

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7240565号

(P7240565)

(45)発行日 令和5年3月15日(2023.3.15)

(24)登録日 令和5年3月7日(2023.3.7)

(51)国際特許分類

F I

A 2 3 L	33/10 (2016.01)	A 2 3 L	33/10
A 6 1 K	31/4172(2006.01)	A 6 1 K	31/4172
A 6 1 K	31/341 (2006.01)	A 6 1 K	31/341
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04

請求項の数 3 (全19頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2022-549575(P2022-549575)  
 (86)(22)出願日 令和4年3月30日(2022.3.30)  
 (86)国際出願番号 PCT/JP2022/015935  
 (87)国際公開番号 WO2022/220123  
 (87)国際公開日 令和4年10月20日(2022.10.20)  
 審査請求日 令和4年8月18日(2022.8.18)  
 (31)優先権主張番号 特願2021-68583(P2021-68583)  
 (32)優先日 令和3年4月14日(2021.4.14)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関  
 日本国(JP)  
 早期審査対象出願

(73)特許権者 000214272  
 長瀬産業株式会社  
 大阪府大阪市西区新町1丁目1番17号  
 (74)代理人 110000729  
 弁理士法人ユニアス国際特許事務所  
 (72)発明者 松本 淳  
 兵庫県神戸市西区室谷2丁目2番3号  
 長瀬産業株式会社 ナガセR&Dセンタ  
 ー内  
 (72)発明者 仲谷 豪  
 兵庫県神戸市西区室谷2丁目2番3号  
 長瀬産業株式会社 ナガセR&Dセンタ  
 ー内  
 審査官 手島 理

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 L - エルゴチオネイン含有組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有し、  
 該L - エルゴチオネイン100質量部に対して、該S - リボシルホモシステインの含有  
 量が、0.01~15質量部である、組成物。

【請求項2】

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有し、着色が抑制され  
 た組成物の製造方法であって、  
 該L - エルゴチオネイン100質量部に対して、該S - リボシルホモシステインの含有  
 量を、0.01~15質量部とする工程を含む方法。

【請求項3】

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有する組成物において、  
 該L - エルゴチオネイン100質量部に対して、該S - リボシルホモシステインの含有  
 量を、0.01~15質量部とする工程を含む、  
 該組成物に対して着色抑制効果を付与する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、L - エルゴチオネイン(EGT)を含有する組成物に関する。より詳細には  
 、S - リボシルホモシステイン(SRH)の存在下において、着色が抑制された組成物、

及び、その製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

L-エルゴチオネイン（本明細書では「EGT」と表記する場合がある）は含硫アミノ酸の一種であり、抗酸化能をはじめとする多様な生理活性を有することが知られている。

【0003】

例えば非特許文献1では、EGTが、腫瘍関連抗原（TAA）とアジュバントとからなるがんワクチンによる免疫治療の効果を向上させる作用を有することが記載されている。特許文献1では、EGTが細菌による感染症を治療する作用を有することが記載されている。特許文献1の実験1では、5mM及び50mMのEGTが大腸菌の増殖を抑制することが確認されていることから、特許文献1に記載の細菌の感染症抑制は、EGTが細菌の増殖を直接に抑制することによるものだと理解できる。

10

【0004】

非特許文献2では、トールライク受容体リガンドによる刺激条件下でのマウス骨髄由来マクロファージによるサイトカイン（IL-6、IL-12p40、IL-1、IL-10）の生産が、10mMのEGTにより促進され、1mMのEGTでは促進されないこと、及び、F4/80マクロファージとOT-II CD4<sup>+</sup>T細胞との共培養において、OT-II CD4<sup>+</sup>T細胞のTh17極性が30mMのEGTにより促進されることが記載されている。このように非特許文献2では、10mM以上の高濃度のEGTがマクロファージを活性化させることが記載されている。

20

【0005】

非特許文献3は、EGTの生理活性についての総説である。非特許文献3ではEGTは動物及び植物の体内に吸収・蓄積されることが記載されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【文献】WO2019/089878

【非特許文献】

【0007】

【文献】S. Yoshida et al., Front. Immunol. 10: 671 (2019)

30

PLoS ONE 12(1): e0169360

玉川大学農学部研究教育紀要第1号: 17-41 (2016)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

しかしながら、EGTを含有する組成物における製剤安定性については、未だに十分に検討されていない状況である。特に、EGTを含有する組成物における、共存する他の成分による影響については、詳細な報告がなされていない。

【課題を解決するための手段】

40

【0009】

前記課題に鑑み、鋭意検討を行った結果、EGTを含有する組成物において、S-リボシルホモシステイン（SRH）が共存する場合に、EGTを含有する組成物の着色が生じるといふ、これまでに報告の無い新規な課題が見出された。

【0010】

この新規な課題に対して、EGT及びSRHを含有する組成物において、SRHの含有量を低減させることにより当該組成物の着色を抑制できることを見出し、本発明を完成させるに至った。

【0011】

すなわち、本発明は、下記に掲げる組成物を提供する。

50

## 【 0 0 1 2 】

## [ 1 ]

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有する組成物であって、該S - リボシルホモシステインの含有量が、低減されてなる、組成物。

## 【 0 0 1 3 】

## [ 2 ]

前記S - リボシルホモシステインの含有量が低減されることにより、前記組成物の着色が抑制されてなる、[ 1 ]に記載の組成物。

## 【 0 0 1 4 】

## [ 3 ]

前記L - エルゴチオネイン100質量部に対して、前記S - リボシルホモシステインの含有量が、15質量部以下である、[ 1 ]又は[ 2 ]に記載の組成物。

10

## 【 0 0 1 5 】

## [ 4 ]

前記L - エルゴチオネイン100質量部に対して、前記S - リボシルホモシステインの含有量が、0.001質量部以上である、[ 1 ] ~ [ 3 ]のいずれか1項に記載の組成物。

## 【 0 0 1 6 】

## [ 5 ]

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有する組成物であって、該L - エルゴチオネイン100質量部に対して、該S - リボシルホモシステインの含有量が、15質量部以下である、

