



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I388331B1

(45) 公告日：中華民國 102 (2013) 年 03 月 11 日

(21) 申請案號：098116658

(22) 申請日：中華民國 98 (2009) 年 05 月 20 日

(51) Int. Cl. : A61K35/60 (2006.01)

A61P39/06 (2006.01)

(30) 優先權：2008/05/20 日本

2008-131621

(71) 申請人：石井光 (日本) ISHII, HIKARU (JP)

日本

(72) 發明人：石井光 ISHII, HIKARU (JP)

(74) 代理人：洪武雄；陳昭誠

(56) 參考文獻：

JP 2006-166807A

Kim et al., " Isolation and Characterization of Antioxidative Peptides from Gelatin Hydrolysate of Alaska Pollack Skin" J.Agric Food Chem.2001.Vol.49 pp1984-1989 (如附件)。

審查人員：張子威

申請專利範圍項數：2 項 圖式數：3 共 0 頁

(54) 名稱

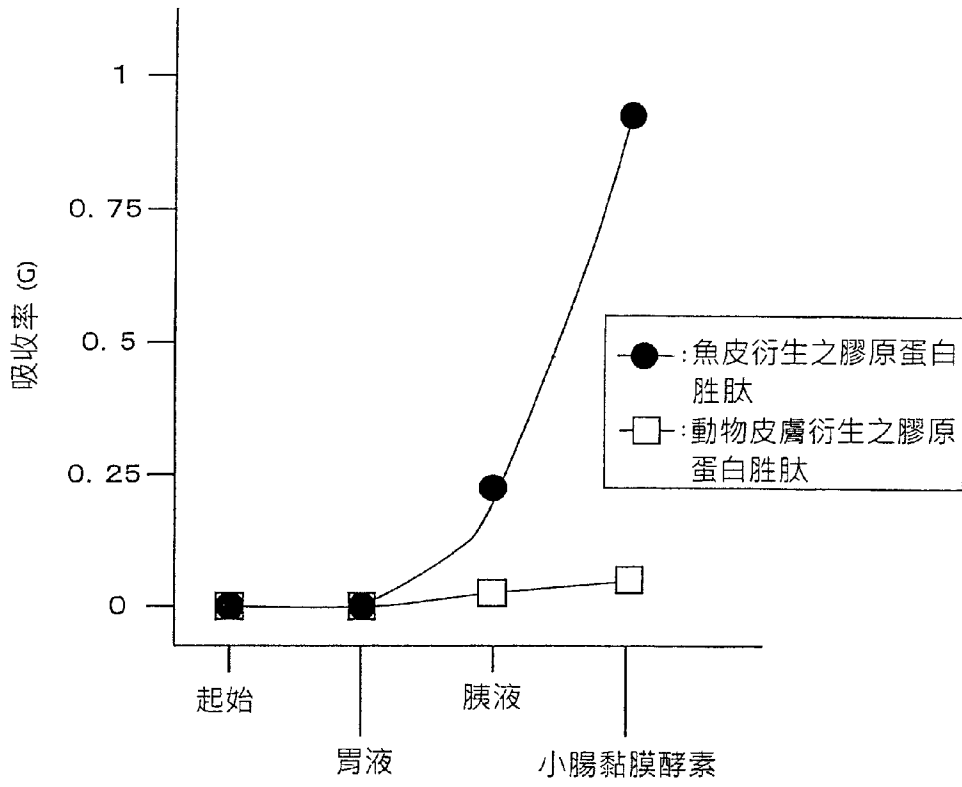
血管老化抑制劑及抗老化配方

VASCULAR AGING INHIBITOR AND ANTI-AGING FORMULATION

(57) 摘要

一種血管老化抑制劑，包含衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白作為必要成分，其中，該衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白之重量平均分子量為約 3,000。

A vascular aging inhibitor includes a low molecular weight collagen derived from fish skin as an essential component, wherein the weight average molecular weight of the low molecular weight collagen derived from fish skin is approximately 3,000.



