

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷
A61K 31/416
A61K 31/70 A61P 43/00

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01141170.8

[43]公开日 2002 年 7 月 3 日

[11]公开号 CN 1356103A

[22]申请日 2001.10.8 [21]申请号 01141170.8
[30]优先权
[32]2000.12.4 [33]JP [31]368299/00
[32]2001.5.15 [33]JP [31]144240/01
[71]申请人 烧津水产化学工业株式会社
地址 日本静岡県
[72]发明人 又平芳春 菊地数晃

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所
代理人 章鸣玉

权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图页数 4 页

[54]发明名称 抗疲劳组合物
[57]摘要

含有从鱼贝类、鸟肉、畜肉等提取物所得的咪唑化合物作为有效成分,得到能减少运动时或运动后肌肉疲劳的抗疲劳组合物。该抗疲劳组合物中,所述咪唑化合物较佳为选自组氨酸、鹅肌肽、肌肽、valenine 及其盐的一种以上化合物。该抗疲劳组合物较佳为还含有 D-核糖作为有效成分。本发明的抗疲劳组合物经口摄取可抑制运动时或运动后血浆中的乳酸量、从而抑制运动所致的肌肉疲劳,其结果,可望具有提高运动能力的效果。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 抗疲劳组合物，含有咪唑化合物作为有效成分。
2. 如权利要求 1 所述的抗疲劳组合物，其中所述咪唑化合物为选自组氨酸、
5 鹅肌肽、肌肽、valenine 及其盐的一种以上化合物。
3. 如权利要求 1 或 2 所述的抗疲劳组合物，其中所述咪唑化合物含量在 10 质量%以上。
4. 如权利要求 1 或 2 所述的抗疲劳组合物，其中还含有 D-核糖作为有效成分。
- 10 5. 如权利要求 4 所述的抗疲劳组合物，其中含有所述咪唑化合物 5~50 质量%，所述 D-核糖 5~50 质量%。
6. 如权利要求 1~5 之一所述的抗疲劳组合物，其中还含有选自牛磺酸、肌酸、维生素 E、维生素 C、类胡萝卜素、还原型谷胱甘肽、矿物质类的一种以上物质。

说明书

抗疲劳组合物

5 技术领域

本发明涉及利用得自鱼贝类、鸟肉、畜肉等的咪唑化合物的抗疲劳组合物。

背景技术

10 进行激烈运动时，利用来自肌肉糖原的葡萄糖进行无氧酵解反应合成肌肉收缩必需的 ATP。从而，其代谢产物乳酸堆积，引起肌肉内 pH 下降，肌肉收缩的效率降低。这种状态称作代谢性酸中毒，其结果导致肌肉疲劳。因此，为了抑制持续运动所致肌肉疲劳，不引起代谢酸中毒是重要的。

近年来，运动选手中盛行摄取肌酸作为补充。已知，肌酸在体内转变为
15 磷酸肌酸，作为高能磷酸化合物具有能量转运作用，而且是 ATP 合成上不可缺少的成分，由于肌酸的摄取，肌肉的肌酸含量增加，高强度运动性能提高 (Harris, R.C. 等: Clin. Sci., 83, 367-374, 1992)。

如果作为能源的糖原不足，机体脂肪较易利用，同时血中氨基酸转化为能量，因此，可尝试尽量提高血中氨基酸的浓度，作为能源利用，改善肌肉
20 疲劳和肌力下降。特别容易作为能源利用的氨基酸是支链氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸)例如，特开昭 58-165774 号、特开平 7-25838 号及特开 2000-26290 号上提议将上述支链氨基酸用作食品。

为了提高运动机能和达到疲劳恢复的目的，特开平 8-198748 号和特开平 9-249556 号上提议使用按胡蜂(verpine wasp) (Vespar 属)幼虫分泌的唾液
25 所含的氨基酸类作标准构成的氨基酸组合物，抑制血中氨基酸的变动。

