

# 赤ワインエキスR5 技術資料



## <目次>

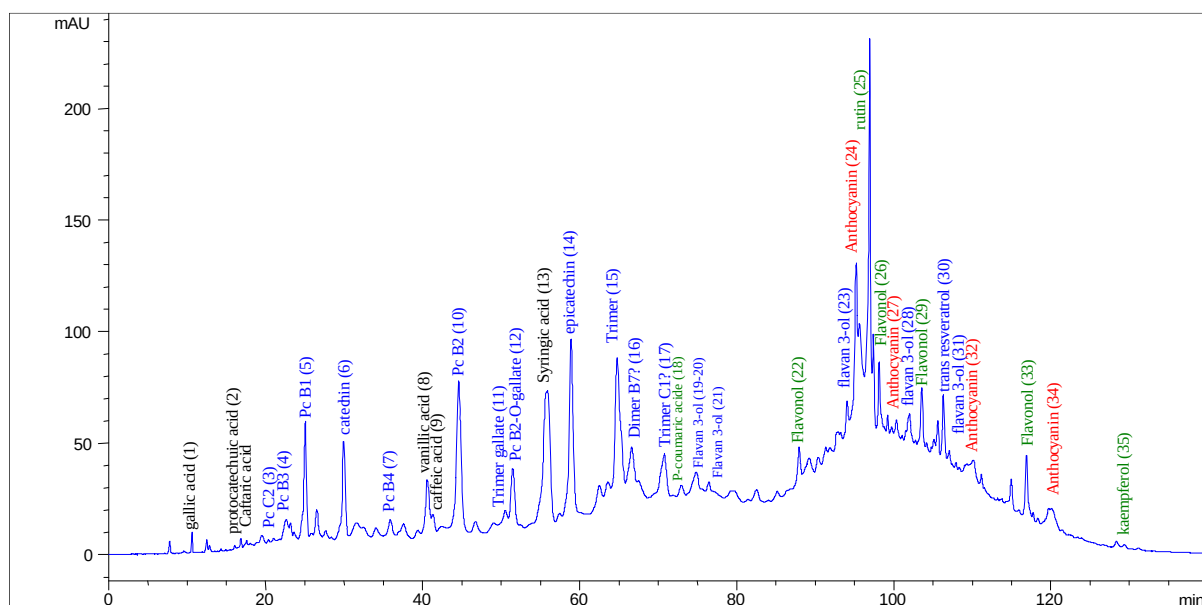
1. 赤ワインエキスR5のポリフェノール組成
  - 1-1. 赤ワインエキスR5のHPLCクロマトグラフ
  - 1-2. 赤ワインエキスR5ならびに原料赤ワインの主要ポリフェノールの分析結果
  - 1-3. 赤ワインエキスR5の組成イメージ
2. 差別化成分OPCとは
  - 2-1. プロアントシアニジンとは
  - 2-2. 発酵ポリフェノール：OPC
  - 2-3. プロアントシアニジンの機能性
  - 2-4. プロアントシアニジンの評価方法
3. 粗悪品レスベラトロール原料の問題とその対策
  - 3-1. イタリア由来レスベラトロールに対して
  - 3-2. 有機溶媒抽出に対して
4. 安定性試験（原料として）
5. 安全性試験
  - 5-1. 毒性試験  
単回投与と急性毒性試験、LD50、28日間反復経口投与毒性試験、小核試験
  - 5-2. アレルゲン試験
6. 機能性試験
  - 6-1. 抗酸化作用（DPPH ラジカル消去活性・ORAC）
  - 6-2. アンジオテンシン変換酵素活性阻害作用（ACE 阻害作用）
  - 6-3. 抗糖化作用（AGEs 産生抑制作用）
  - 6-4. チロシナーゼ活性阻作用
  - 6-5. 東京海洋大学との共同研究の結果報告（動物試験）
  - 6-6. ヒト臨床試験（新薬と臨牀 2017; 66: 783 -801）
  - 6-7. 免疫ビタミン：LPS
7. 2量体の含有量に関する見解
8. 製法特許概要
9. How to Use
10. その他データ
11. 問い合わせ先



## 1. 赤ワインエキスR5のポリフェノール組成

### 1-1. 赤ワインエキスR5のHPLCクロマトグラフ

本品ポリフェノール組成を下図（HPLCのクロマトグラフ）に示しました。基本的に、規格成分である $\epsilon$ -レスベラトロール以外、赤ワイン特有のポリフェノールであるプロシアニジン、アントシアニン、カテキン、没食子酸を含みます。これらの組成は、赤ワインのポリフェノール組成とも異なり、本品には8~12%のプロシアニジン（DMAXA法）、2~3%のアントシアニンが含まれています。これらのポリフェノールは、赤ワインに特有な成分であり、本品が赤ワインから分離抽出されていることを示唆しています。



本品は、赤ワインを活性炭カラムを使用して分離抽出することによってレスベラトロールなどの特殊な赤ワインポリフェノールを特異的に抽出しています。レスベラトロールをターゲットに抽出している点や活性炭カラムの特性より、ポリフェノールの中でも非極性よりのポリフェノールが抽出されているものと推測できます。

プロシアニジンは、カテキンがいくつか結合した構造をもち、きわめて強い抗酸化作用を示すポリフェノールです。ブドウを始め、リンゴ、ビワ、ブドウ、緑茶などにも含まれています。健康食品では、フランス海岸松エキスの有効成分として良く知られています。

このプロシアニジンは、抗アレルギー作用、抗がん作用、コレステロール／中性脂肪低下作用、メラニン生成抑制作用、育毛作用、白内障予防効果、美白効果など、様々な効果が認められています。非常にエビデンスの量が多く、信頼性の高い成分です。

したがって、本品は、レスベラトロールの特別な機能性だけでなく、プロシアニジンの優れた機能性も期待できるのです。

## 1-2. 赤ワインエキスR5ならびに原料赤ワインの主要ポリフェノールの分析結果

赤ワインエキスR 5 ならびに原料赤ワインの主要ポリフェノール定量分析結果を以下の表に示します。表には、濃度と共に、分離抽出の傾向を見るために没食子酸を基準に増減率（各成分の濃度比率：原料赤ワインエキス／赤ワインエキス÷没食子酸の濃度比率）を示してみました。

| ※一例        |        |        | ※没食子酸ベース |       |       |
|------------|--------|--------|----------|-------|-------|
|            | 原料赤ワイン | mg/L   | 赤ワインエキス  | mg/g  | 傾向    |
| 没食子酸       | 33     | 0.003% | 1        | 0.1%  | 100%  |
| カテキン       | 19     | 0.002% | 7        | 0.7%  | 1216% |
| エピカテキン     | 17     | 0.002% | 5        | 0.5%  | 971%  |
| タンニン       |        |        | 177      | 17.7% |       |
| カftar酸     | 23     | 0.002% | < 1      | —     |       |
| カフェイン酸     | 14     | 0.001% | < 1      | —     |       |
| ケルセチン配糖体   | 64     | 0.006% | 2        | 0.2%  | 103%  |
| ケルセチン      | 10     | 0.001% | < 1      | —     |       |
| マルビジン配糖体   | 283    | 0.028% | 12       | 1.2%  | 140%  |
| ポリフェノール    | 921    | 0.092% | 517      | 51.7% | 1852% |
| 総アントシアニン   | 587    | 0.059% | 31       | 3.1%  | 174%  |
| アントシアニン単量体 | 540    | 0.054% | 25       | 2.5%  | 153%  |
| %/総アントシアニン | 92.0%  |        | 80.6%    |       |       |
| アントシアニン重合体 | 56     | 0.006% | 6        | 0.6%  | 354%  |
| %/総アントシアニン | 9.5%   |        | 19.4%    | 0.0%  |       |

