

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-297279

(P2008-297279A)

(43) 公開日 平成20年12月11日(2008.12.11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/353 (2006.01)	A 6 1 K 31/353	4 B 0 1 8
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)	A 6 1 K 31/7048	4 C 0 5 7
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 0 6 2
A 6 1 P 9/08 (2006.01)	A 6 1 P 9/08	4 C 0 8 6
A 6 1 P 7/02 (2006.01)	A 6 1 P 7/02	
審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 8 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-147286 (P2007-147286)	(71) 出願人	000000918 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番1 〇号
(22) 出願日	平成19年6月1日(2007.6.1)	(74) 代理人	110000084 特許業務法人アルガ特許事務所
		(74) 代理人	100068700 弁理士 有賀 三幸
		(74) 代理人	100077562 弁理士 高野 登志雄
		(74) 代理人	100096736 弁理士 中嶋 俊夫
		(74) 代理人	100117156 弁理士 村田 正樹
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 血管内皮機能改善剤

(57) 【要約】

【課題】血管内皮機能障害の予防・治療のための、副作用が少なく、持続的に摂取可能で、かつ明確な効果の得られる素材の提供。

【解決手段】糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される1種以上を有効成分とする血管内皮由来NO作用増強剤、血管内皮機能改善剤。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される 1 種以上を有効成分とする血管内皮由来 NO 作用増強剤。

【請求項 2】

糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される 1 種以上を有効成分とする血管内皮機能改善剤。

【請求項 3】

糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される 1 種以上を有効成分として含有する血管内皮由来 NO 作用増強用食品。

10

【請求項 4】

糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される 1 種以上を有効成分として含有する血管内皮機能改善用食品。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、血管内皮細胞に由来する一酸化窒素 (NO) 作用の増強剤、および血管内皮機能改善剤に関する。

【背景技術】**【0002】**

癌、心疾患および脳血管疾患は、日本人の死因ワースト 3 である (平成 12 年度厚生労働省人口動態統計)。心疾患および脳血管疾患は、動脈硬化により誘発される。動脈硬化の原因としては、血管内皮を含む血管内膜の炎症性変化、すなわち血管内皮機能障害が深く関与していることが数多くの研究により確認されている。血管内皮は、直接的に血管内腔に面している唯一の組織であり、血管内腔面を覆う単層の細胞層 (血管内皮細胞層) から構成されている。血管内皮細胞は、循環系を介して運ばれる種々の血管作動性物質やレオロジー変化 (ずれ応力) に対して速やかに応答して血管平滑筋機能をコントロールすることにより、局所循環動態を調節している。

20

【0003】

一酸化窒素 (NO) は、生体内で NO 合成酵素により L-アルギニンと酸素分子とから生成される。血管内皮細胞により産生される NO は、血管弛緩因子として知られているほか、増殖性変化・炎症性変化・血小板凝集・酸化ストレスなどに対する抑制作用を有することが知られている。動脈硬化・高脂血症など種々の危険因子に関連して、NO の産生低下や作用不足が生じていることが報告されている (非特許文献 1)。NO の産生低下・作用不足の機序は複雑であるが、血管内皮や内皮下層に蓄積したリポ蛋白、特に酸化 LDL による NO の不活化亢進、内皮下層のマクロファージや好中球などにより産生される活性酸素種による NO の不活化亢進などが関与している可能性がある。一方、NO 自体が非常に不安定で反応性に富むラジカル分子であるため、NO が過剰産生されるような状況下においてもまた、スーパーオキシドアニオンラジカルと反応して産生されるパーオキシナイトライトなどの活性酸素種を介して、組織障害が惹起される可能性がある。以上のように、NO は血管の状態に関わる重要な因子であるので、血管組織において、NO 産生を増加させたり NO が作用しやすい状況を作り出したりすることが出来れば、血管内皮機能障害の予防および治療、ならびにそれらに端を発する動脈硬化の発症を抑制できると期待される。

30

40

【0004】

従来、血管内皮機能障害を発端とする動脈硬化の抑制方法は、その大きな危険因子である高脂血症や高コレステロール血症、特に、高 LDL 血症の抑制が主なものである。高脂血症の治療には、フィブラート系やスタチン系の抗高脂血症薬あるいはニコチン酸系コレステロール低下剤などが用いられてきた。これらの薬剤は、高脂血症の改善には優れた効果を発揮するものの、顔・手足・口中の腫れ、不整脈、発熱、腹痛、発疹、動悸、痙攣、

