

赤ブドウ葉乾燥エキス

生命力の壁(古代)から血管壁を護る植物治療薬(現代)へ

「*Vitis vinifera* L.(ヨーロッパブドウ)」:主にワインの原料として7000年以上の利用
 ★イタリア「*Buon vino fa buon sangue*(良いワインは良い血をつくる:ワインは長寿の素)」
 ★フランス「*Paradoxe français*(フレンチパラドックス:赤ワインが心臓疾患の発生率を低減)」
 ★スイス「1995 Dr. Matthias H. Kreuter: 赤ブドウ葉は血管の健康を護る」



船上のバツカス BC530 ギリシャ 赤ブドウ葉・蔓・実



ブドウ葉唐草模様 紀元前 バルミラ遺跡



ブドウ葉文様の壁 9世紀 ペルシャ サーマッター遺跡



赤ワイン



赤ブドウ葉乾燥エキス

ブドウ葉と伝承

- 古代エジプト: 棺の壁を護る生命力の象徴
- 旧約聖書: 女性の生殖器を護る聖なる象徴
- 古代ギリシャ: 豊穡の象徴
- 古代ペルシャ: 城・家屋の壁を護る生命力の象徴

ブドウ葉の利用

- 地中海沿岸でお茶や包み料理「Dolma」として利用されてきた
- ブドウの果実、根、種子油、新芽と共に伝承薬



赤ブドウ葉の伝承薬としての利用

- ディオスコリデス薬物誌(AD40~90): 葉や巻きひげの絞り汁を服用: 血性下痢、吐血、胃炎、葉を患部にあてる: 頭痛、炎症、胸やけ
- 欧州: 下痢、痔疾、静脈瘤、循環器疾患
- フランス: 静脈不全の対症療法(70年以上) ワイン農家: 足のむくみ、痛み(浸剤、湿布剤)

「健康な静脈と美脚はワイナリーの娘のようにあれ!」

ワイン用ブドウの収穫後に得られる赤いブドウ葉は 静脈の健康を護り、美脚の素として知られる *Gesunde Venen u. schoene Beinen wie ein Winzer!*