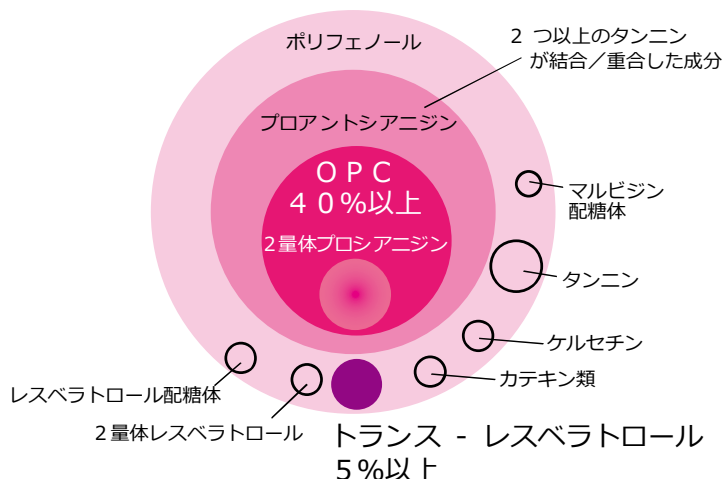
レスベラトロールをターゲットとしてポリフェノールを分離抽出しているため、当然、赤ワインエキスは、ポリフェノールを高含有しています。傾向として、ケルセチン、カftar酸、カフェイン酸よりカテキン・エピカテキンを、アントシアニンは単量体より重合体の方を選択的に抽出されていることがわかりました。

こういった傾向は、カラムの吸着特性と分画溶媒（エタノール含有量）に起因しています。原料製造で分離抽出が行われることで、ここでも示されなかった成分が選択的に抽出されたり除去されたりしているものと考えられます。

### 1-3. 赤ワインエキスの組成イメージ

赤ワインエキスR 5は、プロアントシアニジンを中心としたポリフェノールが主な成分です。トランス・レスベラトロールを中心に赤ワインの渋みをターゲットに分離抽出されているため、当然、レスベラトロール以外にも、赤ワインの渋み由来の有効成分も多く含みます。

そのプロアントシアニジンの中でも、有効性が高いと言われている低重合プロアントシアニジン（OPC）を40%以上含んでおります。OPCは、赤ワインやフランス海岸松エキスの有効成分として、非常に有名な成分でもあります。また、さらにそのOPCの中でも機能性が高いとされているプロシアニジン（主に2量体）に関しても10%前後含んでいることが先述の分析の結果でわかっております。



また、レスベラトロールの2量体に関しては、0.5～2.0%の範囲で確認されております。トランス体（モノマー）をターゲットにしている関係上、トランス体に比べて量は少なく安定していない傾向が認められています。

#### ☆ポリフェノール以外の成分について

計算上40～50%存在するポリフェノール以外の成分に関しては、若干の水分・たんぱく質・ミネラル・糖類・食物繊維以外、不明です。栄養分析上、赤ワインエキスR 5の約90%は炭水化物であり、主成分のポリフェノールも炭水化物として検出されています。ポリフェノールの分析値は、分析方法の特性上、水酸基（OH）の量からタンニンと比較することで見積もっております。その場合、各ポリフェノール成分が保有する水酸基の数で数値もずれてきます。

赤ワインエキスR 5に関しては、レスベラトロールのように水酸基をあまり持たない極性よりの化合物をターゲットに分離抽出しておりますので、ポリフェノール全体の水酸基の数も少ないと考えられ、現時点の分析法ではかなり低く見積もられると考えております。実際は、ポリフェノールの含有量はもっと高いものと考えております。

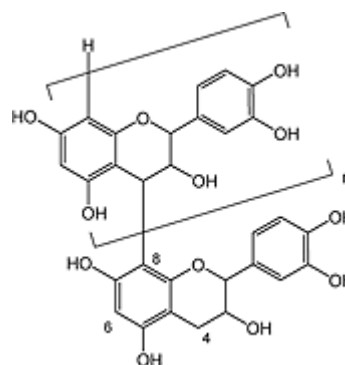
赤ワインエキスR 5のような植物エキスの場合、様々な成分が複合的に含まれており、すべての成分組成を明らかにするのは、非常に難しいです。ご理解の程、何卒よろしくお願い申し上げます。

## 2. 差別化成分OPC（オリゴメリックプロアントシアニン）とは

### 2-1. プロアントシアニンとは

プロアントシアニンは、ブドウ種子や未熟リンゴ、フランス海岸松樹皮などの素材に含まれる強い抗酸化性を示す成分で、フラバノール骨格を持つ平均重合度 7~9 の重合型／縮合型タンニンです。

プロアントシアニンは、重合ポリフェノールの1つでもあり、発酵によってポリフェノールの重合（結合）が起こるため、赤ワインやウーロン茶・プーアル茶など、発酵工程を持つ食品特有のポリフェノールでもあります。この重合ポリフェノールは、重合度によって機能性が異なるため、素材の機能性を評価する上で、素材の重合度が非常に重要となってきます。



### 2-2 発酵ポリフェノール：OPC

プロアントシアニンは、その分子量の大きさによって、吸収性（吸収率）が異なるといわれています。そして、5量体以下のプロアントシアニンをOPC（低重合体プロアントシアニン/オリゴメリックプロアントシアニン）と呼び、吸収性が高く、有効性が高いプロアントシアニンとして知られています。

このOPCは、1947年にランスのジャック・マスケリエ博士（ボルドー大学医学名誉教授）がポリフェノール中の有効成分として発見し、分離に成功した成分です。

OPCは、ぶどうの種子やピーナッツの薄皮などに含まれます。ブドウの赤い色素はアントシアニンと呼ばれますが、OPCは赤い色に変化する前の無色の物質です。

科学的に、OPCは、カテキンとエピカテキンを含む2量体、3量体、4量体を指します。厳密に言うと、OPC単量体（；カテキン、エピカテキンなど）は、OPCに分類されません。これらOPCの中でも、「プロシアニン2量体」は、吸収性が高く、健康に最も良いとされています。また、赤ワインの健康効果を最も有名にした成分でもあります。

このプロシアニン2量体は、抗酸化作用を示しながら生物が利用し易いサイズです。さらに、プロシアニン2量体のサイズは、酵素が結合し易いサイズでもあります。工業的な抽出によって得られる緑茶エキスやブドウエキスに見られるOPC単量体のサイズは、酵素が効果的に結合には小さ過ぎるのです。

したがって、カテキンやエピカテキンなどOPC単量体ばかりを多く含むOPCでは、プロシアニン2量体を多く含むOPCほど効果が期待できません。OPCの含量だけでなく、プロシアニン2量体の含有量も非常に重要なのです。

弊社赤ワインエキスは、米国薬局方（USP 32）の手法で、そのOPCを40%以上で規格化しております。レスベラトロールによる機能性だけでなく、OPCとしての機能性も期待できるのです。また、先述の通り、OPCの中でも最も機能性の高いプロシアニン2量体を10%程度含んでいることも特徴です。

Masquelier, J., Michaud, J., Laparra J., Dumon, M.C. "Flavonoids et Pycnogenols" International Journal of Vitamin Nutrition Research (49)3;1979 pp. 307-311.