50

めまい、吐き気などの副作用が少なからず存在する。

【0005】

1980年代の中頃より、血管内皮機能障害の発症に酸化変性を受けた脂質、特に酸化LDLが重要な役割を果たすことが注目され、動物実験をはじめとして多くの酸化予防試験が実施されてきた。これらの研究は、天然の抗酸化物質としてはビタミンE、ビタミンC、またはカロチンなど、また薬剤としては脂質低下剤であるプロブコールなどを中心に行われてきた。しかし、これら抗酸化物質による血管内皮機能障害の予防に関しては、現在のところ、明確な有効性が認められるまでには至っていない。

【0006】

フラボノイドの一種であるヘスペリジンは、ビタミンPとも呼ばれ、柑橘類の皮などに多く含まれることが知られている物質である。このヘスペリジンが水に難溶であるのに対して、これにグルコースを結合させた糖化ヘスペリジンは、水溶性が向上しており、食品製造等の種々の分野での利用が期待されている。糖化ヘスペリジンは経口摂取された場合、腸管でヘスペリジン、ついでアグリコンであるヘスペレチンへと代謝され、血中では主にヘスペレチングルクロン酸胞合体が検出される（非特許文献2）。

【0007】

糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンは、共に脂質代謝改善作用や毛細血管強化作用を有することが知られている（非特許文献3～5）。またヘスペリジン、ヘスペレチンについては、血管平滑筋を介した血管拡張作用を有することが知られている（非特許文献6～7）。これらの作用から、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンの循環器疾患治療への利用が期待されている（特許文献1）。一方、これらの物質と血管内皮機能障害、特に血管内皮由来NOの作用との関連性については、これまで報告されていなかった。

【特許文献1】特開2004-123753

【非特許文献1】Quyyumi AAら、J. Clin. Invest., 1995; 95: 1747

【非特許文献2】Yamada Mら、Biosci. Biotechnol. Biochem., 2006; 70: 1386

【非特許文献3】Garg AAら、Phytother. Res., 2001; 15: 955

【非特許文献4】Miwa Yら、J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo), 2001; 51: 460-470

【非特許文献5】食品工業、2005; Vol. 48, No. 17: 56-63

【非特許文献6】Orallo Fら、Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 2004; 370: 452-463

【非特許文献7】Calderone Vら、Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 2004; 370: 290-298

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明は、血管内皮機能障害の予防・治療効果を発揮し、副作用が少なく、かつ持続的に摂取可能な医薬品または食品を提供することに関する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、長期的に服用又は摂取することができる安全性の高い成分の中からNO作用の増強効果を有する成分を見出すべく種々検討した結果、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンが、優れた血管内皮由来NO作用増強効果および血管拡張増強作用を有し、血管内皮機能改善剤として有用であることを見出した。また本発明者らは、これらの有効成分がマイルドな血管機能改善作用を有し、副作用をほとんど示さないことを見出した。

10

20

30

40

50

【0010】

すなわち本発明は、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される1種以上を有効成分とする血管内皮由来NO作用増強剤に関する。

【0011】

また本発明は、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される1種以上を有効成分とする血管内皮機能改善剤に関する。

【0012】

さらに本発明は、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される1種以上を有効成分として含有する血管内皮由来NO作用増強用食品に関する。

【0013】

さらにまた本発明は、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンから選択される1種以上を有効成分として含有する血管内皮機能改善用食品に関する。

【発明の効果】

【0014】

本発明によれば、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンまたはヘスペレチンを利用した、血管内皮由来NO作用増強または血管内皮機能改善のための医薬品または食品が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0015】

本発明で用いる糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンは公知の物質である。糖化ヘスペリジンは、ヘスペリジンに1個～数個のグルコースが結合した物質であり、具体的には、例えば - グリコシルヘスペリジンが挙げられる。一方ヘスペレチンは、ヘスペリジンを - グルコシダーゼ等の酵素により加水分解することによって得られる物質である。これらの糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンは、化学合成や酵素反応を利用して公知の方法により工業的に製造することができる。またヘスペリジンについては、これを含有する天然物、特に植物から抽出することによって得ることもできる。これら物質はまた、試薬等として製造販売されている。市販されている糖化ヘスペリジンの例としては、林原(株)からのヘスペリジン(登録商標)Sが挙げられる。市販されているヘスペリジンの例としては、浜理薬品工業(株)から販売されているヘスペリジンが挙げられる。市販されているヘスペレチンの例としては、シグマアルドリッチから販売されているヘスペレチンが挙げられる。これらの糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンは食品添加物として利用されている、極めて安全性の高い化合物である。