20

前記組成物の着色を抑制するための組成物。

## 【 0 0 1 7 】

また、本発明は、下記に掲げる製造方法に関する。

## 【 0 0 1 8 】

## [ 6 ]

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有し、着色が抑制された組成物の製造方法であって、

該S - リボシルホモシステインの含有量を低減させる工程を含む方法。

## 【 0 0 1 9 】

また、本発明は、下記に掲げる方法に関する。

30

## 【 0 0 2 0 】

## [ 7 ]

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有する組成物であって、該L - エルゴチオネイン100質量部に対して、該S - リボシルホモシステインの含有量が、15質量部以下である、

前記組成物に対して着色抑制効果を付与する方法。

## 【 発明の効果 】

## 【 0 0 2 1 】

E G Tを含有する組成物において、組成物の着色の課題に影響を与える成分として、S - リボシルホモシステイン(S R H)が見出された。よって、E G TとS R Hとが共存する組成物において、S R Hの含有量を低減することにより、組成物の着色を抑制することが可能となる。

40

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 2 2 】

【 図 1 】 図 1 は、試験例 1 において、6 か月保管したサンプルの水に溶解する前の着色度合いを示す写真である。

【 図 2 】 図 2 は、試験例 1 において、6 か月保管したサンプルの水に溶解する後の着色度合いを示す写真である。

## 【 発明を実施するための形態 】

50

【 0 0 2 3 】

本発明の組成物は、L - エルゴチオネイン ( E G T )、及び、S - リボシルホモシステイン ( S R H ) を含有するものであって、S R H の含有量が低減されてなる。

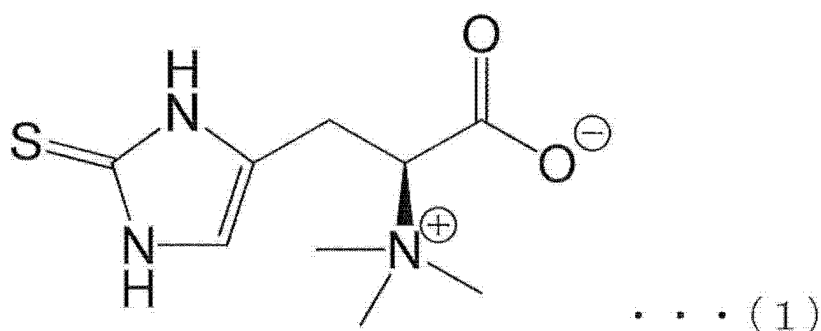
【 0 0 2 4 】

[ L - エルゴチオネイン ( E G T ) ]

E G T は、ヒスチジン誘導体 ( N , N , N - トリメチル - L - 2 - チオヒスチジン ) であり、その構造は次式 ( 1 ) で表される。

【 0 0 2 5 】

【 化 1 】



10

【 0 0 2 6 】

E G T は、合成法、抽出法、発酵法等の公知の方法により得ることも可能であり、市販品を入手して用いることも可能である。

【 0 0 2 7 】

E G T の市販品としては、L - エルゴチオネイン ( テトラエドロン社製 ) 等が挙げられる。

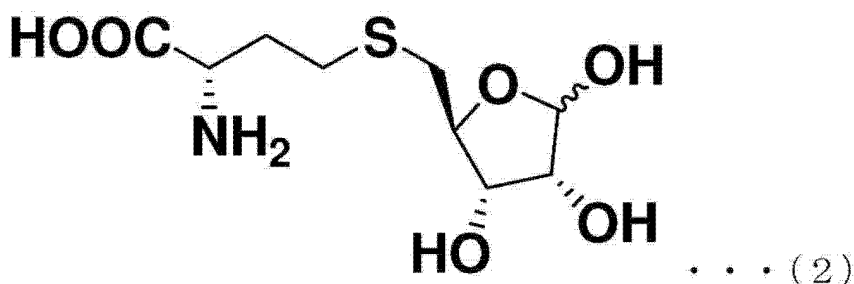
【 0 0 2 8 】

[ S - リボシルホモシステイン ( S R H ) ]

S R H の構造は次式 ( 2 ) で表される。

【 0 0 2 9 】

【 化 2 】



30

【 0 0 3 0 】

S R H は、合成法、抽出法、発酵法等の公知の方法により得ることが可能である。

【 0 0 3 1 】

E G T 及び / 又は S R H は、遊離体の形態であってもよく、塩の形態であってもよい。E G T 及び / 又は S R H の塩は、これらの構造におけるカルボキシル基で形成された塩であってもよいし、トリメチルアミノ基又はアミノ基で形成された塩であってもよい。また、E G T 又は S R H は水和物等の溶媒和物であってもよい。

【 0 0 3 2 】

E G T 及び / 又は S R H の塩としては、薬理的に又は生理学的に許容される塩であれば、特に制限されないが、具体的には、有機酸塩、無機酸塩、有機塩基との塩、又は無機塩基との塩が挙げられる。有機酸塩としては、例えば、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、酪

40

50

酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩等のモノカルボン酸塩；フマル酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、マロン酸塩等の多価カルボン酸塩；乳酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩等のオキシカルボン酸塩；メタンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、トシル酸塩等の有機スルホン酸塩が例示される。無機酸塩としては、例えば、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩が例示される。有機塩基との塩としては、例えば、メチルアミン、トリエチルアミン、トリエタノールアミン、ジエタノールアミン、モルホリン、ピペラジン、ピロリジン、エチレンジアミン等の有機アミンとの塩が挙げられる。無機塩基との塩としては、例えば、ナトリウム又はカリウム等のアルカリ金属、カルシウム又はマグネシウム等のアルカリ土類金属、アルミニウム等の金属との塩等の各種の塩が挙げられる。これらのEGT及び/又はSRHの塩は、1種単独で使用してもよく、また2種以上を任意に組み合わせ使用してもよい。「薬学的に又は生理学的に許容される塩」には、塩の溶媒和物又は水和物を含んでいてもよい。

