

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-505208

(P2012-505208A)

(43) 公表日 平成24年3月1日(2012. 3. 1)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/121 (2006.01)	A 6 1 K 31/121	4 B 0 1 8
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	4 C 0 8 8
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	4 C 2 0 6
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 32 頁) 最終頁に続く		

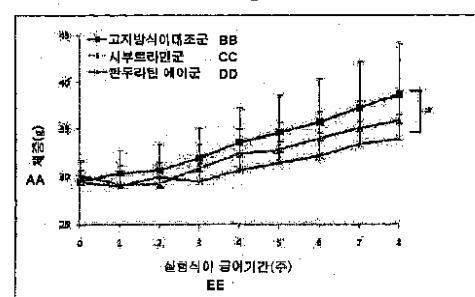
(21) 出願番号	特願2011-530952 (P2011-530952)	(71) 出願人	510062170
(86) (22) 出願日	平成21年10月9日 (2009. 10. 9)		ニュートウリー カンパニー リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成23年5月26日 (2011. 5. 26)		大韓民国 4 6 2 - 1 2 0 キョンギド
(86) 国際出願番号	PCT/KR2009/005804		スンナンシティ チュンウォング サンデ
(87) 国際公開番号	W02010/041908		ウォンドン 1 9 0 - 1 S K n テク
(87) 国際公開日	平成22年4月15日 (2010. 4. 15)		ノパーク テックセンター 1 1 F
(31) 優先権主張番号	10-2008-0099367	(71) 出願人	511089653
(32) 優先日	平成20年10月9日 (2008. 10. 9)		ファン・ジャークワン
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		大韓民国, 4 1 2 - 2 7 0, キョンギド
			, ゴヤン-シ, ドキャン-グ, ファジョン
			-ドン, ダルビットマウル・アパート 8
			5 8, # 1 0 9 - 6 0 4
		(74) 代理人	100081086
			弁理士 大家 邦久
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 パンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物の新規な用途

(57) 【要約】

本発明はパンドラチン誘導体ボエセンベルギアパンドラタ抽出物の新規な用途に関し、詳細には、化学式 1～3 で示されるパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を有効成分する肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病から選ばれる代謝性疾患の予防及び治療／改善用組成物、パンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を有効量投与する肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病から選ばれた代謝性疾患の治療方法、及び肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病から選ばれる代謝性疾患の予防及び治療／改善用製剤製造のためのパンドラチン誘導体、またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物の使用に関する。本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物は体重、体脂肪、脂質含量等代謝性疾患に密接な関連がある要因を減少させ、肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病などの代謝性疾患に優れた効果を示す。本発明は減量及び体脂肪減少等を通じて代謝性疾患の予防及び治療／改善に有効な手段を提供する。

Fig. 2



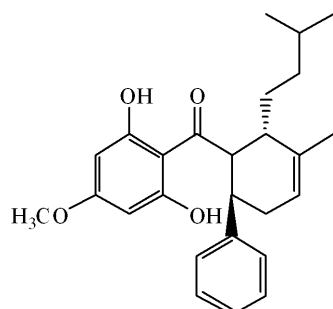
AA ... Weight
BB ... High fat diet control group
CC ... Sibutramine group
DD ... Panduratin A group
EE ... Experimental diet period (weeks)

【特許請求の範囲】

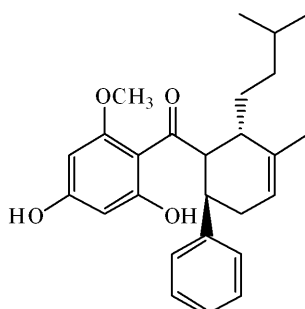
【請求項 1】

下記化学式 1～3 で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体またはこれらの塩を有効成分として含む肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療用組成物。

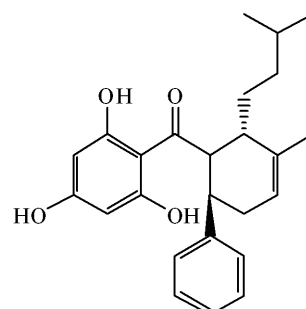
【化 1】



【化学式1】



【化学式2】



【化学式3】

10

【請求項 2】

前記パンドラチン誘導体がボエセンベルギアパンドラタ (*Boesenbergia pandurata*) 抽出物から得られたものである請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

化学式 1～3 で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体またはこれらの塩、またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を有効成分として含む肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び改善食品組成物。

20

【請求項 4】

ボエセンベルギアパンドラタ抽出物を有効成分として含む肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療用組成物。

【請求項 5】

ボエセンベルギアパンドラタ抽出物を有効成分として含む肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び改善用食品組成物。

30

【請求項 6】

化学式 1～3 で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体またはこれらの塩を、これを必要とする個体に有効量投与することを特徴とする肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の治療方法。

【請求項 7】

肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患。の予防及び治療剤製造のための、化学式 1～3 で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体またはこれらの塩の使用。

【請求項 8】

肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患。の予防及び改善用食品製剤製造のための、化学式 1～3 で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体またはこれらの塩の使用。

40

【請求項 9】

ボエセンベルギアパンドラタ抽出物を必要とする個体に有効量投与することを特徴とする肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の治療方法。

【請求項 10】

肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療剤製造のための、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物の使用。

50

【請求項 1 1】

肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び改善用食品製剤製造のためのボエセンベルギアパンドラタ抽出物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は2008年10月09日に出願された大韓民国特許出願第10-2008-0099367号を優先権主張し、前記明細書全体は本発明の参考文献である。

【0002】

本発明は、パンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ (*Boesenbergia pandurata*) 抽出物の新規な用途に関し、詳細には、化学式 1 ~ 3 で示されるパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を有効成分として含む肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病から選ばれる代謝性疾患予防及び治療／改善用組成物、パンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を必要とする個体に有効量投与することを特徴とする肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病から選ばれる代謝性疾患治療方法、及び肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病から選ばれる代謝性疾患予防及び治療・改善用製剤製造のためのパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物の使用に関する。

【背景技術】

【0003】

肥満は、エネルギー蓄積量と消費量の不均衡により過剰体脂肪を有する状態を意味する。肥満は、遺伝的影響、西欧化される食生活による環境的な影響、ストレスによる心理的影響等の多様な原因により誘発されるものと思われているが、未だにその正確な原因やメカニズムに関しては明確に確立されていない状況にある。しかしながら、肥満はそれ自体が有する問題点のみならず、高インシュリン血症、動脈硬化症、心臓血管疾患等のような多くの疾病の原因としても作用し得るため、世界的に肥満治療に多くの関心が寄せられている (Nature, 404: 635643, 2000 (非特許文献 1) ; JAMA, 282: 15231529, 1999 (非特許文献 2)) 。

【0004】

今まで知られた肥満治療剤等の中で、最も代表的な薬物等としては、リダクティル (Reductil (登録商標)、エボト社、米国)、ゼニカル (Xenical (登録商標)、ロシュ製薬会社、スイス)、エキソリーゼ (Exolise (登録商標)、アルコファーマ社、フランス) 等があるものの、心臓疾患、呼吸器疾患、神経系疾患等の副作用とともにその効能の持続性が低く、より効率的な肥満治療剤の開発が必要な実情にある。現在肥満治療剤開発戦略としては、食事量減少、カロリー吸収の抑制、発熱反応促進、エネルギー代謝調節、神経系を通じたシグナル伝達調節等がある (非特許文献 1) 。このような戦略に対して、いずれか一つまたは複数の機能を果たすように薬物を開発することにより肥満治療に利用しようとする試みは、長い間続けられてはいるものの、未だに安定性と効能を併せ持つ薬物を開発することが容易でないのが現実である。従って、安全性が立証された天然物から肥満治療戦略に符合する成分を見出して薬物として利用しようとする試みは、合成製剤から治療剤を開発することに比べてより効率的なアプローチと言える。

【0005】

一方、SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Protein) は、脂肪酸とコレステロールの生合成経路に関連した酵素を活性化して、肝臓と脂肪細胞においてコレステロール及び脂肪酸の合成を調節する重要な転写活性因子であるが、インシュリン抵抗性による高インシュリン血症は肝臓の SREBP 1 の発現を増加させることにより、結局肝臓脂肪組織に中性脂肪蓄積を引起す (Horton, J.D., 等, Proc Natl Acad Sci USA, 95, 5987-5992, 1998 (非特許文献 3)) 。従って、これを通じてインシュリン抵抗性により誘発される脂肪肝の発生に SREBP 1 が重要な役割を担い得る。

【0006】

10

20

30

40

50

A M P K (5'AMP-activated protein kinase) は、肝臓、筋肉、脂肪のようなエネルギー代謝に関連する組織で主に発現する細胞内エネルギー代謝に重要な役割をする酵素である。A M P K は、運動や低酸素症、虚血等により細胞内エネルギーが不足すると活性が増加して代謝関連酵素等を調節する。つまり、脂肪酸及びコレステロール合成と脂肪酸酸化及びその作用を調節することにより、細胞内エネルギー均衡を正常的に回復させることから、糖尿病、肥満等多くの代謝疾患の治療剤開発の標的遺伝子として大きく注目されてきた。

【 0 0 0 7 】

A M P K は、脂肪酸合成酵素であるアセチル・コエンザイム・カルボキシラーゼ (Acetyl-CoA carboxylase) をリン酸化して不活性化させることにより脂肪酸合成を阻害し、ミトコンドリアに脂肪酸を伝達して酸化を誘導するカルニチンパルミトイル転移酵素 1 (carnitine parmitoyltransferase 1) の活性を増加させ、脂肪酸の酸化を促進させる役割を担う (Winder WW, Hardie DG. Am J Physiol 270: E299-304, 1996 (非特許文献 4))。

【 0 0 0 8 】

さらに A M P K は、コレステロールの生合成に重要な役割を担う酵素である 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル-CoA レダクターゼ (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase; H M G R) の活性を抑制し、コレステロールの合成を抑制する (Henin, N., M. F. Vincent, H. E. Gruber, and G. Van den Berghe. FASEB J. 9: 541-546, 1995 (非特許文献 5))。

【 0 0 0 9 】

A M P K は、インシュリンの信号とは独立した形でブドウ糖輸送体である G L U T 4 を細胞内で細胞膜に移動させることにより、細胞内ブドウ糖吸収を促進させることが知られており、実際に糖尿病治療剤であるメトフォルミン (Metformin) の場合、A M P K を活性化させることにより、血糖低下効果を示す (Kurth-Kraczek EJ, Hirshman MF, Goodyear LJ, Winder WW Diabetes 48 (8): 166771, 1999 (非特許文献 6); Winder WW, Hardie DG. Am J Physiol 270: E299-304, 1996 (非特許文献 7))。

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

【 0 0 1 0 】

【 非特許文献 1 】 Nature, 404: 635643, 2000

【 非特許文献 2 】 JAMA, 282: 15231529, 1999

【 非特許文献 3 】 Proc Nati Acad Sci USA, 95, 5987-5992, 1998

【 非特許文献 4 】 Winder WW, Hardie DG. Am J Physiol 270: E299-304, 1996

【 非特許文献 5 】 FASEB J. 9: 541-546, 1995

【 非特許文献 6 】 Winder WW Diabetes 48 (8): 166771, 1999

【 非特許文献 7 】 Winder WW, Hardie DG. Am J Physiol 270: E299-304, 1996

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 1 1 】

本発明者等は優れた抗肥満、脂質蓄積抑制、抗糖尿活性を有し、安全に適用できる天然物質を探索する研究を行い、ショウガ科 (Zingiberaceae family) 植物であるボエセンベルギアパンドラタ (Boesenbergia pandurata) の抽出物、またはこれより分離されたパンドラチン誘導体 (panduratin derivatives) が卓越した減量、体脂肪減少及び抗糖尿効能を有することを確認して本発明を完成した。

【 0 0 1 2 】

本発明の目的はパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物の新たな用途を提供することにある。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 3 】

前記のような目的を達成するために、本発明は化学式 1 ~ 3 で示されるパンドラチン誘

10

20

30

40

50

導体で構成された群より選ばれるパンドラチン誘導体またはその塩を有効成分として含む肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療用組成物を提供する。

【0014】

本発明の他の目的を達成するために、本発明はボエセンベルギアパンドラタ (*Boesenbergia pandurata*) 抽出物を有効成分として含む肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療用組成物を提供する。

【0015】

本発明のさらに他の目的を達成するために、化学式1～3で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体またはその塩を必要とする個体に有効量投与することを特徴とする肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の治療方法を提供する。