第 1 圖

發明專利說明書 公告本

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：98116658

※ 申請日：98.5.20

※IPC 分類：

A61K 35/60 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

血管老化抑制劑及抗老化配方

VASCULAR AGING INHIBITOR AND ANTI-AGING FORMULATION

二、中文發明摘要：

一種血管老化抑制劑，包含衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白作為必要成分，其中，該衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白之重量平均分子量為約 3,000。

三、英文發明摘要：

A vascular aging inhibitor includes a low molecular weight collagen derived from fish skin as an essential component, wherein the weight average molecular weight of the low molecular weight collagen derived from fish skin is approximately 3,000.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

該代表圖無元件符號及其所代表之意義。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

本案無化學式。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於血管老化抑制劑及抗老化配方，尤其係關於展現高吸收率之血管老化抑制劑及抗老化配方。

【先前技術】

代謝功能係隨著年紀而惡化，造成疲勞增加及結構機能降低。因此，近年來，已進行以抗氧化劑(如維生素)、各種激素製劑、以及不飽和脂肪酸之經皮吸收及口服投藥作為潛在抗老化處理的各種試驗。然而，此等試驗僅表示抗老化處理之單一步驟。

另一方面，膠原蛋白(collagen)佔生物性蛋白質的1/3，且為生物結構中之主要結構蛋白質。又，現已知悉膠原蛋白不只具有作為生物體之支撐結構之簡單機械功能，亦在保護細胞及作為細胞間因子(intercellular factor)上扮演極為重要的生物性角色。

因此，JP 7-278012 A(於1995年10月24日公開)提出一種代謝促進劑，其包括膠原蛋白質或其水解產物作為必要成分。

【發明內容】

老化過程中，由於血管壁之細胞老化，血管趨於喪失彈性，且血小板及膽固醇堆積於血管壁，提高動脈硬化之可能性。

本發明係提供一種血管老化抑制劑及一種抗老化配方，其抑制血管老化及抑制動脈硬化。

本發明之血管老化抑制劑及抗老化配方具有下述特徵。

(1)根據本發明之一態樣，係提供一種血管老化抑制劑，其包括衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白作為必要成分，且復包括礦物質(如鈣及磷)、及各種維生素之任一者。

如上述，與得自其他原料之膠原蛋白相較，該衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白展現較高的吸收率。因此，該利於吸收之胺基酸胜肽係經重新組合(reassembled)，所得之活體內(in-vivo)膠原蛋白係促進血管壁之代謝作用。此造成內皮細胞自血管壁剝離，意指黏附於內膜之血小板及膽固醇亦逐步被移除，因此降低纖維斑(fibrous plaque)之量。結果，血管壁以實質上恆定之方式更新(renew)，且可抑制血小板及膽固醇之黏附。藉由定期投予包含衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白作為必要成分之血管老化抑制劑，可改善整個血管壁之彈性，並可預防血小板及膽固醇之黏附。

(2)根據本發明之其他態樣，係提供如上述(1)所揭示之血管老化抑制劑，其中，該衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白之重量平均分子量為約 3,000。

與較高分子量之膠原蛋白相較，上述低分子量膠原蛋白係藉由活體內酵素分解作用分解為更低分子量之胺基酸胜肽，因此，於體內之吸收率(例如經腸道吸收)非常高，意味著可增進血管壁再生過程之效率。

