保湿剂)、粘结剂、表面活性剂、甜味剂、香料、防腐剂、研磨剂、pH调节剂、螯合剂、氟化物、酶等,可以根据需要而适当地选择它们。作为粘稠剂,可举出山梨醇、甘油、乙二醇、丙二醇、1,3-丁二醇、聚乙二醇、聚丙二醇、木糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇等。作为粘结剂,可举出羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟甲基纤维素、羧甲基羟甲基纤维素钠、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮等合成粘结剂,黄原胶、卡拉胶、藻酸等天然系粘结剂,硅胶、铝硅胶、硅酸铝镁(Veegum)、硅酸镁锂(Laponite)等无机粘结剂。作为表面活性剂,可以使用阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、非离子性表面活性剂以及两性离子表面活性剂中的任一种。作为阴离子表面活性剂,可举出十二烷基硫酸钠,N-月桂酰肌氨酸钠,十二烷基苯磺酸钠, α -磺基脂肪酸烷基酯钠,十四烷基硫酸钠,N-肉豆蔻酰肌氨酸钠,氢化椰油脂肪酸单甘酯单硫酸钠,月桂醇磺基乙酸酯钠, α -烯基磺酸钠,N-月桂酰谷氨酸钠、N-棕榈酰谷氨酸钠等N-酰基谷氨酸盐、N-甲基-N-酰基牛磺酸钠等N-酰基牛磺酸盐等。作为非离子表面活性剂,可举出蔗糖脂

肪酸酯、聚氧乙烯氢化蓖麻油等聚氧乙烯脂肪酸酯,聚甘油脂肪酸酯,烷基糖苷类,山梨糖醇酐脂肪酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐单硬脂酸酯等聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯,烷基二甲基氧化胺,麦芽糖醇脂肪酸酯、乳醇脂肪酸酯等糖醇脂肪酸酯,烷基醇酰胺、十二烷基单或二乙醇酰胺等脂肪酸乙醇酰胺,聚氧乙烯高级醇醚,聚氧乙烯聚氧丙烯共聚物,聚氧乙烯聚氧丙烯脂肪酸酯,或者普朗尼克等。另外,作为两性离子表面活性剂,可举出烷基二甲基氨基乙酸甜菜碱、脂肪酸酰胺丙基二甲基氨基乙酸甜菜碱等乙酸甜菜碱型, N- 脂肪酸酰基-N- 羧甲基-N- 羟乙基乙二胺盐等咪唑啉型, 2- 烷基-N- 羧甲基-N- 羟乙基咪唑啉甜菜碱, N- 十二烷基二氨基乙基甘氨酸、N- 十四烷基二氨基乙基甘氨酸等 N- 烷基二氨基乙基甘氨酸,或者 N- 烷基-1- 羟乙基咪唑啉甜菜碱钠等。作为甜味剂,可举出糖精钠、甜菊苷、新橙皮苷二氢查耳酮、甘草甜素、紫苏萜、索马甜、天冬氨酰苯丙氨酸甲酯、对甲氧基肉桂醛(p-methoxycinnamic aldehyde)、蔗糖、果糖、环己胺基磺酸钠、甜菊提取物、沙马汀等。作为香料,可举出留兰香油、薄荷油、冬绿油、黄樟油、丁香油、桉树油、鼠尾草油、牛至油、百里香油、柠檬油、甜橙油、迷迭香油、桂皮油、多香果油、桂叶油、紫苏油、冬青油、1- 薄荷醇、香芹酮、茴香脑、水杨酸甲酯、丁香酚、柠檬烯、正癸醇、香茅醇、 α - 松油醇、香茅醇乙酸酯、桉树脑、芳樟醇、乙基芳樟醇、香草醛或百里酚等。作为研磨剂,可以使用结晶二氧化硅、无定形二氧化硅、其它二氧化硅系研磨剂、硅铝酸盐、氧化铝、氢氧化铝、不溶性偏磷酸钠、不溶性偏磷酸钾、二氧化钛、磷酸氢钙二水合物、重质碳酸钙、轻质碳酸钙等无机原材料,除此之外,还可以使用聚乙烯、聚丙烯、聚丁烯等聚烯烃系树脂,聚氯乙烯、聚偏氯乙烯等含卤素系树脂,甲基丙烯酸树脂等丙烯酸系树脂,聚乙酸乙烯酯或其皂化物的缩甲醛树脂、尼龙等聚酰胺树脂,苯乙烯树脂, EVA 树脂,硅酮树脂,天然橡胶,聚异戊二烯橡胶,硅橡胶,纤维素等树脂。作为 pH 调节剂,可以使用衣康酸、琥珀酸、酒石酸、富马酸、柠檬酸、苹果酸、己二酸、葡萄糖酸、焦磷酸、乙酸、乳酸、 α - 酮戊二酸、植酸等有机酸或有机酸盐;碳酸等无机酸或无机酸盐;天门冬氨酸、谷氨酸等酸性氨基酸;精氨酸、赖氨酸、组氨酸等碱性氨基酸等。作为螯合剂,可以使用焦磷酸钠、三聚磷酸钠、EDTA 等。作为杀菌剂,可以使用三氯生、十六烷基氯化吡啶鎓、苯扎氯铵、苄索氯铵等。作为酶,可并用葡聚糖酶、淀粉酶、蛋白酶、变聚糖酶、溶菌酶、溶解酶、分解酶(Lytic enzyme) 等来使用。作为氟化物,可举出氟化钠、氟化亚锡等。除此之外,还可以含有氯己定盐类、羟基胆固醇、甘草次酸盐类、甘草次酸、绿藻类(Chlorophyceae)、海狗提取物(caropeptide)、维生素类、甘菊环、氯化溶菌酶、防牙石剂、防牙垢剂、硝酸钾等有效成分或药效成分。应予说明,配合量可适当使用。