10

**【0033】**

下記の実施例において、本発明者らは、EGTを含有する組成物において、SRHが共存する場合に、EGTを含有する組成物の着色が生じるといふ、これまでに報告の無い新規な課題を見出している。さらに、本発明者らは、EGT及びSRHを含有する組成物において、SRHの含有量を低減させることにより、EGTを含有する組成物の安定性を高め、組成物の着色を抑制できることを見出している。EGTを含有する組成物にSRHが共存する態様は特に限定されず、例えば、EGTを含有する組成物に対してSRHが添加されていてもよく、抽出法における夾雑物、合成法、発酵法等における副生成物等により

20

内在的に含有していてもよい。

**【0034】**

EGTを含有する組成物において、SRHが共存する場合に、不安定化するメカニズムの詳細は未だ不明であるが、一因として、SRHが徐々に分解することで、SRHの分解物が生じ、その分解物がEGTを含有する組成物の安定化に悪影響を与えている可能性が推測される。よって、SRHの含有量を低減させることは、SRHの分解物の低減にもつながり、結果として、EGTを含有する組成物の安定化に寄与するものと考えられる。SRH分解物としては、特に限定はされないが、例えば、SRH脱水二量体が挙げられる。

**【0035】**

本発明の組成物において、着色が抑制されているとは、EGT及びSRHを20質量部で含有する組成物（以下、基準の組成物ともいう）と比較して、EGTの含有量をそろえた条件で、SRHの含有量を低減させることにより、400nmの吸光度が低減することを言う。400nmの吸光度の低減は、公知の分光光度計を用いて求めることが可能である。400nmの吸光度の低減は、例えば、上記基準の組成物と比較して、少なくとも5%の低減率であることが好ましく、少なくとも10%の低減率であることがより好ましい。

30

**【0036】**

本発明の組成物において、EGT及びSRHの含有比率は、組成物の着色抑制の観点から、EGT100質量部に対して、SRHの含有量は、例えば、15質量部以下であることが好ましく、10質量部以下であることがより好ましく、5質量部以下であることが更に好ましく、3質量部以下であることが更に好ましく、1質量部以下であることが更に好ましく、0.5質量部以下であることが更に好ましく、0.1質量部以下であることが更に好ましく、0.01質量部以下であることが特に好ましい。

40

**【0037】**

また、本発明の組成物において、EGT及びSRHの含有比率は、組成物の生産効率等の観点から、EGT100質量部に対して、SRHの含有量は、例えば、0.0001質量部以上とすることができ、0.001質量部以上、0.005質量部以上、0.01質量部以上等とすることができる。

**【0038】**

また、本発明の組成物において、EGT及びSRHの含有比率は、組成物の着色抑制の観点、組成物の安定性の観点、及び、組成物の生産効率等の観点から、EGT100質量

50

部に対して、SRHの含有量は、例えば、0.0001～15質量部とすることができ、0.0001～10質量部、0.0001～5質量部、0.0001～1質量部、0.0001～0.5質量部、0.0001～0.1質量部、0.001～15質量部、0.001～10質量部、0.001～5質量部、0.001～1質量部、0.001～0.5質量部、0.001～0.1質量部、0.005～15質量部、0.005～10質量部、0.005～5質量部、0.005～1質量部、0.005～0.5質量部、0.005～0.1質量部、0.01～15質量部、0.01～10質量部、0.01～5質量部、0.01～1質量部、0.01～0.5質量部、0.01～0.1質量部等とすることができる。

【0039】

上述の通り、SRHの含有量を低減させることは、SRHの分解物の低減にもつながり、結果として、EGTを含有する組成物の安定化に寄与するものと考えられる。SRHの分解物は、特に限定されないが、例えば、SRH脱水二量体である場合、EGT及びSRH脱水二量体の含有比率は、組成物の着色抑制の観点から、EGT100質量部に対して、SRH脱水二量体の含有量は、例えば、15質量部以下であることが好ましく、10質量部以下であることがより好ましく、5質量部以下であることが更に好ましく、3質量部以下であることが更に好ましく、1質量部以下であることが更に好ましく、0.5質量部以下であることが更に好ましく、0.1質量部以下であることが更に好ましく、0.01質量部以下であることが特に好ましい。

【0040】

また、本発明の組成物において、EGT及びSRH脱水二量体の含有比率は、組成物の生産効率等の観点から、EGT100質量部に対して、SRH脱水二量体の含有量は、例えば、0.0001質量部以上とすることができ、0.001質量部以上、0.005質量部以上、0.01質量部以上等とすることができる。

【0041】

また、本発明の組成物において、EGT及びSRH脱水二量体の含有比率は、組成物の着色抑制の観点、組成物の安定性の観点、及び、組成物の生産効率等の観点から、EGT100質量部に対して、SRH脱水二量体の含有量は、例えば、0.0001～15質量部とすることができ、0.0001～10質量部、0.0001～5質量部、0.0001～1質量部、0.0001～0.5質量部、0.0001～0.1質量部、0.001～15質量部、0.001～10質量部、0.001～5質量部、0.001～1質量部、0.001～0.5質量部、0.001～0.1質量部、0.005～15質量部、0.005～10質量部、0.005～5質量部、0.005～1質量部、0.005～0.5質量部、0.005～0.1質量部、0.01～15質量部、0.01～10質量部、0.01～5質量部、0.01～1質量部、0.01～0.5質量部、0.01～0.1質量部等とすることができる。