## 2-3. プロアントシアニジンの機能性

OPCを始めとしたプロアントシアニジンは、抗変異原性やプロモーションの抑制作用を示すと共に、強力な発ガンプロモーター（発ガンを促進させる物質）であるフォルボールエステルによるオルニチン脱炭酸酵素の誘導を阻害します。これらの阻害作用によって発ガンを抑制すると考えられています。

また、たんぱく質の生合成に対する影響も検討されており、強い阻害作用が確認されています。その他にも、静脈注射によって血圧を低下させる作用を示すと共に、試験管内でアンギオテンシン変異酵素を阻害することもわかっています。この変異酵素の阻害によって、高血圧の予防などが期待されます。

プロアントシアニジンは、動脈硬化・心疾患の予防の予防、紫外線によるダメージの低減、眼精疲労の改善など、様々な効果が示されています。

## 2-4. プロアントシアニジンの評価方法：UV法とポーターバリュー法について

プロアントシアニジンの測定法の1つであるUV法は、任意の標準試薬にUVを当てて、その吸光度で濃度を判定します。一方、この標準試薬は、決まったものがなく、試料の重合度によって誤差が生じます。共通した条件でプロアントシアニジン濃度を厳密に比較評価しにくいという欠点を有しています。

本品の測定法であるポーターバリュー法の分析評価は、プロアントシアニジン濃度を共通した条件で比較評価するための比色分析の方法です。分析は、UV法同様にUVを使うのですが、オリゴマーとプロアントシアニジンのポリマーの酸加水分解に基づいています。

### 分析値について

100～350(無単位)のポーター値が、プロアントシアニジンの量です。ポーター値150は、重合バランス(吸収特性)が良く濃度も高いことを示します。100はプロアントシアニジン濃度が低いことを示します。一方、300以上は重合度が高すぎることを示し、吸収性や生物学的利用能が低いことを示します。

このプロアントシアニジンの評価は、徐々に主流が変わってきており、弊社では、今後、USP 32の手法が標準化されると予測しております。なお、本品のプロアントシアニジンの測定は、松樹皮エキスなどのプロアントシアニジンの評価するのに用いられているUSP 32(米国薬局方)の手法を用いています(参考：2009年版1052ページ)。

↓

### OPC含有量と一日摂取量目安

プロアントシアニジンのポーター値(PVU:Porter Value Unit)より、生物利用能や機能性が高いとされているOPCの含有量が算出することができます。

$$\text{OPC}(\%) = 0.273 \times \text{PVU} (+/- 0.35)$$

弊社原料ではPVUが150～250で規格されておりますので、OPCの含有量は、40%以上と計算されます。

OPCの一日の摂取量目安は、基本的に50～150mg/日とされており、赤ワインエキス原料換算すると125～375mg/日となります。

分析方法：USP 32-NF 27 - 1st supplement for “Dietary supplement monographs on grape seeds oligomeric proanthocyanidins”, US Pharmacopeial Forum, 2008; 34:659-662.

※現在、日本食品分析センターで実施可能。

### 3. 粗悪品レスベラトロール原料の問題とその対策

#### 3-1. イタドリ由来レスベラトロールに対して

ブドウ由来のレスベラトロール原料は非常に高価なため、レスベラトロールを多く含む他の植物（イタドリ）抽出エキ스가添加された粗悪品原料が出回り始めています。そこで、弊社では、日本食品分析センターにおけるレスベラトロール含量の定期分析に加え、いくつかの分析を実施しております。

まず、ブドウ由来のレスベラトロール原料には、レスベラトロールのモノマー（単量体）に加え、レスベラトロールの配糖体も含有されています。これは、ブドウが糖を多く含むためです。そこで、弊社では、2種類のレスベラトロール配糖体を分析いたしました。

【分析結果】分析機関：ABC Testing（アメリカ） Lot#: 1780-002

PICEID (Resveratrol-3-β-D-glucopyranoside)

含量：418.72 ppm

ASTRINGIN (3-OH-trans-piceid, 3',4',5-Trihydroxy-3-glucopyranosylstilbene)

含量：447.17 ppm

※参考：本ロットのレスベラトロール含量：6.0%（日本食品分析センター）

その結果、赤ワインエキスR 5では、PICEIDとASTRINGINの2種類のレスベラトロール配糖体が確認されました。

また、主に植物エキスとして添加されるイタドリ（タデ科）エキスは、その特有成分、エモジンも含んでいることがわかっています。そこで、弊社では、日本食品分析センターでエモジンの分析を行い、エモジンが検出されないことを確認しております。

この2つの結果より、弊社の赤ワインエキスR 5はイタドリ由来の原料を添加していないものであることが示されました。また、レスベラトロール配糖体の分析は、イタドリ由来のレスベラトロール添加を判断するために有効であることが示唆されました。