[0038] 本发明的口腔用组合物被应用的对象没有特别限定。作为此处的对象,除了人之外,还可举出人以外的哺乳动物(包括宠物动物、家畜、实验动物。具体而言,例如,可举出猴、小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、猴、牛、猪、山羊、绵羊、马、鸡、羊、鲸、海豚、狗、猫等)。

[0039] 本发明的口腔用组合物的一个方式还含有本发明的降低剂中使用的酶以外的乙醛分解酶作为有效成分之一。即,在该方式中,将其加入到醛脱氢酶或苏氨酸醛缩酶中,使用其它乙醛分解酶,使其发挥相加效果或协同效果。作为此处的“其它乙醛分解酶”,可举出苯甲酰甲酸脱羧酶(benzoylformate decarboxylase)、鼠李树胶糖-1- 磷酸醛缩酶(rhamnulose-1-phosphate aldolase)、脱氧核糖磷酸醛缩酶(deoxyribose-phosphate aldolase)、丁醛脱氢酶(butanaldehydogenase)、羧酸还原酶(carboxylate reductase),扁桃腈裂解酶(mandelonitrile lyase)、1,5- 脱水-D- 果

糖还原酶(1,5-anhydro-D-fructose reductase)、3-甲基丁醛还原酶(3-methylbutanal reductase)、吲哚-3-乙醛还原酶(indole-3-acetaldehyde reductase)、葡萄糖酸 2-脱氢酶(gluconate 2-dehydrogenase)、甘油脱氢酶(glycerol dehydrogenase)、乙醛酸还原酶(glyoxylate reductase)、羰基还原酶(carbonyl reductase)、芳基醇还原酶(aryl-alcohol reductase)、甲基乙二醛还原酶(methylglyoxal reductase)、乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase)、醛还原酶(aldehydereductase)、乙偶姻脱氢酶(acetoin dehydrogenase)、甘油醛-3-磷酸还原酶(glyceraldehyde-3-phosphate reductase)、丙二酸半醛脱氢酶(malonate-semialdehyde dehydrogenase)、氨基丁醛脱氢酶(aminobutyraldehyde dehydrogenase)、乳醛脱氢酶(lactaldehydedehydrogenase)、L-氨基己二酸半醛脱氢酶(L-aminoadipate-semialdehyde dehydrogenase)、4-三甲基氨基丁醛脱氢酶(4-trimethylammonibutyraldehyde dehydrogenase)、氨基粘康酸半醛脱氢酶(aminomuconate-semialdehyde dehydrogenase)、视黄醛脱氢酶(retinal dehydrogenase)、谷氨酸-5-半醛脱氢酶(glutamate-5-semialdehyde dehydrogenase)、甜菜碱醛脱氢酶(betain-aldehyde dehydrogenase)、1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶(1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase)、氟乙醛脱氢酶(fluoroacetaldehyde