【0042】

また、本発明の組成物において、EGTの含有量は、製剤の形態や、用途、他の成分の種類や含有量等により適宜調整され、限定はされないが、例えば、組成物全量に対して、0.000001質量%以上とすることができ、0.000005質量%以上、0.00001質量%以上、0.00005質量%以上、0.0001質量%以上、0.0005質量%以上、0.001質量%以上等が挙げられる。また、EGTの含有量は、例えば、組成物全量に対して、99.999質量%以下とすることができ、99.9質量%以下、99.5質量%以下、99質量%以下、98.5質量%以下、98質量%以下等が挙げられる。別の実施態様において、液状製剤として調製される場合、限定はされないが、EGTの含有量は、例えば、組成物全量に対して、80質量%以下とすることができ、70質量%以下、60質量%以下、50質量%以下、40質量%以下、30質量%以下、20質量%以下、10質量%以下、5質量%以下、1質量%以下等が挙げられる。

【0043】

[用途]

E G T及びS R Hを含有する組成物において、S R Hの含有量を低減させることにより、安定性を高めることができるため、本発明は、上記組成物の着色を抑制するために用いることが可能である。

【0044】

また、上記の通り、E G Tは、抗酸化能をはじめとする多様な生理活性を有することが知られている。E G T及びS R Hを含有する組成物においても、本発明を用いることにより、安定性を高め、E G Tが本来有する生理活性を損なうことなく発揮することが可能となる。

【0045】

E G T及びS R Hを含有する組成物においても、本発明を用いることにより、E G Tが本来有する生理活性である、抗酸化用、脳機能改善用、抗老化用、眼疾患用、美白用、紫外線吸収用、メラニン産生抑制用、活性酸素種の除去用、エラスターゼ活性阻害用、シワ形成抑制用、肌のたるみ抑制用、肌のシミの形成抑制用、眼周囲のクマ抑制用、紫外線による肌ダメージ軽減（光老化の抑制）用、乾燥肌用、敏感肌用、毛髪改善用、オートファジー促進用等に好適に用いることが可能となる。

10

【0046】

本発明の組成物は、更に飲食品、機能性表示食品、特定保健用食品、医薬部外品、医薬品、化粧品、日用品、飼料等に使用可能な有効成分や添加剤を適宜配合することができ、また、当該品目で使用される公知の製剤化方法により、適宜製剤化することができる。

【0047】

化粧品や日用品としては、例えば、化粧水、乳液、ジェル、美容液、クリーム、日焼け止めクリーム、パック、マスク、ファンデーション、おしろい、浴用剤、ボディローション、シャンプー、リンス、ヘアトリートメント、ヘアコンディショナー、整髪料、ヘアトニック、歯磨き粉、マウスウォッシュ等に製剤化することが可能である。

20

【0048】

〔製剤〕

本発明の組成物は、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤などの固形製剤；または液剤、シロップ剤、注射剤、クリーム、ローション、ペースト、軟膏、エマルジョン（水中油型エマルジョン、油中水型エマルジョン、多重エマルジョン、ミクロエマルジョン、P E T - エマルジョン、ピッカリング・エマルジョン）、ゲル（ヒドロゲル、アルコールゲル）、懸濁液などの液状製剤として経口または非経口的（外用を含む）に投与することもできる。固形製剤には、賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤；液状製剤には、溶剤、溶解補助剤、乳化剤、乳化安定剤、増粘剤、保湿剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、無痛化剤などを用いることができる。また必要に応じて、防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤、香料などの添加物を用いることもできる。

30

【0049】

賦形剤としては、例えば、ソルビトール、マンニトール、キシリトールなどの糖アルコール、ブドウ糖、白糖、乳糖、果糖などの糖類、結晶セルロース、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、リン酸水素カルシウム、コムギデンプン、コメデンプン、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、デキストリン、 $\alpha$ -シクロデキストリン、軽質無水ケイ酸、酸化チタン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、タルク、カオリン、オリーブ油などが挙げられる。

40

【0050】

結合剤としては、例えば、メチルセルロース、エチルセルロース、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などのセルロース誘導体、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、アクリル酸系高分子、ゼラチン、アラビアゴム、プルラン、アルファー化デンプン、カンテン、トラガント、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコールエステルなどが挙げられる。

【0051】

崩壊剤としては、例えば、デンプン、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、カルボ

50

キシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム、ヒドロキシプロピルスターチ、部分アルファー化デンプンなどが挙げられる。

【0052】

溶剤としては、例えば、水、アルコール、プロピレングリコール、マクロゴール、ゴマ油、トウモロコシ油などが挙げられる。

【0053】

滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸ポリオキシル、セタノール、タルク、硬化油、ショ糖脂肪酸エステル、ジメチルポリシロキサン、ミツロウ、サラシミツロウなどが挙げられる。

【0054】

溶解補助剤としては、例えば、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、マンニトール、安息香酸ベンジル、エタノール、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムなどが挙げられる。

【0055】

懸濁化剤・乳化剤としては、例えば、ステアリルアミン、トリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリンなどの界面活性剤；例えばポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどの親水性高分子；例えばシェラックロウ、ミツロウ、カルナバロウ、鯨ロウ、ラノリン、液状ラノリン、還元ラノリン、硬質ラノリン、環状ラノリン、ラノリンワックス、キャンデリラロウ、モクロウ、モンタンロウ、ライスワックスなどワックス類などが挙げられる。

【0056】

等張化剤としては、例えば、塩化ナトリウム、グリセリン、D-マンニトールなどが挙げられる。

【0057】

緩衝剤としては、例えばリン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、クエン酸塩などの緩衝液などが挙げられる。

【0058】

防腐剤としては、例えば、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸などが挙げられる。

【0059】

抗酸化剤としては、例えば、亜硫酸塩、アスコルビン酸などが挙げられる。

【0060】

本発明の組成物を固形製剤とする場合、当該分野で公知の製造方法を用いることができる。例えば、組成物を練合し、スクリーンを通過させることで成型する押出造粒物を、粉碎し、整粒する方法、前記組成物に練合水を加え、パーチカルグラニューレーターによって成型する攪拌造粒の後に、コーミルを用いて粉碎・篩過する方法が挙げられる。また、前記製剤組成物をローラーコンパクターで圧縮した後、ロールグラニューレーターで粉碎し篩過する方法が挙げられる。また、攪拌造粒の後に、流動層乾燥する方法が挙げられる。また、例えば、直打により製造する場合には、組成物を混合した後、直接、打錠機に投入して打錠すればよい。