然而，从鱼贝类、鸟肉、畜肉等所得的提取物含各种氨基酸，通常被广泛地用作调味品，但是，它们的生理活性机能几乎未被研究过。

发明内容

30 因此，本发明的目的在于利用从鱼贝类、鸟肉、畜肉等所得提取物提供机能性食品原料。

本发明者们在研究从鲣鱼和金枪鱼肉所制得的调味品提取物的生理活性机能的过程中，着眼于该提取物中大量含有的咪唑化合物，锐意研究的结果，发现该咪唑化合物具有提高运动能力的效果，即具有抗疲劳效果。特别发现该咪唑化合物与 D-核糖合用可得到更好的抗疲劳效果，基于这些事实，完成了本发明。

即，本发明是以含有咪唑化合物作有效成分为特征的抗疲劳组合物。

按照本发明，利用历来用作调味品的得自鱼贝类、鸟肉、畜肉等的提取物，提供经口摄取可降低运动时或运动后肌肉疲劳等的抗疲劳组合物。

附图说明

图 1 表示小鼠游泳时间测定结果。

图 2 表示小鼠第一次悬垂时间测定结果。

图 3 表示小鼠第二次悬垂时间测定结果。

图 4 表示运动负荷后经过 1 小时小鼠血浆中的乳酸量。

图 5 表示小鼠游泳时间测定结果。

图 6 表示运动负荷后小鼠血浆中的乳酸量。

发明的较佳实施方式

以下，更详细地举例说明本发明的较佳实施方式。

本发明的抗疲劳组合物的有效成分咪唑化合物具体地可列举组氨酸、鹅肌肽(β -丙氨酰-1-甲基组氨酸)、肌肽(β -丙氨酰组氨酸)、valenine(β -丙氨酰-3-甲基组氨酸)等。本发明中，以含有选自组氨酸、鹅肌肽、肌肽、valenine 及其盐的一种以上为有效成分的组合物为佳。上述盐，可列举盐酸、硫酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、抗坏血酸、苹果酸、琥珀酸、己二酸、葡糖酸、酒石酸等的盐。

上述咪唑化合物在鱼肉、鸡肉、畜肉等中含有，可将从这些肉中用水提取、热水提取、醇提取、超临界提取等方法提出的提取物精制而得到。

例如，鹅肌肽可按如下方法得到。首先，用常规方法从鲣鱼、金枪鱼、牛、鸡等的肉制备提取物，加适量水将该提取物的白利糖度(Brix(Bx.))调整为 1~10%后，用超滤膜(截留分子量 5,000~50,000)除去高分子蛋白质，回收低分子肽。然后，按文献(Suyama 等: Bull. Japan. Soc. Scient. Fish., 33,

141-146, 1967) 的方法, 将适当浓缩的低分子肽部分用强酸性树脂进行离子交换色谱分离, 回收洗脱液。将该洗脱液脱盐后调节 pH, 经冷冻干燥等方法干燥, 即可得到。

5 另外, 肌肽以猪肉为原料、valenine 以鲸肉(例如须鲸类)为原料, 按上述同样方法可得到。

本发明的抗疲劳组合物含 D-核糖为有效成分则更佳。D-核糖为属于戊醛糖的单糖, 天然存在的是与磷酸结合而成的核苷、核苷酸。本发明中, 可用市售品, 如购自和光纯药株式会社等的商品。

本发明的抗疲劳组合物中, 上述各有效成分的适宜含量为如下。

10 (1) 仅含咪唑化合物作为有效成分的情况下, 含咪唑化合物 10 质量%以上为佳, 含 50 质量%以上更佳。若咪唑化合物的含量不足 10 质量%, 则不能达到期望的抗疲劳效果。

15 (2) 含咪唑化合物和 D-核糖作为有效成分的情况下, 以含咪唑化合物 5~50 质量%、D-核糖 5~50 质量%为宜。含咪唑化合物 10~50 质量%、D-核糖 10~50 质量%更佳。咪唑化合物和 D-核糖的含量若在上述范围之外, 则不能达到协同的抗疲劳效果。

20 本发明的抗疲劳组合物最好还含有选自牛磺酸、肌酸、维生素 E、维生素 C、类胡萝卜素、还原型谷胱甘肽、矿物质类的一种以上物质。上述成分相配合, 可望获得各成分所具有的生理活性效果, 如牛磺酸和肌酸等的抗疲劳效果、维生素 E、维生素 C、类胡萝卜素、还原型谷胱甘肽等的抗氧化效果。作为上述矿物质类, 可列举能用于饮食品的微量金属元素, 如钙、钠、镁、硒、铁、锌等。