dehydrogenase)、琥珀酸半醛脱氢酶(succinate-semialdehyde dehydrogenase)、甲醛脱氢酶(formaldehydedehydrogenase)、葡糖醛脱氢酶(glucoaldehyde dehydrogenase)、苯醛脱氢酶(phenylacetaldehyde dehydrogenase)、甲基丙二酸半醛脱氢酶(methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase)、黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase)、丙酮酸氧化酶(pyruvate oxidase)、吲哚-3-乙醛氧化酶(indole-3-acetaldehyde oxidase)、甲醛歧化酶(formaldehydedismutase)、2-羟基-3-氧代己二酸合酶(2-hydroxy-3-oxoadipatesynthase)、甲醛转酮酶(formaldehyde transketolase)、氧化转氨酶(oxiaminotransferase)、醛铁氧还蛋白氧化还原酶(aldehydeferredoxin oxidoreductase)、乳酸醛缩酶(lactate aldolase)、丙酮酸脱羧酶(pyruvate decarboxylase)、苯丙酮酸脱羧酶(phenylpyruvatedecarboxylase)、苯偶姻醛缩酶(benzoin aldolase)、丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase)、醌蛋白甲醛脱氢酶(quinoprotein formaldehyde dehydrogenase)、2,5-二氧代戊酸脱氢酶(2,5-dioxovalerate dehydrogenase)等。

[0040] 以下,示出使用了乙醛分解酶的与降低乙醛相关的实验的结果。

[0041] 实施例

[0042] (人工唾液)

[0043] 人工唾液中使用了 0.51%w/v NaHCO₃、0.137%w/v K₂HPO₄、0.088%w/v NaCl、0.048%w/v KCl、0.044%w/v CaCl₂·2H₂O (参照日本特开 2007-236233 号公报)。在实验中制成 2 倍浓度的人工唾液(2×saliva sol.)来使用。

[0044] (利用 Nash 法的乙醛检测)

[0045] 在包含乙醛的溶液(200 μl)中添加等量的 Nash 试剂(15%w/v 乙酸铵、0.5%v/v 乙酸、2%v/v 乙酰丙酮),在 55℃下反应 30 分钟后,测定 388nm 处的吸光度。初始乙醛浓度是以 10mM 进行的。

[0046] (利用 GC-MS 的乙醛检测)

[0047] 由于乙醛是反应性非常高的物质,所以转化成稳定的衍生物来进行检测。在包含乙醛的溶液(800 μ l)中添加 10mg/ml 的五氟苄基羟胺(以下,简称为“PFBOA”)160 μ l 和 10% 三氯乙酸(TCA)160 μ l,在冰上反应 30 分钟后,在室温下反应 1.5 小时以上。向其中加入 4- 溴氟苯(1mg/ml 甲醇溶液)10 μ l 作为内标,将样品 1ml 移入 GC-MS 用小瓶中。柱使用 HP-INNOWax (Agilent Technologies)。应予说明,将 GC-MS 的烘箱温度设定为 60 $^{\circ}$ C、将环境温度设定为 200 $^{\circ}$ C来进行测定。