【0061】

[ 飲食品 ]

本発明の組成物は、飲食品組成物としても使用することができ、食品または機能性食品に含有させて提供され得る。このような食品または機能性食品としては、米飯；そば、うどん、はるさめ、中華麺、即席麺、カップ麺を含む各種の麺類；清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果実飲料、乳酸飲料、スポーツ飲料等の飲料；カレールー、シチュー、各種スー

10

20

30

40

50

プ類；アイスクリーム、アイスシャーベット、かき氷等の冷菓；飴、クッキー、キャンデー、ガム、チョコレート、錠菓、スナック菓子、ビスケット、ゼリー、ジャム、クリーム、その他の焼き菓子等の菓子類；かまぼこ、はんぺん、ハム、ソーセージ等の水産・畜産加工食品；加工乳、発酵乳等の乳製品；サラダ油、てんぷら油、マーガリン、マヨネーズ、ショートニング、ホイップクリーム、ドレッシング等の油脂及び油脂加工食品；ソース、ドレッシング、味噌、醤油、たれ等の調味料；スープ、サラダ、惣菜、ふりかけ、漬物；その他種々の形態の健康・栄養補助食品・機能性表示食品・特定保健用食品などが例示される。

【0062】

また、本発明の組成物を含有するサプリメント（散剤、顆粒剤、ソフトカプセル、ハードカプセル、錠剤、チュアブル錠、速崩錠、シロップ、液剤等）を調製してもよい。

10

【0063】

また、ペットなどの動物用の餌に対して本発明の組成物を含有させることもできる。

【0064】

飲食品には、必要に応じて、添加物が加えられる。このような添加物としては、例えばブドウ糖、果糖、ショ糖、マルトース、ソルビトール、トレハロース、ステビオサイド、ルブソサイド、コーンシロップ、乳糖、マンニトール、デキストリン、クエン酸、クエン酸ナトリウム、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、L-アスコルビン酸、トコフェロール、エリソルビン酸ナトリウム、グリセリン、プロピレングリコール、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、アラビアガム、カラギーナン、カゼイン、ゼラチン、ペクチン、寒天、ビタミンB類、ニコチン酸アミド、パントテン酸カルシウム、アミノ酸類、カルシウム塩類、界面活性剤、色素、香料、保存剤などが挙げられる。

20

【0065】

本発明の組成物は、各種症状や状態の改善・予防・向上等の表示が許可されている飲食品のために用いることができる。ここで、本発明において、症状や状態の改善・予防・向上等の表示が許可されている飲食品とは、国や公共団体が許可・指定している効能を有する飲食品であり、例えば、機能性表示食品、特定保健用食品等の保健機能食品、特別用途食品等である。なお、状況や時代、各国の制度により名称や規程が変化するが、本質的に同じであるものは本発明に含まれる。

30

【0066】

本発明において、本発明の組成物の配合量は、特に制限されず、適用の目的（対象疾患や症状の種類等）、適用対象部位、適用者の性別や年齢、飲食品、機能性表示食品、特定保健用食品、医薬部外品、医薬品、化粧品、日用品又は飼料等の製品形態、これらの投与又は摂取方法や回数、嗜好等に応じて適宜設定される。

【0067】

本発明の組成物を使用する場合には、EGTが本来有する生理活性を発揮できる有効量を1日当たりの摂取量（適用量）とすることが可能である。例えば、健常の成人が摂取（適用）する場合、EGTの1日当たりの摂取量（適用量）は、例えば、0.005～4,000mg、好ましくは0.1～3,000mg、より好ましくは0.5～2,000mg、更に好ましくは1～1,000mg、特に好ましくは2～500mg、最も好ましくは3～300mgで使用することができる。

40

【0068】

また本発明の組成物を飲食品として用いる場合は、限定はされないが、EGTが本来有する生理活性を表示できる観点からは、機能性食品とすることが好ましく、機能性食品のなかでも機能性表示食品、栄養機能食品、栄養補助食品、特定保健用食品が挙げられるが、用途を明確に表示できる点で機能性表示食品が好ましい。

【0069】

[適用対象者]

本発明の組成物が適用される対象者は、EGTが本来有する生理活性を必要とする年代

50

であれば、特に制限されないが、仕事等の生活環境からストレスを受けやすい年代である30歳頃以上であってもよく、ホルモンバランスの変化や生活環境の変化等により身体の変化を感じやすい年代である中年齢者(45歳頃以上55歳未満)であってもよく、高齢者(55歳以上)であってもよい。

【0070】

[pH]

本発明の組成物のpHは、他の配合成分の種類及び含有量、製剤形態、使用方法等に応じて適宜設定され、薬学的又は生理学的に許容できる範囲であれば制限されないが、例えば、pH2~10とすることができる。本発明の効果を安定的に発揮する観点から、本発明の組成物のpHは、例えば、pH2~10、pH2~9、pH2~8、pH2~7、pH3~10、pH3~9、pH3~8、pH3~7、pH4~10、pH4~9、pH4~8、pH4~7、pH5~10、pH5~9、pH5~8、pH5~7、pH6~10、pH6~9、pH6~8、pH6~7等とすることが可能である。

10

【0071】

[EGT及びSRHを含有し、着色が抑制された組成物の製造方法]

本発明において、EGT及びSRHを含有し、着色が抑制された組成物の製造方法は、SRHの含有量を低減させる工程を含む。

【0072】

SRHの含有量を低減させる工程は、SRH含有量が低減される限り、公知のどのような手段であっても利用することができる。例えば、EGTとSRHとを混合し、組成物を調製する場合は、EGTに対するSRHの含有比率を低減させる工程を採用することができる。また、上述の通り、EGTを含有する組成物にSRHが共存する態様は特に限定されず、例えば、EGTの抽出法における夾雑物においてSRHが存在する態様、合成法又は発酵法等における副生成物として存在する態様であってもよい。