(3)根據本發明之另一態樣，係提供一種抗老化配方，

其中，如上述(1)或(2)所揭示之血管老化抑制劑係呈顆粒形式。

與膠囊或錠劑相較，製造呈顆粒形式之配方係促進該配方到達腸道時發生之酵素分解作用。

【實施方式】

本發明之血管老化抑制劑及抗老化配方之一實例係參照圖式而詳述如下。

依據原料，膠原蛋白可大致區分為動物皮膚衍生之膠原蛋白(如豬皮衍生之膠原蛋白及雞皮衍生之膠原蛋白)以及魚類衍生之膠原蛋白。與魚類衍生之膠原蛋白相較，已知動物皮膚衍生之膠原蛋白具有較高的致敏性(allergenicity)，因此，魚類衍生之膠原蛋白提供較優異的安全性。又，魚類衍生之膠原蛋白包含衍生自魚皮之膠原蛋白及衍生自魚鱗之膠原蛋白。魚鱗衍生之膠原蛋白係藉由使用強鹽酸化學處理硬質魚鱗而獲得，因此，不僅該膠原蛋白可能含有殘留的鹽酸，且因鹽酸會隨機切斷具生物活性之胺基酸胜肽鏈結，可能造成部分的所得膠原蛋白胜肽喪失其生物活性。反之，魚皮衍生之膠原蛋白可藉由適當的熱處理及特定酵素之選擇，而以無損失胺基酸胜肽鏈結生物活性的方式分解，因此，魚皮衍生之膠原蛋白不僅安全，且與魚鱗衍生之膠原蛋白相較，更能萃取具有優異生物活性之膠原蛋白胜肽。

又，衍生自動物皮膚之膠原蛋白通常具有哺乳動物特有的胺基酸序列，且與魚類衍生之膠原蛋白相較，衍生自

動物皮膚之膠原蛋白傾向於含有較大量之膠原蛋白特異胺基酸（已知為脯胺酸(proline)）。脯胺酸鍵結至羥基，以羥基脯胺酸之形式存在於膠原蛋白中，並具有顯現出比其他胺基酸更強的鍵結之特性。因為動物皮膚衍生之膠原蛋白比在魚類中發現者含有更高量之羥基脯胺酸，因此傾向於較難以分解。一般認為此現象係反映許多哺乳動物為陸生動物，該等哺乳動物為了在變異性極高的天氣及外來物體下保護其身體以存活的需要而使其皮膚具有胚胎學上的強化(embryologically toughened)。因此，如第 1 圖所示，儘管動物衍生之膠原蛋白及魚類衍生之膠原蛋白具有相同分子量，但與動物衍生之膠原蛋白相較，魚類衍生之膠原蛋白會進行更高程度之分解。換言之，魚類衍生之膠原蛋白顯示極高的活體內吸收率(參見 FOOD Style 21, 2003. 2, 第 85 至 88 頁)。

無論如何，活體內膠原蛋白通常於三個階段生成，該三個階段已知為：未成熟交聯、成熟交聯及老熟交聯(aged cross-linking)。於本說明書中，『未成熟交聯』意指高比例存在於胎兒或初生動物之膠原蛋白纖維中之分子內及分子間膠原蛋白交聯狀態，其易被酸溶解；『成熟交聯』意指在酸或熱的存在下為安定者，不會被硼氫化鈉還原，且包含交聯結構(例如吡啶啉(pyridinoline)或去氧吡啶啉(deoxypyridinoline))之交聯；以及『老熟交聯』意指經梅納反應(Maillard reaction)(亦稱為醣化反應(glycation reaction))進一步加工及受到活體內活性酵

素影響之交聯狀態(參見“The Collagen Story”，作者 Daisaburo FUJIMOTO, Tokyo Kagaku Dozin Co., Ltd. 發行，第 3 版，2006 年 7 月 3 日，第 73 至 100 頁)。

通常，隨著老化進行，構成血管壁之膠原蛋白中的老熟交聯之比例趨於增加。結果，血管壁中的膠原蛋白交聯程度增加，造成血管壁硬化，使血管本身的彈性喪失，且增加血管壁上之血小板及膽固醇之堆積，致使動脈硬化更可能發生。