【0016】

後述の実施例に記載されるように、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンにより血管のアセチルコリンによる拡張反応が増強される。一方で、平滑筋弛緩薬であるニトロプルシドナトリウムによる血管拡張反応には影響を与えない。すなわち内皮細胞を介した血管拡張反応が増強される。さらに試験に用いた胸部大動脈などの大動脈では、アセチルコリンによって引き起こされる血管拡張反応はその大部分がNOに依存した拡張反応であることが知られている(Nagao T.ら、Am. J. Physiol. 1992, 263: H1090-H1094)。アセチルコリンを血管に添加すると、血管内皮細胞において一酸化窒素合成酵素(NOS)が活性化され、L-アルギニンからNOが生成される。NOは血管の平滑筋に作用して血管を拡張させる。すなわち糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンは、血管内皮細胞によって産生されたNO由来の血管拡張機序に対して増強効果を及ぼしており、この効果は、従来公知の脂質代謝改善作用や毛細血管強化作用とは無関係である。

【0017】

斯くして糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンは、血管内皮由来のNOの作用およびそれに基づく血管拡張作用を増強し、血管内皮機能を改善する。従って本発明によれば、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンまたはヘスペレチンは、血管内皮由来NO作用増強または血管内皮機能改善のための医薬品または食品として、あるいはそれらを製

10

20

30

40

50

造するために使用することができる。

【0018】

本発明のNO作用増強または血管内皮機能改善のための医薬品または食品には、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンおよびヘスペレチンのうちのいずれか1種を利用しても、2種以上を併用してもよい。

【0019】

ここで、「血管内皮機能」とは、血管内皮細胞の機能をいう。血管内皮機能改善作用の例としては、NO作用増強による血管拡張作用、血小板凝集抑制・抗血栓形成作用、抗増殖作用、抗炎症作用などが挙げられる。

【0020】

本発明の食品は、一般食品の他、NO作用増強または血管内皮機能改善を目的とした、美容食品、病者用食品、栄養機能食品または特定保健用食品等の機能性食品とすることができる。本発明の食品は、固形、半固形または液状であり得る。本発明の食品はまた、錠剤形態、丸剤形態、カプセル形態、液剤形態、シロップ形態、粉末形態または顆粒形態等であってもよい。上記食品の例としては、ジュース、コーヒー、緑茶、ウーロン茶等の飲料；スープ等の液状食品；醤油、食酢等の液状調味料；牛乳、乳製品、カレー、味噌等の乳状またはペースト状食品；ゼリー、グミ等の半固形状食品；パン類、麺類、菓子類、豆腐、加工食品、サプリメント等の固形状食品；粉末状食品；食用油、マーガリン、マヨネーズ、ドレッシング等の油脂含有食品等、およびそれらの原材料が挙げられる。本発明の食品は、安全性に優れ、健常者が日常飲食しても、何ら問題ない。

10

20

【0021】

本発明の食品において、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンまたはヘスペレチンは、他の食品材料と組み合わせて使用してもよい。本発明の食品は、必要に応じて食品添加物を含むしてもよい。食品添加物の例としては、溶剤、油、軟化剤、乳化剤、防腐剤、安定剤、酸化防止剤、着色剤、紫外線吸収剤、保湿剤、増粘剤、光沢剤、甘味料、香料等が挙げられる。

【0022】

本発明の食品への糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンまたはヘスペレチンの配合量は、一食当たり0.001~50質量%であり、好ましくは0.01~25質量%であり、さらに好ましくは0.05~10質量%である。

30

【0023】

医薬品として使用する場合、本発明のNO作用増強剤、または血管内皮機能改善剤は、任意の投与形態で投与され得る。投与形態としては、経口および非経口投与が挙げられる。経口投与のための剤型としては、錠剤、丸剤、カプセル剤（硬カプセル剤及び軟カプセル剤を含む）、散剤、顆粒剤、細粒剤、シロップ、エリキシル、チュアブル剤、液剤（ドリンク剤）等が挙げられる。非経口投与としては、注射、輸液、経皮、経鼻、吸入、坐剤、ポラス等が挙げられる。