10

【0016】

本発明のさらに他の目的を達成するために、本発明は肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療剤製造のための、化学式1～3で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体またはその塩の使用を提供する。

【0017】

本発明のさらに他の目的を達成するために、本発明はボエセンベルギアパンドラタ抽出物を必要とする個体に有効量投与することを特徴とする肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の治療方法を提供する。

20

【0018】

本発明のさらに他の目的を達成するために、本発明は肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療剤製造のためのボエセンベルギアパンドラタ抽出物の使用を提供する。

【発明の効果】

【0019】

本発明はパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物由来の組成物の新たな用途を提供する。本発明に係るパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物は、体重、体脂肪、脂質減量等代謝性疾患に密接な関連がある要因を減少させ、肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病等のような代謝性疾患に優れた効果を示す。従って、本発明の組成物は天然物に由来し、副作用なく安全に使用することができ、減量及び体脂肪減少等を通じて代謝性疾患予防及び治療／改善に卓越な効果を示す新たな手段を提供する。

30

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】高脂肪食餌対照群、シブトラミン投与群、パンドラチンA投与群の食餌摂取量を測定した結果を示すグラフである。

【図2】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいてパンドラチンA処理による体重の変化を測定した結果を示すグラフである。

40

【図3】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいてパンドラチンA処理による血中総コレステロール、中性脂肪、総脂質及びレプチン濃度を測定した結果を示すグラフである。

【図4】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいてパンドラチンA処理による体脂肪量の変化を測定した結果を示すグラフである。

【図5】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいてパンドラチンA処理による体脂肪の外観変化を示す写真である。

【図6】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいてパンドラチンA処理による脂肪細胞の変化を示す写真である。

【図7】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいてパンドラチンA処理による皮下組織の形態学的変化を示す写真である。

50

【図 8】高脂肪食餌対照群、シブトラミン投与群、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物投与群の食餌量を測定した結果を示すグラフである。

【図 9】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいて、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物処理による体重変化を測定した結果を示すグラフである。

【図 10】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいて、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物処理による体脂肪量の変化を測定した結果を示すグラフである。

【図 11】高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおいて、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物処理による体脂肪の外観変化を示す写真である。

【図 12】肝細胞においてエネルギー代謝蛋白質 AMPK (P-AMPK) の活性化とその基質である脂肪生成蛋白質 ACC (P-ACC) の非活性化を測定した結果である。

10

【図 13】筋肉細胞においてエネルギー代謝蛋白質 AMPK (P-AMPK) の活性化とその基質である脂肪生成蛋白質 ACC (P-ACC) の非活性化を測定した結果である。

【図 14】肝細胞において脂肪生成蛋白質転写因子 SREBP1 と脂肪生成核心蛋白質 FAS の減少を測定した結果である。

【発明を実施するための形態】

【0021】

以下、本発明の内容をより詳細に説明する。

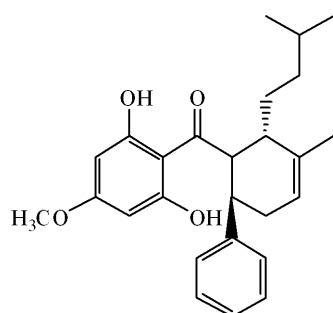
【0022】

本発明の組成物は下記化学式 1～3 で示されるパンドラチン誘導体で構成された群より選ばれるパンドラチン誘導体、または前記パンドラチン誘導体を含むボエセンベルギアパンドラタ (*Boesenbergia pandurata*) 抽出物を有効成分として含み、肥満、高脂血症、高コレステロール症または糖尿病の予防及び治療、改善に優れた効果がある。

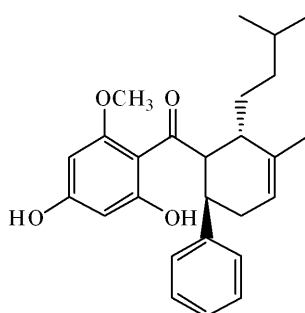
20

【0023】

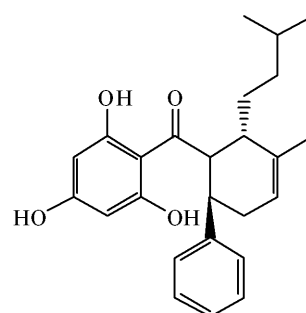
【化 1】



【化学式1】



【化学式2】



【化学式3】

30

【0024】

前記化学式 1～3 のパンドラチン誘導体は、それぞれパンドラチン A、イソパンドラチン A 及び 4-ヒドロキシパンドラチン A であり、公知の方法を利用して合成または天然物から分離、精製することができる。本発明のパンドラチン誘導体はボエセンベルギアパンドラタから抽出、分離したものが好ましい。

【0025】

40

ボエセンベルギアパンドラタはショウガ科の植物の一種であり、カエンペリアパンドラタ (*Kaempferia pandurata*) とも称される。ボエセンベルギアパンドラタは、ピノセンブリンケルコン (pinocembrin chalcone)、カルダモニン (cardamonin)、ピノセンブリン (pinocembrin)、ピノストリビン (pinostribin)、4-ヒドロキシパンドラチン A (4-hydroxypanduratin A)、パンドラチン A (panduratin A) 及びイソパンドラチン A (isopanduratin A) 等の成分を含む。前記成分等は抗癌効果 (Trakoontivakorn, G. et al., *Arch. Food Chem.*, 49, 30463050, 2001; Yun, J. M. et. al., *Carcinogenesis*, 27(7), 14541464, 2006)、抗炎症効果 (Yun, J. M. et. al., *Planta Medica*, 69, 11021108, 2003)、抗皮膚老化作用 (Shim, J. S. et. al., *Planta Medica*, 74, 239244, 2008) または抗菌効果 (Hwang J. K. et. al., *Int. J. Antimicrob. Agents*, 23, 377381, 2004;

50

Park K. M. et. al., Food Sci. Biotechnol., 14(2), 286289, 2005) を有するものと報告されたものの、本発明の以前には抗肥満効果及び代謝性疾患に対する効果に関して知られていなかった。

【0026】

本発明の組成物に含まれるパンドラチン誘導体は乾燥させたボエセンベルギアパンドラタ根茎 (rhizome) を食品加工に適した精製水、エタノール、及び亜臨界水または超臨界二酸化炭素を利用して抽出、精製するか、またはボエセンベルギアパンドラタ植物を直接圧搾して得たオイルから分離精製して得られる。本発明の組成物に含まれるパンドラチン誘導体または前記誘導体を含有する抽出物を取得するためには、抽出溶媒として前記抽出溶媒以外にメタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、アセトン、エーテル、ベンゼン、クロロホルム、酢酸エチル、ジクロロメタン、ヘキサン、シクロヘキサン、石油エーテル等の各種溶媒を単独または混合して使用することができる。

10

【0027】

ボエセンベルギアパンドラタの抽出物からのパンドラチン誘導体の分離及び精製はシリカゲル (silica gel) や、活性アルミナ (alumina) 等の各種合成樹脂を充填したカラムクロマトグラフィー及び高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) 等を単独でまたは併用して使用することができるが、パンドラチン誘導体の抽出及び分離精製方法は必ずしも前記方法に限定されるものではない。

【0028】

本発明の一実施例では、ボエセンベルギアパンドラタの抽出物からそれぞれ化学式 1 ～ 3 で示されるパンドラチン誘導体を抽出、分離した (実施例 1 ～ 4 参照)。

20

【0029】

本発明の他の実施例では、分離されたそれぞれのパンドラチン誘導体を高脂肪食餌により、肥満が誘導されたマウスに摂取させた結果、食餌量自体はさほど変化はなかったが、減量に効果があるのみならず、血中総コレステロール、中性脂肪、総脂質及びレプチン濃度が減少することを確認できた。同時に体内の体脂肪、脂肪細胞の大きさ及び皮下脂肪層も減少することが確認できた (実施例 5 ～ 11 参照)。

【0030】

本発明のさらに他の実施例では、本発明のパンドラチン誘導体が含まれたボエセンベルギアパンドラタの抽出物についても前記と同じ確認を行った結果、体重及び体脂肪が減少することが確認できた (実施例 12 及び 13)。

30

【0031】

本発明のさらに他の実施例では本発明のパンドラチン誘導体が代謝性細胞 (肝細胞、筋肉細胞) において代謝性蛋白質 AMPK 活性を増加させ、その基質である脂肪生成蛋白質 ACC の非活性形態を減少させ、脂肪生成蛋白質転写因子等を減少させ、肥満及び糖尿等を含む代謝性疾患に効果的であることが確認できた (実施例 14 ～ 16)。

【0032】

従って、本発明は化学式 1 ～ 3 で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体、または前記パンドラチン誘導体を含有するボエセンベルギアパンドラタ抽出物を有効成分として含む肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療用組成物を提供する。本発明の組成物は薬学的組成物または食品組成物として利用することができる。

40

【0033】

また、本発明は化学式 1 ～ 3 で示されるパンドラチン誘導体で構成された群より選ばれるパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を必要とする個体に有効量投与することの特徴とする肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患治療方法を提供する。さらに、本発明は肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病からなる群より選ばれる代謝性疾患の予防及び治療剤または改善用食品製剤製造のための、化学式 1 ～ 3 で示されるパンドラチン誘導体からなる群より選ばれるパンドラチン誘導体、またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物の使用を提供する

50

。

【0034】

本発明のパンドラチン誘導体はそれ自体、または塩、好ましくは薬剤学的に許容可能な塩の形態で 사용할 ことができる。前記“薬学的に許容される”とは、生理学的に許容され、ヒトに投与されるとき、一般的にアレルギー反応、またはこれと類似した反応を起こさないことを意味し、前記塩は薬剤学的に許容可能な遊離酸 (free acid) により形成された酸付加塩が好ましい。前記遊離酸としては有機酸と無機酸を使用することができる。前記有機酸としてはこれに限定はされないが、クエン酸、硝酸、乳酸、酒石酸、フマル酸、ギ酸、プロピオン酸、シュウ酸、トリフルオロ酢酸、安息香酸、グルコン酸、メタスルホン酸、グリコール酸、コハク酸、4-トトルエンスルホン酸、グルタミン酸及びアスパラギン酸が挙げられる。さらに、前記無機酸としてはこれに限定はされないが、塩酸、臭素酸、硫酸及びリン酸が挙げられる。

10

【0035】

本発明の薬学的組成物は、薬学的に有効な量のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を単独で含むか、または一つまたは複数の薬学的に許容される担体を含んでいてもよい。前記“薬学的に有効な量”とは、陰性対照群に比べてそれ以上の反応を示す量を意味し、好ましくは、肥満、高脂血症、高コレステロール症または糖尿病を治療または予防するに十分な量を言う。本発明の薬学的組成物はパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物0.01~99.99%と、残量の薬学的に許容される担体を含む。

20

【0036】

本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物の薬学的に有効な量としては0.001~100mg/day/体重kg、好ましくは0.01~10mg/day/体重kgである。しかしながら、前記薬学的に有効な量は、疾患及びこれの重症程度、患者の年齢、体重、健康状態、性別、投与経路及び治療期間等のような多くの因子により適宜変更することができる。

【0037】

前記“薬学的に許容される”とは、生理学的に許容され、ヒトに投与されたとき、活性成分の作用を阻害せず一般的に胃腸障害、眩気症のようなアレルギー反応またはこれと類似した反応を起こさず、非毒性であることを意味する。前記担体としては全ての種類の溶媒、分散媒質、水中油または油中水エマルジョン、水性組成物、リボソーム、マイクロビド及びマイクロソムが挙げられる。

30

【0038】

一方、本発明の薬学的組成物は、投与経路により、適切な担体とともに製剤化することができる。前記本発明の薬学的組成物の投与経路としては、これに限定はされないが、経口または非経口で投与することができる。非経口投与の経路としては、例えば、経皮、鼻腔、腹腔、筋肉、皮下または静脈等の多様な経路が挙げられる。

【0039】

本発明の薬学的組成物を経口投与する場合、本発明の薬学的組成物は適切な経口投与用担体とともに、当業界で公知の方法により、粉末、顆粒、錠剤、丸剤、糖衣錠剤、カプセル剤、液剤、シロップ剤、懸濁剤、ウェーハ等の形態で製剤化することができる。適切な担体の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール及びマルチトール等を含む糖類、トウモロコシ澱粉、小麦澱粉、米澱粉及びジャガイモ澱粉等を含む澱粉類、セルロース、メチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース及びヒドロキシプロピルメチルセルロース等を含むセルロース類、ゼラチン、ポリビニルピロリドン等のような充填剤が挙げられる。さらに、場合によって架橋結合ポリビニルピロリドン、寒天、アルギンサンまたはナトリウムアルキネート等を崩解剤として添加することができる。さらに前記薬学組成物には、抗凝集剤、潤滑剤、湿潤剤、香料、乳化剤及び防腐剤等を添加することができる。

