

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6145352号
(P6145352)

(45) 発行日 平成29年6月7日(2017.6.7)

(24) 登録日 平成29年5月19日(2017.5.19)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 35/74 (2015.01)	A 6 1 K 35/74 A
A 6 1 K 36/03 (2006.01)	A 6 1 K 36/03
A 6 1 P 9/12 (2006.01)	A 6 1 P 9/12

請求項の数 3 (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願2013-160805 (P2013-160805)	(73) 特許権者	504214626
(22) 出願日	平成25年7月17日(2013.7.17)		濱田 奈保子
(65) 公開番号	特開2015-21001 (P2015-21001A)		東京都港区港南4-5-7 東京海洋大学 内
(43) 公開日	平成27年2月2日(2015.2.2)	(73) 特許権者	597106806
審査請求日	平成28年1月21日(2016.1.21)		日本・バイオ株式会社 東京都世田谷区梅丘3丁目14番14号
		(74) 代理人	100086689
			弁理士 松井 茂
		(74) 代理人	100157772
			弁理士 宮尾 武孝
		(72) 発明者	濱田 奈保子
			長野県北佐久郡軽井沢町軽井沢663-1
		(72) 発明者	橋口 慧理
			埼玉県坂戸市鶴舞4-11-7
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 納豆菌を用いたマコンブ発酵物の血圧上昇抑制剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

納豆菌を用いたマコンブ発酵物を有効成分として含有する 血圧上昇抑制用組成物。

【請求項2】

前記マコンブ発酵物の抽出物を有効成分として含有する、請求項1に記載の血圧上昇抑制用組成物。

【請求項3】

機能性食品、食品素材、ペットフード、飲食品又は医薬品の形態で用いられる、請求項1又は2に記載の血圧上昇抑制用組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は納豆菌 *Bacillus subtilis natto* を用いたマコンブ発酵物を有効成分として含有する血圧上昇抑制作用に関する。本発明は、血圧上昇抑制機能性食品または食品素材、内服剤として、ヒト若しくはヒト以外の動物に与えられる医薬品（動物用治療薬も含む）用、飲食品用、および飼料用またはペットフードの組成物を意味する。

【背景技術】

【0002】

高血圧は生活習慣病の一つである。高血圧は原因が分かっている二次性高血圧と原因がわからない本態性高血圧の二つがあるが、日本における高血圧患者の約90%が本態性高血圧である。血圧は、心拍出量と末梢血管抵抗その他さまざまな因子によって調節されており、なかでも、レニン・アンジオテンシン系は、血圧の制御に関して大きな役割を担っている。肝臓でアンジオテンシノーゲンが合成され、アンジオテンシノーゲンは腎臓で合成されるレニンによってアンジオテンシンⅠに変換される。さらにアンジオテンシン変換酵素(ACE)によってアンジオテンシンⅠⅠへと変換される。アンジオテンシンⅠⅠがアンジオテンシンⅠⅠ受容体に結合することで、血管平滑筋が収縮し、結果として血圧が上昇する。高血圧は自覚症状がないため、放置してしまうことが多く、動脈硬化、心臓病、脳卒中を引き起こすことがある。

10

【0003】

前述の高血圧については、これを解消するための医療品が種々提案され、既に数多く市販されている。治療剤としては、腎臓でのナトリウムと水の再吸収を抑制し循環血液量を減少させて血圧を下げる利尿薬、交感神経の受容体の血管収縮作用を遮断し血管を拡張させ血圧を下げる遮断薬、交感神経の受容体の心臓収縮力強化や昇圧ホルモン産生などの作用を遮断して血圧を下げる遮断薬、カルシウムイオンの細胞内への取り込みを抑制し血管を拡張することで血圧を下げるカルシウム拮抗薬、強力な昇圧ホルモンであるアンジオテンシンⅠⅠの生産を減少させ、血圧を下げるACE阻害薬、昇圧ホルモンであるアンジオテンシンⅠⅠが作用する受容体の働きを阻害することで血圧を下げるアンジオテンシンⅠⅠ受容体阻害薬(ARB)が用いられるが、これら医療用合成製剤は、処方箋を必要とするため、簡易には入手できないばかりか、製剤の投与又は服用により種々の副作用を伴うことがある。従って、高血圧の治療に使用される抗高血圧剤として、入手が容易でかつ副作用ができるだけ少ない天然物起源のものが求められている。天然物起源の高血圧の改善剤としては、ACE阻害を示すノリ、カツオ、ワカメなどのペプチド、副交感神経を刺激し血管平滑筋が弛緩され血圧が降下作用を示す杜中葉抽出物、ノルアドレナリンの分泌を抑制し血圧降下作用を示す - アミノ酪酸を配合特定保健用食品が知られており、これらは特定保健用食品としての承認を得ている。