【0024】

本発明の医薬品においては、糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンまたはヘスペレチンを単独で使用してもよく、薬学的に許容される担体と組み合わせて使用してもよい。斯かる担体としては、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、希釈剤、浸透圧調整剤、pH調整剤、乳化剤、防腐剤、安定剤、酸化防止剤、着色剤、紫外線吸収剤、保湿剤、増粘剤、光沢剤、矯味剤、矯臭剤等が挙げられる。

40

【0025】

本発明の医薬品または食品からの糖化ヘスペリジン、ヘスペリジンまたはヘスペレチンの投与または摂取量は、個体の状態、体重、性別、年齢またはその他の要因に従って変動し得る。成人（体重60kg）の1日当りの投与または摂取量は、好ましくは0.001~10gであり、より好ましくは0.005~5gであり、さらに好ましくは0.01~0.5gである。本発明の医薬品または食品は、1日に3回、1日に2回、1日1回、2日に1回、3日に1回、1週間に1回、または任意の期間および間隔で投与または摂取さ

50

れ得る。

【実施例】

【0026】

以下の実施例において、本発明をより詳細に説明する。

【0027】

実施例1：摘出血管による血管拡張反応評価

20週齢の雄性SHR (spontaneously hypertensive rat) (n=6)の胸部大動脈を摘出した。得られた動脈をマグナス管に懸垂し、1gの張力を負荷した。ヘスペレチン(シグマアルドリッチ) 10^{-5} mol/Lを添加して20分間血管をインキュベートした。その後フェニレフリン(10^{-6} mol/L)を添加して平滑筋を収縮させ、収縮が安定した時点でアセチルコリン(10^{-9} ~ 10^{-5} mol/L)または平滑筋弛緩薬であるニトロプルシドナトリウム(シグマアルドリッチ; 10^{-10} ~ 10^{-5} mol/L)をそれぞれ累積添加し、血管拡張反応を測定した。コントロールには溶媒のジメチルスルホキシド(DMSO)のみを添加した。反応は張力トランスデューサーを介してアンプ(PAS-401、いわしや岸本医科産業(株))に誘導し、レコーダー(SS-250F、セコニック(株))に記録した。血管拡張率はアセチルコリンまたはニトロプルシドナトリウムによる拡張をフェニレフリンの収縮に対する百分率で表した。その結果、図1Aに示すようにヘスペレチンの添加によりアセチルコリンによる血管拡張反応はコントロールに対して有意に増強された。一方、平滑筋弛緩薬であるニトロプルシドナトリウムによる拡張反応はヘスペレチン添加による影響を受けなかった(図1B)。すなわちヘスペレチン添加により内皮依存性血管拡張反応が増強された。大動脈におけるアセチルコリンによる血管拡張反応はその大部分が内皮により産生されたNOによって引き起こされると考えられている(Nagao Tら、Am. J. Physiol. 1992, 263: H1090-H1094)ことから、ヘスペレチンによる内皮依存性血管拡張作用の改善はNO作用増強によるものであることがわかる。

【0028】

実施例2：糖化ヘスペリジン継続摂取後の血管拡張反応評価

14週齢の雄性SHR (n=9)を用い、糖化ヘスペリジン(林原(株))を50mg/kg/日となるよう餌(CE-2、日本クレア(株))に混ぜて8週間摂取させた。コントロール群には通常食(CE-2)のみを与えた。摂取期間終了後、胸部大動脈を摘出し、得られた動脈をマグナス管に懸垂し、1gの張力を負荷した。その後フェニレフリン(10^{-6} mol/L)を添加して平滑筋を収縮させ、収縮が安定した時点でアセチルコリン(10^{-9} ~ 10^{-5} mol/L)またはニトロプルシドナトリウム(10^{-10} ~ 10^{-5} mol/L)をそれぞれ累積添加し、血管拡張反応を測定した。反応は張力トランスデューサーを介してアンプ(PAS-401、いわしや岸本医科産業(株))に誘導し、レコーダー(SS-250F、セコニック(株))に記録した。血管拡張率はアセチルコリンまたはニトロプルシドナトリウムによる拡張をフェニレフリンの収縮に対する百分率で表した。その結果、図2Aに示すように糖化ヘスペリジン摂取群における血管拡張反応はコントロールに対して有意に増強された。一方、平滑筋弛緩薬であるニトロプルシドナトリウムによる拡張反応は糖化ヘスペリジン摂取による影響を受けなかった(図2B)。すなわち糖化ヘスペリジン摂取により内皮依存性血管拡張反応が増強された。上述のように、大動脈におけるアセチルコリンによる血管拡張反応はその大部分が内皮により産生されたNOによって引き起こされると考えられていることから、糖化ヘスペリジン継続摂取後の大動脈における内皮依存性血管拡張作用の改善はNO作用増強によるものであることがわかる。