舉例而言，第 3 圖係圖示說明動脈硬化已造成動脈管壁厚化及硬化的狀態。如第 3 圖所示，在罹患動脈粥狀硬化之動脈管壁中，內膜 20 存在於血管 10 之外膜 12 與基質 14 之內部，與內膜 20 相鄰之平滑肌細胞重複分裂，所得單核球(monocyte)滲透並堆積於內皮細胞中，接著，該單核球及該平滑肌細胞開始吞噬含於血液中的脂肪(主要是膽固醇)，造成內皮細胞亦開始堆積脂質。結果，該內皮細胞變大，而當內皮細胞層破裂時，血小板開始鍵結到暴露的膠原蛋白纖維，造成纖維斑 16 之生成與堆積，纖維斑 16 為凸出至血管 10 之內腔 18 之脂肪結構。於第 3 圖中，該等堆積的纖維斑 16 之厚度係以箭頭指示。通常，動脈粥樣硬化之治療係使用血管導管進行氣球擴張術及於血管中置入支架。然而，預防上述類型之動脈粥樣硬化之發生係為所欲者。近來進行藉由降低血管阻力之藥物治療以達到抗高血壓效果，或藉由降低血脂之藥物治療以改善高血脂症，但目前並無主張可直接作用於血管以提供達到血管修

復及再生之機轉之藥物治療。

因此，本發明具體例之血管老化抑制劑係包含膠原蛋白作為必要成分。

如上所述，與來自其他原料之膠原蛋白相較，衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白展現較高的吸收率，故使利於吸收的胺基酸胜肽重新組合，且所得之活體內膠原蛋白促進血管壁之代謝作用。此加速如第 3 圖所示類型的血管 10 之基質 14 之內腔 18 側的內皮細胞之代謝作用，且所致內膜之內腔 18 側上之細胞反轉(turnover)造成該等細胞剝離，其意味著形成於內膜上之纖維斑 16 亦被移除且被沖至血流中，於血流中該纖維斑可被當成廢棄產物處理並排出體外。

此外，藉由口服投予本發明具體例之血管老化抑制劑一段時間，可加速血管壁細胞之代謝作用，使整個血管壁之彈性改善，並顯著地抑制纖維斑 16 之生成。

另外，於本發明具體例之血管老化抑制劑中，前述衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白之重量平均分子量為約 3,000。因此，與較高分子量之膠原蛋白相較，該低分子量膠原蛋白係經由活體內酵素分解作用而分解為更低分子量之胺基酸胜肽，因此，於體內(例如經腸道吸收)之吸收率非常高，意味著可增進血管壁再生過程之效率。

可獲得魚類衍生之膠原蛋白之魚類的實例包含鰹魚(bonito)、鮪魚(tuna)、馬林魚(marlin)、鱈魚(cod)、真鱈(horse mackerel)、青花魚(mackerel)、鮭魚(salmon)、

鱒魚(trout)、秋刀魚(saury)、鰻魚(eel)、吳郭魚(tilapia)、單棘魷(thread-sail filefish)、石斑魚(grouper)、大比目魚(halibut)、小比目魚(flounder)、比目魚(sole)、鯡魚(herring)、沙丁魚(sardine)、鯊魚(sharks)、魷魚(rays)、河豚(blowfish)、青魷(yellow tail)、石狗公(scorpion fish)、岩礁魚(rockfish)及綠青鱈(pollock)，且較佳係使用其中一種該等魚類之魚皮膠原蛋白。

● 可用於分解膠原蛋白之蛋白質水解酶之實例包含中性蛋白酶、鹼性蛋白酶、酸性蛋白酶及胃蛋白酶。酵素分解作用典型地係藉由將膠原蛋白於酸性環境(例如 pH 值為 1.0 至 2.0)中，溫度範圍為 30°C 至 60°C 內，較佳為 40°C 至 50°C，培養 10 至 60 分鐘，較佳 15 至 40 分鐘的時間而進行。