[0048] 1. 醛降低的活性测定 1 (Nash 法)

[0049] 制备以下 3 个样品,比较降低乙醛的效果。使用牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin ;BSA)作为对照,制备 0.2mM Tris buffer (pH 8.0)、1 \times saliva sol.、10mM 乙醛、50 μ g/ μ l BSA 的混合液。另外,使用 20mM Tris buffer(pH 8.0)、1 \times saliva sol.、10mM 乙醛、50 μ g/ μ l AD、2.5mM NAD⁺ 的混合液作为醛脱氢酶(来自酿酒酵母,A6228,SigmaAldrich 公司。以下,简称为“AD”)的样品,使用 20mM 磷酸钠缓冲液(pH 7.0)、1 \times saliva sol.、10mM 乙醛、50 μ g/ μ l TA、100mM 甘氨酸的混合液作为苏氨酸醛缩酶(来自大肠杆菌, Eur. J. Biochem, 255, 220-226 (1998)。以下,简称为“TA”)的样品。将反应溶液量设为 200 μ l,在 37 $^{\circ}$ C 下反应 30 分钟。将结果示于图 1。苏氨酸醛缩酶、醛脱氢酶均显示出降低乙醛的活性。应予说明,乙醛浓度是基于所制成的标准曲线而算出的。

[0050] 2. 降低醛的活性测定 2 (GC-MS)

[0051] 与 Nash 法同样地,如下所述制备 3 个样品,比较降低乙醛的效果。

[0052] (1) BSA 样品 :18.8 μ g/ml BSA、1 \times saliva sol.、100 μ M 乙醛

[0053] (2) AD 样品 :20mM Tris buffer (pH 8.0)、18.8 μ g/ml AD、1 \times saliva sol.、100 μ M 乙醛、1mM NAD⁺

[0054] (3) TA 样品 :2.5mM 磷酸钠缓冲液(pH 7.0)、1 \times saliva sol.、100 μ M 乙醛、18.8 μ g/ μ l TA、100mM 甘氨酸

[0055] 将反应溶液量设为 800 μ l,使之在 37 $^{\circ}$ C 下进行反应。如图 2 所示,可见苏氨酸醛缩酶和醛脱氢酶有很强的降低乙醛的效果。即使乙醛为 50 μ M 这样的低浓度,也可显示致癌性(详细内容参照例如 US2008/0166394A1),这两种酶能够在 5 分钟以内将人工唾液中的乙醛浓度 100 μ M 降低至致癌性浓度以下。应予说明,乙醛浓度是基于所制成的标准曲线而算出的。

[0056] 如上所述,判明来自酿酒酵母的醛脱氢酶和来自大肠杆菌的苏氨酸醛缩酶对以低浓度存在的唾液中的乙醛发挥良好的作用。特别是,从对低浓度乙醛的分解活性和分解速度的角度出发,前者极其优异(图 2)。