【0029】

実施例3：軟カプセル剤

ゼラチン	70.0	(質量%)
グリセリン	22.9	
パラオキシ安息香酸メチル	0.15	

10

20

30

40

50

パラオキシ安息香酸プロピル 0.51
 水 6.44

【0030】

上記組成からなる軟カプセル剤皮（オパール型、重さ150mg）の中に大豆油400mgと糖化ヘスペリジン50mgとヘスペリジン50mgを定法により充填し、軟カプセル剤を製造した。

【0031】

実施例4：飲料

脱脂粉乳 3.5 (質量%)
 ミルクカゼイン酵素分解物 3.5
 フラクトース 9.0
 糖化ヘスペリジン 0.5
 クエン酸 0.1
 アスコルビン酸 0.1
 香料 0.1
 水 83.2

10

【0032】

上記組成の飲料の保存安定性は高く、また、風味も良好であった。

【図面の簡単な説明】

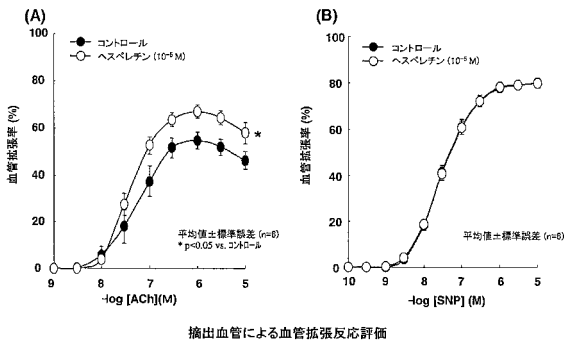
【0033】

20

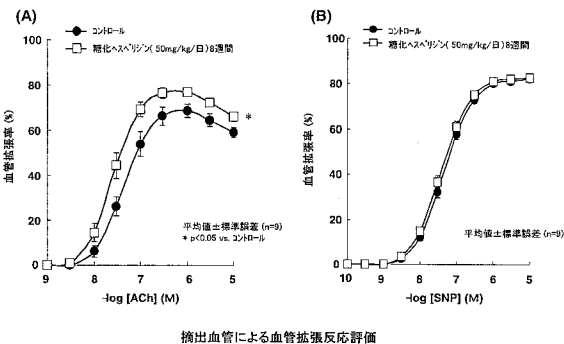
【図1】図1は、ヘスペレチン処理された雄性SHRの胸部大動脈における、アセチルコリンによる血管拡張率の増強を示す図である。

【図2】図2は、糖化ヘスペリジンを8週間経口摂取した雄性SHRの胸部大動脈における、アセチルコリンによる血管拡張率の増強を示す図である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
C 0 7 D 311/32 (2006.01)	C 0 7 D 311/32	
A 2 3 L 1/302 (2006.01)	A 2 3 L 1/302	
C 0 7 H 17/07 (2006.01)	C 0 7 H 17/07	
(74)代理人 100111028 弁理士 山本 博人		
(74)代理人 100101317 弁理士 的場 ひろみ		
(74)代理人 100121153 弁理士 守屋 嘉高		
(74)代理人 100134935 弁理士 大野 詩木		
(74)代理人 100130683 弁理士 松田 政広		
(72)発明者 山本 征輝 栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2 6 0 6 花王株式会社研究所内		
(72)発明者 鈴木 淳 栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2 6 0 6 花王株式会社研究所内		
F ターム(参考) 4B018 MD23 MD42 ME14 4C057 BB03 DD01 KK08 4C062 EE49 4C086 AA01 AA02 BA08 EA11 MA01 MA04 NA14 ZA39 ZA54 ZB11 ZC41		