本发明的抗疲劳组合物除了上述基本成分外, 可适当地含有赋形剂、糖类、香料、色素、油脂类、蛋白质等。

25 本发明的抗疲劳组合物的制品形式无特别限制, 可针对使用状态适当选择, 如片剂、粉末、颗粒、胶囊剂、糊剂、溶液等。

本发明的抗疲劳组合物的每天有效摄取量换算成咪唑化合物为 1~200mg/kg 体重, 较佳为 5~30mg/kg 体重。在咪唑化合物和 D-核苷合用的情况下, 换算成它们的总量也是 1~200mg/kg 体重, 较佳为 5~30mg/kg 体重。

30 本发明的抗疲劳组合物可添加在清凉饮料、果点、快餐、汤粉、香肠等饮食品中。这种情况下, 换算成该饮食品中的咪唑化合物(或咪唑化合物和 D-

核糖的总量)以添加成 100~2,000mg 较合适,以添加成 400~2,000mg 为更好。咪唑化合物(或咪唑化合物和 D-核糖的总量)的添加量若不足 100mg,不能达到期望的抗疲劳效果,若超过 2,000mg 则因影响饮食品的味道而不可取。

5 制备例 1(鹅肌肽的制备)

在按常规方法制备的鲑鱼提取物(Bx.=55%)10kg 中加 4 倍量的水稀释后,用超滤膜(截留分子量 10,000)除去高分子蛋白质,回收低分子部分。将该部分浓缩,给充填了以 0.38N 柠檬酸钠水溶液(pH4.0)平衡过的强酸性树脂(商品名 Amberlite IR-120, ロームアンドハース公司制)的离子交换色谱柱上样,10 用树脂容量 4.5~6.0 倍的 0.38N 柠檬酸钠水溶液(pH4.0)洗脱,回收洗脱部分(参照 Suyama 等: Bull. Japan. Soc. Scient. Fish., 33,141-146,1967)。然后,将此溶液脱盐,调节 pH 后,冷冻干燥,得到粉末 45g。所得粉末用日立公司制的氨基酸分析仪分析,以鹅肌肽盐酸盐计,纯度为 98%。

15 制备例 2(肌肽的制备)

除了用按常规方法从猪肉制得的提取物(Bx.=30%)10kg 外,用与实施例 1 同样的方法进行精制,得到粉末 24g。此粉末以肌肽盐酸盐计,纯度为 92%。

制备例 3(valenine 的制备)

20 除了用按常规方法从须鲸类的肉制得的提取物(Bx.=50%)10kg 外,用与实施例 1 同样的方法进行精制,得到粉末 40g。此粉末以 valenine 盐酸盐计,纯度为 92%。

试验例 1

25 将 6 周龄 SPF 小鼠(雄)20 只分成 2 组(每组 10 只),禁食 4 小时后,对照组给予注射用水 200mg/kg 体重,试验组给予实施例 1 制备的鹅肌肽盐酸盐溶液(40mg/ml),换算成鹅肌肽盐酸盐为 200mg/kg 体重,分别经口灌服。

经口灌服后经准确的 1 小时后,使小鼠进行如下强制性运动。将小鼠放入充满 20℃ 水温的水、送入空气使水面起波纹的水槽(宽 265×长 427×高 204mm)30 中,测定游泳时间。而且使小鼠负重相当于小鼠平均体重的 10%,以游泳开始至小鼠头部沉入水面下 7 秒钟以上为止的时间作为游泳时间。

然后,在上述游泳时间测定结束 3 分钟(第一次)和 30 分钟(第 2 次)两个时间点,将小鼠悬垂在钢丝上,测定直到落下时的时间。

另外,在上述运动负荷后 1 小时采血,分离血浆,测定血浆中的乳酸量。乳酸量的测定用市售药盒(商品名 F-Kit L-乳酸)进行。上述各测定结果以平均值 $\pm$ 标准误($n=10$)表示,显著性测验采用 Student's t 测验。

图 1 表示游泳时间的结果。从图 1 可见,试验组与对照组相比游泳时间有延长的倾向。

图 2、3 表示第 1 次和第 2 次悬垂时间的结果。从图 2、3 可见,任何一种情况均有试验组比对照组悬垂持续时间延长的倾向。特别是第 2 次悬垂,可以看到试验组出现比对照组有统计学意义的悬垂时间延长效果($p<0.01$)。

图 4 表示运动负荷后经 1 小时时的血浆乳酸量。从图 4 可以看到,试验组与对照组相比,血浆中的乳酸量有统计学意义地被抑制于低水平($p<0.05$)。

试验例 2

将 6 周龄雄性 SPF 小鼠 40 只分 4 组(每组 10 只),禁食 4 小时后,对照组给予注射用水 200mg/kg 体重;鹅肌肽组给予鹅肌肽盐酸盐溶液(40mg/ml),换算成鹅肌肽盐酸盐为 200mg/kg 体重;核糖组给予 D-核糖水溶液(40mg/ml),换算成 D-核糖为 200mg/kg 体重;鹅肌肽—核糖混合物组给予鹅肌肽盐酸盐和 D-核糖以 1:1 质量比配制的混合物的水溶液(40mg/kg),换算成鹅肌肽和 D-核糖的总量为 200mg/kg 体重。各受试物分别经口灌服。

经口灌服后经准确的 1 小时后,用上述试验例 1 同样的方法测定小鼠的游泳时间。

然后,在上述运动负荷后 1 小时采血,分离血浆,用上述试验例 1 同样的方法测定血浆中的乳酸量。上述各测定结果以平均值 $\pm$ 标准误($n=10$)表示,显著性测验采用 Student's t 测验。

图 5 表示游泳时间的结果。从图 5 可见,与对照组相比,鹅肌肽组、核糖组和鹅肌肽—核糖混合物组游泳时间均有延长的倾向。尤其明确的是,鹅肌肽—核糖混合物组与其他组相比,游泳时间的延长有显著意义($p<0.05$)。

图 6 表示运动负荷后的血浆乳酸量。从图 6 可以看到,与对照组相比,鹅肌肽组(减少 23.9%)、核糖组(减少 29.4%)血浆中的乳酸量有显著意义地抑制于低水平($p<0.05$)。而鹅肌肽—核糖混合物组(减少 42.0%)与对照组相比,

血浆中的乳酸量有非常显著意义地抑制于低水平($p<0.01$)。

以上结果提示, 鹅肌肽经口摄取可提高运动能力。而且运动后血浆中的乳酸量抑制于低水平, 提示可抑制运动所致的肌肉疲劳。而且, 考虑到各组的给药量(200mg/kg)一定, 因此, 合用鹅肌肽-D-核糖与鹅肌肽或 D-核糖单独使用相比, 具有协同的抑制疲劳作用。

实施例

配制本发明的抗疲劳组合物的饮食品的配比实例列于下表。表 1 为运动营养饮料, 表 2 为片剂的配制例。

表 1

原料	100ml 中
鹅肌肽(盐酸盐)	0.5g
D-核糖	1g
牛磺酸	1g
维生素 C	0.4g
果糖糖液	10 g
酸味料	适量
香料	适量
防腐剂	适量

表 2

原料	质量%
鹅肌肽(盐酸盐)	5
D-核糖	30
肌酸	2
维生素 C	1
维生素 E	0.1
葡萄糖	20
糊精	33.8
矿物质类	5
酸味料	3
香料	0.1

011011

如上所述，按照本发明可制得抑制运动时或运动后血浆中的乳酸量、抑制运动所致肌肉疲劳的抗疲劳组合物。从而，该抗疲劳组合物经口摄取可抑制肌肉疲劳，其结果，可望具有提高运动能力的效果。