40

【0040】

50

さらに、非経口投与する場合、本発明の薬学的組成物は適切な非経口用担体とともに、当業界で公知の方法により、注射剤、経皮投与剤及び鼻腔吸入剤の形態で製剤化することができる。前記注射剤の場合には、必ず滅菌しなければならない。注射剤の場合の適切な担体の例としては、これに限定はされないが、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール及び液体ポリエチレングリコール等）、これらの混合物及び／または植物油を含む溶媒または分散媒質が挙げられる。より適切な担体としてハンクス溶液、リンゲル溶液、トリエタノールアミンが含有されたPBS（phosphate buffered saline）または注射用滅菌水、10%エタノール、40%プロピレングリコール及び5%デキストロースのような等張溶液等を使用することができる。前記注射剤を微生物汚染から保護するために、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサル等のような多様な抗菌剤及び抗真菌剤を添加することができる。さらに、前記注射剤は大部分の場合、糖またはナトリウムクロライドのような等張化剤を添加することができる。

10

【0041】

経皮投与剤の場合、軟膏剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、外用液剤、パスタ剤、リニメント剤、エアロゾル剤等の形態が含まれる。前記“経皮投与”とは、薬学的組成物を局所的に皮膚に投与して薬学的組成物に含有された有効量の活性成分が皮膚内に伝達されることを意味する。これらの製剤は公知の調剤録（Remington's Pharmaceutical Science, 15th Edition, 1975, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania）に記載されている。

20

【0042】

吸入投与剤の場合、本発明に伴い使用される化合物は、適切なキャリア（運搬）剤、例えば、ジクロロフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、またはその他の適切な気体を使用して、加圧バックまたは噴霧器からエアロゾルスプレー形態で容易に運搬することができる。加圧エアロゾルの場合、投薬単位は計量された量を運搬する弁を設けて定めることができる。例えば、吸入器または吹込み器に使用されるゼラチンカプセル及びカートリッジは、化合物、及びラクトースまたは澱粉のような適切な粉末基剤の粉末混合物を含有するように製剤化することができる。

【0043】

その他の薬学的に許容される担体としては、文献（Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995）の記載を参考にすることができる。

30

【0044】

さらに、本発明に係る薬学的組成物には一つまたは複数の緩衝剤（例えば、食塩水またはPBS）、カーボハイトレート（例えば、グルコース、マンノース、スクロースまたはデキストラン）、抗酸化剤、静菌剤、キレート化剤（例えば、EDTAまたはグルタチオン）、アジュバント（例えば、アルミニウムヒドロキシド）、懸濁剤、濃厚剤及び／または保存剤を添加することができる。

【0045】

さらに、本発明の薬学的組成物は哺乳動物に投与された後、活性成分が迅速、持続または遅延して放出できるように当業界で公知の方法を使用して製剤化することができる。

40

【0046】

さらに、本発明の薬学的組成物は、肥満、高脂血症、高コレステロール症または糖尿病の予防または治療効果を有する公知の化合物と併用して投与することができる。

【0047】

本発明で“有効量”とは、本発明における治療剤が投与対象である個体内で対象疾患の治療効果を示す量を言い、前記“個体（subject）”とは哺乳動物、特にヒトを含む動物を意味する。前記個体の例は疾患治療を必要とする患者である。

【0048】

さらには、本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物は、

50

肥満、高脂血症、高コレステロール症または糖尿病の予防または改善の目的で食品組成物の形態で提供することができる。本発明の食品組成物は、機能性食品（functional food）、栄養補助剤（nutritional supplement）、健康食品（health food）、食品添加剤（food additives）及び飼料等の全ての形態を含み、ヒトまたは家畜を含む動物が摂食対象となる。前記の食品組成物は当業界で公知の一般的な方法により多様な形態で製造することができる。

【0049】

例えば、健康食品には本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物そのものを、お茶、ジュース、ドリンクの形態で製造し飲用に供するか、または顆粒化、カプセル化、粉末化して摂取することができる。さらに、本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物と、肥満、高脂血症、高コレステロール症または糖尿病の改善及び予防効果があることが知られた活性成分とを混合して組成物の形態で製造することができる。

10

【0050】

さらに、機能性食品は、飲料（アルコール性飲料を含む）、果実及びその加工食品（例えば、果物缶詰、瓶詰、ジャム、マーマレード等）、魚類、肉類及びその加工食品（例えば、ハム、ソーセージ、コンビーフ等）、パン類及び麺類（例えば、うどん、そば、スパゲッティ、マカロニ等）、果汁、各種ドリンク、クッキー、飴、乳製品（例えば、バター、チーズ等）、食用食物油脂、マーガリン、食物性蛋白質、レトルト食品、冷凍食品、各種調味料（例えば、味噌、醤油、ソース等）等に本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を添加して製造することができる。

20

【0051】

さらに、本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を食品添加剤の形態で使用するためには、粉末または濃縮液状に製造して使用できる。

【0052】

本発明の食品組成物の内、本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物の含有量としては、食品の全質量に対して約0.01～99.99質量%とすることができ、残量は食品学的に許容可能な担体とすることができる。

【0053】

一方、肥満／糖尿マウス（ob/ob mouse）は、レプチン（leptin）遺伝子の欠乏により食欲が調節できないため、持続的に飲食を過度に摂取するようになる。その結果、脂肪が体内に過度に蓄積され、出生後約3か月が経つと一般的なマウス体重の2倍の50g前後を維持するようになる。さらに、通常のマウスに比べて高い血糖を有する典型的な第2型糖尿病のモデルになる（Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes, 109: 307-319, 2001）。このような肥満／糖尿マウスは、抗肥満及び抗糖尿予防及び治療剤を探索したり、抗肥満及び抗糖尿効能の評価に用いられる代表的な実験動物モデルである。従って、本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物の肥満／糖尿マウスモデルにおける作用を確認した。その結果、パンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物が肥満／糖尿マウスモデルにおいて有意に効果を示し、肥満のみならず糖尿病、特に第2型糖尿病抑制効果があることを示唆した。従って、本発明のパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物は、糖尿病に対して効果を示した。本発明が効果を示す糖尿病はこれに限定はされないが、第2型糖尿病である。

30

40

【実施例】

【0054】

以下、本発明について実施例を挙げてより詳細に説明する。

しかしながら、これら実施例は本発明を例示的に説明するためのもので、本発明の範囲がこれら実施例に限定されるものではない。

【0055】

実施例1：パンドラチンを含有するボエセンベルギアパンドラタ抽出物の製造

乾燥させたボエセンベルギアパンドラタをミキサーで粉碎し、粉碎したボエセンベルギ

50

アパンドラタ試料 100 g をエタノール 500 mL に入れて 50 °C で 30 分間攪拌しながら抽出した。抽出された試料はろ紙 (Whatman No.2) でろ過し、ろ過された抽出液を真空ロータリーエバポレーターで濃縮して溶媒成分を除去した後、凍結乾燥して水分を除去することにより、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物を得た。

【0056】

実施例 2：パンドラチン A の分離及び構造決定

2-1. パンドラチン A の分離

前記実施例 1 で得た濃縮されたボエセンベルギアパンドラタ抽出物と酢酸エチルを混合して酢酸エチル溶解成分を抽出し、酢酸エチルを減圧下で除去して酢酸エチル溶解性成分を濃縮した。その後、シリカゲルを 6 × 15 cm 充填したカラムで、ヘキサン、クロロホルム、酢酸エチルを 15 : 5 : 1.5 (v/v/v) の比率で混合した溶媒システムを利用して前記濃縮された成分を分取した。前記分取順に従い全 6 分画に分けてそれぞれの分画を濃縮乾燥した。6 分画のうち、3 番目の分画 (分画 3) をヘキサン、酢酸エチル、メタノールそれぞれ 18 : 2 : 1 (v/v/v) の展開溶媒を用いた薄層クロマトグラフィー (TLC, silica gel 60F254, Merck) を行い、分取した順に全 3 分画に分けて濃縮乾燥した。最終的に前記 3 分画のうち、2 番目の分画 (分画 32) を利用してリサイクリング高性能液体クロマトグラフィー (recycling HPLC, column: W252, 20.0mmID × 500mmL) を行い、分取順に全 2 分画に分けてそれぞれの分画を濃縮乾燥した。最終的に前記 2 分画のうち、2 番目の分画 (分画 322) を濃縮乾燥させて純粋な単一活性物質を分離した。

【0057】

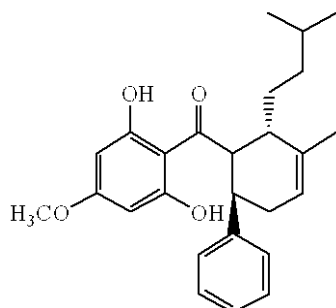
2-2. パンドラチン A の構造決定

前記 2-1 で分離された単一活性物質の構造決定のために ^1H NMR スペクトル ^{13}C NMR スペクトルをそれぞれ 500 MHz と 125 MHz (溶媒: CDCl_3) で測定した。取得した ^{13}C NMR スペクトルと ^1H NMR スペクトルの結果を基に $^1\text{H}^1\text{H}$ の相関関係と $^1\text{H}^{13}\text{C}$ の相関関係を測定するために、 $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY スペクトルと $^1\text{H}^{13}\text{C}$ HSQC スペクトルを測定し、炭素共鳴を通じて出てくる波長でそれぞれの炭素信号を区別してその結果を測定した。

さらに、前記分離された単一物質の質量分析のために EI/MS を測定した。本化合物は EI/MS で $[\text{M}^+\text{H}^+]$ が m/z 407 で観測され、分子量が 406 であることが判明し、分子式は $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_4$ であった。

以上の ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 $^1\text{H}^1\text{H}$ COSY、 $^1\text{H}^{13}\text{C}$ HSQC 及び EI/MS の結果と既に発表された研究報告 (Woo, W. S. et. al., Phytochemistry, 26: 1542-1543, 1987) を比較分析して同定した結果、前記 2-1 で分離された単一物質は (2, 6-ジヒドロキシ-4-メトキシフェニル) [3-メチル-2-(3-メチルブト-2-エニル)-5-フェニルシクロヘキス-3-エニル] メタノンであり、下記化学式 1 で示されるパンドラチン A 化合物であることが確認された。

【化 2】



〔化学式 1〕

【0058】

実施例 3：イソパンドラチン A の分離及び構造決定

3-1. イソパンドラチン A の分離

前記実施例 1 で得た濃縮されたボエセンベルギアパンドラタ抽出物と酢酸エチルを混合して酢酸エチル溶解成分を抽出し、酢酸エチルを減圧下で除去して酢酸エチル溶解成分を濃縮した。その後、シリカゲルを $6 \times 15 \text{ cm}$ 充填したカラムでヘキサン、クロロホルム、酢酸エチルを $15 : 5 : 1.5$ (v/v/v) の比率で混合した溶媒システムを利用して前記濃縮された成分を分取した。前記分取した順に全 6 分画に分けてそれぞれの分画を濃縮乾燥した。6 分画のうち、4 番目の分画 (分画 4) を逆相 18 (Rp18, LiChrosep, 2540m) カラムクロマトグラフィーを利用してメタノールと水をそれぞれ $9 : 1$ (v/v) の比率で混合した溶媒システムで溶出させ分取した。前記分取順に全 2 分画を得て、得られた分画のうち、2 番目の分画 (分画 4 2) を濃縮乾燥後クロロホルムとメタノールを $10 : 0.2$ (v/v) の比率で混合した溶媒システムを利用して溶出させ、溶出順に全 2 分画に分けてそれぞれの分画を濃縮乾燥した。最終的に前記 2 分画のうち、2 番目の分画 (分画 4 2 2) をヘキサンと酢酸エチルを $10 : 3$ (v/v) の比率で混合した溶媒システムを利用して溶出させ、溶出順に全 2 分画に分けてそれぞれの分画を濃縮乾燥した。最終的に前記 2 分画のうち、2 番目の分画 (分画 4 2 2 2) を濃縮乾燥させ、純粋な単一活性物質を分離した。