● 上述酵素分解作用結果所得之酵素分解產物係以逆滲透膜處理，並回收成濃縮液體。至於該逆滲透膜，以具有 10% 至 50% 之鹽阻擋比例(salt blocking ratio)之膜為較佳，而商業上可得之膜之實例包含產品 NTR-7410、NTR-7430 及 NTR-7450(皆由 Nitto Denko Corporation 製造)。於液體濃縮期間，當液體通過該膜時，較佳係添加相當於原液體體積之 1 至 10 倍量之水。

第 2 圖顯示本發明明具體例之血管老化抑制劑所包含之魚皮衍生之低分子量膠原蛋白的重量平均分子量之測量結果。測量條件涉及於下述條件下使用 HPLC 分析方法。

管柱：TSK-凝膠保護管柱 PWXL，TSK-凝膠 G3000 PWXL，
TSK-凝膠 G2500 PWXL（皆由 Tosoh Corporation 製造）

移動相：0.5% (w/v)之 NaCl 水溶液

流動速率：0.8 毫升/分鐘(ml/min)

溫度：室溫(23°C)

檢測器：紫外線分光檢測儀(220 奈米(nm))

樣本：注入 10 微升(μ l)之 1 至 2%(w/v)之魚皮衍生
之膠原蛋白水溶液

標準樣本：注入 10 μ l 之含有三種標準品各 1% (w/v)
之水溶液，該等標準品為溶菌酶(衍生自雞蛋白，重量平均
分子量：14,300)、胰島素(衍生自牛胰臟，重量平均分子
量：5,733)、及緩激肽(bradykinin)(重量平均分子量：
1,240)(皆由 Sigma-Aldrich Co. 製造)。

再者，依據本發明具體例之抗老化配方為包含呈顆粒
形式之上述血管老化抑制劑之配方。與膠囊或錠劑相較，
製造呈顆粒形式之配方係促進該配方到達小腸時發生之酵
素分解作用。

實施例

使用操作實例之本發明血管老化抑制劑及抗老化配方
的說明如下。應留意本發明之範疇並不受下述實施例所限
制。

[抗老化配方顆粒之製備]

使用鱈形目(gadiformes)或鰈形目
(pleuronectiformes)之魚皮作為魚皮衍生之膠原蛋白的

原料，並使用胃蛋白酶作為分解酵素，pH 值調整為 1.5，然後於 40°C 之溫度進行酵素分解作用 20 分鐘。在用於 HPLC 分析方法之上述條件下之後續產物測量顯示魚皮衍生之膠原蛋白之重量平均分子量為 3,000。

[試驗例]

將得自上述製備物之抗老化配方顆粒每日一次口服投予至 12 個試驗受試者，每次投予量為足以提供 5.0 克(g) 之魚皮衍生之膠原蛋白。於開始投藥前分析該 12 個試驗受試者(於表 1 中標記為“試驗受試者 1”至“試驗受試者 12”)各者之血管狀態，然後在投藥 3 個月後再進行分析，該分析係使用超音波儀(LOGIQ 7 PRO，由 GE Co. 製造)來測量頸動脈之內膜厚度。

表 1

	年齡 (歲數)	性別	投藥前				投藥 3 個月後			
			頸動脈內膜 右側厚度 (毫米(mm))	頸動脈內膜 左側厚度 (mm)	TC (毫克/百毫 升(mg/dl))	LDL-C (mg/dl)	頸動脈內膜 右側厚度 (mm)	頸動脈內膜 左側厚度 (mm)	TC (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)
試驗受試者 1	71	F	0.75	0.87	280	241	0.5	0.7	263	172
試驗受試者 2	50	M	0.66	0.75	228	158	0.51	0.62	235	145
試驗受試者 3	67	M	0.89	1.04	277	240	0.85	0.76	209	118
試驗受試者 4	50	M	0.92	1	258	170	1.03	1.03	302	218
試驗受試者 5	58	M	0.7	0.7	148	53	0.73	0.65	157	67
試驗受試者 6	61	M	0.7	1.45	317	227	0.62	1.35	282	199
試驗受試者 7	66	F	0.8	1.3	252	138	0.75	1.03	277	167
試驗受試者 8	48	M	0.73	0.95	272	177	0.62	0.75	270	170
試驗受試者 9	56	M	0.7	1.55	297	218	0.62	1.25	283	208
試驗受試者 10	71	M	1.3	1.59	205	130	1.17	1.44	197	127
試驗受試者 11	59	M	0.7	1.1	191	118	0.7	1.03	195	127
試驗受試者 12	64	M	1.37	1.24	245	155	1.24	0.82	248	167