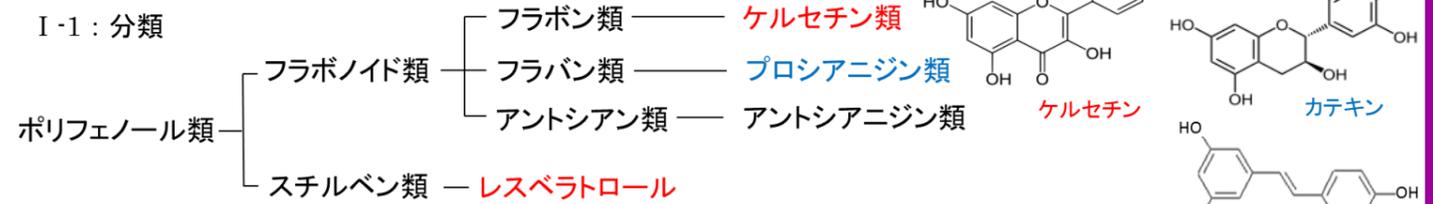
赤ブドウ葉の有効性と安全性の検証

●公定書情報 ◆文献・その他情報

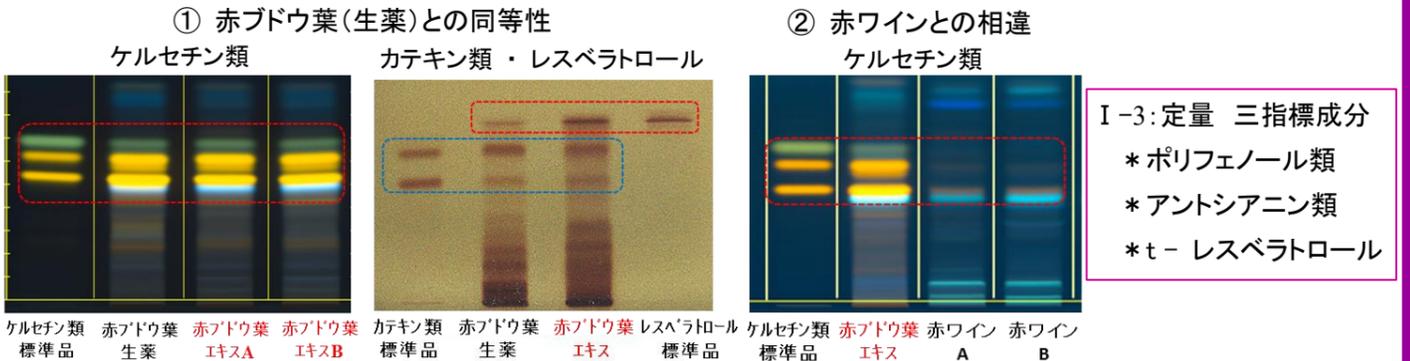
- 1990 フランス植物治療薬指針 *Vitis vinifera* L.(以下、赤ブドウ葉)の機能性を記載: 斑状出血など皮膚毛細血管系の疾患、静脈不全の自覚症状(足のだるさ)、痔疾
- ◆1995 Dr. M.H.Kreuter/Flachsmann「赤ブドウ葉乾燥エキス(以下、EFLA®)」を開発: ポリフェノール、アントシアニン、レスベラトロール(植物エストロゲン)の3成分で規格化
- ◆1995 *Clinica. Chimica. Acta.*: t-レスベラトロールおよびケルセチンの血小板凝集阻害作用の報告
- 1996 フランス薬局方X版モノグラフに赤ブドウ葉が記載された: 暗色から赤色系の葉を特徴とし、総ポリフェノール4.0%、アントシアニン0.2%を含有する
- ◆2000 *Drug Res.*: ヒト臨床試験により赤ブドウ葉製剤 Antistax®の慢性静脈不全(以下、CVI)における下肢のむくみ軽減効果が報告された
- ◆2002 「EFLA®」のヒト血漿LDLコレステロール(以下、LDL)の酸化阻害が報告された
- ◆2003 *Drug Res.*: 赤ブドウ葉乾燥エキス(ケルセチングルクロニド3.3%、イソケルシトリン1.7%含有)の静脈内皮細胞の保護および修復作用が報告された
- 2009 ESCOP(植物療法を担当する欧州科学協力機構)が赤ブドウ葉をモノグラフに記載: CVIのWidmer分類IおよびIIの対症療法 下肢むくみ、疼痛など静脈瘤関連症状の対症療法
- ◆2009 *J. Pharmacol. Sci.*: ケルセチングルクロニドの血小板由来成長因子による血管内の平滑筋細胞の遊走および増殖阻害作用が報告された
- 2010 EMA(欧州医薬品審査庁)が赤ブドウ葉をモノグラフに記載: ●2017再評価 下肢むくみ、静脈瘤を特徴とし、ふくらはぎの痛み、疲労などを自覚症状とするCVIの治療
- ◆2012 応用薬理83:アスク薬品 国内臨床試験にて「EFLA®」の下腿のむくみ軽減効果と安全性(6週間摂取)を報告(日本予防医学会2012、ドイツPhytocongress2013.)
- ◆2013 ベーリンガーインゲルハイム社: 赤ブドウ葉製剤がハーブ医薬品第1号として日本で上市
- 2013 厚生労働省:「ブドウ葉」の食薬区分を再審議し、改めて「食品」区分に分類
- ◆2017 機能性表示届出受理: 機能性関与成分: 赤ブドウ葉由来ポリフェノール 夕方の脚のむくみ軽減