10

【0059】

3-2. イソパンドラチン A の構造決定

前記 3-1 で分離した単一活性物質の構造決定のために、 ^1H NMR スペクトルと ^{13}C NMR スペクトルをそれぞれ 500 MHz と 125 MHz (溶媒: CDCl_3) で測定した。前記にて測定された ^{13}C NMR スペクトルと ^1H NMR スペクトルの結果を基に $^1\text{H}^1\text{H}$ の相関関係と $^1\text{H}^{13}\text{C}$ の相関関係を測定するために、 $^1\text{H}^1\text{H} \text{ COSY}$ スペクトルと $^1\text{H}^{13}\text{C} \text{ HSQC}$ スペクトルを測定して、炭素共鳴を通じて出てくる波長でそれぞれの炭素信号を区別してその結果を測定した。

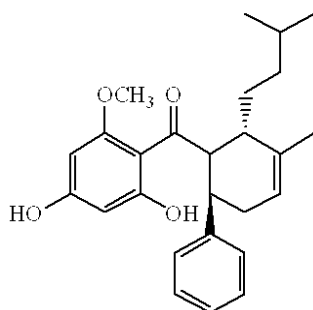
20

さらに、前記分離された単一物質の質量分析のために、 EI/MS を測定した。本化合物は EI/MS で $[\text{M}+\text{H}^+]$ が m/z 407 で観測され、分子量が 406 であることが判明し、分子式は $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_4$ であった。

以上の ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 $^1\text{H}^1\text{H} \text{ COSY}$ 、 $^1\text{H}^{13}\text{C} \text{ HSQC}$ 及び EI/MS の結果と、既に発表された研究報告 (Woo, W. S. et. al., *Phytochemistry*, 26: 15421543, 1987) を比較分析して同定した結果、前記 3-1 で分離された単一物質は (4, 6-ジヒドロキシ-2-メトキシルフェニル) [3-メチル-2-エニル]-6-フェニルシクロヘキス-3-エニル] メタノンであり、下記化学式 2 で示されるイソパンドラチン A 化合物であることが確認された。

30

【化 3】



40

【化学式 2】

【0060】

実施例 4: 4-ヒドロキシパンドラチン A の分離及び構造決定

4-1. 4-ヒドロキシパンドラチン A の分離

前記実施例 1 で得た濃縮されたボエセンベルギアパンドラタ抽出物と酢酸エチルを混合して酢酸エチル溶解成分を抽出し、酢酸エチルを減圧下で除去して酢酸エチル溶解成分を濃縮した。その後、シリカゲルを $6 \times 15 \text{ cm}$ 充填したカラムで、ヘキサン、クロロホルム及び酢酸エチルを $15 : 5 : 1.5$ (v/v/v) の比率で混合した溶媒システムを利用し

50

て前記濃縮された成分を分取した。前記分取した順に全 6 分画に分けてそれぞれの分画を濃縮乾燥した。6 分画のうち、6 番目の分画（分画 6）をジクロロメタンとメタノールを 19 : 1（v/v）の比率で混合した溶媒システムで溶出させ、分取した順全 3 分画を得て、前記 3 分画のうち、2 番目の分画（分画 6 2）を再びクロロホルムとメタノールを 20 : 1（v/v）の比率で混合した溶媒システムを利用して分取した順に全 2 分画を得た。最終的に前記 2 分画のうち、2 番目の分画（分画 6 2 2）を利用してリサイクリング高性能液体クロマトグラフィー（recycling HPLC, column: W252, 20.0mmID×500 mmL）を行い純粋な単一活性物質を分離した。

【0061】

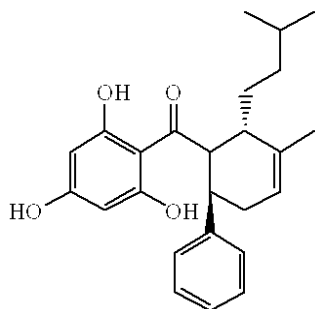
4-2. 4-ヒドロキシパンドラチン A の構造決定

前記 4-1 で分離された単一活性物質の構造決定のために、 ^1H NMR スペクトルと ^{13}C NMR スペクトルをそれぞれ 500 MHz と 125 MHz（溶媒：メタノール）で測定した。前記にて取得した ^{13}C NMR スペクトルと ^1H NMR スペクトルの結果を基に、 ^1H ^1H の相関関係と ^1H ^{13}C の相関関係を測定するために、 ^1H ^1H COSY スペクトルと ^1H ^{13}C HSQC スペクトルを測定した。

さらに、前記分離された単一物質の質量分析のために、EI/MS を測定した。本化合物は EI/MS で $[\text{M}+\text{H}]^+$ が m/z で観測され分子量が 392 であることが判明し、分子式は $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_4$ であった。

以上の ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 ^1H ^1H COSY、 ^1H ^{13}C HSQC 及び EI/MS の結果と既に発表された研究報告（Woo, W. S. et. al., *Phytochemistry*, 26: 15421543, 1987）を比較分析して同定した結果、前記実施例 4-1 で分離された単一物質は（2, 4, 6-トリヒドロキシフェニル[3-メチル-2-（3-メチルブト-2-エニル）-6-フェニルシクロヘキス-3-エニル]メタノンであって、下記化学式 3 で示される 4-ヒドロキシパンドラチン A（4hydroxypanduratin A）化合物であることが確認された。

【化 4】



【化学式 3】

【0062】

実施例 5：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスのパンドラチン A 処理による減量効果

前記実施例 2 で製造されたパンドラチン A を利用して肥満改善効果を調査するために、高脂肪食餌で誘導された肥満マウスをモデルに選定して実験した。3 週齢の C57BL/6 マウスを 1 週間飼育慣らし、肥満を誘導するために高脂肪食餌（Product # D12492, Research Diet Inc., New Brunswick, NJ, USA）を 6 週間供給して肥満を誘導した後、任意にそれぞれ 12 匹ずつ全 3 群に分けて実験に利用した。実験群にはパンドラチン A を 0.25% カルボキシメチルセルロース（carboxymethylcellulose）に懸濁して 50 mg/kg 体重の投与濃度で 1 日 1 回ずつ 8 週間一定した時間に投与した。この際、対照群として実験群が摂取するのと同量の 0.25% カルボキシメチルセルロースのみを投与した群とシブトラミンを 0.25% カルボキシメチルセルロース（carboxymethylcellulose）に懸濁して 5 mg/kg 体重を経口投与した群を使用した。試料を投与したマウスの食餌量と個体の体重を 1 週間毎に測定した。

試料投与後 8 週間の間、実験群と対照群の食餌量を測定した結果、図 1 に示した通り、実験群と対照群間では差がなかった。同時に実験群と対照群間の体重増加率を測定した結

果、図2に示した通り、試料投与後8週間後に測定した高脂肪食餌対照群とパンドラチンA群の体重増加率はそれぞれ約32%と15%であり、パンドラチンA群の体重増加率が高脂肪食餌対照群に比べて有意に低く表れた($p<0.05$)。一方、現在抗肥満治療剤として使用されているシブトラミン投与群の体重増加率は約20%であり、パンドラチンAがシブトラミンより優れた減量効果を示した。従って、パンドラチンAが減量に効果的に作用することが確認された。

【0063】

実施例6：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスのパンドラチンA処理による血中総コレステロール、中性脂肪、総脂質及びレプチン濃度変化

3週齢のC57BL/6マウスを1週間飼育慣らし、肥満を誘導するために高脂肪食餌(Product # D12492, Research Diet Inc., New Brunswick, NJ, USA)を6週間供給して肥満を誘導した後、任意にそれぞれ12匹ずつ全3群に分けて実験に利用した。実験群にパンドラチンAを0.25%カルボキシメチルセルロース(carboxymethylcellulose)に懸濁して50mg/kg体重の投与濃度で1日1回ずつ8週間一定した時間に投与した。この際、対照群として実験群が摂取するのと同量の0.25%カルボキシメチルセルロースのみを投与した群と、シブトラミンを0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して5mg/kg体重を経口投与した群を使用した。8週間試料を投与した後12時間以上絶食させ、腹部を切開して心臓から血液を採取した。採取した血液は2,800rpm、4℃で30分間遠心分離して血漿を分離し、分離された血漿を-70℃で保管した。

血漿の総コレステロール濃度は、標準酵素法を利用した分析キット(kit)で500nmで吸光度を測定した。血漿の中性脂肪はリン酸グリセロール酸化酵素(glycerol phosphate oxidase)酵素法を利用した分析キットで546nmで吸光度を測定した。血漿の総脂質濃度はフリングス(Frings)法で分析し、540nm吸光度を測定した。血漿レプチンはマウス・レプチン・リア・キット(Mouse Leptin RIA Kit)(LINCO Research, Inc. USA)を使用して放射線免疫測定法で測定した。

その結果、図3に示した通り、血漿の総コレステロール含量は対照群で 140.73 ± 16.47 (mg/dL)、シブトラミン群で 122.4 ± 22.6 (mg/dL)であるのに対して、パンドラチンAでは 108.8 ± 21.8 (mg/dL)であり、有意に減少した($p<0.05$)。血漿の中性脂肪は対照群で 154.36 ± 27.02 (mg/dL)、シブトラミン群で 150.2 ± 20.19 (mg/dL)であるのに対して、パンドラチンA群では 129 ± 22.16 (mg/dL)であり、有意的に減少した($p<0.05$)。血漿総脂質も対照群、シブトラミン群、パンドラチンA群でそれぞれ 555.18 ± 80.86 (mg/dL)、 493.2 ± 111.9 (mg/dL)、 439.6 ± 88 (mg/dL)であり、対照群に比べてパンドラチンA群では21%の減少を示した($p<0.05$)。血漿レプチン濃度は対照群で 12 ± 4.6 ($\mu\text{g/mL}$)、シブトラミン群で 10.1 ± 3.4 ($\mu\text{g/mL}$)、パンドラチンA群で 4.1 ± 2 ($\mu\text{g/mL}$)であり、パンドラチンA群において顕著な減少効果を示した($p<0.05$)。従って、パンドラチンAは血漿脂質の改善効果が優れていることが確認された。

【0064】

実施例7：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおけるパンドラチンA処理による体脂肪含量の変化

3週齢のC57BL/6マウスを1週間飼育慣らし、肥満を誘導するために高脂肪食餌(Product # D12492, Research Diet Inc., New Brunswick, NJ, USA)を6週間供給して肥満を誘導させ、任意にそれぞれ12匹ずつ全3群に分けて実験に利用した。実験群にはパンドラチンAを0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して50mg/kg体重の投与濃度で1日1回ずつ8週間一定した時間に投与した。この際、対照群としては実験群が摂取するのと同量の0.25%カルボキシメチルセルロースのみを投与した群と、シブトラミンを0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して5mg/kg体重を経口投与した群を使用した。8週間試料を投与した後12時間以上絶食させ、腹部を切開した。腎臓周囲脂肪と副睾丸脂肪を摘出して生理食塩水で洗って水分を除去した後、質量を測定した。

。

その結果、図 5 に示した通り、パンドラチン A 群はシブトラミン群と高脂肪食餌対照群に比べて腹部脂肪量が大きく減少したことを肉眼で観察することができた。さらに、図 4 に示した通り、パンドラチン A 群は高脂肪食餌対照群に比べて腎臓周囲脂肪と副睾丸脂肪の質量が有意に減少した ($p<0.05$)。この際、パンドラチン A は、対象群として同一条件で投与したシブトラミンよりも脂肪組織の質量減少に優れた効果を示した。このような結果を総合すると、パンドラチン A は体脂肪減少効果が極めて優れていることが確認された。

【0065】

実施例 8：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおけるパンドラチン A 処理による脂肪細胞の大きさの変化

3 週齢の C57BL/6 マウスを 1 週間飼育慣らし、肥満を誘導するために高脂肪食餌 (Product # D12492, Research Diet Inc., New Brunswick, NJ, USA) を 6 週間供給して肥満を誘導させ、任意にそれぞれ 12 匹ずつ全 3 群に分けて実験に利用した。実験群にはパンドラチン A を 0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して 50 mg/kg 体重の投与濃度で 1 日 1 回ずつ 8 週間一定した時間に投与した。この際、対照群として実験群が摂取するのと同量の 0.25%カルボキシメチルセルロースのみを投与した群と、シブトラミンを 0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して 5 mg/kg 体重を経口投与した群を使用した。8 週間試料を投与した後 12 時間以上絶食させ、腹部を切開して迅速に皮下脂肪を摘出して 4%ホルムアルデヒド (formaldehyde) 溶液に漬けて固定した。固定後水洗と脱水過程を経た後、パラフィン (paraffin) 溶液で処理してパラフィンブロック (paraffin block) を作り、4 μ m 厚さに薄切りしてヘマトキシリン (hematoxylin) とエオシン (eosin) で染色後光学顕微鏡で観察した。