20

【0004】

一方、海藻類のマコンブは褐藻類コンブ目コンブ属の海藻として知られており、コンブ類の中でも肉厚で良質な昆布である。主に北海道道南地方で生産され、養殖の生産量も多く大変なじみ深い海藻である。マコンブから抽出した成分が血糖値上昇抑制作用、抗酸化作用を有することが報告されている。また、マコンブ等特定の褐藻類及び紅藻類から水抽出される成分を含有する薬剤が、魚類の養殖場における細菌感染症による斃死を軽減することが知られている。

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明の課題は、日常の食生活において容易に入手および摂取でき、血圧上昇を抑制することができる、副作用の少ない予防・改善用機能性食品又は食品素材や、飼料を提供することにある。

40

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者は、上述の目的を達成するために、マコンブの機能性成分と納豆菌の機能性に着目し、鋭意研究を行った結果、納豆菌を用いたマコンブ発酵物10mM Tris-HCl緩衝液(pH8.5)抽出物に血圧上昇抑制作用があることを見出すに至った。

【0007】

本発明は、このような知見に基づいて完成されたものである。すなわち、本発明の血圧上昇抑制作用は、いずれもマコンブ発酵物を有効成分とすることを特徴とするものである。

【0008】

納豆菌を用いたマコンブ発酵物に含まれる血圧上昇抑制作用を有する物質がいかなる化合

50

物であるかについては、未だその詳細は不明であるが、マコンブ発酵物から 10 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.5) 抽出により溶出させた成分が血圧上昇抑制作用を発揮することは実験的に確かめられている。したがって、納豆菌を用いたマコンブ発酵物は、そのまま本発明の血圧上昇抑制作用の構成成分とすることで予防・改善が発現する。

【0009】

即ち本発明が提供するものは以下の通りである。

【0010】

[1] 納豆菌を用いたマコンブ発酵物を有効成分として含有する。

【0011】

[2] 納豆菌を用いたマコンブ発酵物を含有する組成物を有効成分として含有する血圧上昇抑制剤。 10

【0012】

[3] [1] または [2] に記載の血圧上昇抑制剤からなる機能性食品。

【0013】

[4] [1] または [2] に記載の血圧上昇抑制剤からなる食品素材。

【0014】

[5] [1] または [2] に記載の血圧上昇抑制剤からなるペットフード。

【0015】

[6] [1] ~ [4] に記載の血圧上昇抑制剤を含有する飲食用組成物。 20

【0016】

[7] [1] ~ [4] に記載の血圧上昇抑制剤を含有する医薬用組成物。

【発明の効果】

【0017】

本発明の血圧上昇抑制剤、またはこれを含有する組成物は、体内でアンジオテンシン I を、昇圧作用を持つアンジオテンシン II に変換する ACE の活性を抑制することから、血圧上昇抑制作用が期待できる。従って、血圧上昇抑制に有用である。さらに、食経験のある材料から本発明の剤または組成物を製造することが可能であるので、摂取しても安全である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】 30

本明細書の血圧上昇抑制剤は、納豆菌を用いたマコンブ発酵物を有効成分として含有する ACE 害作用を有する剤および組成物である。上記の化合物の含有量は限定されないが、血圧上昇抑制作用を発揮できる範囲に含まれていれば良い。

【0019】

本発明の飲食用組成物は、上記の血圧上昇抑制剤を含有する組成物であり、これらを一般的な食品に混合したものである。また、公知の食品として適当な担体や助剤などを使用してカプセル剤、錠剤、顆粒剤など服用しやすい形態にしたものでもよい。ここに言う飲食用とは、例えば、一般食品、保健機能食品（特定保健用食品、栄養機能食品）、健康食品、栄養補助食品、ペットフードなどである。ここにいう一般食品とは、飲料、乳製品、発酵乳、乳酸菌飲料、加工乳、コーヒー飲料、ジュース、アイスクリーム、飴、ビスケット、ウェハース、ゼリー、スープ、麺類、を含むがそれに限定されるものではない。好ましくは飲料、乳製品、加工乳、発酵乳、乳酸菌飲料、ウェハース、ゼリーを含む。 40

【0020】

本発明の医薬用組成物は、上記の血圧上昇抑制剤を含有する組成物であり、上記剤そのものであってもよいし、所望により医薬的に許容される担体を含有する組成物であってもよい。その用途は限定されず、例えば一般用医薬品 (OTC) など容易に入手可能な医薬品又は医薬部外品などが挙げられる。医薬用組成物の形態は限定されず、例えば、丸薬剤、液剤、粉末剤、顆粒剤、錠剤、カプセル錠剤、トローチ剤、シロップ剤、ドライシロップ剤などである。好ましくはカプセル剤、液剤、エリクシル、錠剤、カシエ、座薬などとするほうが良い。また医薬的に許容される担体とは、経口、経腸、経皮、および皮下投与の 50

ために好適である任意の材料であり、例えば水、ゼラチン、アラビアガム、ラクトース、微結晶性セルロース、スターチ、ナトリウムスターチグリコレート、燐酸水素カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、コロイド性二酸化ケイ素、などが挙げられる。

【0021】

納豆菌を用いたマコンブ発酵物ならびに該組成物は、血圧上昇抑制剤の有効成分として配合されるが、血圧上昇抑制剤として製剤化する場合、剤形としては、粉末状、顆粒状、錠剤状等、任意の剤形を採用することができる。その際、保存や取り扱いを容易にするために、デキストリン、シクロデキストリン等のキャリア、保存料、その他任意の助剤を必要に応じて配合することができる。またその形態は限定されず、飲食用組成物、医薬用組成物を含む。これらの含有量は限定されないが、血圧上昇抑制作用に対して効果が発揮できる範囲に含まれていれば良い。

10

【0022】

前期血圧上昇抑制剤は、ACEの活性を阻害してアンジオテンシンIIが生成されないようにする。

【0023】

納豆菌を用いたマコンブ発酵物を有効成分として含有する本発明の血圧上昇の予防・改善用機能性食品又は食品素材は、前記本発明の血圧上昇の予防・改善剤を飲食品原料の一部として用いたり、あるいは製造工程又は製造後に添加・配合することにより得ることができる。かかる機能性食品としては特に制限されるものではなく、調味類、ふりかけ類、菓子類、スナック類、麺類、魚肉練り製品、乳製品、飲料などを具体的に例示することができる。

20

【実施例】

【0024】

以下に本発明をより詳細に説明する為に実施例を挙げるが、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

【0025】

サンプルは500 μ m程度に粉碎したマコンブ粉末(北海道道南産)2.5gを50mlの蒸留水に加え、pHを8.0に調整後、加圧加熱滅菌を行った。納豆菌前培養液を500 μ l接種し、30℃で160rpmで回転振とう培養した。5日間培養後凍結乾燥を行い、マコンブ発酵物1gに100mlの10mM Tris-HCl緩衝液(pH8.5)を添加し、50℃で1時間振とうさせ、温水抽出したものの上清をサンプルとした。

30

【0026】

納豆菌を用いたマコンブ発酵物のACE活性阻害作用に関する検討

納豆菌を用いたマコンブ発酵物のACE活性への影響について、試験管内での酵素反応系を用いて検討した。蒸留水で希釈した各濃度のサンプル溶液10 μ lを添加し全量を130 μ l/反応ウェルとした。

【0027】

本試験は(株)同仁化学研究所のACE Kit-WSTを使用した。本試験の反応に用いた溶液(A~C液)は、以下のとおり調製した。A液はキット付属のSubstrate bufferである。B液はキット付属のEnzyme Bを2mlの蒸留水で溶解し、溶解した酵素液1.5mlをキット付属品のEnzyme Aに加え溶解した。C液はキット付属のEnzyme Cを3mlの蒸留水で溶解した。同じくキット付属のCoenzymeを3mlの蒸留水で溶解した。溶解したEnzyme CとCoenzymeをそれぞれ2.8mlずつキット付属のIndicator solutionに添加した。

40

【0028】

プレート内でのACE反応は、各濃度に希釈したサンプル10 μ l、A液10 μ lとB液10 μ lを混合し、37℃で1時間ブレインキュベーションした。次にC液100 μ lを加えて室温で10分間インキュベーションすることで実施させた。その後、450nmの吸光度を測定することでACE阻害活性を評価した。コントロールは、サンプルの代わり

50

に各サンプルと同等の10mM Tris-HCl緩衝液(pH8.5)を添加した。各試験区には、B液の代わりにA液を添加したブランクを設定した。

阻害率は以下の計算式から求めた。阻害率 = $1 - (\text{サンプルの吸光度} - \text{サンプルのブランクの吸光度}) / (\text{コントロールの吸光度} - \text{コントロールのブランクの吸光度})$ 。コントロールを100として溶媒と濃度に関連して、相対的のACE阻害率を表2に示した。

【0029】

図1から明らかなように、納豆菌を用いたマコンブ発酵物にACE活性阻害が認められた。阻害のIC₅₀値は、70μg/mlであった。したがって、納豆菌を用いたマコンブ発酵物はACE活性の阻害に有効であることが実証された。

【0030】

納豆菌を用いたマコンブ発酵物の血圧上昇抑制試験に関する検討

納豆菌を用いたマコンブ発酵物のACEへの影響について、動物実験においてTail-cuff法を用いて検討した。

【0031】

本試験では、温水抽出物を減圧乾固したものサンプルとして用いた。本試験では溶液(A~B液)は、以下のとおり調整した。A液はサンプル300mgを2mlの蒸留水に溶解した。B液はアンジオテンシンI(和光純薬)4.5mgを10mlの蒸留水に溶解した。

【0032】

ddYマウス、雄性、5週齢(日本SLC)を固形飼料(MRストック、日本農産工業)で飼育室(25 ± 2)にて1週間予備飼育後、1群8匹とし群分けを行った。マウスに蒸留水またはA液を0.4ml経口投与し、腹腔内カニューレを装着後、測定用ケージに入れた。投与から30分後にカフを装着し、マウス・ラット用無加温型非観血式血圧計(BLOOD PRESSURE MONITOR FOR MICE & RAT Model MK-2000, 室町機械)を使用し、自動で尾動脈血圧を6回測定し、その平均値をアンジオテンシンI投与前収縮期血圧として評価した。腹腔内カニューレを用いてB液を100μl投与した。投与から2分後に同様に血圧を測定し、アンジオテンシンI投与後収縮期血圧とした。アンジオテンシンI投与前と投与後の収縮期血圧の差を血圧上昇値とした。

【0033】

図2および図3から明らかなように、納豆菌を用いたマコンブ発酵物に動物体内においてACE阻害活性が認められた。したがって、納豆菌を用いたマコンブ発酵物はACE活性の阻害に有効であることが実証された。

【図面の簡単な説明】

【図1】納豆菌を用いたマコンブ発酵物による効果を示すグラフであり、コントロールを100とする相対的ACE阻害率を示した。

【図2】納豆菌を用いたマコンブ発酵物による効果を示すグラフであり、収縮期血圧を示した。

【図3】納豆菌を用いたマコンブ発酵物による効果を示すグラフであり、血圧上昇値を示した。

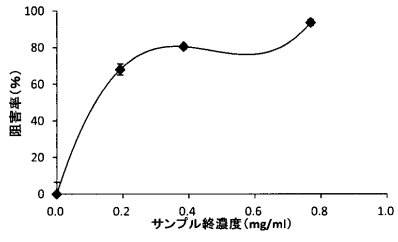
10

20

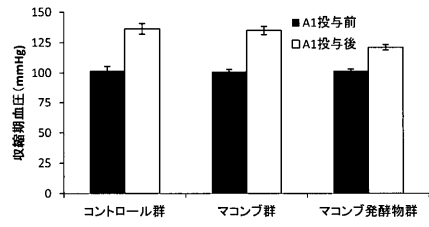
30

40

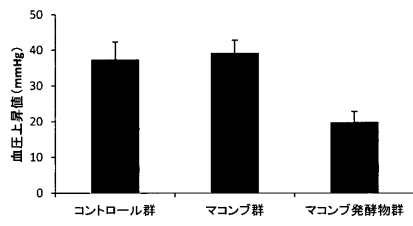
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



フロントページの続き

- (72)発明者 矢澤 一良
神奈川県藤沢市鵠沼松が岡3 - 19 - 9
- (72)発明者 三沢 宏
東京都八王子市暁町2 - 23 - 18

審査官 六笠 紀子

- (56)参考文献 特開2006 - 320257 (JP, A)
特開昭53 - 038647 (JP, A)
特開2010 - 115196 (JP, A)
特開2005 - 224233 (JP, A)
特開2009 - 108022 (JP, A)
特開2007 - 202562 (JP, A)
特開2002 - 138100 (JP, A)
特開2003 - 128694 (JP, A)
特開平11 - 276109 (JP, A)
日本農芸化学会大会講演要旨集, 2014年 3月, Vol.2014, Page.3B05P19

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- A61K 36/00 - 36/9068
A61K 35/00 - 35/768
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
Japio-GPG/FX