註) TC: 總膽固醇, LDL-C: 低分子量膽固醇(俗稱“壞膽固醇”), 內膜厚度值係為超音波回音影像之右側及左側之測量值。

動脈硬化係為動脈之內膜厚化之現象, 且若內膜厚度超過 1 毫米(mm), 則不分年齡均診斷為動脈硬化。目前一般認為診斷動脈硬化最正確的方法係涉及使用精確的超音波儀器測量頸動脈內膜之厚度。

12 位試驗受試者包含 10 位男性及 2 位女性，年齡為 48 至 71 歲，平均年齡為 60.1 歲。因高血脂症而服藥之該等病患於本試驗開始前 1 個月停藥，且於試驗期間僅投予本發明之配方。如表 1 所證實，以 3 個月的期間口服投予實施例所製備之抗老化配方的結果，12 位試驗受試者中有 10 位顯示頸動脈內膜厚度明顯降低，且纖維斑之厚度亦降低。再者，證實 12 位試驗受試者中有 4 位之總膽固醇降低，且證實試驗受試者中有 6 位之 LDL 膽固醇降低。

上述本發明之例示性具體例係以說明及闡述為目的。其並非意圖以所揭露之特定型式排除或限制本發明。熟習本領域技藝之人士將清楚瞭解可進行多種修飾及變化。為了最適當闡述本發明原理及其實際應用，因而選擇該例示性具體例進行描述，藉以使熟習本領域技藝之人士能理解本發明之各種具體例以及其各種修飾係適用於所預期之特定用途。本發明之範疇係以後述申請專利範圍及其均等物定義之。