その結果、図 6 に示した通り、パンドラチン A 群は高脂肪食餌対照群に比べて脂肪細胞の大きさが正常群と同じ水準まで大きく減少した。この際、同一条件でシブトラミン群と比較したとき、パンドラチン A 群がシブトラミン群より脂肪細胞の大きさの減少に優れた効果を示した。従って、パンドラチン A は脂肪細胞の大きさ減少効果が優れていることが確認された。

【0066】

実施例 9：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスにおけるパンドラチン A 処理による皮下組織の形態学的変化

3 週齢の C57BL/6 マウスを 1 週間飼育慣らし、肥満を誘導するために、高脂肪食餌 (Product # D12492, Research Diet Inc. New Brunswick, NJ, USA) を 6 週間供給して肥満を誘導した後、任意にそれぞれ 12 匹ずつ全 3 群に分けて実験に利用した。実験群にはパンドラチン A を 0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して 50 mg/kg 体重の投与濃度で 1 日 1 回ずつ 8 週間一定した時間に投与した。この際、対照群として実験群が摂取するのと同量の 0.25%カルボキシメチルセルロースのみを投与した群と、シブトラミンを 0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して 5 mg/kg 体重を経口投与した群を使用した。8 週間試料を投与した後 12 時間以上絶食させ、腹部を切開して迅速に皮下組織を摘出し、4%のホルムアルデヒド (formaldehyde) 溶液に漬けて固定した後水洗と脱水過程を経た後、パラフィン (paraffin) 溶液で処理してパラフィンブロック (paraffin block) を作り、4 μ m 厚さに薄切りしてヘマトキシリン (hematoxylin) とエオシン (eosin) で染色後光学顕微鏡で観察した。

【0067】

その結果、図 7 に示した通り、パンドラチン A 群は高脂肪食餌対照群に比べて皮下脂肪層が大きく減少した。この際、同一条件での比較群であるシブトラミン群と比較したとき、シブトラミン群よりパンドラチン A 群が皮下脂肪層減少に優れた効果を示した。従って、パンドラチン A は皮下脂肪層減少効果が優れていることが確認された。

【0068】

実施例 10：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスのパンドラチン A 処理による減量及び体脂肪減少効果

前記実施例 3 で製造されたイソパンドラチン A を利用して、前記実施例 5 と実施例 6 と同一の方法で減量及び体脂肪減少効果を測定した。試料投与後 8 週間の間イソパンドラチン A を投与した実験群と対照群の食餌量を測定した結果、実験群と対照群間に差がなかった。試料投与 8 週後に測定した高脂肪食餌対照群とイソパンドラチン A 群の体重増加率はそれぞれ約 32%、17% であり、イソパンドラチン A 群の体重増加率が高脂肪食餌対照群に比べて有意的に低かった ($p < 0.05$)。さらに、イソパンドラチン A 群は高脂肪食餌対照群に比べて、腎臓周囲脂肪と副睾丸脂肪の質量がそれぞれ 25%、32% 減少した ($p < 0.05$)。このような結果を総合すると、イソパンドラチン A は減量及び体脂肪減少効果が極めて優れていることが確認された。

【0069】

実施例 11：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスの 4-ヒドロキシパンドラチン A 処理による減量及び体脂肪減少効果

前記実施例 4 で製造された 4-ヒドロキシパンドラチン A を利用して前記実施例 5 と実施例 6 と同一の方法で減量及び体脂肪減少効果を測定した。試料投与後 8 週間の間 4-ヒドロキシパンドラチン A を投与した実験群と対照群の食餌量を測定した結果、実験群と対照群間に差がなかった。試料投与 8 週後に測定した高脂肪食餌対照群と 4-ヒドロキシパンドラチン A 群の体重増加率がそれぞれ約 32%、13% であり、4-ヒドロキシパンドラチン A 群の体重増加率が高脂肪食餌対照群に比べて有意的に低かった ($p < 0.05$)。さらに、4-ヒドロキシパンドラチン A 群は高脂肪食餌対照群に比べて、腎臓周囲脂肪と副睾丸脂肪の重さがそれぞれ 33% と 46% 減少した ($p < 0.05$)。このような結果を総合すると、4-ヒドロキシパンドラチン A は減量及び体脂肪減少効果が極めて優れていることが確認された。

【0070】

実施例 12：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスのボエセンベルギアパンドラタ抽出物処理による減量効果

前記実施例 1 で製造されたボエセンベルギアパンドラタ抽出物を利用して肥満改善効果を調査するために、高脂肪食餌で誘導した肥満マウスをモデルに選定して実験した。4 週齢の C57BL/6 マウスを 1 週間飼育慣らし、肥満を誘導するために高脂肪食餌 (Product # D12492, Research Diet Inc., New Brunswick, NJ, USA) を 6 週間供給して肥満を誘導した後、任意にそれぞれ 8 匹ずつ全 3 群に分けて実験に利用した。実験群にはボエセンベルギアパンドラタ抽出物を 0.25% カルボキシメチルセルロースに懸濁して 200 mg/kg 体重の投与濃度で 1 日 1 回ずつ 8 週間一定した時間に投与した。この際、対照群として実験群が摂取するのと同量の 0.25% カルボキシメチルセルロースのみを投与した群と、シブトラミンを 0.25% カルボキシメチルセルロースに懸濁して 5 mg/kg 体重を経口投与した群を使用した。試料を投与したマウスの食餌量と個体の体重を 1 週間毎に測定した。

試料投与後 8 週間ボエセンベルギアパンドラタ抽出物を投与した実験群と対照群の食餌量を測定した結果、図 8 に示した通り、実験群と対照群間に差がなかった。試料投与 8 週間後に測定した高脂肪食餌対照群とボエセンベルギアパンドラタ抽出物群の体重増加率はそれぞれ約 33% と 13% であり (図 9 参照)、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物群の体重増加率は高脂肪食餌対照群に比べて有意に低かった ($p < 0.05$)。一方、現在抗肥満治療剤として使用されているシブトラミン投与群の体重増加率は約 27% で、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物がシブトラミンよりも優れた体重減量効果を示した。このような結果を総合すると、ボエセンベルギアパンドラタ抽出物は減量効果が極めて優れていることが確認された。

【0071】

実施例 13：高脂肪食餌で誘導された肥満マウスのボエセンベルギアパンドラタ抽出物処理による体脂肪含量の変化

4 週齢 C57BL/6 マウスを 1 週間飼育慣らし、肥満を誘導するために高脂肪食餌 (Product # D12492, Research Diet Inc., New Brunswick, NJ, USA) を 6 週間供給して

10

20

30

40

50

肥満を誘導した後、任意にそれぞれ8匹ずつ全3群に分けて実験に利用した。実験群にはポエセンベルギアバンドラタ抽出物を0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して50mg/kg体重の投与濃度で1日1回ずつ8週間一定した時間に投与した。この際、対照群として実験群が摂取するのと同量の0.25%カルボキシメチルセルロースのみを投与した群とシブトラミンを0.25%カルボキシメチルセルロースに懸濁して5mg/kg体重を経口投与した群を使用した。8週間試料を投与した後、12時間以上絶食させて腹部を切開した。腎臓周囲脂肪と副睾丸脂肪、背周囲皮下脂肪を摘出して生理食塩水で洗って水分を除去した後質量を測定した。

図11に示した通り、ポエセンベルギアバンドラタ抽出物群は、シブトラミン群及び高脂肪食餌対照群と比べて、腹部脂肪量が大きく減少したことを肉眼で観察することができた。図10に示した通り、ポエセンベルギアバンドラタ抽出物群は、高脂肪食餌対照群と比べて、背周囲皮下脂肪の質量が有意に減少した($p<0.01$)。この際、対照群に同一条件で投与したシブトラミンよりも脂肪組織の質量減少に優れた効果を示した。このような結果を総合するとポエセンベルギアバンドラタ抽出物は体脂肪減少に効果が極めて優れていることが確認された。

【0072】

実施例14：代謝性細胞（肝細胞）におけるバンドラチンA処理による代謝性蛋白質AMPKの活性化（リン酸化）とその基質である脂肪生成蛋白質ACCの不活性化（リン酸化）効果

前記実施例2で製造されたバンドラチンAを利用した肝細胞内でのAMPK蛋白質の活性化とACC蛋白質の不活性化を見るために、HepG2（肝細胞、ATCC HB-8065）細胞を利用して実験した。HepG2細胞を10%ウシ胎児血清（fetal bovine serum; FBS）が含まれたダルベッコ改変イーグル高グルコース（Dulbecco's modified Eagle's high glucos; DMEM）培地で培養した。バンドラチンA処理のため、HepG2細胞を無血清DMEM培地（serum free DMEM）にて3時間培養（Starvation）させ、バンドラチンAを処理して30分後に蛋白質を収穫してウェスタンブロット（western blot）を施行した。図12に示した通り、バンドラチンA処理に伴い脂肪生成抑制、エネルギー消費核心蛋白質であるAMPKの活性形態（リン酸化、p-AMPK）の増加が見られ、また脂肪生成核心蛋白質であるACC非活性形態（リン酸化、p-ACC）の増加も見られた。従って、バンドラチンA処理により、肝細胞内でエネルギー代謝が活発化して脂肪生成を抑制してエネルギー消費を増加させる抗肥満効果誘導過程が活発化することが確認された。

【0073】

実施例15：代謝性細胞（筋肉細胞）におけるバンドラチンA処理による代謝性蛋白質AMPKの活性化（リン酸化）とその基質である脂肪生成蛋白質ACCの不活性化（リン酸化）効果

前記実施例2で製造されたバンドラチンAを利用して、筋肉細胞内でAMPK蛋白質の活性化とACC蛋白質の不活性化を見るために、L6（筋肉細胞、ATCC CRL-1458）細胞を利用して実験した。L6細胞を10%ウシ胎児血清（fetal bovine serum; FBS）が含まれたダルベッコ改変イーグル高グルコース（Dulbecco's modified Eagle's high glucos; DMEM）培地で培養した。筋肉細胞であるL6を筋肉繊維に分化させるために、2%ウマ血清（Horse serum）が含まれたDMEM培地で2日毎に交換をした。培地交換開始4~8日後に顕微鏡でL6の分化が確認できれば、バンドラチンAを処理のため、L6細胞を無血清DMEM培地（serum free DMEM）にて3時間培養（Starvation）させ、バンドラチンAを処理して、30分後に蛋白質を収穫してウェスタンブロット（Western blot）を行った。図13に示した通り、バンドラチンA処理により脂肪生成抑制、エネルギー消費核心蛋白質であるAMPKの活性形態（リン酸化、p-AMPK）の増加が見られ、また、脂肪生成核心蛋白質であるACCの非活性形態（リン酸化、p-ACC）の増加も見られた。従って、バンドラチンA処理により、分化されたL6内でエネルギー代謝が活発化して脂肪生成を抑制し、エネルギー消費を増加させる抗肥満効果誘導過程が活発に

なることが確認された。

【0074】

実施例 16：HepG2（肝細胞）でのパンドラチンA処理に伴う脂肪生成蛋白質転写因子減少とその信号伝達の次の段階である脂肪生成蛋白質発現減少効果

前記実施例 2 で製造されたパンドラチン A を利用して、肝細胞内で脂肪細胞関連蛋白質の発現減少を究明するために、HepG2（肝細胞、ATCC HB-8065）細胞を利用して実験した。HepG2 細胞を 10% ウシ胎児血清（fetal bovine serum；FBS）が含まれたダルベッコ改変イーグル高グルコース（Dulbecco's modified Eagle's high glucos；DMEM）培地で培養した。パンドラチン A を 24 時間同じ培地で処理した後、24 時間後に蛋白質を収穫してウェスタンブロット（Western blot）を行った。図 14 に示した通り、パンドラチン A 処理により脂肪生成過程核心転写因子（SREBP1）と、脂肪生成関連酵素蛋白質（FAS）の発現が減少したことを確認した。従って、パンドラチン A 処理により、HepG2（肝細胞）内で脂肪生成過程信号伝達が抑制されることが確認され、肥満に重要な脂肪生成の抑制が予想できた。

10

【0075】

本発明の薬学的組成物の製剤例を以下に示す。

【0076】

製造例 1：顆粒剤の製造

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 10mg、乳糖 700mg、トウモロコシ澱粉 274mg 及び低粘度ヒドロキシプロピルセルロース 16mg を混合して通常の顆粒剤製造方法により顆粒剤を製造した。