[0057] 产业上的可利用性

[0058] 本发明的乙醛降低剂能够分解唾液中微量存在的乙醛。即,对降低口腔内的乙醛有效。本发明的乙醛降低剂能够适用于口腔护理领域、医药领域、食品领域等。

[0059] 该发明并不限于上述发明的实施方式和实施例的说明。在未脱离权利要求的记载且在本领域技术人员能够容易想到的范围内的各种变形方式也包含在该发明中。

[0060] 在本说明书中明示的论文、公开专利公报和专利公报等内容,通过援引引用其全部内容。

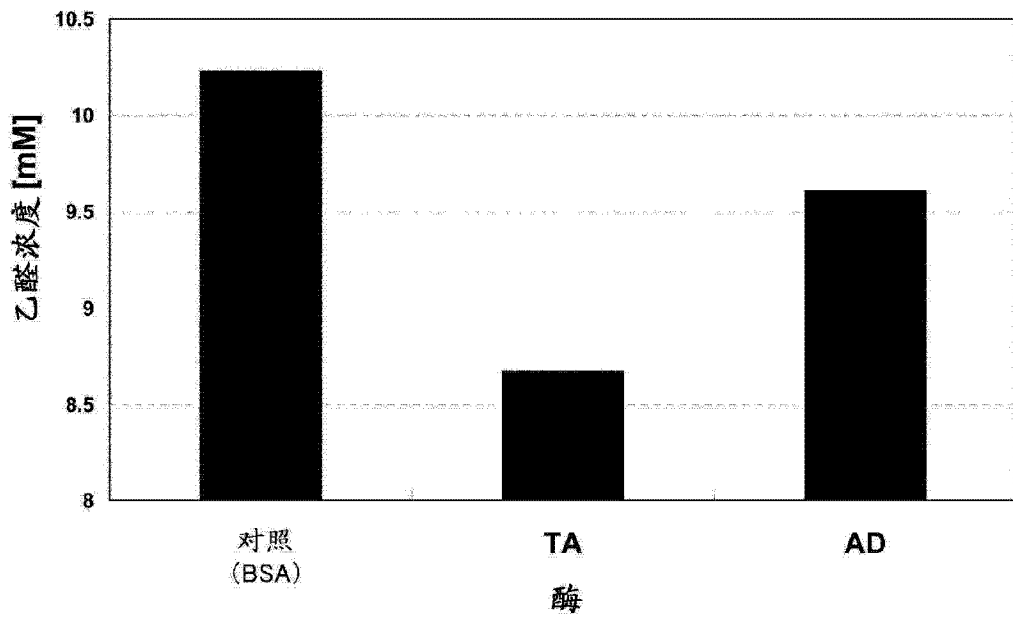


图 1

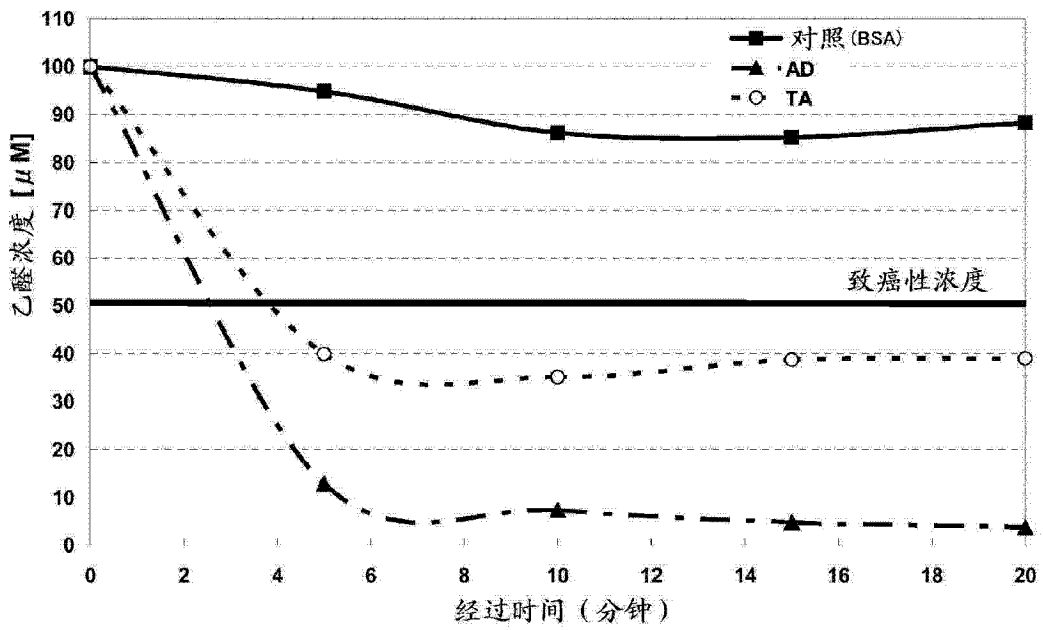


图 2