【圖式簡單說明】

第 1 圖為魚類衍生之膠原蛋白胜肽及動物皮膚衍生之膠原蛋白胜肽之吸收率間的關係圖；

第 2 圖係說明代表根據本發明具體例之抗老化配方主要成分之衍生自魚皮之膠原蛋白的一實例之重量平均分子量之測量結果的圖表；以及

第 3 圖為說明動脈硬化之實例之血管截面示意圖。

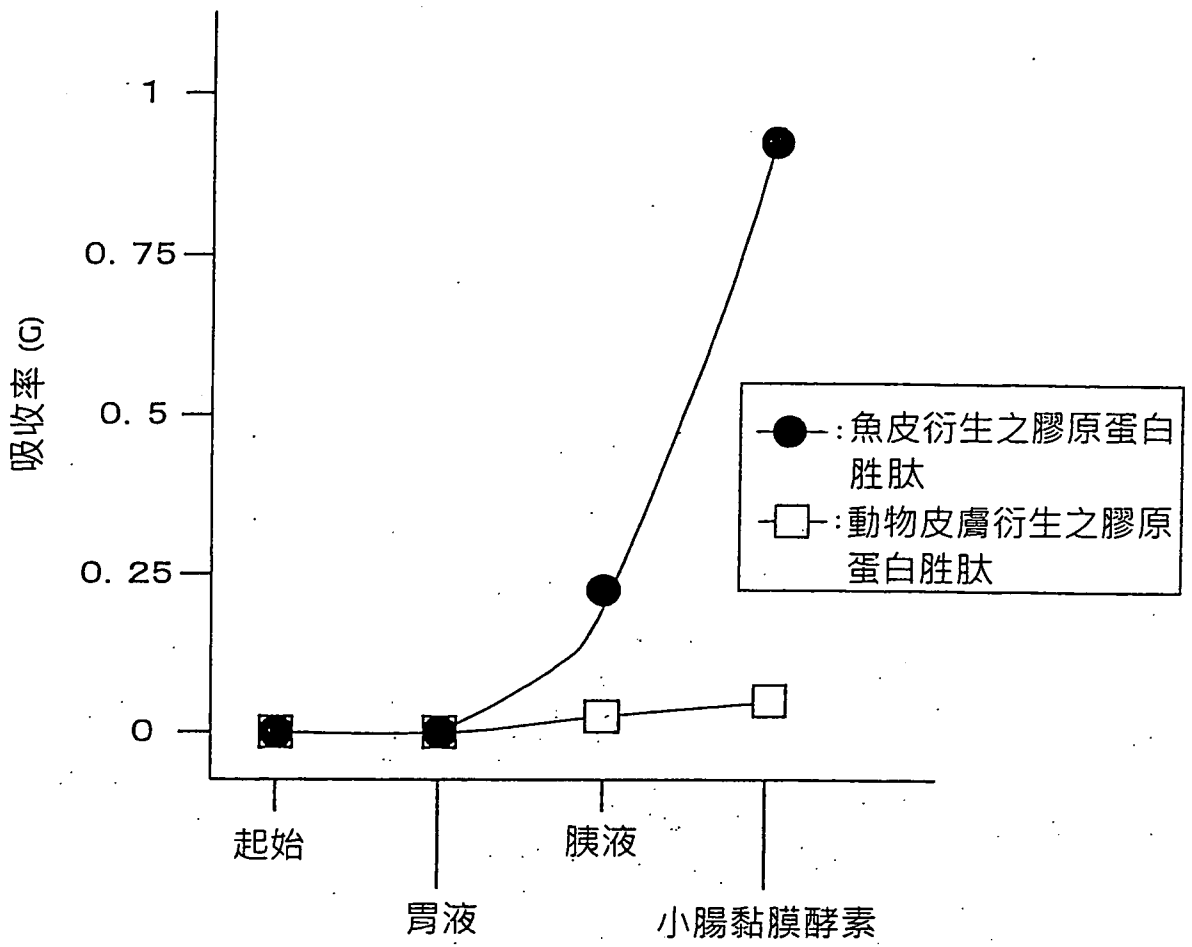
【主要元件符號說明】

10	血管	12	外膜
14	基質	16	纖維斑
18	內腔	20	內膜

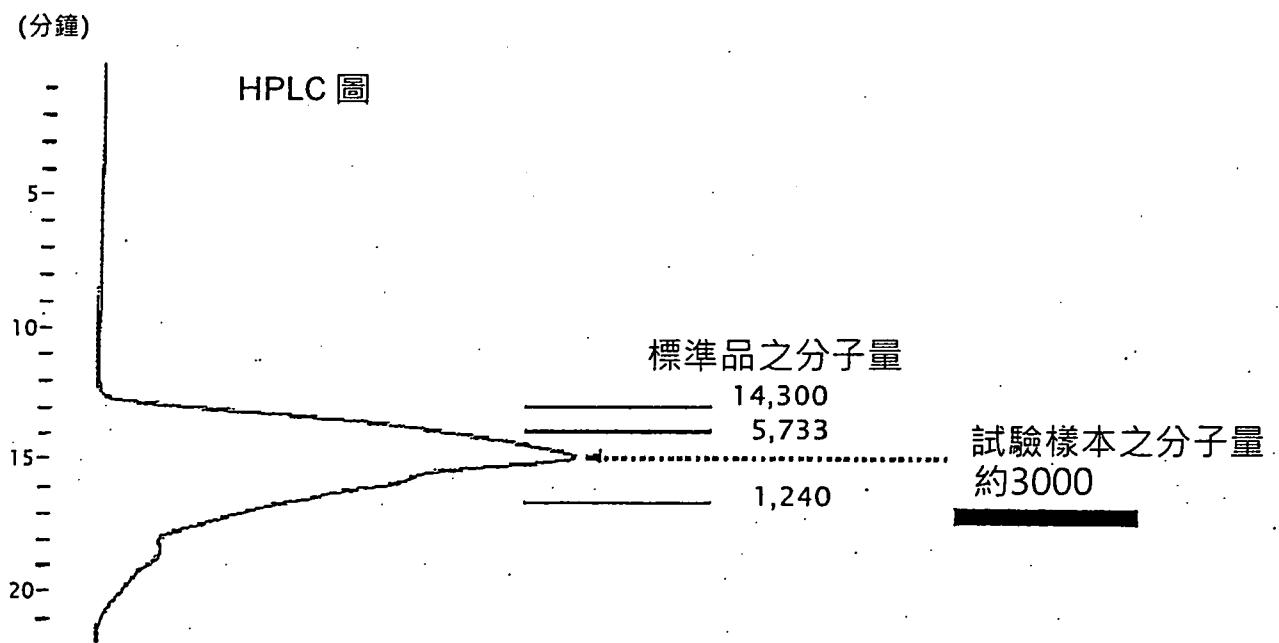
七、申請專利範圍：