说明书附图

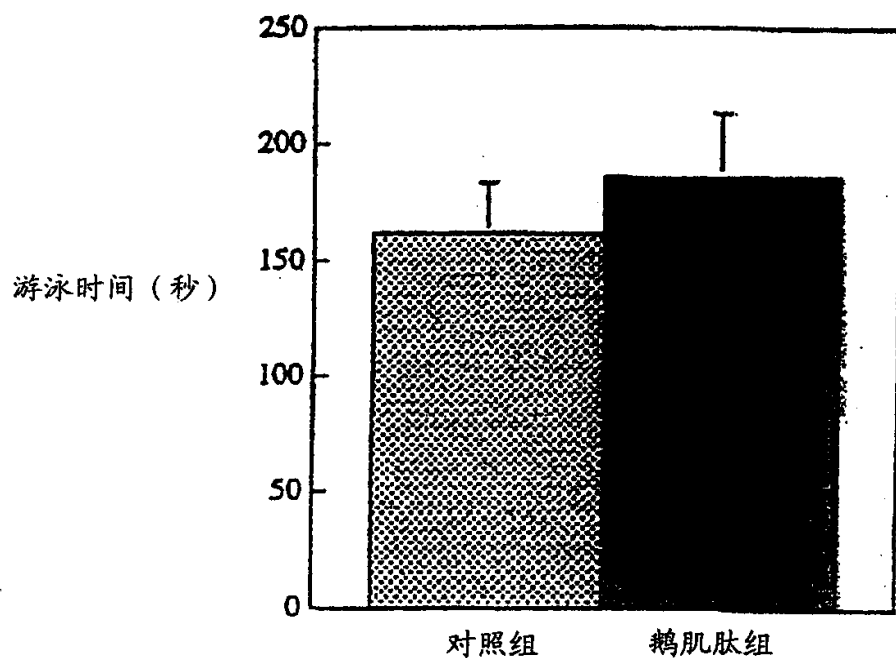


图 1

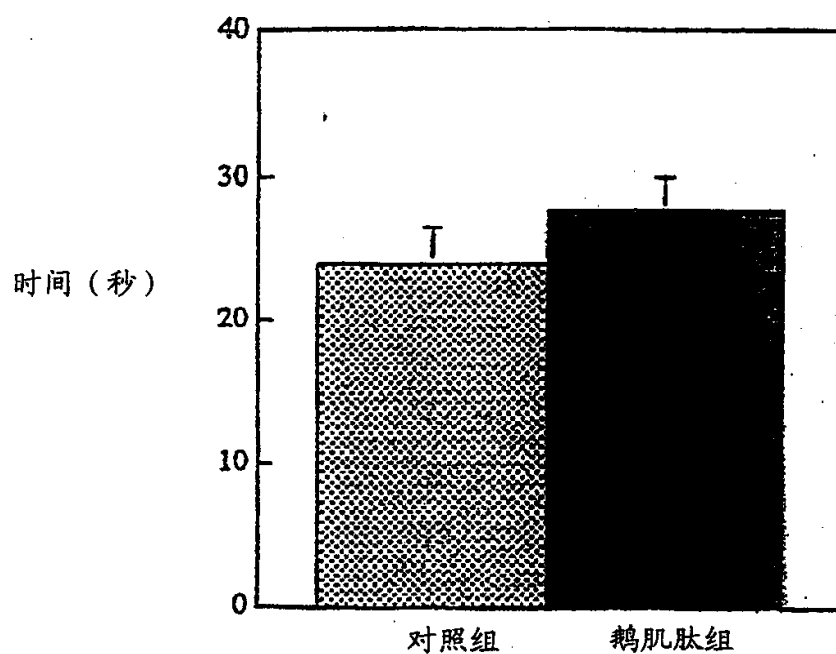


图 2

01.10.11

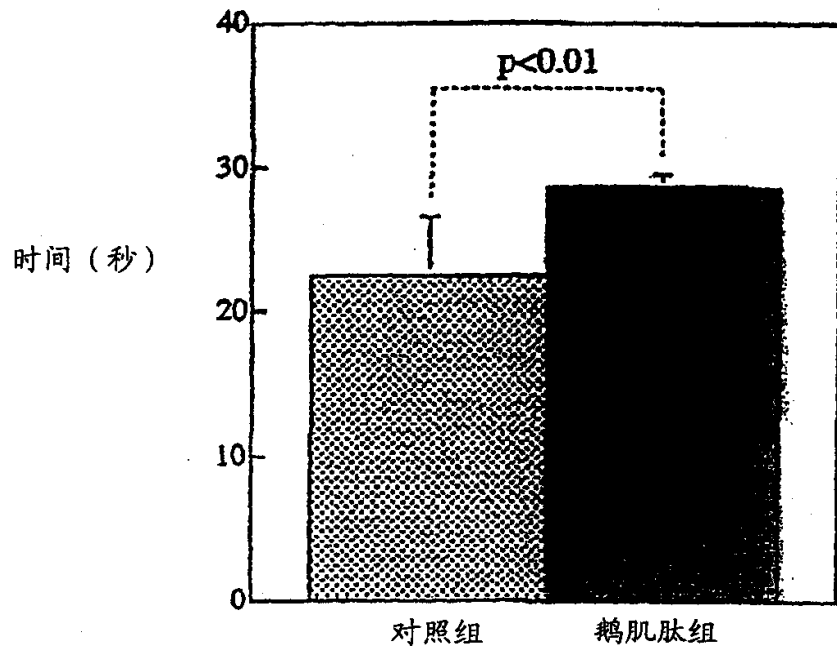


图 3

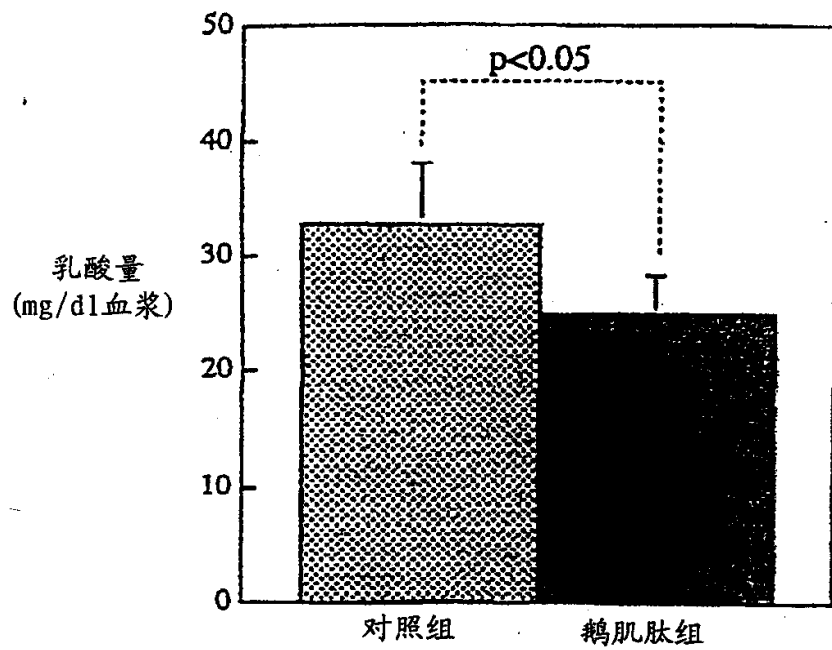
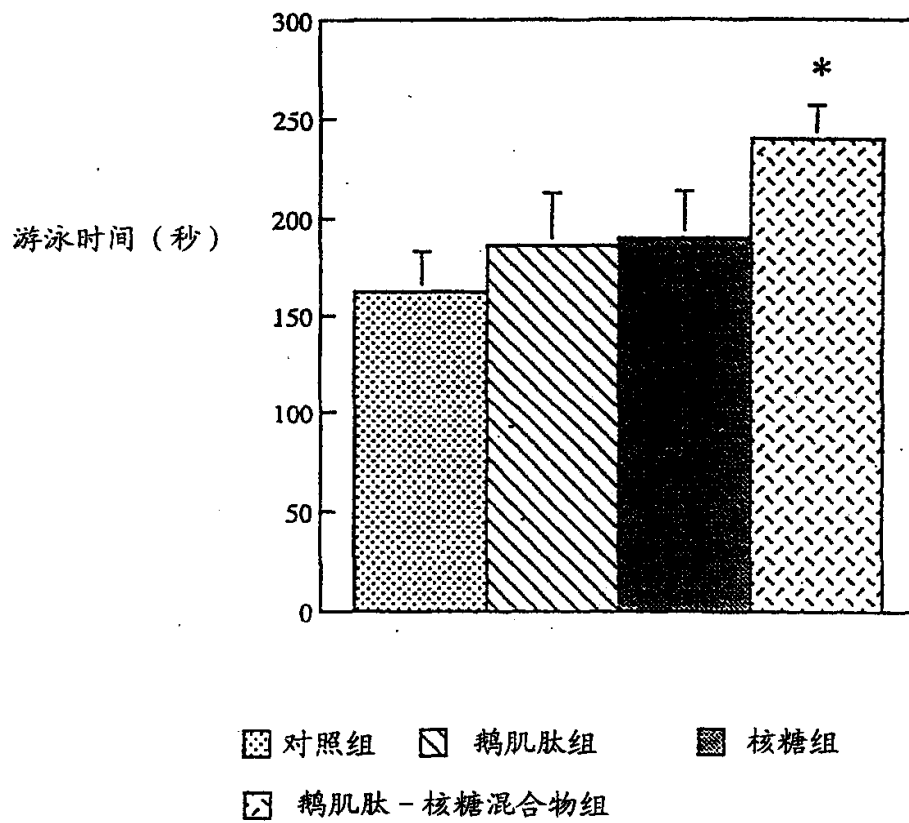