I. 赤ブドウ葉由来のポリフェノール

I-1: 分類



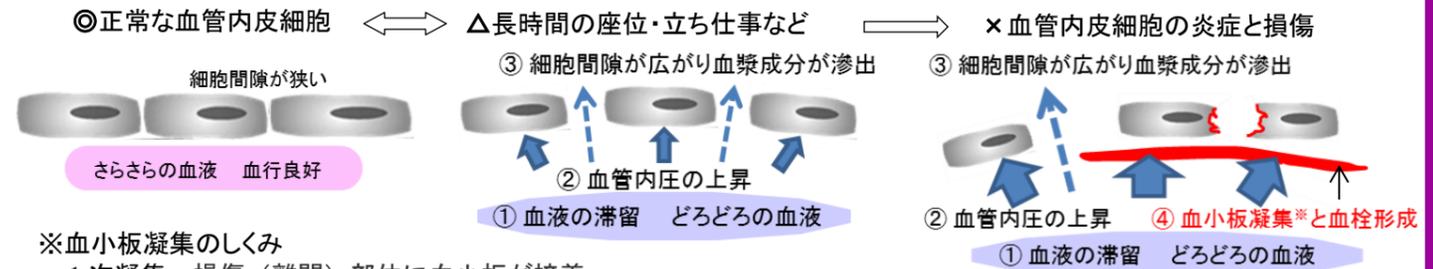
I-2: 定性 赤ブドウ葉乾燥エキスと赤ブドウ葉由来ポリフェノール



II. 赤ブドウ葉の作用機序:

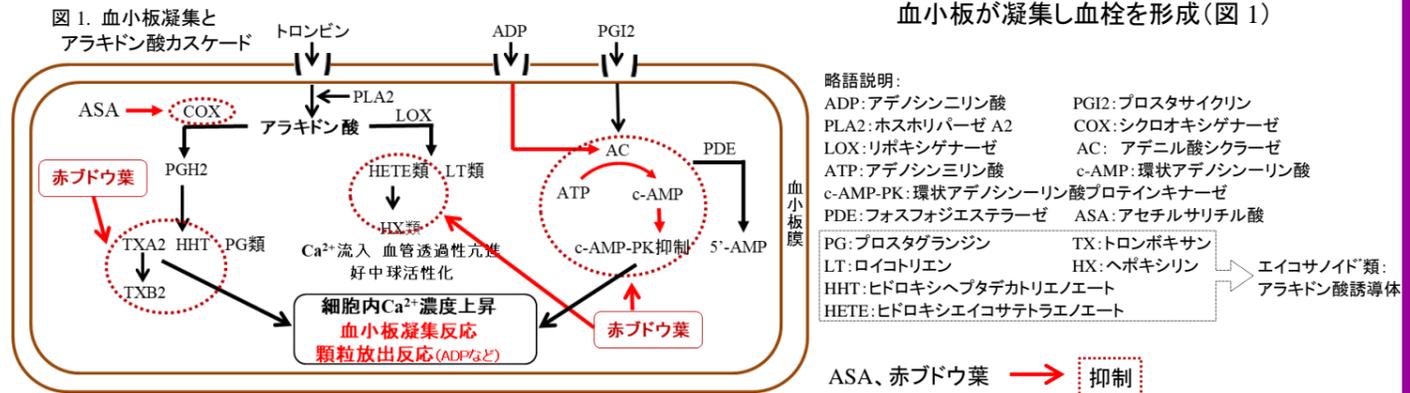
- * 血管内皮細胞の保護および離開した細胞の修復 *Drug Res.* 53: 330 (2003). (裏面III)
- * 血小板凝集を阻害することで血管系の疾患を予防 *Clinica. Chimica. Acta.* 235: 207 (1995). (裏面IV)
- * 血管平滑筋細胞の重積を抑えることで血管系の疾患を予防 *J. Pharmacol. Sci.* 109: 257 (2009). (裏面V)
- * LDL酸化阻害作用やLDLのマクロファージ取込み阻害によりプラーク形成を抑制 *Free Radic Biol Med* 30: 1274 (2001). *Free Radic. Res.* 35: 925 (2001). *J. Nutr.* 135: 722 (2005).

☆下腿のむくみと血管内皮の関係:



※血小板凝集のしくみ

- 1次凝集: 損傷(離開)部位に血小板が接着
- 2次凝集: 1次凝集により血小板が活性化し、血小板凝集惹起物質(トロンピン、ADP等)の放出が起こることで、血小板が凝集し血栓を形成(図1)



略語説明:
 ADP: アデノシンニリン酸
 PLA2: ホスホリパーゼ A2
 LOX: リボキシゲナーゼ
 ATP: アデノシン三リン酸
 c-AMP: 環状アデノシンニリン酸
 c-AMP-PK: 環状アデノシンニリン酸プロテインキナーゼ
 PDE: フォスホジエステラーゼ
 ASA: アセチルサリチル酸
 PG: プロスタグランジン
 TX: トロンボキサン
 LT: ロイコトリエン
 HX: ヘボキシリン
 HHT: ヒドロキシヘプタデカトリエンオート
 HETE: ヒドロキシエイコサテトラエンオート
 エイコサノイド類: アラキドン酸誘導体