#### 3-2. 有機溶媒抽出

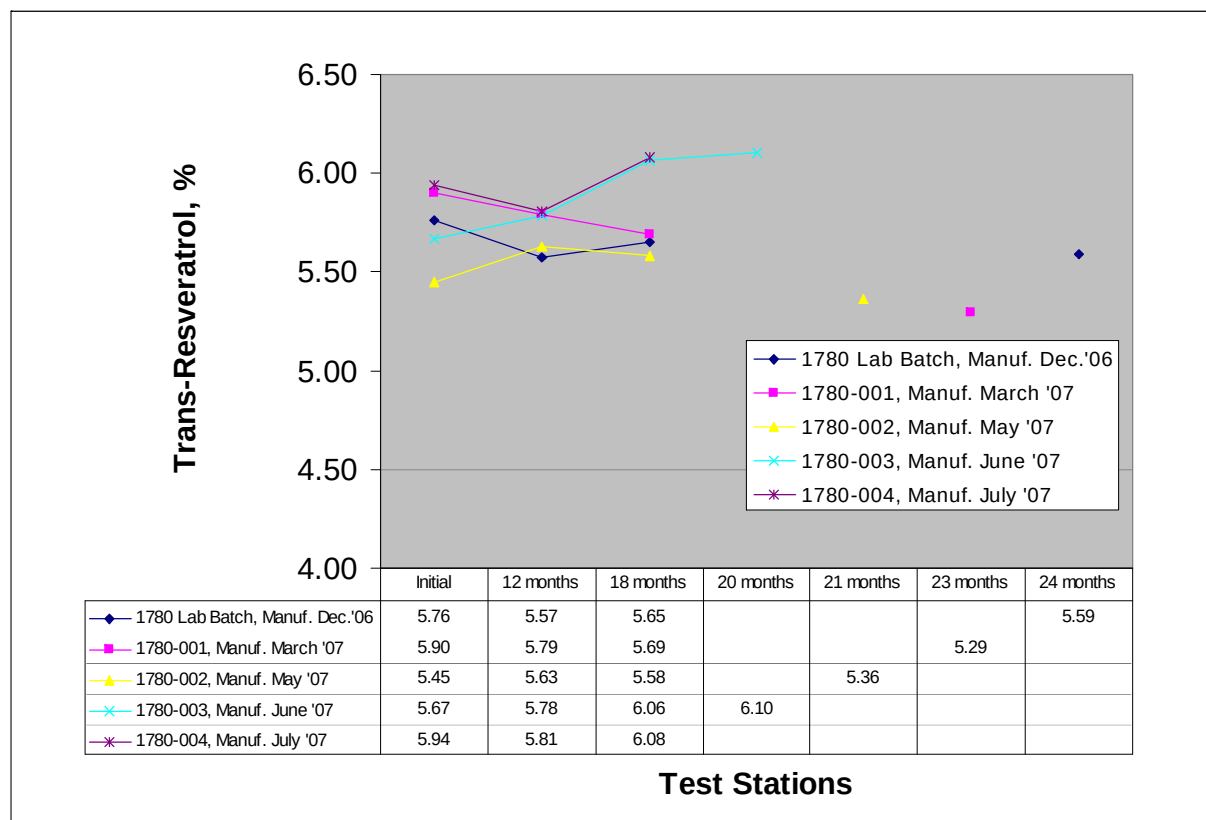
トランス体のレスベラトロールは、一般的なポリフェノールよりも極性が低い（；油になじみやすい）成分です。そのため、イタドリを始めとした、レスベラトロールを高含有する植物エキス末の多くは、アセトンや酢酸エチルで抽出されています。一部は、これらの有機溶媒がそのまま残留しており、また一部は、エタノールなどで洗い流され有機溶媒が除去されています。

有機溶媒が除去されたものの特徴は、水に溶けないことです。水にかなりのアルコール加えないと、溶解しません。アセトンや酢酸エチルで抽出されているため、水に不溶性の成分も多く抽出されているためです。

弊社原料の場合、水でほとんどが溶解し、10%程度（赤ワインのアルコール濃度）のアルコールで完全に溶解します。その水不溶性成分が主に酒石酸塩であることもわかっています。この結果からも、赤ワインから抽出され、水・エタノールで抽出されていることがわかります。

## 4. 安定性試験結果

### 4-1. レスベラトロール



赤ワインエキスR 5におけるレスベラトロールの安定性試験結果を上記に示しました。24ヶ月でも減衰が少なく、5%を確保して安定していることがわかります。

別途、弊社では、ハードカプセルとして6ヶ月の加速試験の経験がございますが、その場合も、減衰は分析誤差範囲でしか認められず、減衰が少ないことが示唆されています。

ただし、配合する成分や加工方法によっては、減衰の仕方は変わってくると考えられます。本資料は、参考資料としてご活用いただければ幸いにございます。できれば、商品ごとに別途加速試験を行われることをおすすめいたします。

### 4-2. OPC

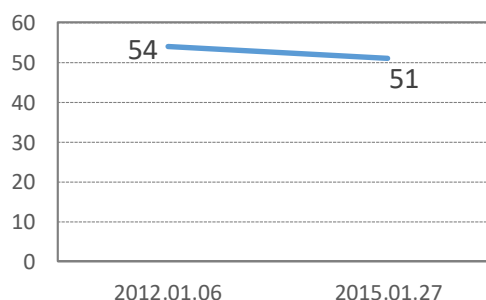
赤ワインエキスR 5におけるOPCの安定性試験結果（日本食品分析センター、米国薬局方の分析方法）を上記に示しました。3年間の成り行き保管条件でも、減衰は少なく安定していることがわかります。

錠剤でも、同様な条件で試験を実施しましたが、減衰せず安定していました。ハードカプセルでも、同様な結果が予測されます。

#### 赤ワインエキスR5のOPC含有量(%)経時変化

|        |            |            |
|--------|------------|------------|
| ロット    | 1780-041   |            |
| 試験実施日  | 2012.01.06 | 2015.01.27 |
| OPC含有量 | 54         | 51         |
|        |            | -5.56%     |

保管条件: 成り行き保管(約3年)





## 5. 安全性試験結果

### 5-1. 毒性試験

#### ☆単回投与急性毒性試験

マウス（ddy 系、雄 5 匹）に、投与前 4 時間絶食させ、経口ゾンデ針を用いて胃内に赤ワインエキス R 5 を 3g/kg を（10%懸濁液として）強制投与し、急性毒性試験を実施しました。そして、投与後の異常の有無について、1 週間の観察を行った結果、異状は認められなかった。

#### ★OECD（経済協力開発機構）ガイドラインに沿った LD50 急性経口毒性試験（ラット）

Sprague-Dawley 系ラットに、赤ワインエキス R 5 を 5000mg/kg/day の用量で経口投与し、14 日間飼育・観察を行いました。

その結果、死亡例や体重推移の異常（対照群との比較）は認められず、試験終了後に行った剖検においても、臓器の肉眼的異常は認められませんでした。したがって、赤ワインエキス R 5 のマウスにおける LD50 値（経口）は、雌雄ともに 5000 mg/kg であることが示された。

#### ★OECD（経済協力開発機構）ガイドラインに沿った 28 日間反復経口投与毒性試験（ラット）

Sprague-Dawley 系ラット：雌雄各 5 匹に、赤ワインエキス R 5 を 2000mg/kg/day の用量で 28 日間反復経口投与し、飼育・観察を行い、その毒性を検討した。

その反復投与試験の結果、投与期間中に体重増加の抑制、薬物毒性的な兆候または死亡は認められなかった。また、剖検時における臓器の肉眼的所見、重量および血液検査値に異常は認められなかった。

これらの試験結果を基に、赤ワインエキス R 5 は、用量 2000mg/kg/day の 28 日間反復経口投与において、毒性は認められなかった。

#### ■細菌を用いる復帰突然変異試験 Ames テスト

多くのポリフェノールは、高い抗酸化力が影響し、物質の変異原性を評価する本テストで陽性を示すことが報告されている。本原料も、ポリフェノールを多く含むため、当然、試験で陽性を示します。

そこで別の代替試験として、染色体異常に起因して出現する小核を観察する試験方法であり、異数性誘発物質と染色体構造異常誘発物質の両方を検出することが可能な小核試験を実施した。

↓

#### ☆小核試験 (in vivo)

本試験は、CrI:CD (SD) SPF 雄ラットを用い、赤ワインエキス R5 の 500、1000 および 2000mg/kg/日を約 24 時間間隔で 2 回経口投与し、2 回目の投与後約 24 時間に骨髓塗抹標本を作製し観察することで実施しました。その結果、各被験物質投与群の小核を有する幼若赤血球の出現頻度は、陰性対照群と比較して統計学的に有意な変化を示さなかったことから、骨髓細胞の増殖抑制作用は無いと判断された。よって、染色体異常誘発能は無いと判定されました。