20

【0073】

EGTを発酵法により生産する方法は、国際公開第2019/163767号等により大腸菌等を用いた方法が公知である。

【0074】

EGT生産能を有する腸内細菌科に属する細菌としては、エシェリヒア(*Escherichia*)属、エンテロバクター(*Enterobacter*)属、パントエア(*Pantoea*)属、クレブシエラ(*Klebsiella*)属、及びサルモネラ(*Salmonella*)属の細菌が例示されるが、これらに限定されない。特に好ましい腸内細菌としては、大腸菌(*Escherichia coli*)等のエシェリヒア属、パントエア・アナナティス(*Pantoea ananatis*)等のパントエア属などの腸内細菌が挙げられる。

30

【0075】

腸内細菌科に属する細菌の培養は、通常の方法にて行うことができる。具体的には、LB培地、2×YT培地、NZY培地、M9培地、SOC培地、またはYPD培地などを用いることができる。上記の培地を用いて、EGT及びSRHを生産させることができるが、用いる培地はこれらに限定されない。また、生産させたEGT及びSRHは菌体内に蓄積してもよいし、菌体外(培養液中)に分泌・蓄積してもよい。

40

【0076】

菌体内、または菌体から遊離されたEGT及びSRHの回収は公知の精製方法等によって行うことができる。例えば、培養物を遠心分離あるいは濾過等の固液分離に供して、菌体内からは溶媒抽出、熱水抽出、破碎処理等によりEGT及びSRHの抽出液を取得できる。EGT及びSRHの抽出液、または培養上清からは、溶媒抽出、溶解度差による分離、シリカゲル、アルミナなど吸着剤を用いたクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、ゲル濾過、チオプロピル-セファロース6B、逆相クロマトグラフィーなどのクロマトグラフィー、結晶化、活性炭処理、膜処理、吸着剤やイオン交換樹脂を用いた処理などの方法、およびこれらを組み合わせた方法によりSRHの含有量を低減させることができる。

50

## 【 0 0 7 7 】

これらの方法のなかでも、E G T及びS R Hを含有する組成物において、S R Hを効率的に低減させる観点から、例えば、吸着剤を用いたクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、結晶化、活性炭処理、吸着剤やイオン交換樹脂を用いた処理などの方法、およびこれらを組み合わせた方法が好ましい。

## 【 0 0 7 8 】

また、限定はされないが、上記の他、E G T及びS R Hを含有する組成物において、S R Hを効率的に低減させる観点から、S R Hを分解する手段を用いてもよい。S R Hを分解する方法としては、例えば、当該組成物の溶液を塩基性にする、加温する、濃縮する等の方法が挙げられ、上記に記載の精製方法等と適宜組み合わせてもよい。

10

## 【 0 0 7 9 】

各種のS R Hの含有量を低減させる手段において、E G T及びS R Hの好ましい含有比率については、上記に準じる。

## 【 0 0 8 0 】

上記製造方法は、更に、p Hを調整する工程を含むことが可能である。至適なp Hの数値範囲については、上記に準じる。

## 【 0 0 8 1 】

[ E G T及びS R Hを含有する組成物に対して着色抑制効果を付与する方法 ]

本発明において、E G T、及び、S R Hを含有する組成物であって、

該E G T 1 0 0質量部に対して、該S R Hの含有量が、15質量部以下とすることによる、前記組成物に対して着色抑制効果を付与する方法を提供することも可能である。E G T及びS R Hの好ましい含有比率については、上記に準じる。

20

## 【 0 0 8 2 】

[ 実施形態 ]

上述した実施の形態に関し、限定はされないが、本発明は以下の実施形態を開示する。

## 【 0 0 8 3 】

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有する組成物であって、該S - リボシルホモシステインの含有量が、低減されてなる、組成物。

## 【 0 0 8 4 】

前記S - リボシルホモシステインの含有量が低減されることにより、前記組成物の着色が抑制されてなる、上記に記載の組成物。

30

## 【 0 0 8 5 】

前記L - エルゴチオネイン 1 0 0質量部に対して、前記S - リボシルホモシステインの含有量が、15質量部以下である、上記に記載の組成物。

## 【 0 0 8 6 】

前記L - エルゴチオネイン 1 0 0質量部に対して、前記S - リボシルホモシステインの含有量が、10質量部以下である、上記に記載の組成物。

## 【 0 0 8 7 】

前記L - エルゴチオネイン 1 0 0質量部に対して、前記S - リボシルホモシステインの含有量が、5質量部以下である、上記に記載の組成物。

40

## 【 0 0 8 8 】

前記L - エルゴチオネイン 1 0 0質量部に対して、前記S - リボシルホモシステインの含有量が、0 . 0 0 1質量部以上である、上記に記載の組成物。

## 【 0 0 8 9 】

前記L - エルゴチオネイン 1 0 0質量部に対して、前記S - リボシルホモシステインの含有量が、0 . 0 0 5質量部以上である、上記に記載の組成物。

## 【 0 0 9 0 】

前記L - エルゴチオネイン 1 0 0質量部に対して、前記S - リボシルホモシステインの含有量が、0 . 0 1質量部以上である、上記に記載の組成物。

## 【 0 0 9 1 】

50

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 S - リボシルホモシステインの含有量が、0.001 ~ 15 質量部である、上記に記載の組成物。

【0092】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 S - リボシルホモシステインの含有量が、0.005 ~ 10 質量部である、上記に記載の組成物。

【0093】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 S - リボシルホモシステインの含有量が、0.01 ~ 5 質量部である、上記に記載の組成物。

【0094】

さらに、SRH脱水二量体を含有する、上記に記載の組成物。

10

【0095】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、15 質量部以下である、上記に記載の組成物。

【0096】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、10 質量部以下である、上記に記載の組成物。

【0097】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、5 質量部以下である、上記に記載の組成物。

【0098】

20

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、0.001 質量部以上である、上記に記載の組成物。

【0099】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、0.005 質量部以上である、上記に記載の組成物。