20

【0077】

製造例 2：散剤の製造

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 10mg、乳糖 70mg、トウモロコシ澱粉 10mg 及びステアリン酸マグネシウム 1mg を混合して機密包に充填して通常の散剤製造方法により散剤を製造した。

【0078】

製造例 3：錠剤の製造

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 10mg、乳糖 90mg、未結晶セルロース 30mg、ステアリン酸マグネシウム 5mg 及びカルボキシメチルセルロースナトリウム 15mg を混合してその混合物を直打して錠剤を製造した。

30

【0079】

製造例 4：注射剤の製造

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 100mg に飽和脂肪酸グリセリド 1000ml を混合して静脈内投与が可能な注射剤を製造した。

前記注射剤は 1 分間 1ml の速度で患者の静脈内に投与することができる。

【0080】

本発明の食品組成物の製造例を以下に示す。

【0081】

製造例 5：小麦粉食品の製造

40

【0082】

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 0.1～10.0 質量部を小麦粉に添加して、この混合物を利用して通常の方法でパン、ケーキ、クッキー、クラッカー及び麺類を製造して健康増進用食品を製造した。

【0083】

製造例 6：スープ及び肉汁（gravies）の製造

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 0.1～1.0 質量部をスープ及び肉汁に添加して通常の方法で健康増進用肉加工製品、麺類のスープ及び肉汁を製造した。

【0084】

製造例 7：牛挽肉（ground beef）の製造

50

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 10 質量部を牛挽肉に添加して通常の方法で健康増進用牛挽肉を製造した。

【0085】

製造例 8：乳製品 (dairy products) の製造

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 0.1～1.0 質量部を牛乳に添加して、前記牛乳を利用して通常の方法でバター及びアイスクリームのような多様な乳製品を製造した。

【0086】

製造例 9：健康食品の製造

1 日服用基準で本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 100 mg、人参抽出物 100 mg、緑茶抽出物 100 mg、ビタミン C 100 mg、粉末ビタミン E 120 mg、乳酸鉄 2 mg、酸化亜鉛 2 mg、ニコチン酸アミド 20 mg、ビタミン A 5 mg、ビタミン B1 2 mg、ビタミン B2 2 mg、トウモロコシ澱粉 200 mg、及びマグネシウムステアレート 20 mg を混合して製造した。

【0087】

製造例 10：健康飲料の製造

液状果糖 (0.5%)、オリゴ糖 (2%)、砂糖 (2%)、食塩 (0.5%)、水 (75%) のような副材料と本発明のパンドラチン誘導体またはその塩を均質に配合して、瞬間殺菌後これをガラス瓶、ペットボトル等小包装容器に包装して健康飲料を製造した。

【0088】

製造例 11：野菜ジュースの製造

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 5 g をトマトまたはニンジンジュース 1,000 ml に加えて健康増進用野菜ジュースを製造した。

【0089】

製造例 12：果物ジュースの製造

本発明のパンドラチン誘導体またはその塩 1 g をリンゴまたはブドウジュース 1,000 ml に加えて健康増進用果物ジュースを製造した。

【産業上の利用可能性】

【0090】

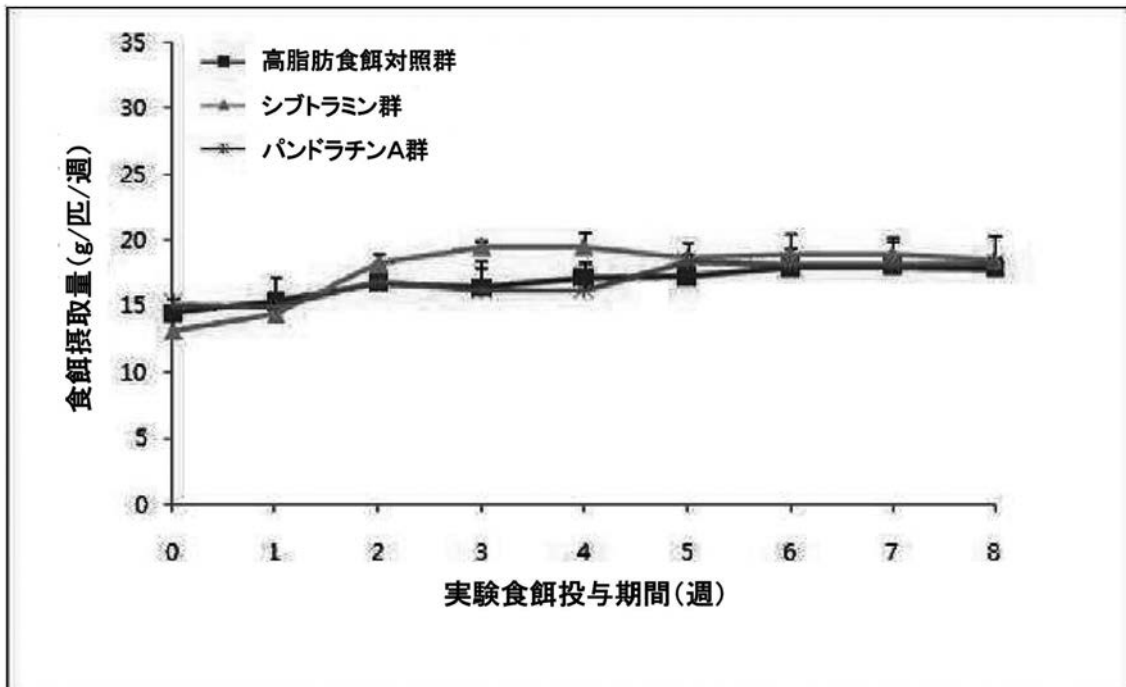
以上説明した通り、本発明はパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物由来の組成物の新たな用途を提供する。本発明に係るパンドラチン誘導体またはボエセンベルギアパンドラタ抽出物は、体重、体脂肪、脂質減量等代謝性疾患に密接な関連がある要因を減少させ、肥満、高脂血症、高コレステロール症及び糖尿病等のような代謝性疾患に優れた効果を示す。従って、本発明の組成物は天然物に由来し副作用なしに安全に使用することができ、減量及び体脂肪減少等を通じて代謝性疾患の予防及び治療／改善に卓越な効果を示す新たな手段を提供する。