### 5-2. アレルゲン分析

#### ☆5大アレルゲンの分析結果

5つのアレルゲンについて分析を行った結果、何れのアレルゲンも検出されなかった。小麦タンパク質に関しては、赤ワインエキス R 5 の特性上、ELISA 法で阻害作用が認められ分析不能と

なり、PCR 法でも再分析した結果、PCR 法でも阻害作用が認められ分析不能となった。

<分析結果一覧>

- ・卵由来タンパク質：検出せず（検出限界：1.0  $\mu$ g/g、ELISA 法）
- ・乳由来タンパク質：検出せず（検出限界：1.0  $\mu$ g/g、ELISA 法）
- ・小麦由来タンパク質：分析不能→分析不能（PCR 法）
- ・そば由来タンパク質：検出せず（検出限界：1.0  $\mu$ g/g、ELISA 法）
- ・落花生由来タンパク質：検出せず（検出限界：1.0  $\mu$ g/g、ELISA 法）

5-3. その他分析

☆有機溶媒

アセトン・酢酸エチル：検出せず

★PCB

検出せず

☆放射性物質

放射性ヨウ素・放射性セシウム：検出せず

★残留農薬試験

毎ロット：USP（米国局方）と EU CH. 561（ヨーロッパ基準）に適合

毎年：440 品目以上の項目を国内

☆放射線殺菌

毎ロット：PSL 法にて確認

※カラム濾過によってケイ素が取り除かれているため、TL 法（国内基準）では分析不可。ケイ素が取り除かれている原料は、国内の TL 法で実施すると、陽性として検出されます。一方、ベースラインを取る海外の TL 法では、ケイ素の有無を加味するため、検出不可という分析結果が示されてきます。

## 6. 機能性試験

### 6-1. 抗酸化作用（DPPH ラジカル消去活性・ORAC）

抗酸化作用の指標として、DPPH ラジカル消去活性と ORAC（オラック）値を測定しております。DPPH ラジカル消去活性とは、人工的に安定化させた DPPH ラジカルの消去能を吸光光度法により測定しています。ORAC（Oxygen Radical Absorbance Capacity、オラック）値とは、活性酸素の吸収能力を現す新たな抗酸化指標として欧米では食品への表示が普及しつつある値です。

| 項目            | 結果                                   |
|---------------|--------------------------------------|
| DPPH ラジカル消去活性 | $2.8 \times 10^3 \mu\text{mol TE/g}$ |
| ORAC          | $8.2 \times 10^3 \mu\text{mol TE/g}$ |

### 6-2. アンジオテンシン変換酵素活性阻害作用（ACE 阻害作用）

血圧の調整においてはレニン－アンジオテンシン系（昇圧系）の律速酵素である ACE（アンジオテンシン変換酵素）の重要性が知られています。ACE 変換酵素阻害作用は、アンジオテンシⅠからⅡへの変換を通して血圧上昇に働く酵素 ACE（アンジオテンシン変換酵素）に対する阻害作用をウサギ肺由来酵素を用いて評価しています。

表-1 検体の試験溶液中の阻害率

| 試料濃度<br>(mg/ml) | 阻害率<br>(%) |
|-----------------|------------|
| 0.8             | 93         |
| 0.6             | 84         |
| 0.4             | 68         |
| 0.2             | 40         |
| 0.1             | 16         |
| 0.08            | 12         |

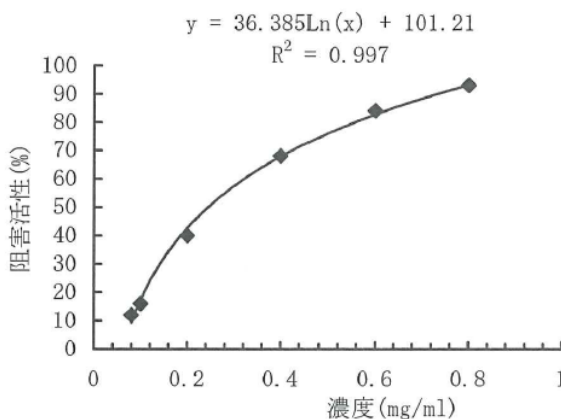


図-1 検体のACE活性阻害

本原料製品の試験溶液中の阻害率の結果を表-1と図-1に示しました。濃度依存的な ACE 活性阻害の増強が認められました。これらより算出された本製品の IC<sub>50</sub> 値（50%の阻害を示す濃度値であり、低いほど活性阻害作用が高い）は、0.24 mg/ml でした。1 日 2g の摂取で効果が示されているイワシやコメのペプチドの IC<sub>50</sub> 値が 30～35g/ml であることから、本製品は、サプリメントなどによる少量摂取でも ACE 活性阻害による血圧低下の効果が期待できるものと考えられます。

### 6-3. 抗糖化作用（AGEs 産生抑制作用ならびに AGEs 架橋切断作用）

AGEs 産生阻害作用を調べるため、代表的な糖であるグルコースと生体内タンパク質であるアルブミンの混液に、本原料を添加し 60℃で 48 時間反応させた後、反応溶液の蛍光強度を測定することで評価しました。

Copyright ©2011 Anti-Aging Pro Corporation All Rights Reserved.

10

本資料は、学術資料などにに基づき作成しておりますが、本資料を使用した消費者向け製品への表示については、健康増進法や薬事法等の関連法規に従うようご注意ください。

表-1 検体のAGEs産生抑制率

| 試料濃度<br>(mg/ml) | 抑制率<br>(%) |
|-----------------|------------|
| 0.4             | 78         |
| 0.3             | 69         |
| 0.2             | 58         |
| 0.1             | 35         |
| 0.05            | 20         |
| 0.025           | 8          |

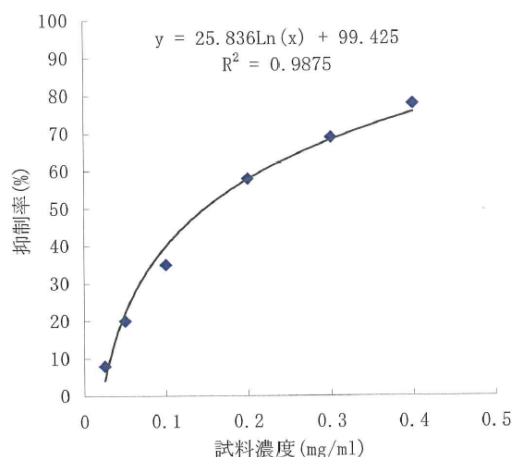
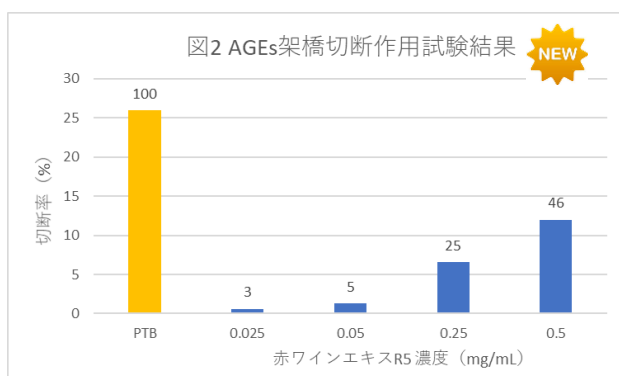