【0100】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、0.01 質量部以上である、上記に記載の組成物。

【0101】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、0.001 ~ 15 質量部である、上記に記載の組成物。

30

【0102】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、0.005 ~ 10 質量部である、上記に記載の組成物。

【0103】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 SRH脱水二量体の含有量が、0.01 ~ 5 質量部である、上記に記載の組成物。

【0104】

L - エルゴチオネイン、及び、S - リボシルホモシステインを含有する組成物であって、該 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、該 S - リボシルホモシステインの含有量が、15 質量部以下である、

40

前記組成物の着色を抑制するための組成物。

【0105】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 S - リボシルホモシステインの含有量が、5 質量部以下である、上記に記載の組成物。

【0106】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 S - リボシルホモシステインの含有量が、0.01 質量部以上である、上記に記載の組成物。

【0107】

前記 L - エルゴチオネイン 100 質量部に対して、前記 S - リボシルホモシステインの

50

含有量が、0.01～5質量部である、上記に記載の組成物。

【0108】

さらに、SRH脱水二量体を含有する、上記に記載の組成物。

【0109】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記SRH脱水二量体の含有量が、15質量部以下である、上記に記載の組成物。

【0110】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記SRH脱水二量体の含有量が、0.001質量部以上である、上記に記載の組成物。

【0111】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記SRH脱水二量体の含有量が、0.001～15質量部である、上記に記載の組成物。

【0112】

L-エルゴチオネイン、及び、S-リボシルホモシステインを含有し、着色が抑制された組成物の製造方法であって、

該S-リボシルホモシステインの含有量を低減させる工程を含む方法。

【0113】

L-エルゴチオネイン、及び、S-リボシルホモシステインを含有する組成物であって、該L-エルゴチオネイン100質量部に対して、該S-リボシルホモシステインの含有量が、15質量部以下である、

前記組成物に対して着色抑制効果を付与する方法。

【0114】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記S-リボシルホモシステインの含有量が、5質量部以下である、上記に記載の方法。

【0115】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記S-リボシルホモシステインの含有量が、0.01質量部以上である、上記に記載の方法。

【0116】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記S-リボシルホモシステインの含有量が、0.01～5質量部である、上記に記載の方法。

【0117】

前記組成物が、さらに、SRH脱水二量体を含有する、上記に記載の方法。

【0118】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記SRH脱水二量体の含有量が、15質量部以下である、上記に記載の方法。

【0119】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記SRH脱水二量体の含有量が、0.001質量部以上である、上記に記載の方法。

【0120】

前記L-エルゴチオネイン100質量部に対して、前記SRH脱水二量体の含有量が、0.001～15質量部である、上記に記載の方法。

【実施例】

【0121】

次に、実施例や試験例により本発明を具体的に説明するが、本発明は以下の実施例や試験例に限定されるものではない。なお、特に説明がない場合には、分子生物学、応用微生物学に関する標準的なプロトコール集に記載の方法、あるいはそれを修飾、改変した方法を用いて実験を実施した。

【0122】

(試験例1. EGT及びSRHを含有する組成物における安定性評価)

L-エルゴチオネイン(EGT)及びS-リボシルホモシステイン(SRH)を含む組成

10

20

30

40

50

物について、30における保存安定性を下記の通り調べた。なお、SRHの含有量による影響を確認する試験モデルとして、EGTを含有する組成物に対してSRHを添加する方法を採用しているが、抽出法における夾雑物、合成法、発酵法等における副生成物等により内在的にEGTとSRHが含有されていてもよい。

【0123】

SRHはカーボハイドレートリサーチ、2014、394巻、32ページに記載の方法に準じて合成し、電気透析により脱塩したSRH水溶液(NMRにより定量し、SRHとして0.108w/w%含む)を調製した。

【0124】

EGT100質量部に対して、SRHの含有量が20質量部、15質量部、10質量部、5質量部、1質量部、0.5質量部、0.1質量部、0.01質量部に相当するサンプルは以下のように調製した。

(1) EGT 500mg(テトラエドロン社製)を50mLに溶解した。これを5mL×8本サンプリングしそれぞれにSRH 0.108w/w%水溶液(9.3mL、6.98mL、4.63mL、2.33mL、0.463mL、0.232mL、46.3μL、4.63μL)を含有させ、EGT100質量部に対しSRHを20質量部、15質量部、10質量部、5質量部、1質量部、0.5質量部、0.1質量部、0.01質量部で含有するサンプルを調製した。

(2) それぞれのサンプルを5等分したのち、凍結乾燥した。

(3) 凍結乾燥直後に各含有量について1本ずつ1mLの水で溶解し、200μLずつ96wellマイクロプレートに採取し、MULTISKAN GO(Thermo Scientific社製)を用いて230-600nmの吸光度測定を行った。

(4) 30にて保管し、3日目、24日目、6か月後に各含有量について1本ずつ1mLの水で溶解し、230-600nmの吸光度測定を行った。表1は上記(3)、(4)における400nmの吸光度のデータを用いてEGTに対するのSRH含有量と吸光度変化をまとめた。

【0125】

10

20

30

40

50

【表 1】

EGT100質量部に対するSRH含有量	0日	3日	24日	6か月
20質量部	0.0118	0.0338	0.1765	0.7623
15質量部	0.0097	0.0295	0.1394	0.4188
10質量部	0.0067	0.0166	0.0763	0.2938
5質量部	0.0051	0.0178	0.0506	0.1931
1質量部	0.0046	0.0075	0.0313	0.0832
0.5質量部	0.0033	0.0079	0.0203	0.0507
0.1質量部	0.0033	0.0033	0.0081	0.0167
0.01質量部	0.0034	0.0027	0.0049	0.0091