10

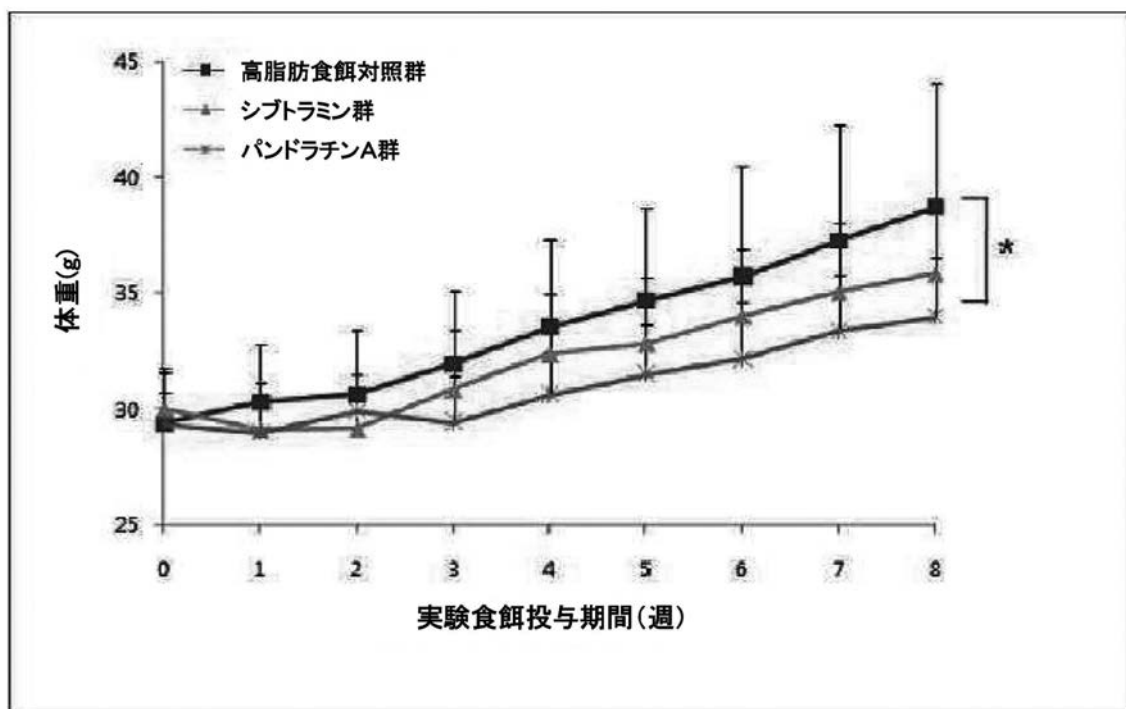
20

30

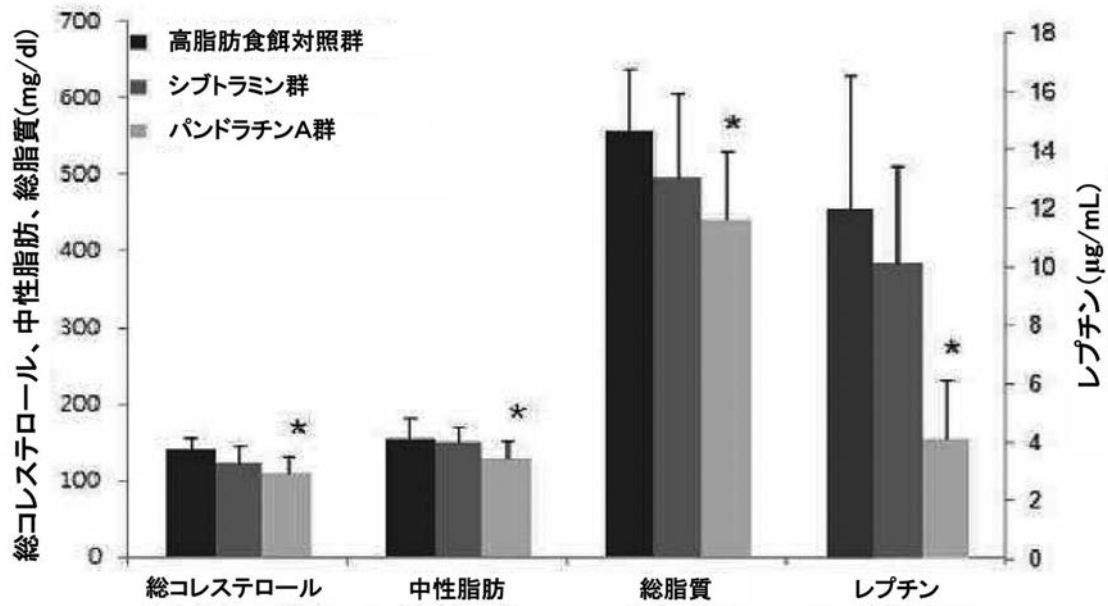
【図 1】



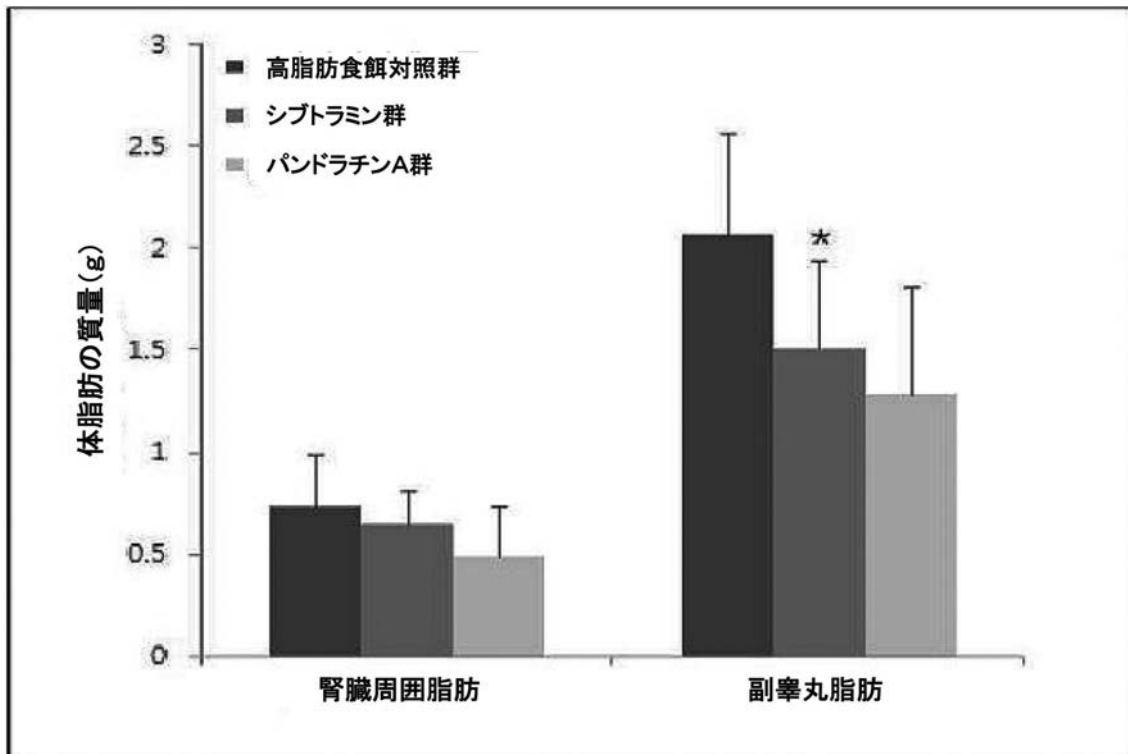
【図 2】



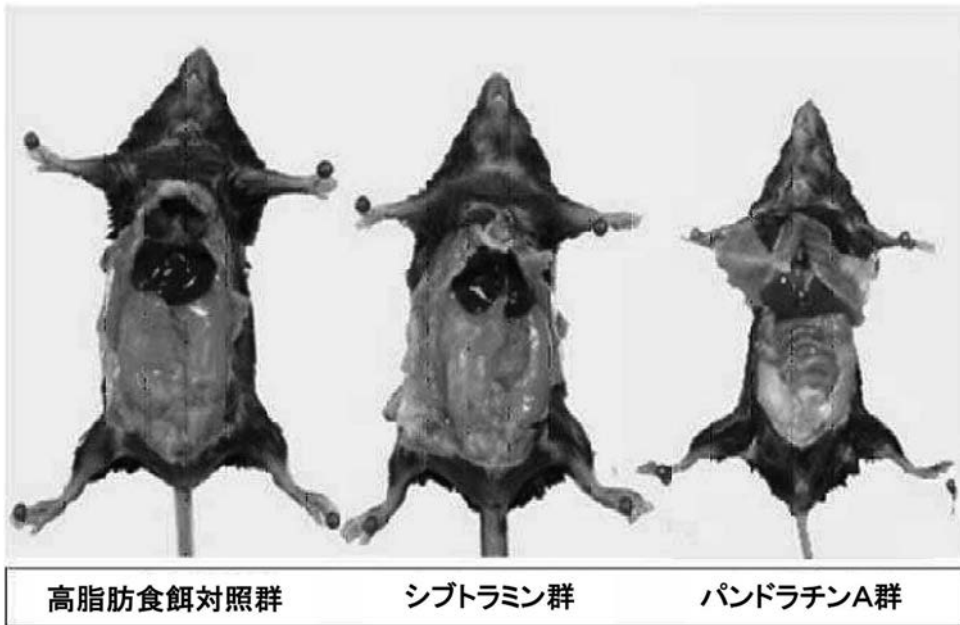
【図 3】



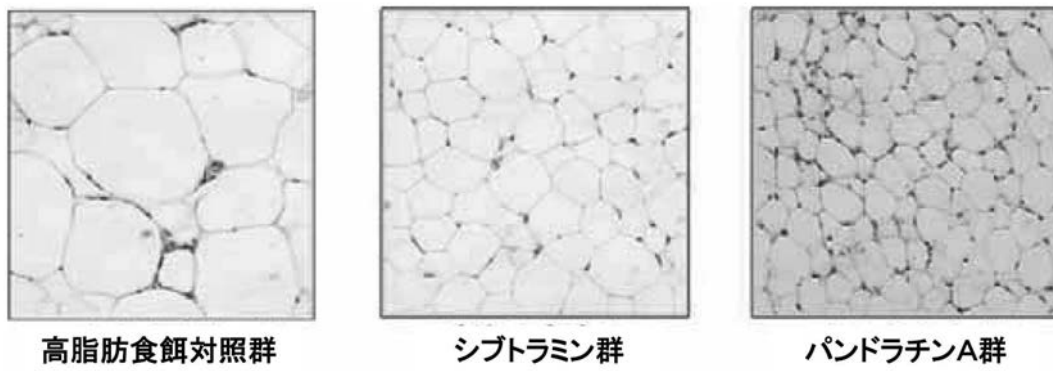
【図 4】



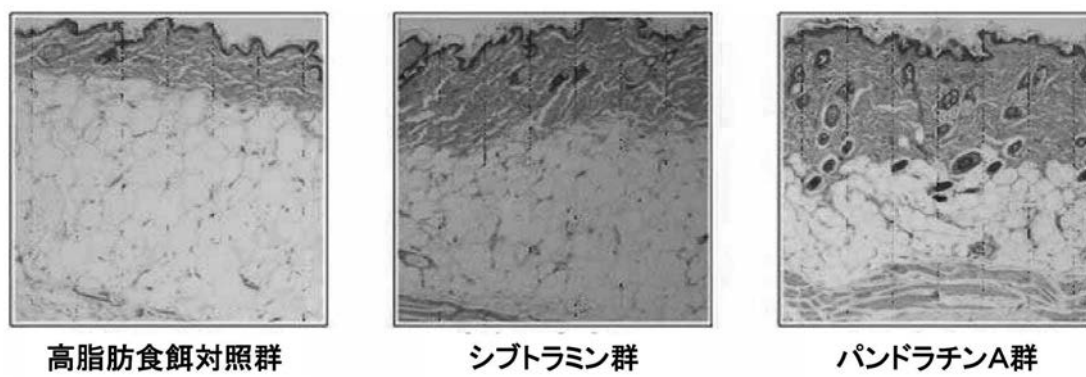
【図 5】



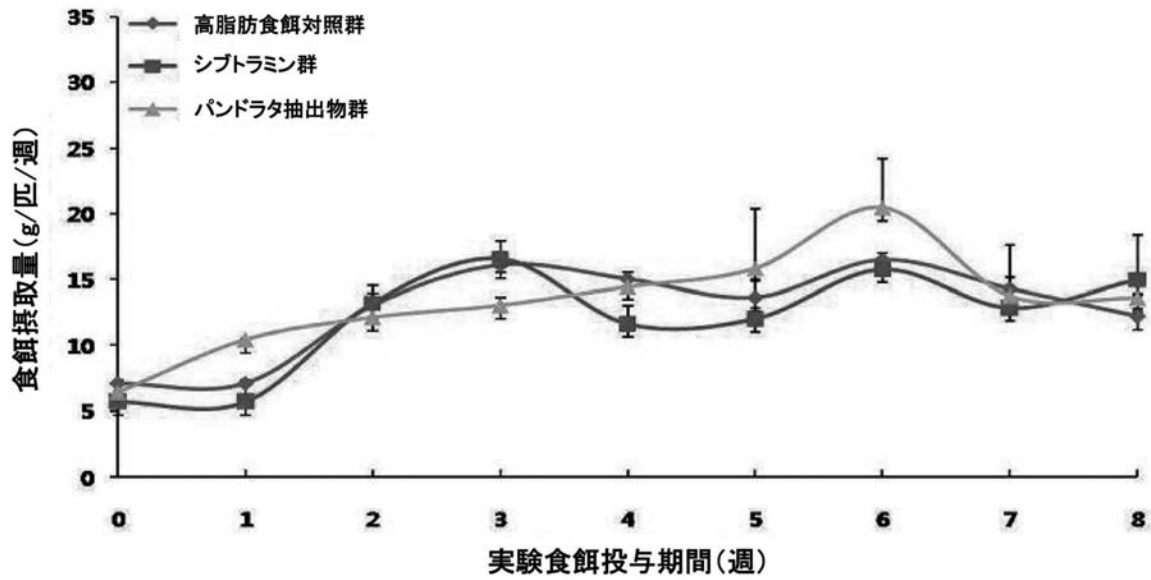
【図 6】



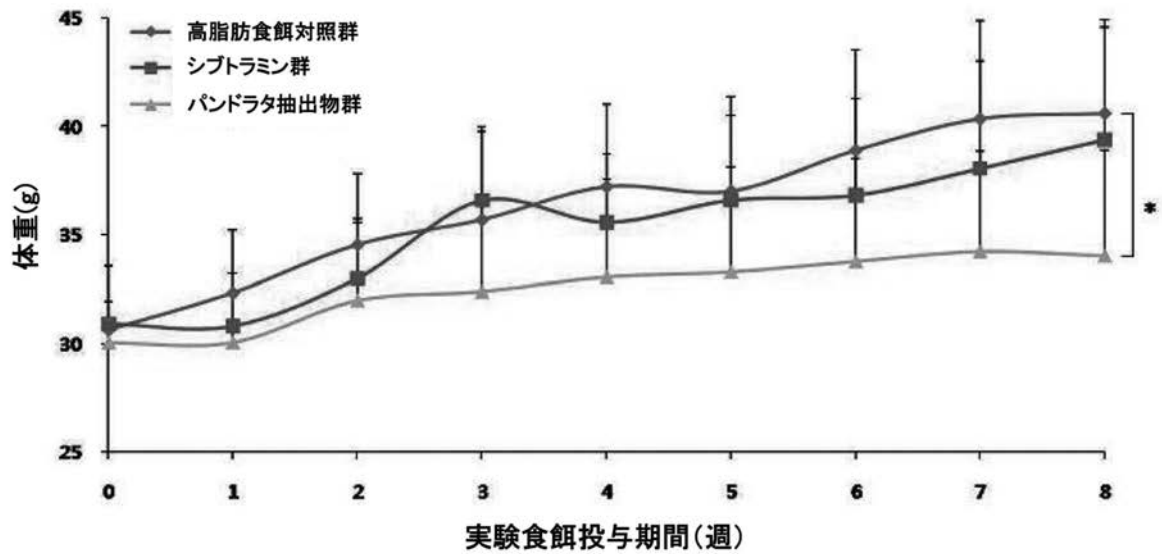
【図 7】



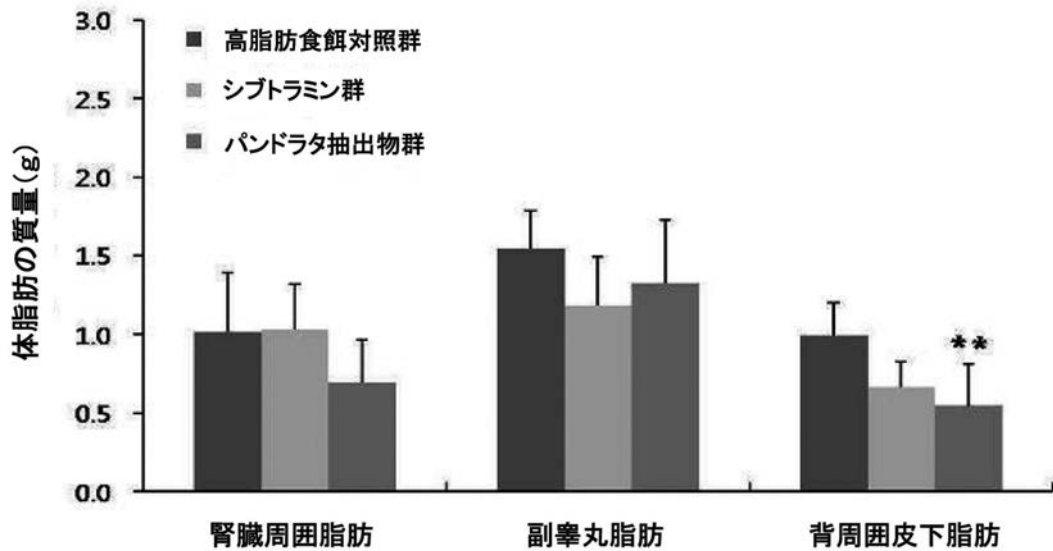
【図 8】



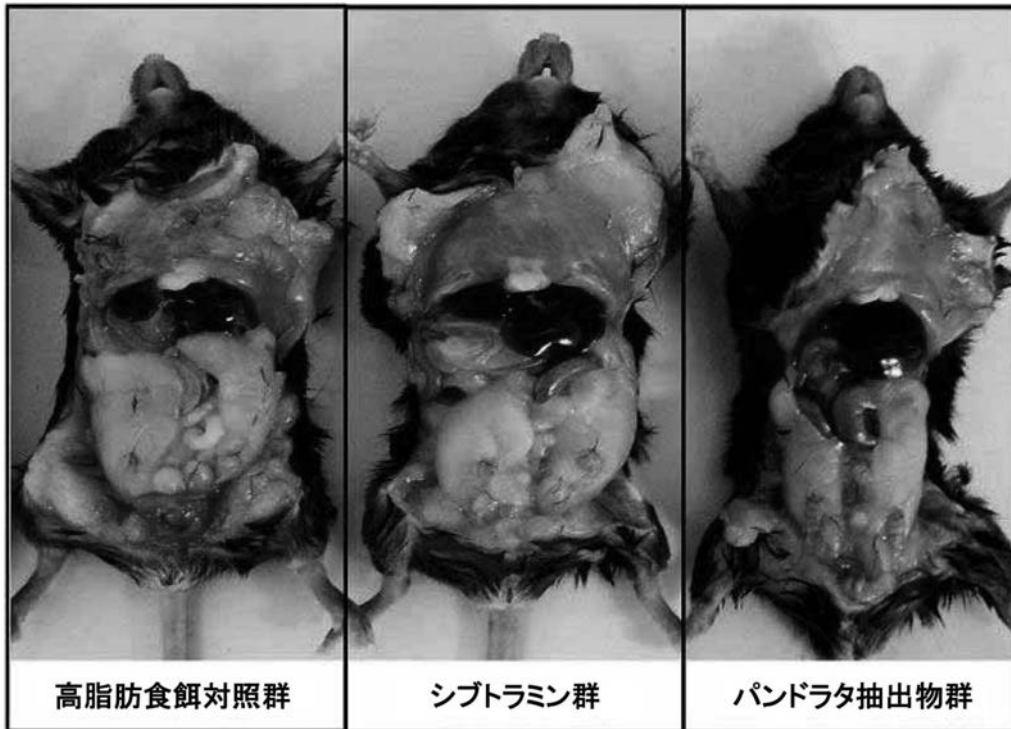
【図 9】



【図 10】

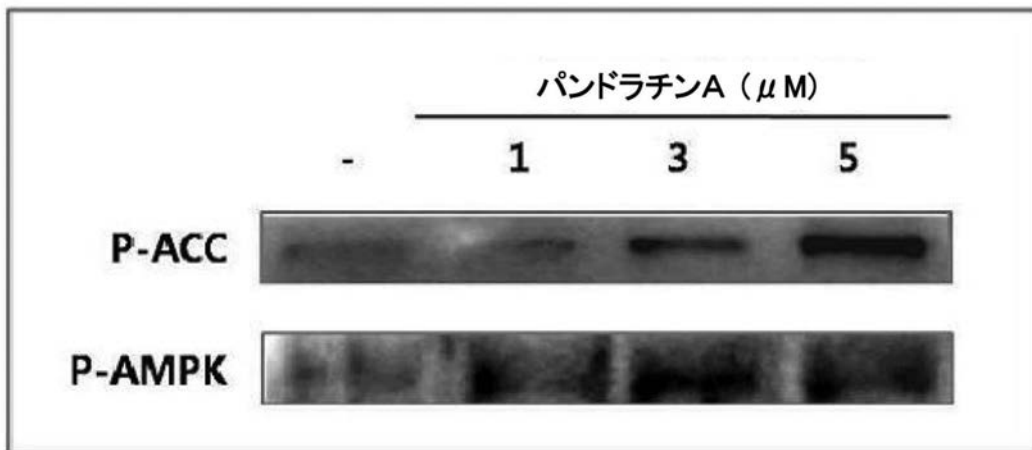


【図 1 1】



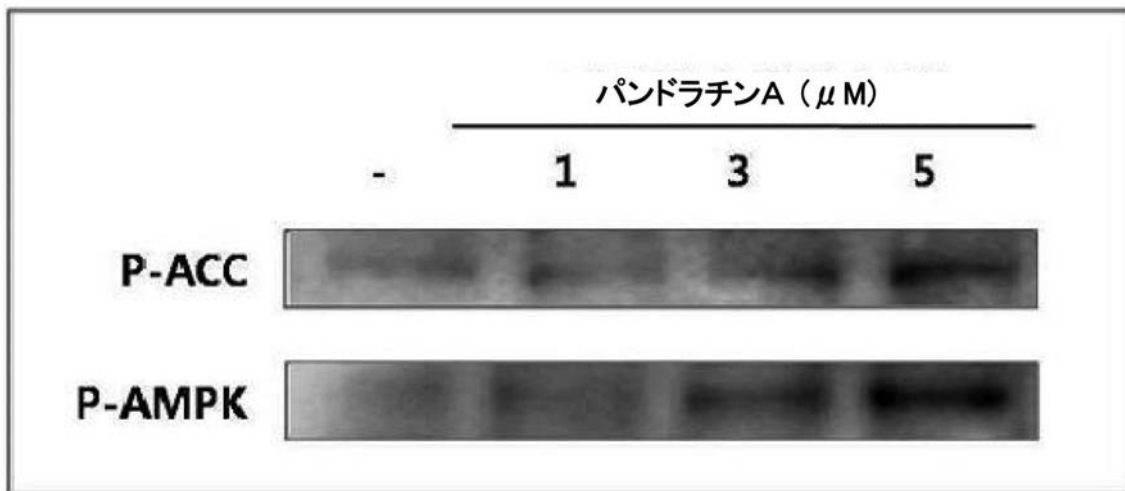
【図 1 2】

■ 細胞:HepG2



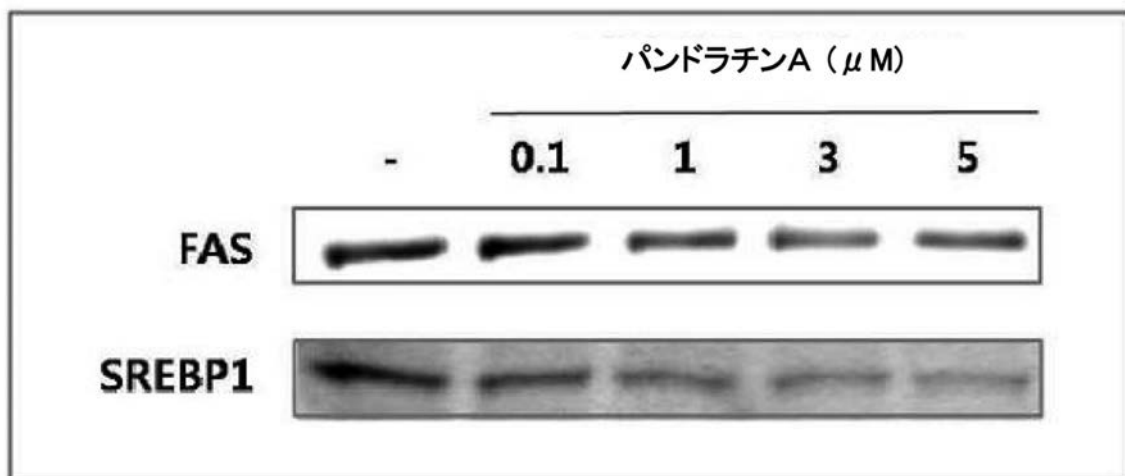
【図 1 3】

■ 細胞:分化されたL6



【図 1 4】

■ 細胞:HepG2



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/KR2009/005804
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 31/05(2006.01)i, A61K 36/906(2006.01)i, A61P 3/04(2006.01)i, A23L 1/29(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC A61K & A23L Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS, Google		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HIRAMATSU, MIDORI. Molecular Intervention in Lifestyle-Related Diseases. CRC Press, 2005, ISBN: 9780824729585, pp. 243-276	1-3, 7-8
Y	See chapter 21, overview, figures 21.1, 21.2B	4-5, 10-11
Y	KR 2008-0018855 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPREATION FOUNDATION, YONSEI U.) 28 February 2008 See abstract, the claims	4-5, 10-11
Y	Trakoontivakorn, G. et al "Structural Analysis of a Novel Antimutagenic Compounds, 4-Hydroxypanduratin Am and the Antimutagenic Activity of Flavonoids in a Thai Spice, Fingerroot (Boesenbergia pandurata Schult.) against Mutagenic Heterocyclic Amines" Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, 49(6), 3046-3050, ISSN: 0021-8561 See abstract, figure 1	4-5, 10-11
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 MAY 2010 (13.05.2010)		Date of mailing of the international search report 13 MAY 2010 (13.05.2010)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2009/005804

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **6, 9**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 6,9 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy, as well as a diagnostic method, and thus relate to a subject matter for which the International Searching Authority is not required to search under PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International application No.
PCT/KR2009/005804

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2008-0018855 A	28.02.2008	WO 2008-023966 A1	28.02.2008

국제조사보고서		국제출원번호 PCT/KR2009/005804															
A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 31/05(2006.01)i, A61K 36/906(2006.01)i, A61P 3/04(2006.01)i, A23L 1/29(2006.01)i																	
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) IPC A61K & A23L 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS, Google																	