図-1 検体のAGEs産生抑制率

本原料製品の試験溶液中の阻害率の結果を表-1と図-1に示しました。濃度依存的なACE活性阻害の増強が認められました。これらより算出された本製品のIC50値(50%の阻害を示す濃度値であり、低いほど活性阻害作用が高い)は、0.15 mg/ml (0.015%) でした。



また、本原料は、AGEs抑制作用だけではなく、AGEs架橋切断作用の試験も実施されております。

試験は、 $\alpha$ ジケトン構造を有する1-フェニル-1,2-プロパンジオンをモデル基質とした反応系を使用して、架橋切断作用を評価しました。なお、ポジティブコントロールとしてPTB (5mmol/L) を使用しました。

血管内のAGEsの蓄積を抑制し、糖尿病性血管合併症の治療に寄与する可能性が示唆されているPTBと比較し、各濃度における切断率を図2に示しました。なお、図には、PTBを100とした相対値も示しました。

実施した赤ワインエキスの最も濃い濃度0.5mg/mLは、PTBの約半分の架橋切断作用を有することが示されました。

また、この結果を他の素材の切断率と比較しました。結果、計算による理論値上、抗糖化作用を特徴刷るヒシエキスと同じくらいであることが示唆されました。一方、濃度などが示されていないザクロエキスについては、比較ができませんでした。

これらの抗糖化作用の結果より、糖化ストレスが原因となる肌の光老化抑制などが期待できることが示された。Buonocoreら(2012年)は、レスベラトロールを含んだハーブエキス混合末で、皮膚老化の改善データを示しており、本原料も、今後、ロボスキナアナライザーなどによる肌に対する効果を検証しても面白いと思われます。

引用文献：Clin Cosmet Investig Dermatol. 2012;5:159-65.

#### 6-4. チロシナーゼ活性阻害作用

マウス B16 メラノーマ細胞を用い、メラニン合成経路の律速酵素チロシナーゼ活性に対する阻害作用を評価しています。

3 濃度で本原料製品を添加した場合のチロシナーゼ活性を図-1 に示しました。

この図は、未処理対照の 100%から低下した量が活性阻害作用を示しており、本原料製品は、濃度依存する形でチロシナーゼ活性阻害作用を示しました。

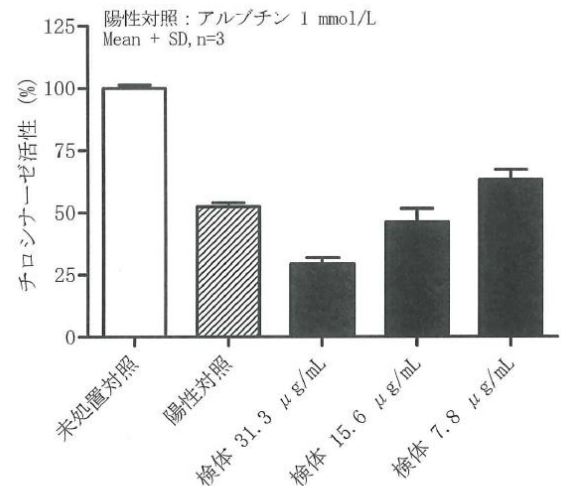


図-1 チロシナーゼ活性

注：各種機能性評価分析は、(財)日本食品分析センターや JAPAN TESTING LABORATORIES 株式会社で実施されております。原本が必要な場合は、秘密保持契約を交わしてからのご提供となりますが、お気軽にご相談ください。



## 6-5. 東京海洋大学との共同研究の結果報告

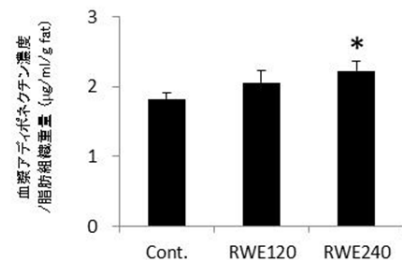
2011 年より弊社と東京海洋大学：矢澤教授と共に進めておりました食の安全と機能(ヘルスフード科学)に関する研究プロジェクト「KK-Ay マウスにおける赤ワインエキス末の効果について」、本共同研究の結果報告をさせていただきます。

本研究では、赤ワインエキス R5 によって**アディポネクチン分泌促進効果**が示され、抗糖尿効果だけでなく、様々なアンチエイジング効果が期待できることが示唆されました。

### <研究概要>

本研究は、糖尿病モデルマウスである KK-Ay マウスに弊社の赤ワインエキス R5 を試料して与え、血糖値上昇抑制効果など検討いたしました。

結果、(特に右図の脂肪組織重量当たりで)肥満抑制する長寿ホルモンであるアディポネクチン分泌促進効果が示唆されましたが、血糖値および HbA1c 濃度の上昇抑制効果までは示されませんでした。本結果は、アディポネクチンが肥満関連遺伝子に関連して抗糖尿作用を示すため、すでに肥満遺伝子を組み込まれた KK-Ay マウスの特性が影響しているものと考えられます。



本研究で示されたアディポネクチン分泌促進は、肥満遺伝子に働きインスリンの感受性を高めることが報告されています。また、Brasnyó らのヒト臨床報告 (2011 年) では、赤ワインエキスの規格成分であるレスベラトロールの摂取 (1 日 10mg の低用量) によって、インスリン感受性の改善結果なども示されています。これらより、レスベラトロールを含有する赤ワインエキス R5 も、ヒトや KK-Ay 以外のマウスでは、抗糖尿の効果が期待できると考えられます。

また、本研究では、摂餌量増加も認められ、筋肉量増加の可能性も示唆されました。アンチエイジング素材として、高齢者の低栄養・サルコペニア (骨格筋量および骨格筋力の低下) 対策へ可能性も示されました。

### 引用文献：

Brasnyó P, Molnár GA, Mohás M, Markó L, Laczy B, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Mérei A, Halmai R, Mészáros LG, Sümegi B, Wittmann I. Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. Br J Nutr. 2011 Aug;106(3):383-9.