10

20

## 【0126】

また、6カ月保存したサンプルにおける、水への溶解前の写真を図1に示し、水への溶解後の写真を図2に示す。

## 【0127】

表1及び図1～2に示される通り、30で6か月保存したサンプルのうち、SRHの含有量が少ないほど組成物の着色抑制効果があることが確認された。限定はされないが、EGTとSRHとが共存する組成物において、EGT100質量部に対して、SRHの含有量が15質量部以下である場合には、保管直後の吸光度が0.01を下回り、且つ、30での長期保存においても顕著に着色を抑えることが可能であった。

30

## 【0128】

(試験例2. EGT及びSRHを含有する組成物からのEGT結晶化)

EGT50mg(テトラエドロン社製)に0.108w/w%SRH水溶液2.31mL(2.5mg、EGT100質量部に対するSRH含有量5質量部)を含有させ、濃縮後、60で水200μLに溶解後、エタノールを2mL加え、析出した結晶を室温にてろ過した。得られたEGTの収量は34mg、HPLC定量値は98.5%であった(定量値はテトラエドロン社製のEGT標準品とした絶対定量)。同様に、EGT100質量部に対して、SRH10質量部を含有させて結晶化を行った結果、及び、20質量部を含有させて結晶化を行った結果を表2に示す。

40

## 【0129】

(HPLC分析条件)

EGTの定量は以下のHPLC条件で行った。

カラム：YMC-Pack ODS-AQ S-5μM, 12nm, 250×4.6mm I.D.

流速：0.5mL/min、温度：30

検出器：PDA(257nm)

溶離液：0.1%ギ酸水溶液

50

保持時間：8.9分付近

【0130】

【表2】

EGT100質量部 に対する SRH含有量	EGT収量	HPLC定量値
20質量部	30mg	83.1%
10質量部	35mg	97.8%
5質量部	34mg	98.5%

10

【0131】

表2に示される通り、EGTとSRHとが共存する組成物において、EGT100質量部に対して、SRHの含有量が20質量部の場合には、EGTを結晶化する際の収量及び、HPLC定量値が低下するという新たな課題が見出された。一方で、EGTとSRHとが共存する組成物において、EGT100質量部に対して、SRHの含有量が15質量部以下である場合（10質量部、及び、5質量部）には、EGTを結晶化する際の収量、及び、HPLC定量値が顕著に改善されることが確認された。

20

【0132】

[参考例]

EGT 7.1mg（テトラエドロン社製）をSRH 0.108w/w%水溶液（1mL）に溶解し、EGT100質量部に対しSRHが15質量部のサンプルを調製した。

このうち100μLを水で10倍希釈してHPLC分析を行った。残りの900μLについては、30℃でエバポレータにて減圧濃縮した。室温で4日放置後に水0.9mLに溶解し、このうち100μLを水で10倍希釈してHPLC分析を行い濃縮前とHPLC面積を比較した結果を表3に示す。

【0133】

【表3】

保持時間	濃縮前	濃縮4日後
SRH 6.6分付近	156690	108189
SRH脱水二量体 7.5分付近	6733	41309
EGT 8.7分付近	13959268	14131254

30

【0134】

表3に示されるようにSRHのHPLC面積の減少に伴い、7.5分付近のピークのHPLC面積が増加した。また、このピークについて高分解能質量分析を行ったところ、SRH脱水二量体であるものと推測された。HPLCの分析条件と、高分解能質量分析（LC-MS）の分析条件は以下のとおりである。

40

【0135】

（HPLC分析条件）

HPLC分析は以下の条件で行った。

カラム：YMC-Pack ODS-AQ S-5μM, 12nm, 250×4.6mm I.D.

流速：0.5mL/min、温度：30

検出器：PDA（210nm）

溶離液：0.1%ギ酸水溶液

50

注入量：5  $\mu$ L

保持時間：SRH 6.6分付近 SRH脱水二量体 7.5分付近

E G T 8.7分付近

【0136】

(高分解能質量分析)

以下にSRH脱水二量体についての高分解能質量分析の結果を示す。

[M+H]<sup>+</sup> 計算値 C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub> 517.1527; 実測値 517.1522

(高分解能質量分析(LC-MS)分析条件)

装置：Agilent Technologies 6224 TOF LC/MS (ア  
ジレントテクノロジー社製) 10

カラム：YMC-Pack ODS-AQ S-5  $\mu$ M, 12 nm, 250 x 4.6 m  
m I.D.

流速：0.5 mL/min、温度：30

溶離液：0.1%ギ酸水溶液

イオン化条件：ESI キャピラリー電圧 3500 V フラグメンター電圧 100 V

保持時間：SRH 6.5分付近 SRH脱水二量体 7.3分付近

E G T 8.5分付近

20

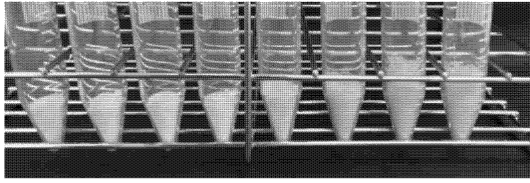
30

40

50

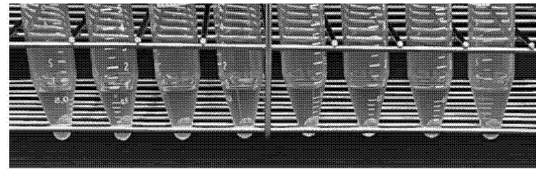
【図面】

【図 1】



0.01、0.1、0.5、1、5、10、15、20  
EGT100質量部に対するSRH添加量(質量部)

【図 2】



0.01、0.1、0.5、1、5、10、15、20  
EGT100質量部に対するSRH添加量(質量部)

10

20

30

40

50

---

フロントページの続き

(51)国際特許分類

**A 6 1 P 39/06 (2006.01)**

F I

A 6 1 P 39/06

(56)参考文献

国際公開第 2 0 1 9 / 1 6 3 7 6 7 ( W O , A 1 )

HALLIDAY, N. M. et al. , Quantitative liquid chromatography-tandem mass spectrometry profiling of activated methyl cycle meta , Analytical Biochemistry , 2010年 , 403 , 20-29

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

A 2 3 L

A 6 1 K

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )