

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特 許 公 報(B1)

(11)特許番号

特許第7140436号
(P7140436)

(45)発行日 令和4年9月21日(2022. 9. 21)

(24)登録日 令和4年9月12日(2022. 9. 12)

(51)Int. Cl.		F I
A 6 1 K 35/57	(2015. 01)	A 6 1 K 35/57
A 6 1 K 31/728	(2006. 01)	A 6 1 K 31/728
A 6 1 P 27/02	(2006. 01)	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 27/10	(2006. 01)	A 6 1 P 27/10
A 2 3 L 33/10	(2016. 01)	A 2 3 L 33/10

請求項の数 12 (全 14 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2022-20138(P2022-20138)
 (22)出願日 令和4年2月14日(2022. 2. 14)
 審査請求日 令和4年2月14日(2022. 2. 14)

早期審査対象出願

(73)特許権者 500523087
 株式会社らいむ
 神奈川県横浜市港北区新横浜三丁目6番1
 2号
 (74)代理人 110000109
 特許業務法人特許事務所サイクス
 (72)発明者 若山 祥夫
 神奈川県横浜市港北区新横浜三丁目6番1
 2号 株式会社らいむ内

審査官 柴原 直司

最終頁に続く

(54)【発明の名称】眼状態改善剤およびその製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物から固形分を除去した液状生成物かその凍結乾燥物を含有しており、

前記分解生成物は分子量が380～5000の低分子のヒアルロン酸を含有する、
 ドライアイ症状を有する対象の視力向上剤、ドライアイ症状を有する対象の眼圧低下剤、
 ドライアイ症状を有する対象の眼痛抑制剤、ドライアイ症状を有する対象の視界鮮明化剤、
 またはドライアイ症状を有する対象の睡眠改善剤。

【請求項2】

鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物から固形分を除去した液状生成物かその凍結乾燥物を含有しており、

前記分解生成物は分子量が380～5000の低分子のヒアルロン酸を含有する、ドライアイ改善剤。

【請求項3】

鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を含有する、ドライアイ症状を有する対象の視力向上剤。

【請求項4】

鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を含有する、ドライアイ症状を有する対象の眼圧低下剤。

【請求項5】

10

20

鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を含有する、ドライアイ症状を有する対象の眼痛抑制剤。

【請求項 6】

鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を含有する、ドライアイ症状を有する対象の視界鮮明化剤。

【請求項 7】

鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を含有する、ドライアイ症状を有する対象の睡眠改善剤。

【請求項 8】

イソロイシンおよび β -アミノイソ酪酸を遊離アミノ酸として含有する、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の剤。

10

【請求項 9】

分子量が 380～5000 の低分子ヒアルロン酸の含有量が、剤の全量に対して 10 質量%以上であることを特徴とする請求項 8 に記載の剤。

【請求項 10】

分子量が 1520～5000 の低分子ヒアルロン酸の割合が、分子量が 380～5000 の低分子ヒアルロン酸全量の 60 質量%以上であることを特徴とする請求項 8 または 9 に記載の剤。

【請求項 11】

医薬組成物、食品または飲料である、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載の剤。

20

【請求項 12】

鶏冠をプロテアーゼで分解する酵素処理工程と、

前記酵素処理工程の後に、前記酵素処理工程で得た、分子量が 380～5000 の低分子のヒアルロン酸を含有する分解生成物から固形分を除去した液状生成物を、凍結乾燥した後、粉砕して粉砕物を得る工程と
を含むことを特徴とする、ドライアイ改善剤、ドライアイ症状を有する対象の視力向上剤、ドライアイ症状を有する対象の眼圧低下剤、ドライアイ症状を有する対象の眼痛抑制剤、ドライアイ症状を有する対象の視界鮮明化剤、またはドライアイ症状を有する対象の睡眠改善剤の製造方法。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

本発明は、眼状態改善剤およびその製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

現代社会では、長時間のパソコン作業やエアコンによる乾燥、コンタクトレンズの装着など、眼の状態を悪化させる要因にあふれており、眼の乾きやざらつき、痛み、かすみ、視界の不鮮明などを訴える患者が増加している。こうした眼の状態の悪化は、生活の質を著しく低下させ、また、その状態を放置して重症化すると、角膜・結膜に損傷などを発症することがあり、頭痛や眩暈などの身体の不調にもつながる。そのため、眼の状態が悪化したときには、早期に処置を行って、眼の状態の改善を図ることが重要になる。

40

眼の状態を改善する製剤としては、人工涙液、ヒアルロン酸製剤、ムチンの産生または分泌を促進する薬剤または副腎皮質ステロイド等の抗炎症剤を含有する液状薬剤を眼に直接投与する点眼剤が一般的である（例えば、特許文献 1 参照）。こうした点眼剤の投与は、手を清潔にした状態で、点眼する方の下瞼を下に引き、点眼剤の容器の先がまつ毛やまぶたに触れないように注意しつつ、薬液を 1 滴程度目に垂らして軽く目を閉じた後、眼のふちや皮膚について余分な点眼液をティッシュ等でふき取るといった手順で行われる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

50

【特許文献1】特開2019-38783号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

上記のように、眼の状態を改善するための治療には、点眼剤を用いるのが一般的である。しかし、点眼は手順が煩雑であるため、患者の負担が大きいという問題がある。また、患者が子供である場合には、薬剤が眼に入ることに恐怖心を持ち、動いたり泣いたりして、うまく点眼できないこともある。さらに、点眼剤を開封した後は、中に細菌が入って増殖し易いため、開封後の点眼剤は冷蔵庫に保管することや、開封後の使用期限を守ることなどの注意が必要であるが、こうした注意事項を徹底して守ることは難しい。さらに、細菌増殖を抑えるため、点眼剤には通常防腐剤が添加されるが、その防腐剤が角膜上皮障害やアレルギーなどを引き起こすことも懸念される。

10

以上のように点眼剤は取扱いが難しく、摂取や保管が簡単な服用タイプの形態で、眼の状態を改善できる治療剤の開発が望まれる。しかし、これまで、服用することにより効果的に眼の状態の改善機能を発揮できるものは知られていない。

【0005】

そこで本発明者らは、このような従来技術の課題を解決するために、服用することにより眼の状態を改善することができる組成物を提供することを課題として検討を進めた。また、そのような組成物を安価に製造することができる製造方法を提供することを課題として検討を進めた。

20

【課題を解決するための手段】

【0006】

上記の課題を解決するために鋭意検討を行った結果、本発明者らは、鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を服用することにより、眼の状態が改善されることを初めて見出した。そして、こうした鶏冠のプロテアーゼ分解生成物の作用を利用することにより、点眼剤よりも取扱いが容易な服用タイプの眼状態改善剤を提供できることを見出すに至った。本発明は、これらの知見に基づいて提案されたものであり、具体的に以下の構成を有する。

【0007】

- [1] 鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を含有する眼状態改善剤。
- [2] ドライアイ改善剤である、[1]に記載の剤。
- [3] 視力向上剤である、[1]または[2]に記載の剤。
- [4] 眼圧低下剤である、[1]～[3]のいずれか1項に記載の剤。
- [5] 眼痛抑制剤である、[1]～[4]のいずれか1項に記載の剤。
- [6] 視界鮮明化剤である、[1]～[5]のいずれか1項に記載の剤。
- [7] 睡眠改善剤である、[1]～[6]のいずれか1項に記載の剤。
- [8] 前記分解生成物が、分子量が380～5000の低分子ヒアルロン酸を含有する、[1]～[7]のいずれか1項に記載の剤。
- [9] 分子量が380～5000の低分子ヒアルロン酸の含有量が、剤の全量に対して10質量%以上であることを特徴とする[8]に記載の剤。

30

40

[10]

分子量が1520～5000の低分子ヒアルロン酸の割合が、分子量が380～5000の低分子ヒアルロン酸全量の60質量%以上であることを特徴とする[8]または[9]に記載の剤。

【0008】

[11] 医薬組成物、食品または飲料である、[1]～[10]のいずれか1項に記載の剤。

[12] 鶏冠をプロテアーゼで分解する酵素処理工程と、前記酵素処理工程の後に、前記酵素処理工程で得た分解生成物を、凍結乾燥した後、粉碎して粉碎物を得る工程とを含むことを特徴とする、眼状態改善剤の製造方法。

50

【発明の効果】

【0009】

本発明で用いる、鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を服用すると、眼の状態が効果的に改善される。こうした分解生成物の作用を利用することにより、服用タイプの眼状態改善剤を実現することができる。また、本発明の眼状態改善剤の製造方法によれば、上記の有用な作用効果を奏する眼状態改善剤を低コストで製造することができる。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】プロテアーゼ分解物含有カプセルを摂取する前と所定期間摂取した後の、眼の自覚症状に関するVASアンケートの回答結果を時系列で示すグラフである。

10

【発明を実施するための形態】

【0011】

以下において、本発明について詳細に説明する。以下に記載する構成要件の説明は、代表的な実施形態や具体例に基づいてなされることがあるが、本発明はそのような実施形態に限定されるものではない。なお、本明細書において「～」を用いて表される数値範囲は「～」前後に記載される数値を下限値及び上限値として含む範囲を意味する。

【0012】

〔眼状態改善剤〕

本発明の眼状態改善剤は、鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を含有する組成物である。

20

本発明で用いる「鶏冠」は、ニワトリなどの

1644798336047_0

の一部の鳥にみられる頭上の肉質の冠状突起である。本発明で用いる鶏冠の種類は特に制限されないが、ニワトリの鶏冠であることが好ましい。鶏冠は少なくとも蛋白質とヒアルロン酸を含有するため、これをプロテアーゼで分解した分解生成物は、少なくとも、プロテアーゼにより分解された蛋白質の分解物と、ヒアルロン酸を含有する組成物である。分解生成物は、未分解の蛋白質（プロテアーゼ添加前の鶏冠に元々含まれていた蛋白質）や鶏冠由来の他の成分を含有していてもよい。

【0013】

本発明で用いるプロテアーゼの種類は特に制限されない。通常の蛋白質分解に用いられるプロテアーゼであればいずれも使用することができる。すなわち、エンドペプチダーゼであっても、エキソペプチダーゼであっても使用することが可能であり、また活性部位はセリン、システイン、金属、アスパラギン酸等のいずれであってもよい。また、複数のプロテアーゼを混合して使用してもよい。好ましいプロテアーゼとして、例えばプロナーゼを使用することができる。

30

【0014】

分解生成物に含まれる蛋白質の分解物としては、未分解の蛋白質よりも低分子量の蛋白質、ペプチド、遊離アミノ酸を挙げることができ、これらが混在していてもよい。

また、分解生成物は、遊離アミノ酸を含有することが好ましい。分解生成物が含有する遊離アミノ酸は、蛋白質の分解物としての遊離アミノ酸であってもよいし、プロテアーゼ添加前の鶏冠に遊離アミノ酸として元々含まれていたものであってもよい。鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物において、比較的含有率が多いアミノ酸としてイソロイシン、 β -アミノイソ酪酸、アラニン、フェニルアラニン、アスパラギン酸、シスチン、チロシン等を挙げることができ、この他にも、多種類のアミノ酸を含む。

40

【0015】

眼状態改善剤における総蛋白質量は、眼状態改善剤の全量に対する質量比で0.5～10質量%であることが好ましく、1～7質量%であることがより好ましく、2～5質量%であることがさらに好ましい。また、眼状態改善剤における総遊離アミノ酸量は、眼状態改善剤の全量に対する質量比で0.5～12質量%であることが好ましく、1～8質量%であることがより好ましく、2～6質量%であることがさらに好ましい。眼状態改善剤に

50

における総蛋白質量および遊離アミノ酸量が上記の範囲であることにより、眼状態改善剤が効果的に作用すると考えられ、眼の状態を早期に改善することができる。

本明細書中において「総蛋白質量」とは、Lowry法により求めた総蛋白質含量のことをいい、「総遊離アミノ酸量」とは、Ninhydrin法により求めた遊離アミノ酸の総量のことをいう。

【0016】

上記の分解生成物が含むヒアルロン酸は、プロテアーゼ添加前の鶏冠に元々含まれていたヒアルロン酸がそのまま残存したもの（以下、「未分解のヒアルロン酸」という）であってもよいし、ヒアルロン酸の分解物（以下、「低分子ヒアルロン酸」という）であってもよいし、未分解のヒアルロン酸と低分子ヒアルロン酸とが混在したものであってもよい。また、分解生成物には、眼状態改善作用を過度に失わないものである限り、誘導化や熱変性を受けたヒアルロン酸を含んでいてもよい。ここで、未分解のヒアルロン酸は、アミノ酸とウロン酸からなる複雑な多糖類であり、その構造の詳細は特に限定されないが、例えば、D-グルクロン酸とN-アセチル-D-グルコサミンからなる二糖を繰り返し単位とする多糖であって、その分子量は通常600万～1000万程度である。分解生成物は、こうした未分解のヒアルロン酸を含んでいてもよいが、低分子ヒアルロン酸を含有することが好ましく、分解生成物が含むヒアルロン酸は全て低分子ヒアルロン酸であることがより好ましい。低分子ヒアルロン酸は生命体の深部に浸透し易く、生命体に対する作用を効果的に得ることができる。

分解生成物が含有する低分子ヒアルロン酸は、分解生成物の原料としての鶏冠に元々含まれていたヒアルロン酸（以下、「原料由来のヒアルロン酸」という）を分解して得た低分子ヒアルロン酸であってもよいし、これとは別に用意したヒアルロン酸を分解して得た低分子ヒアルロン酸を、分解生成物に添加したものであってもよいが、原料由来のヒアルロン酸を分解して得た低分子ヒアルロン酸であることが好ましい。原料由来のヒアルロン酸の分解は、塩酸やヒアルロニダーゼ等のヒアルロン酸を加水分解する物質を、原料としての鶏冠に添加して反応させることにより行うことができる。また、鶏冠に元々含まれる物質による自己消化を利用して低分子ヒアルロン酸を生成してもよい。ただし、ヒアルロン酸の生体に対する作用を有効に得る点から、ヒアルロン酸は構成単位を保持していること、すなわち、グルクロン酸とN-アセチルグルコサミンまで分解が進行していないことが好ましい。具体的には、眼状態改善剤におけるN-アセチルグルコサミンの含有量は、眼状態改善剤の全量に対して0.01質量%以下であることが好ましく、0質量%であることが最も好ましい。

本明細書中において「N-アセチルグルコサミン量」とはMorgan-Elson法により求めたN-アセチルグルコサミン含量のことをいう。

【0017】

分解生成物が含有する低分子ヒアルロン酸は、分子量が380～5000であることが好ましい。分子量380～5000は、ヒアルロン酸の繰り返し単位数で約1～14に相当する。眼状態改善剤における、分子量380～5000の低分子ヒアルロン酸の含有量は、眼状態改善剤の全量に対して5質量%以上であることが好ましく、7質量%以上であることがより好ましく、10質量%以上であることがさらに好ましい。また、低分子ヒアルロン酸のうちでは、分子量1520～5000の低分子ヒアルロン酸が主成分であることが好ましく、分子量1520～5000の低分子ヒアルロン酸の割合が分子量380～5000の低分子ヒアルロン酸全量の60質量%以上であることが好ましく、70質量%以上であることがより好ましく、75質量%以上であることがさらに好ましい。これにより、眼状態改善剤が効果的に作用すると考えられ、眼の状態を早期に改善することができる。

低分子ヒアルロン酸の分子量と質量比率は、ポリエチレングリコールを分子量マーカーに用いる高速液体クロマトグラフィにより分析することができる。

【0018】

鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物の性状は、鶏冠の種類や、鶏冠を採取した生

体の状態、プロテアーゼの種類によっても異なるが、通常は液状、さらには粘質性を帯びた液状である。分解生成物は、そのまま本発明の眼状態改善剤としてもよいし、適宜精製して他の成分と組み合わせる等して本発明の眼状態改善剤としてもよい。分解生成物を精製することにより、眼の状態を改善する効果がより高い眼状態改善剤とすることができる。液状の眼状態改善剤は、飲料タイプの内服剤等として用いることができる。また、分解生成物を凍結乾燥等により乾燥した後、粉碎した場合は、粉末状の眼状態改善剤を提供することが可能である。粉末状の眼状態改善剤は、そのまま、もしくは他の成分を含有させて内服剤に用いてもよいし、錠剤やカプセル剤に加工してもよいし、所望の溶媒または分散媒を添加して液状とし、飲料タイプの内服剤等として用いてもよい。なお、液状の眼状態改善剤や、粉末状の眼状態改善剤を溶媒または分散媒に添加して調製した液剤は点眼のための外用剤として用いることも可能ではあるが、摂取や保管が容易であることから、内服剤として用いることが好ましい。

10

このように、本発明の眼状態改善剤は、眼状態改善作用を発揮しうる態様であれば、いかなる態様で提供されてもよく、特に服用タイプの形態で用いることが好ましい。例えば、これらの効能を明記した医薬品（医薬組成物）、医薬部外品、機能性食品（補助食品、健康食品、飴、チューインガム等も含む）、機能性飲料（ゼリー状飲料、固形分を含む流動性飲料も含む）、サプリメントとすることが可能であり、これらの使用態様は本発明の「眼状態改善剤」の範囲内に含まれるものと解釈される。

【0019】

本発明の眼状態改善剤には、上記分解生成物以外にも、さまざまな成分を含有させることができる。例えば、眼状態改善剤に賦形剤を含有させた場合には、分解生成物と賦形剤の配合率を制御して総蛋白質量や総遊離アミノ酸量、低分子ヒアルロン酸量等の成分量を調整することができる。また、保存し易い眼状態改善剤の態様として、凍結乾燥させた分解生成物を粉碎して得た粉末を賦形剤で希釈した混合粉末を挙げることができる。賦形剤としては、特に限定されないが、デキストリンが好適である。賦形剤による希釈倍率は、質量比で2～10倍であることが好ましく、2～7倍であることがより好ましく、3～5倍であることがさらに好ましい。

20

【0020】

本発明の眼状態改善剤は、これを服用することにより眼の状態を改善する作用を発揮する。すなわち、本発明の眼状態改善剤が経口で摂取されると、その成分が腸管から吸収され、到達した眼の組織、例えば結膜や角膜などに潤いを与えて眼の機能を回復するように作用する。これにより、ドライアイの症状や、視力、眼圧、眼の痛み、視界などの眼の状態が効果的に改善され、眼の症状に伴う頭痛やめまいなどの身体症状の出現も抑制することができる。ここで、本発明の眼状態改善剤は、生体組織である鶏冠と、反応が緩和な酵素を用いているため安全性が高く、経口で摂取する内服剤として使用し易いという利点がある。

30

【0021】

本発明の眼状態改善剤の投与量は、投与対象者の年齢、体重、投与形態などを勘案して適宜決定することができる。

例えば本発明の眼状態改善剤を内服薬として経口投与する場合、その投与量は80～2000mg／成人標準体重／日であることが好ましく、1日に2～3回に分けて投与することが適当である。プロテアーゼ分解物としての投与量は、1～1500mg／成人標準体重／日であることが好ましい。

40

【0022】

〔眼状態改善剤の製造方法〕

次に、本発明の眼状態改善剤の製造方法について説明する。

本発明の眼状態改善剤の製造方法は、鶏冠をプロテアーゼで分解する酵素処理工程と、酵素処理工程の後に、酵素処理工程で得た分解生成物を、凍結乾燥した後、粉碎して粉砕物を得る製粉工程とを含むことを特徴とする。

本発明の眼状態改善剤の製造方法は、さらに必要に応じて、この他の工程を有していて

50

もよい。例えば、酵素処理工程の前に、鶏冠を小片化する小片化工程を有していてもよい。また、酵素処理工程の後に、分解生成物を濾過する濾過工程や、濾過した分解生成物を精製する精製工程を有していてもよい。濾過工程や精製工程を行う場合、製粉工程では、濾過した分解生成物、または濾過した分解生成物を精製して得た精製品を凍結乾燥した後、粉砕して粉砕物を得る。以下において、本発明の眼状態改善剤の製造方法を詳細に説明する。

【0023】

まず、原料となる鶏冠を準備する。鶏冠はニワトリから採取したものであってもよいし、キジ科のその他の鳥から採取したものであってもよいが、入手が容易であることからニワトリの鶏冠であることが好ましい。鶏冠は、その採取元の性別、年令を問わず使用得る。ただし、採取後なるべく時間を置かずにプロテアーゼ分解に供することが好ましい。また、時間を置いてプロテアーゼ分解するときには、冷凍保存した後に解凍して使用することが好ましい。

10

【0024】

鶏冠をプロテアーゼ分解するときには、まず鶏冠を小片化する小片化工程を行ってから、該鶏冠の小片をプロテアーゼ含有溶液に接触させることが好ましい。鶏冠は、好ましくは0.5cm角以上、より好ましくは0.7cm角以上、さらに好ましくは0.9cm角以上の小片にする。過度に細片化してしまったり、ミンチ状にしましまうと、水分が過度に流れ出てしまったりするため好ましくない。

【0025】

次に、鶏冠をプロテアーゼで分解する酵素処理工程を行う。本発明の製造方法で用いるプロテアーゼの説明については、上記の「眼状態改善剤」の欄のプロテアーゼの説明を参照することができる。酵素処理の方法は、プロテアーゼの種類によっても異なるが、例えばプロテアーゼを溶解した水溶液等の溶液（酵素液）を鶏冠に添加した後、一定時間放置することで行うことが好ましい。ここで、酵素液のpHは5.0～10.0であることが好ましく、処理温度は40～60℃であることが好ましく、処理時間は0.5～3.0時間であることが好ましい。また、酵素処理は、酵素液を添加した鶏冠を振とうしながら行うことが好ましい。

20

【0026】

次に、以上のようにして得た分解生成物をそのまま、もしくは、ろ過などの方法により、分解生成物から鶏冠の固形分を除去した後、製粉工程を行う。製粉工程では、分解生成物を凍結乾燥した後、粉砕して粉末状の分解生成物を得る。凍結乾燥と粉砕は、公知の凍結乾燥粉末の製粉条件を用いて行うことができる。得られた粉末状の分解生成物は、そのまま本発明の眼状態改善剤としてもよいし、適宜精製し、賦形剤等の他の成分と組み合わせる等して本発明の眼状態改善剤としてもよい。

30

【0027】

本発明の眼状態改善剤は、このように、極めて簡単な工程で製造することができる。このため、本発明の眼状態改善剤の製造方法を用いることにより、有用性が高い眼状態改善剤を低いコストで提供することができる。

また、濾過した分解生成物や粉末状の分解生成物を精製することにより、眼の状態を改善する効果がより高い眼状態改善剤とすることができる。分解生成物の精製方法には、分液やカラムクロマトグラフィー等の一般的な精製方法を用いることができる。

40

【0028】

「眼状態改善剤の用途」

上記のように、本発明の眼状態改善剤は、これを服用することにより、眼の状態を改善する作用を示す。ここで「眼状態改善作用」の「眼状態」とは、眼に関連する全ての状態を意味し、例えば、ドライアイが起因して現れる眼の症状や身体症状（ドライアイの症状）、視力、眼圧、眼の痛み、視界の鮮明度、睡眠状態などが含まれる。「眼状態改善作用」とは、これらの眼状態を改善する作用を意味し、例えば、ドライアイ症状の軽減や解消、視力の向上、眼圧の低下、眼の痛みの抑制や解消、視界の鮮明さ、眠りの深さ向上など

50

の作用が挙げられる。そのため、本発明の眼状態改善剤は、ドライアイ改善剤、視力向上剤、眼圧低下剤、眼痛抑制剤、視界鮮明化剤、睡眠改善剤として効果的に用いることができ、また、これらの剤から選択される2種以上の剤の用途を組み合わせた医薬組成物や食品、飲料として用いてもよい。内服剤としての眼状態改善剤には、必要に応じて、上記の分解生成物や賦形剤以外にも、さまざまな成分を含有させることができる。例えば、ビタミン、野菜粉末、ミネラル、酵母エキス、着色剤、増粘剤などを必要に応じて含有させることができる。これらの成分の種類は特に制限されず、含有量は目的とする機能を十分に発揮させることができる範囲内で適宜調節することができる。

【実施例】

【0029】

10

以下に実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明する。以下の実施例に示す材料、割合、操作等は、本発明の趣旨を逸脱しない限り適宜変更することができる。したがって、本発明の範囲は以下に示す具体例により限定的に解釈されるべきものではない。

【0030】

本実施例で製造した組成物の成分分析は下記の方法により行った。

(1) 水分含有量の測定

水分含有量は、組成物の1gを105℃で3時間加熱乾燥し、精密天秤で恒量を求め定量した。

【0031】

(2) 全窒素の定食

20

全窒素はAOAC法に基づくセミマイクロケルダール法によって定量した。

【0032】

(3) 遊離アミノ酸の定量およびアミノ酸組成の分析

総遊離アミノ酸量はNinhydrin法によって定量した。定量には標準アミノ酸としてロイシンの検量線を作成し使用した。また、遊離アミノ酸の組成は、生体分析用カラムを装着したアミノ酸自動分析機（日立社製、L-8500型）を用いて分析した。この分析には、組成物の50mgを蒸留水に溶解し、ロータリーエバポレーター（60℃）で減圧乾固させた後、0.02N塩酸5mLで溶出し、ろ紙でろ過したのち、滅菌フィルターでろ過したろ液50μLを分析試料として使用した。

【0033】

30

(4) タンパク質の定量

総タンパク質量はLawry法によって決定した。標準検量線の作成には牛血清アルブミンを使用した。

【0034】

(5) N-アセチル-D-グルコサミンの定量

N-アセチル-D-グルコサミン含有量はMorgan-Elson法で定量した。

【0035】

(6) グルコサミノグリカンの定量

2-ニトロフェニルヒドラジンカップリング法による比色定量法で分析した。標準検量の作成には鶏冠由来ヒアルロン酸ナトリウム（和光純薬社製、HARC）およびstreptococcus zooepidemicus由来のヒアルロン酸ナトリウム（和光純薬社製、HASZ）を用いた。

40

【0036】

(7) 低分子ヒアルロン酸の分子量測定

示差屈折計（Shimazu社製、RID-10A型）を装着した高速液体クロマトグラフィー（Shimazu社製）によってヒアルロン酸の分子量を推定した。カラムとしてTSKgel G-2,500PW_{XL}（7.8mmID×30cm）を用い、水を移動相として流速1ml/minで分析を行った。分子量マーカースには分子量400、1000、2000、6000の4種のポリエチレングリコール（Aldrich社製）を用いた。また、各低分子ヒアルロン酸の構成重量比は、医薬組成物とデキストリンのみのサンプルを高速液体クロマトグラフィーにより分析し、組成物で

50

現れたピークのピーク面積からデキストリンのピーク面積を差し引くことにより求めた。

【0037】

〔製造例〕

採取したてのニワトリの鶏冠1kgを約1cm角に切断して小片化し、100℃で蒸きょうを行うことにより加熱殺菌した。この小片状の鶏冠にプロテアーゼを中心とした食物由来の酵素類を添加して45℃で1.5時間反応させた後、攪拌して均質化した。その後、濾過して粗大な固形成分を除去し、液状の分解生成物（以下、「プロテアーゼ分解物」という）を得た。このプロテアーゼ分解物は、pH6.5、Brix値6.20、固形分濃度5.91質量%であった。このプロテアーゼ分解物を凍結乾燥して粉砕し、プロテアーゼ分解物の凍結乾燥粉末（組成物1）を得た。また、このプロテアーゼ分解物の凍結乾燥粉末に3倍等量（質量比）のデキストリンを添加することにより、デキストリン添加凍結乾燥粉末（組成物1'）を製造した。

10

【0038】

〔組成物の成分分析〕

製造した組成物1'について、上記の方法により成分分析を行った。測定された一般成分の含有率を表1に示し、遊離アミノ酸の組成を表2に示し、低分子ヒアルロン酸の分子量の分析結果を表3に示す。なお、表1～3中の「%」は「質量%」を表す。

【0039】

〔表1〕

表1 一般成分

	%
水分	2.2～2.6
窒素	3.84
総タンパク質	3.04
遊離アミノ酸	4.08
N-アセチルグルコサミン	0
デキストリン（食用添加物用）	75.0

【0040】

〔表2〕

表2 遊離アミノ酸組成

アミノ酸	含有%	アミノ酸	含有%
ρ-セリン	1.71	シスチン*	2.78
タウリン	3.30	ロイシン*	2.26
アスパラギン酸*	2.94	イソロイシン*	6.27
スレオニン*	1.30	チロシン*	2.65
セリン*	2.20	フェニルアラニン*	3.30
グルタミン酸*	2.18	β-アミノイソ酪酸	5.45
グルタミン	0.48	オルニチン	1.05
ザルコシン	1.81	リジン*	1.17
グリシン*	2.26	1-メチルヒスチジン	0.78
アラニン*	3.52	アンセリン	1.92
シトルリン	0.92	アルギニン*	1.93
α-アミノ酪酸	2.18	同定総アミノ酸	57.36
システイン*	1.03	未知アミノ酸	42.64
メチオニン*	1.97		

*タンパク質構成アミノ酸を示す。

【0041】

【表 3】

表 3 低分子 HA の推定分子量、構成単位数および構成重量比率

Peak No.	1	2	3	4	5
推定分子量	5,000	1,520	1,140	760	380
構成単位数	13～14	4	3	2	1
構成重量比 (%)	33	47	10	6	4

【0042】

表 2 に示すように、組成物 1' に含まれる遊離アミノ酸の中では、イソロイシン、β-アミノイソ酪酸の含有量が多く、ついで、アラニン、フェニルアラニン、アスパラギン酸、シスチン、チロシン等が多く含まれていた。

また、表 3 に示すように、組成物 1' に含まれる低分子ヒアルロン酸は、推定分子量 5000、1520、1140、760 および 380 の 5 種類からなることがわかった。また、ヒアルロン酸の繰り返し単位 1 つの分子量を約 400 とすると、各低分子ヒアルロン酸の繰り返し単位数は、分子量の大きい順に、13～14、4、3、2 および 1 であり、質量比率は、33%、47%、10%、6% および 4% であった。よって、低分子ヒアルロン酸の主要成分は、分子量 1520 程度の 4 分子成分と分子量 5000 程度の 13～14 分子成分の 2 成分であることがわかった。なお、組成物 1' における、分子量 380～5000 の低分子ヒアルロン酸の含有率は、組成物 1' の全量に対して 13.4 質量% であった。

【0043】

〔組成物を含有するカプセル製剤の調製〕

プロテアーゼ分解物の凍結乾燥粉末に 3 倍等量（質量比）のデキストリンを添加して調製したデキストリン添加凍結乾燥粉末（組成物 1'）を、ゼラチンからなるカプセル内に充填してカプセル製剤（以下、「プロテアーゼ分解物含有カプセル」という）を調製した。このとき、カプセルが含むプロテアーゼ分解物の凍結乾燥粉末の量は、1 カプセルあたり 150mg とした。

【0044】

〔組成物の作用の評価〕

製造例で製造したプロテアーゼ分解物の凍結乾燥粉末の作用を、日常において目の渇きや疲れ目を自覚する健康な男女 12 名（男性：6 名、女性：6 名）を被験者として評価した。被験者の年齢範囲は 20 歳以上 60 歳未満であった。具体的には、摂取開始前に、各被験者に対して下記の眼のうるおい試験を行い、その後、プロテアーゼ分解物含有カプセルを、1 日 2 回、4 カプセルずつを水又はぬるま湯と共に摂取させ、その摂取開始から 1 週間後、2 週間後、3 週間後、4 週間後に、同様の試験をそれぞれ行った。ここで、上記のカプセル製剤の服用量は、プロテアーゼ分解物の凍結乾燥粉末の 1 日摂取量で 1 回 600mg × 2 回 = 1200mg に相当する。

【0045】

眼のうるおい試験では、ドライアイ研究会によるドライアイ QOL 質問票（DEQS: Dry Eye related Quality of life Score）、自覚症状に関する体感 VAS（Visual Analogue Scale）アンケートおよび日本抗加齢医学会による抗加齢 QOL 共通問診票の特定項目に回答させるとともに、涙液層破壊時間（BUT: Tear film break-up time）の測定、視力検査および眼圧検査を行った。摂取開始前の試験結果と、摂取開始から 4 週間後の試験結果を下記の表 4～6 に示し、VAS アンケートの評価結果を時系列で示したグラフを図 1 に示す。

ここで、表 4 に示すドライアイ QOL 質問票のスコアは、被験者の回答に基づいて算出した QOL スコアである。QOL スコアは 0～100 の値をとり、その値が大きい程、ドライアイの症状の重症度が高く、その症状の日常生活および精神面への影響が大きいことを示す。表 4 に示す VAS アンケートのスコアは、100mm 線分上に、左端が最も良い状態（症状なし）、右端が最も悪い状態（過去最大の症状）として被験者が自己の状態を記した位置の、左端からの距離（mm）である。このスコアが大きい程、各評価項目について自覚症

状が強いことを示す。

表5に示す理化学的試験において、涙液層の検出には、フローレス眼検査用試験紙（あゆみ製薬社製）を用い、視力検査には、スペースセイビングチャート（NIDEK社製：ssc-370 TypeD）を用い、眼圧検査にはマルチファンクションレフラクトメーター（TOMEY社製：MR-6000）を用いた。表5における「優位眼」（利き目）、「非優位眼」（非利き目）の判定は穴あきカード法により行った。

表6に示す抗加齢QOL共通問診票のスコアは、各項目の身体症状を「1：全くなし」、「2：ほとんとなし」、「3：少しあり」、「4：中程度あり」、「5：高度にあり」の5段階で示したものである。

表4～6および図1に示した値は、被験者全員の平均値である。また、各評価項目における有意水準は、摂取開始前に対する摂取4週後の変化量の両側検定で5%（P値＝0.05）とした。

10

【0046】

【表4】

自覚的症状の評価項目		前後比較		
		摂取前 (平均値)	摂取4週後 (平均値)	変化量のP値
ドライアイQOL質問票	QOLスコア	52.40	23.60	0.002
VASアンケート	眼の乾き	67.70	34.70	0.001
	眼のざらつき	46.50	25.10	0.021
	眼の痛み	51.90	27.70	0.017
	眼のかすみ	68.60	32.00	0.002
	視界の鮮明さ	60.50	28.80	0.007
	眠りの深さ	65.30	31.90	0.013

【0047】

【表5】

理化学的評価項目		前後比較		
		摂取前 (平均値)	摂取4週後 (平均値)	変化量のP値
涙液層破壊時間(BUT)	非優位眼(秒)	3.20	5.50	0.001
	両眼平均(秒)	3.63	5.54	0.023
視力検査	矯正(両眼平均)	1.38	1.58	0.044
眼圧検査	優位眼	13.02	11.74	0.014
	非優位眼	12.96	11.66	0.015
	両眼平均	12.99	11.70	0.004

30

【0048】

【表 6】

抗加齢QOL共通問診票 (身体症状の評価項目)	前後比較		
	摂取前 (平均値)	摂取4週後 (平均値)	変化量のP値
目が疲れる	4.3	2.9	0.003
目がかすむ	3.4	2.2	0.006
眼痛	3.1	1.8	0.006
めまい	2.3	1.3	0.016

【0049】

表4～6に示すように、プロテアーゼ分解物含有カプセルの摂取開始前と4週摂取後と比較すると、4週摂取後において、ドライアイの自覚的症状、眼の状態に関連する身体症状（眠りの深さ、表6に示す評価項目）、矯正視力および眼圧が有意に改善された。また、図1に示すように、ドライアイの自覚的症状は摂取1週目から大きく軽減した。以上の結果から、鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を服用することにより、眼の状態が改善されることを確認することができた。

【産業上の利用可能性】

【0050】

本発明で用いる、鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物は、これを服用することにより、眼の状態を改善する作用を発揮する。そのため、この分解生成物を用いることにより、眼状態改善作用を示す内服剤や機能性食品、サプリメントを提供することができる。このため、本発明は産業上の利用可能性が高い。

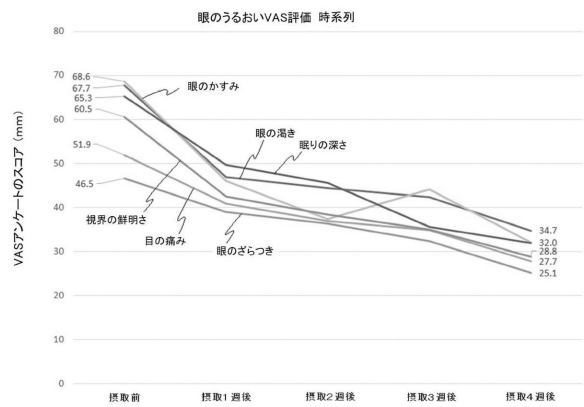
【要約】

【課題】本発明は、服用することにより眼の状態を改善することができる組成物を提供することを課題とする。

【解決手段】本発明の眼状態改善剤は、鶏冠をプロテアーゼで分解した分解生成物を含有することを特徴とする。

【選択図】なし

【図 1】



 フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 A 2 3 L 2/52 (2006.01) A 2 3 L 2/00 F
 A 2 3 L 2/52

(56)参考文献 特開 2 0 1 1 - 0 4 2 6 3 2 (J P, A)
 特開 2 0 1 9 - 0 5 2 1 2 3 (J P, A)
 特開 2 0 1 9 - 0 0 6 7 0 8 (J P, A)
 特開 2 0 0 2 - 1 4 5 8 0 0 (J P, A)
 特開 2 0 1 7 - 0 8 8 5 4 5 (J P, A)
 特開平 0 7 - 2 4 1 2 0 0 (J P, A)
 日本初!ナノレベルのヒアルロン酸を高含有した錠剤型サプリメント『ナノ化 ヒアルロン酸』 2
 011年12月19日(月)に新発売, [online], (2011.12.16), 株式会社ファンケル, [2022.03.17検索
], インターネット, <https://www.fancl.jp/news/pdf/2011_1216_nanokahiaruronsan.pdf>

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)
 A 6 1 K 3 5 / 5 7
 A 6 1 K 3 1 / 7 2 8
 A 6 1 P 2 7 / 0 2
 C a p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)