## 6-6. ヒト臨床試験（赤ワインエキス末 400mg/日）

赤ワインエキス末（レスベラトロール含有）の持続的な血管柔軟性ならびに脂質代謝への効果：  
健常人における単施設 2 重盲検ランダム化並行群間比較試験

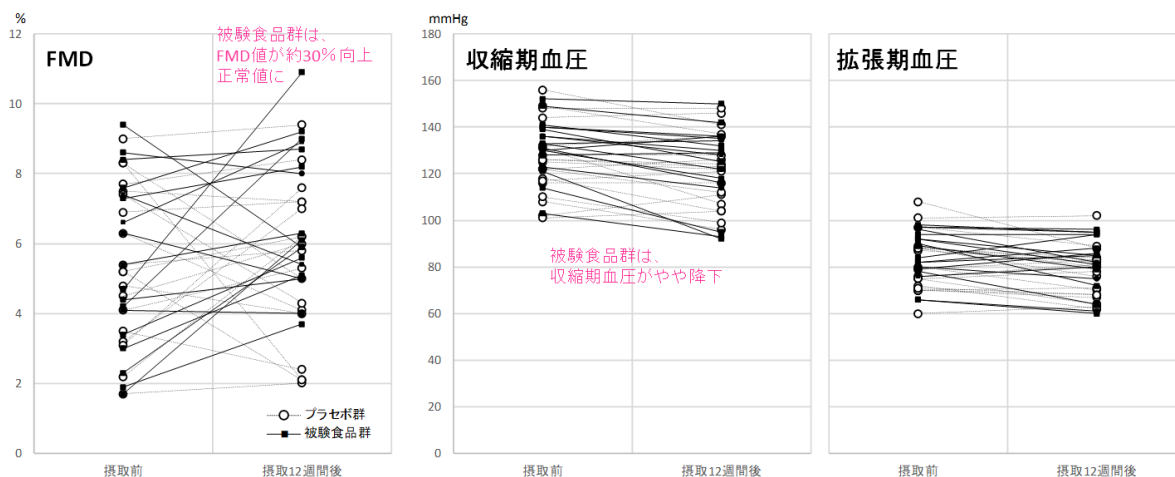
栗山雄司<sup>1)2)</sup>、吉田靖志<sup>2)</sup>、日比野佐和子<sup>3)</sup>

株式会社アンチエイジング・プロ<sup>1)</sup>、順天堂大学医学部総合診療科研究室<sup>2)</sup>、大阪大学医学部大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学講座<sup>3)</sup>

要旨：

レスベラトロールは、フレンチパラドックスの機能性関与成分の1つとして、また、近年において、サーチュインを活性化させる作用で注目を浴びている成分である。現在でもレスベラトロールの研究は継続的に行われ、摂取量によってサーチュインへのアプローチが異なる報告もなされている。また、低用量のレスベラトロール摂取がサーチュイン活性に関連する疾患を改善させたという報告もされ始めている。

本試験では、レスベラトロールを含有する赤ワインエキス末を用いて **1 日当たり 20mg の低用量レスベラトロールと 160mg のオリゴメリックプロアントシアニジン**を健常人に 12 週間摂取させ、検査まで 12 時間以上のウォッシュアウトタイムを設け、血管柔軟性および脂質代謝に対する持続的な効果を評価した。結果、血流依存性血管拡張反応（FMD）値において被験食品群と対照食品（プラセボ）群との間で有意差（ $P=0.043$ 、対応なしの t 検定）が認められ、血圧の降下傾向まで示された。その被験食品群の FMD 値は、 $5.1 \pm 2.3\%$  から  $6.8 \pm 2.1\%$  と、摂取前の FMD 平均値の約 30% 増加と顕著なものであり、正常値目安の 6.0% を超える平均 6.8% への改善を示した。赤ワインエキス末による血管柔軟性の持続的な改善効果ならびに血圧の改善傾向が示された。脂質代謝に関しては、被験食品群においてわずかな皮下脂肪脂肪の増加抑制傾向が認められた程度に止まった。



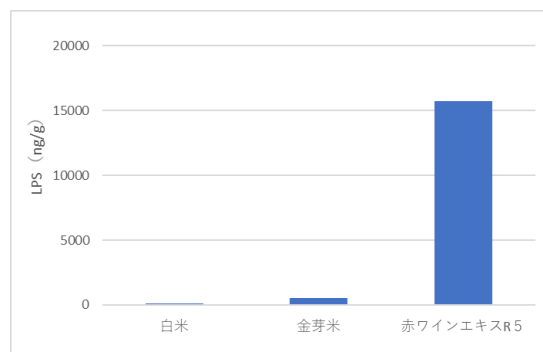
（新薬と臨牀 2017; 66: 783-801 より）

## 6-7. 免疫ビタミンLPS

リポポリサッカライド：LPSは、糖と脂質が結合した構造をしており、「糖脂質」あるいは「リポ多糖」と呼ばれています。LPSの最も良く知られている生物活性は、マクロファージの活性化です。細菌やウイルスから身体を守ったり、傷の修復を助けたり、新陳代謝の調節に欠かせない働きをします。

弊社原料赤ワインエキス末R5にも、LPSが豊富に含まれています。その含有量は、白米の6倍量と言われている金芽米の530ng/gをはるかに超える15,740ng/g※N=2で検出されております。その量は、白米の約175倍、金芽米の約30倍に当たります。

今後、新しいLPS素材としても、活躍が期待されます。



## 7. 2量体の含有量に関する見解

御社に納入させていただいております弊社原料赤ワインエキスR5のεビニフィリン含量とブドウ由来レスベラトロール協会の規格について、見解を述べさせていただきます。

まず、弊社の原料でも協会の示す「t-レスベラトロールに対して10%以上のεビニフィリンを含む」という規格を満たしているデータはございます。ロット#1780026において、t-レスベラトロール含有量が6.06%であるのに対して、εビニフィリンの含有量が0.63%というデータもございます。t-レスベラトロールに対してεビニフィリン10.4%と、ギリギリですが満たしているものもございます。

一方、今回の規格基準に関しては、極性分離工程（活性炭への吸脱着）を経た原料に関して、全く配慮されていない規格基準になります。逆相カラム（ODSカラム）のHPLC分析を実施すれば、そのリテンションタイムの違いで明確になりますが、t-レスベラトロール（26.5分）とεビニフィリン（39.0分）は、かなり極性が異なります。

極性分離を行った場合、t-レスベラトロールをターゲットに吸着分画による抽出を行うと、極性の違いによって、εビニフィリン（t-レスベラトロールよりかなり非極性である成分）や配糖体（t-レスベラトロールより高極性である成分）まで抜け落ちて回収しきれないこともあります。εビニフィリンの含有量もぶれてしまう可能性がございます。

そもそも、t-レスベラトロールとεビニフィリンを含む抽出物やt-レスベラトロールを高含有する抽出物は、抽出溶媒がアセトンであることが多く、これだけ極性が離れた2成分を水やエタノールだけで効率的に同時抽出できるかも疑問に残ります。

基準を満たすロットもありますが、上記のとおり、弊社原料は極性分離抽出された原料であるため、弊社としては、その協会の基準を規格化して保証する予定はございません。ご理解の程、何卒よろしくお願い申し上げます。

## 8. 製法特許概要



<特許第 6539400 号> 2019 年 6 月 14 日登録

本特許は、免疫ビタミンと呼ばれるリポポリサッカライド：LPS（糖脂質）を選択的に抽出する製法に対する特許です。赤ワイン中の LPS をカラムに吸着させてエタノールで脱着し、高含有の LPS を得ることを特徴としています。そして、赤ワインエキスを R5 のように、赤ワインの搾りかすを再発酵して得られる赤ワインを用いることを好ましいとしている。

<特許第 6671844 号> 2020 年 2 月 25 日登録

本特許は、赤ワイン中のトランス体レスベラトロールと  $\epsilon$ -ビニフィリン（レスベラトロール 2 量体）を 10:0.8~3 の比率で抽出する製法に対する特許です。特許第 6539400 号と同様、カラムにレスベラトロールと  $\epsilon$ -ビニフィリンを吸着させてエタノールで選択的に脱着し、レスベラトロールを 4~10% 含有させつつ  $\epsilon$ -ビニフィリンも一定比率で含む抽出物を得ることを特徴としています。