1. 一種用於降低或預防動脈粥狀硬化(atherosclerosis)的藥劑，包括衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白作為必要成分，其中，該衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白係使用鰈形目(pleuronectiformes)之魚皮作為原料並經由酵素分解而獲得，且該衍生自魚皮之低分子量膠原蛋白之重量平均分子量為約 3,000。
2. 一種抗老化配方，包括呈顆粒形式之申請專利範圍第 1 項所述之用於降低或預防動脈粥狀硬化的藥劑。

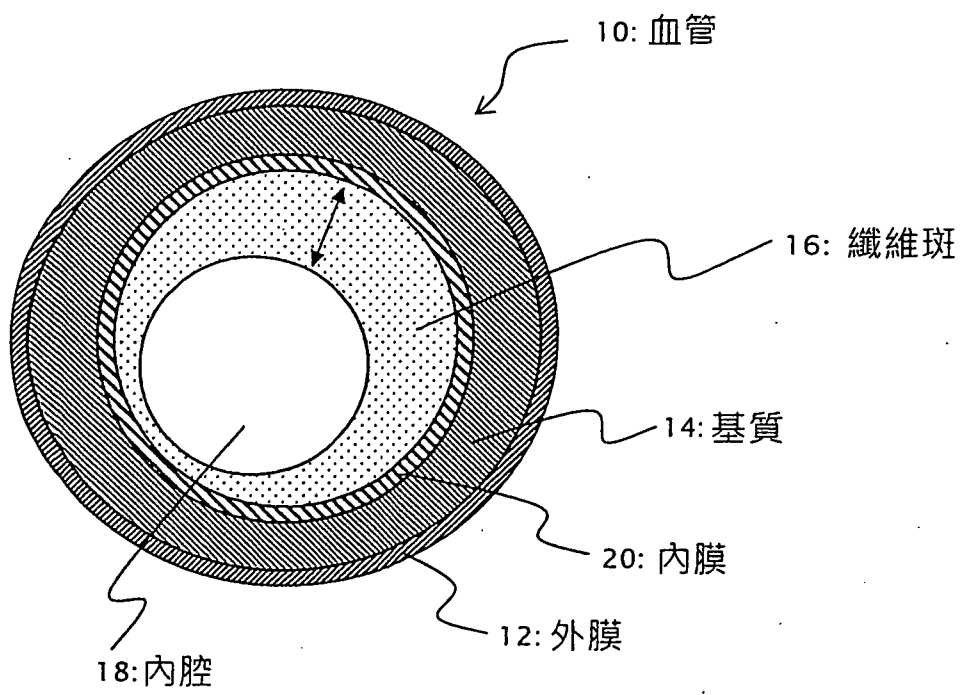
八、圖式：



第 1 圖



第 2 圖



第 3 圖