图 4

01.10.11



* 与其他各组有显著性差异 ($p < 0.05$)

图 5

01.10.11

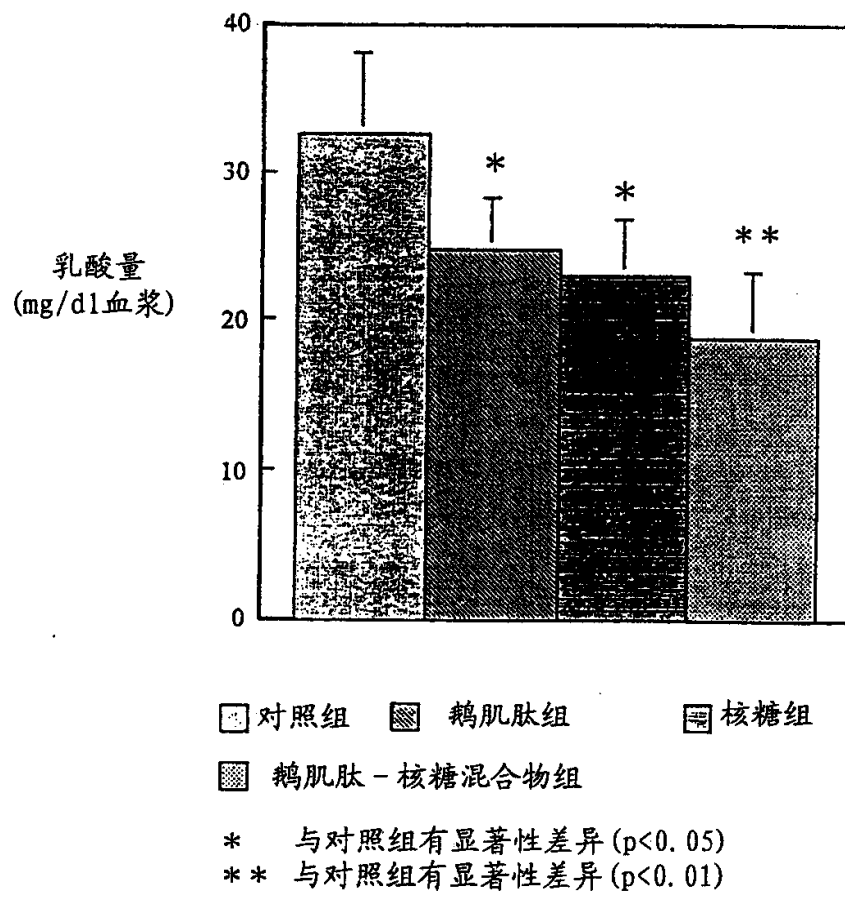


图 6