● お問合せ先:



● 総発売元:

アスク薬品株式会社
 〒272-0138 千葉県市川市南行徳 3-15-6
 TEL: 047-399-7598 FAX: 047-395-1831
 URL: <http://www.askic.co.jp> E-mail: info@askic.co.jp



III. 薬理試験 ① 静脈内皮細胞の保護および修復 Drug Res. 53: 330 (2003).

☆目的 : 赤ブドウ葉抽出物(以下、AS195)およびケルセチングルクロニド(以下、QGa)の静脈内皮細胞の透水係数に与える影響と内皮細胞の保護および修復作用について検討

☆被験物質: AS195 (QGa 3.3%、イソケルシトリン 1.7%含有)、アセチルサリチル酸(ASA)、QGa
血液成分: トロンビン、血小板(P)、多形核白血球/好中球(PMN)

☆使用細胞: 多孔質フィルター上で培養したラット心臓由来の静脈内皮細胞

☆試験方法: 静脈内皮細胞に被験物質および内皮細胞に影響を及ぼす可能性のある血液成分を添加。細胞の透水係数の測定と電子顕微鏡による細胞の観察。

赤ブドウ葉抽出物:
透水係数の上昇を抑制
上昇した透水係数を低減

☆結果 :

- ◆活性化 P/PMN (トロンビンにより活性化した血小板 P と細菌由来の遊走因子により活性化された PMN) の添加: 静脈内皮細胞の透水係数を上昇させた。又、活性化 P/PMN を培養した上澄み液の添加でも透水係数の上昇が認められた(図 2-b,c)。
- ◆透水係数が上昇した細胞: 細胞の収縮と細胞間隙の拡大による離間が認められた。
- ◆ASA: 活性化 P/PMN の添加による透水係数の上昇を抑制したが、培養上澄み液の添加では透水係数が上昇した(図 2-d,e)。
- ◆AS195: 活性化 P/PMN とその培養上澄み液の添加による透水係数のいずれの上昇も抑制した(図 2-f,g)。
- ◆AS195 と ASA の作用についての考察: 活性化 P/PMN の培養上澄み液添加に伴う透水係数の上昇の違いから、活性化 P/PMN の培養上澄み液中への放出物質がエイコサノイドであることが示唆された(図 2、表面 図 1)。
- ◆QGa: 活性化 P/PMN 放出物質による細胞の離間を抑制した(図 3)。
- ◆AS195: 活性化 P/PMN 放出物質により離間した細胞を濃度、時間依存的に修復し、細胞間隙の閉口作用を示した(図 4)。

図 2. 静脈内皮細胞の透水係数の変化

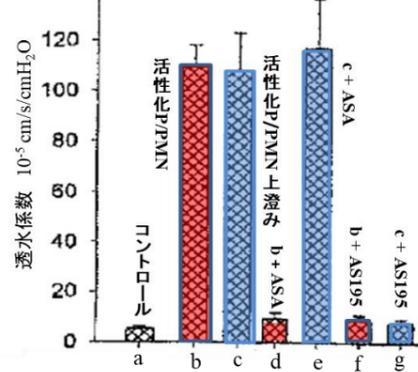


図 3. QGa50 μM 添加による透水係数の変化

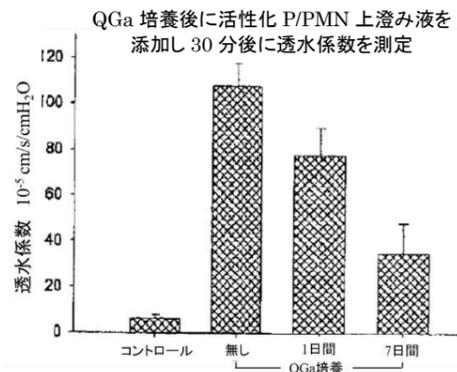
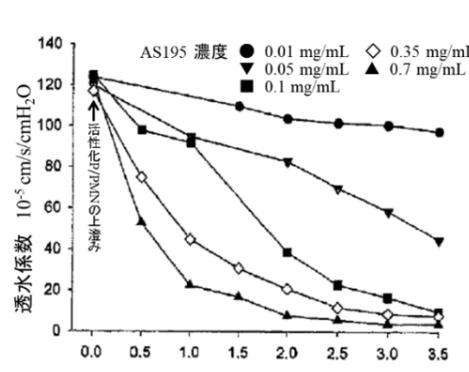


図 4. AS195 添加による透水係数の経時変化



IV. 薬理試験 ② 血小板凝集を阻害 Clinica. Chimica. Acta. 235: 207 (1995).

☆目的 : 赤ワイン成分の ① ヒト血小板凝集 ② 血小板におけるエイコサノイド生成に対する影響を検討

エイコサノイド: Hydroxyheptadecatrienoate (HHT)、12-Hydroxyeicosatetraenoate (12-HETE)、ThromboxaneB2 (TXB2)

☆被験物質: *t*-レスベラトロール(RSV)、ケルセチン、カテキン、エピカテキン、エタノール(EtOH)

☆使用血漿: 非ステロイド性抗炎症薬を2週間服用していない健康者の血液から調製した多血小板血漿 (PRP)

☆試験方法:

- ① PRP 溶液に被験物質を添加し、2分後に血小板凝集惹起物質 ADP またはトロンビンを添加。被験物質の血小板凝集阻害作用をコントロール(少血小板血漿)との比較により評価。
- ② PRP 溶液に被験物質を添加し、2分後にアラキドン酸、15秒後にトロンビンを添加。被験物質のエイコサノイド合成阻害作用をコントロール(被験物質 0 μM)との比較により評価。

☆結果 :

- ① RSV とケルセチンは、ADP およびトロンビン惹起血小板凝集阻害作用を示した。EtOH はトロンビン惹起血小板凝集阻害作用を示したが、ID₅₀ は RSV およびケルセチンと比べると非常に高濃度であった(表 5)。
- ② RSV は TXB2 と HHT 合成阻害作用、ケルセチンは 12-HETE 阻害作用を示した(表 5)。

表 5. 血小板凝集とエイコサノイド合成阻害作用 ID₅₀(μM)

	血小板凝集阻害		エイコサノイド合成阻害		
	ADP	トロンビン	TXB2	HHT	12-HETE
RSV	○ 129.9±64.4	○ 164.7±67.3	○ 7.12±0.85	○ 6.09±2.25	△ 76.9±26.4
ケルセチン	○ 101.7±41.7	○ 92.9±22.1	×	×	○ 3.29±1.38
カテキン エピカテキン	×	×	×	×	×
EtOH	×	△ 132600±40200	×	×	×

○…阻害作用あり △…わずかに阻害 ×…阻害作用なし

赤ブドウ葉由来ポリフェノール:
エイコサノイド生成を阻害し
血小板凝集を抑制

赤ワイン成分 EtOH:
血小板凝集阻害作用が非常に小さい

V. 薬理試験 ③ 動脈平滑筋細胞の遊走と増殖を阻害 J. Pharmacol. Sci. 109: 257 (2009).

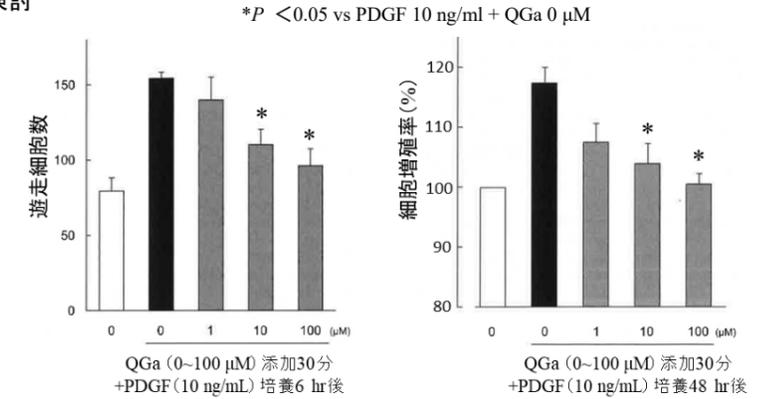
☆目的 : ケルセチングルクロニド(以下、QGa)の血小板由来成長因子(以下、PDGF)惹起のラット動脈平滑筋細胞(以下、RASMC)の遊走と増殖に与える影響について検討

☆被験物質: QGa ☆使用細胞: RASMC

☆試験方法:
遊走試験…膜で仕切られたチャンバーの上層に RASMC および QGa を添加。30 分後に PDGF を添加し 6 時間培養する。下層に移動した細胞数を測定。
増殖試験…QGa を添加 30 分後に PDGF を添加し 48 時間培養する。増殖細胞を MTT 試験で測定。

☆結果 :

- ◆QGa は PDGF により惹起された RASMC の遊走および増殖を濃度依存的に阻害した(図 9、10)。
- ◆PDGF は様々なキナーゼを活性化することで平滑筋細胞の遊走、増殖など血管壁の肥厚や心疾患に関与している。QGa は、特に酸化ストレスにより誘導される JNK および Akt キナーゼの阻害作用を示した。



MTT 試験: MTT(テトラゾリウム塩)をホルマザン色素(紫色)へ還元する酵素活性を測定する比色定量法で培養細胞の増殖率を試験することが可能

QGa(ケルセチングルクロニド): 動脈血管壁の肥厚を抑制

VI. 国内ヒト臨床試験 下腿のむくみ軽減効果 応用薬理 83: 1-7 (2012).

☆目的 : 赤ブドウ葉抽出物(以下、EFLA®266)経口摂取による下腿のむくみ軽減効果の検証

☆試験方法: プラセボ対照単盲検クロスオーバー試験

☆対象 : 平均年齢 39.7±11.0 歳 足のむくみを自覚している女性健康者 17 名

☆試験食品: EFLA®266 摂取群(以下、EFLA 群)…225 mg/カプセル(EFLA®266 200 mg 含有)
プラセボ摂取群(以下、プラセボ群)…225 mg /カプセル(賦形剤)

☆摂取方法: 1日1回 3カプセルを朝食後に摂取(EFLA®266 摂取量 600 mg/日) ☆試験期間: 18週間

☆検査項目: 下腿体積の測定(水槽排水法: 午前、午後 2 回/日)、問診による内科的検査および血液検査

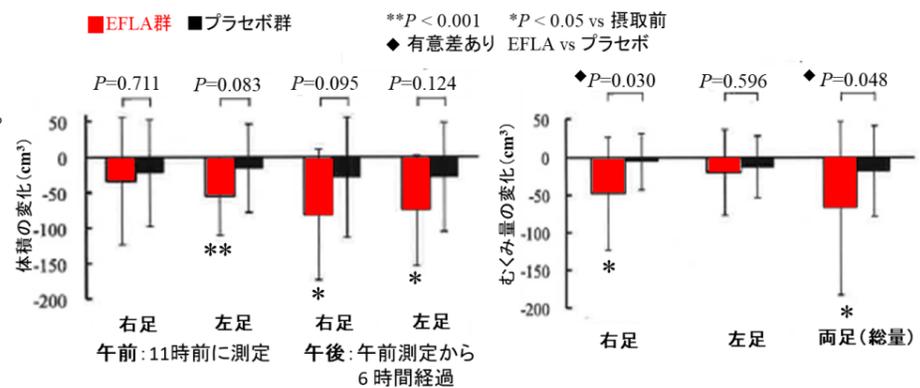
☆検査回数: EFLA®266 摂取前および摂取 6 週間後、プラセボ摂取前および摂取 6 週間後 計 4 回(wash-out 6 週間)

☆試験結果:

◆摂取前後の下腿体積の改善:
EFLA 群: 左足の午前と午後、右足の午後において体積が有意に減少(図 11)。

◆摂取前後の下腿のむくみ改善:
EFLA 群: 両足のむくみ総量(午前から午後にかけての下腿体積増加量)が 58.6%と有意に低下し、プラセボ群(18.2%低下)と比べ有意に改善(図 12)。

◆内科的および血液検査:
試験食品摂取に伴う副作用や重篤な体調変化の報告はなかった。



赤ブドウ葉乾燥エキス

☆原料: ブドウ科 ブドウ属 赤ブドウ (*Vitis vinifera* L.) の葉

☆標準化された製造工程: PIC/S GMP、ISO9001 取得植物抽出物専門工場にて製造

☆指標成分による品質管理:
* Polyphenols * Anthocyanins * *trans*-Resveratrol

☆推奨量: 当社乾燥エキス 360 mg ~ 720 mg/日 (ESCOP2009 相当)

☆包装: 1 kg、20 kg Net 包装