### ○レスベラトロールと $\epsilon$ -ビニフィリンの比率と南仏の日照時間の関係

元々、レスベラトロールは、 $\epsilon$ -ビニフィリンとしてブドウ果実中に存在します。日光を浴びて成熟することで、トランス体レスベラトロールやレスベラトロール配糖体へと変化していきます。そして、赤ワインの製造で発酵工程を踏むことで、配糖体はトランス体へと変化します。南フランスのように夏の日照時間が 15 時間を超える環境下で栽培されたブドウを用いた赤ワインは、 $\epsilon$ -ビニフィリンからの変化率が高く、トランス体レスベラトロールを多く含むのです。

## 9. How to Use

### 9-1. 加工性や商品設計について

錠剤、ハードカプセル、ソフトカプセル、顆粒、ゼリー、ドリンクの何れにも対応しております。ただし、ゼリーやドリンクに配合する場合、配合量に限度がございます。50mL ドリンクの場合、100mg が限界（推奨 50mg）の配合量です。

また、天産物のため、色目や嵩比重にバラツキが必ず生じます。その点は、ご理解ください。色目を見せる剤形の場合、ご注意ください。



左：薄い例

右：濃い例

#### 【商品設計】

弊社の配合推奨量は、1 日分当たり 50~600mg です。エビデンスベースの設計の場合、レスベラトロールや OPC のエビデンスデータの観点より 160mg 以上の量を推奨しております。

※別途摂取目安量に関する見解書がございます。

また、上限量は、600 mg を推奨しております。600mg 以上配合すると、ポリフェノールやタンニンの特徴として、胃もたれや胸焼けの症状を生じやすくなります。その点は、ご注意ください。

もし、飲み方の指導をされる場合は、胃もたれや胸焼け防止の観点から、1度に摂取されるのではなく複数に分けて摂取されることをおすすめいたします。

## 9-2. ドリンクへの配合について

本原料は、水溶性であり、ドリンクやゼリーへの配合も可能です。一方、溶解量や他素材との相性に注意が必要です。まず、弊社の実績では、100mg/50mL までの実績はございますが、基本、安定性を加味して 50mg/50mL までを推奨させていただいております。また、ヒアルロン酸（ヒアルロン酸様物質の白きくらげ多糖体は可）や一部のコラーゲン原料との反応性も確認されておりますので、その点をご注意いただいております。

## 9-3. NMNとの組み合わせについて

NMNと赤ワインエキス R 5 の組み合わせの商品は、数多く存在しております。それは、相乗的なアンチエイジング効果が期待できるためです。Wanらの研究（2021 年）では、ブドウ由来プロアントシアニジンは、(NAMPT を活性化することで) NMNを介して NAD+レベルを高めることが紹介されています。

※NAD+: NMN の代謝成分でもあり、体内で増えることにより長寿や健康増進に関与するサーチュイン遺伝子を活性化するとされています。

※NAMPT: NMN 合成酵素

そして、NMN ような NAD+前駆体の補充やブドウ由来プロアントシアニジンのような NAMPT アクティベーターによる NAD+産生量アップを始めとした、異なるメカニズムの成分補充によって最も効果的な効果（NAD+産生量アップ→サーチュイン活性アップ）を得られる可能性を紹介しています。

こういった2つ以上のメカニズムで、血中のNMNを増やせば、NAD+が増えてアンチエイジング効果が期待できます。また、直接的にサーチュイン活性を高める低用量のレスベラトロール摂取も、さらに相乗的な効果が期待できます（詳しくは別紙参照）。

そして、赤ワインエキス R 5 には、レスベラトロールだけではなく、プロアントシアニンの中でも生物学的利用能が高いとされているオリゴメリック（低重合）プロアントシアニンが40%以上含まれます。赤ワインエキス R 5 を利用すると、レスベラトロールとプロアントシアニンというNMNのベストパートナーとも言える2成分を同時に摂取することが可能なのです。

Wencui Wan, Wei Zhu, Yan Wu, Yang Long *et al.* Grape Seed Proanthocyanidin Extract Moderated Retinal Pigment Epithelium Cellular Senescence Through NAMPT/SIRT1/NLRP3 Pathway. *J Inflamm Res.* 2021;14:3129-3143.

### 【NMNとレスベラトロールの組み合わせ特許】

現在、新興和製薬株式会社からレスベラトロールとNMNの組み合わせの特許が取得されております（特許第 6545256 号）。現在、請求項 1 が以下になっております。以下の内容に抵触しないよう、ご注意ください。

レスベラトロールとニコチンアミドモノヌクレオチドを含む食品組成物であって、レスベラトロールとニコチンアミドモノヌクレオチドの配合割合は、レスベラトロール1～100質量部に対して、ニコチンアミドモノヌクレオチド1～25質量部であり、レスベラトロールの1日当たりの摂取量が40mg～1000mg、ニコチンアミドモノヌクレオチドの1日当たりの摂取量が40mg～100mgの範囲であり、血液中の尿酸低減用である食品組成物。



#### 9-4. オートファジー活性化素材との組み合わせ

オートファジーとは、「細胞内の古くなったタンパク質が、新しく作り替えられる」仕組みのことを意味します。このオートファジーの活性が落ちることで、様々な加齢性疾患を招くと考えられています。そして、オートファジーを活性化することで、加齢性疾患を予防し、アンチエイジング効果が得られると考えられており、現在、オートファジー活性化素材の研究が行われております。

そのオートファジー素材の1つが「**ジオスゲニン**」であり、現在、数多くの研究が行われております。例えば、悪性新生物（ガン）とオートファジーの密接な関係が明らかとなっており、ジオスゲニンによる悪性新生物のアプローチに関する基礎研究が行われております。

また、オートファジーとの関連まで明らかになっていませんが、ジオスゲニンは、認知機能の改善効果がヒトで確認されており、その作用メカニズムの研究では、オートファジーと密接な関係である脳中アミロイドβがジオスゲニンの摂取で減少すること報告されています。

NMNやレスベラトロールの組み合わせに限らず、ジオスゲニンとの組み合わせも好ましいことがわかります。

※ジオスゲニンは、山芋に多く含まれることが知られる DHEA 前駆体です。

Diosgenin is an exogenous activator of 1,25D3-MARRS Pdia3 ERp57 and improves Alzheimer's disease pathologies in 5XFAD mice, Sci Rep. 2012; 2: 535.

Diosgenin-Rich Yam Extract Enhances Cognitive Function: A Placebo-Controlled, Randomized, Double-Blind, Crossover Study of Healthy Adults. Nutrients. 2017;9(10). pii: E1160.

#### 10. その他データ

- ・赤ワイン換算表ならびに根拠データ
- ・クリエイティブ用写真データ（別紙：素材一覧）
- ・同一性試験用：近赤外分析の情報

#### 11. 問い合わせ先

株式会社アンチエイジング・プロ 原料販売事業部

〒151-0053 東京都渋谷区代々木 1-57-2 ドルミ代々木 7 階

TEL : 03-6300-0816 FAX : 03-6745-5677 Mail : [info@a2-pro.com](mailto:info@a2-pro.com)