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>HIRAMATSU, MIDORI. Molecular Intervention in Lifestyle-Related Diseases. CRC Press, 2005, ISBN: 9780824729585, pp. 243-276</td> <td>1-3, 7-8</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>Chapter 21, overview, 그림 21.1, 21.2B 참조</td> <td>4-5, 10-11</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>KR 2008-0018855 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI U.) 2008년 2월 28일 요약, 청구범위 참조</td> <td>4-5, 10-11</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>Trakoontivakorn, G. et al "Structural Analysis of a Novel Antimutagenic Compounds, 4-Hydroxypanduratin Am and the Antimutagenic Activity of Flavonoids in a Thai Spice, Fingerroot (Boesenbergia pandurata Schult.) against Mutagenic Heterocyclic Amines" Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, 49(6), 3046-3050, ISSN: 0021-8561 요약, 그림 1 참조</td> <td>4-5, 10-11</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	X	HIRAMATSU, MIDORI. Molecular Intervention in Lifestyle-Related Diseases. CRC Press, 2005, ISBN: 9780824729585, pp. 243-276	1-3, 7-8	Y	Chapter 21, overview, 그림 21.1, 21.2B 참조	4-5, 10-11	Y	KR 2008-0018855 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI U.) 2008년 2월 28일 요약, 청구범위 참조	4-5, 10-11	Y	Trakoontivakorn, G. et al "Structural Analysis of a Novel Antimutagenic Compounds, 4-Hydroxypanduratin Am and the Antimutagenic Activity of Flavonoids in a Thai Spice, Fingerroot (Boesenbergia pandurata Schult.) against Mutagenic Heterocyclic Amines" Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, 49(6), 3046-3050, ISSN: 0021-8561 요약, 그림 1 참조	4-5, 10-11
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항															
X	HIRAMATSU, MIDORI. Molecular Intervention in Lifestyle-Related Diseases. CRC Press, 2005, ISBN: 9780824729585, pp. 243-276	1-3, 7-8															
Y	Chapter 21, overview, 그림 21.1, 21.2B 참조	4-5, 10-11															
Y	KR 2008-0018855 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI U.) 2008년 2월 28일 요약, 청구범위 참조	4-5, 10-11															
Y	Trakoontivakorn, G. et al "Structural Analysis of a Novel Antimutagenic Compounds, 4-Hydroxypanduratin Am and the Antimutagenic Activity of Flavonoids in a Thai Spice, Fingerroot (Boesenbergia pandurata Schult.) against Mutagenic Heterocyclic Amines" Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, 49(6), 3046-3050, ISSN: 0021-8561 요약, 그림 1 참조	4-5, 10-11															
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.																	
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이슈를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌																	
국제조사의 실제 완료일 2010년 05월 13일 (13.05.2010)		국제조사보고서 발송일 2010년 05월 13일 (13.05.2010)															
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 선사로 139, 정부대전청사 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 이진정 전화번호 82-42-481-5603 															

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2009년 7월)

국제조사보고서

국제출원번호

PCT/KR2009/005804

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 6, 9
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
제6항, 제9항은 수술 또는 치료에 의한 사람의 치료방법에 관한 것이므로 PCT 조약 제17조(2)(a)(i) 조약규칙 39.1(IV)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.
2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.
3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.
4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에
관한 기재

- ☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.
- ☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.
- ☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서 대응특허에 관한 정보		국제출원번호 PCT/KR2009/005804	
국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2008-0018855 A	2008.02.28	WO 2008-023966 A1	2008.02.28

서식 PCT/ISA/210 (대응특허 추가용지) (2009년 7월)

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 K 36/18	(2006.01)	A 6 1 K	35/78	C
A 6 1 K 36/00	(2006.01)	A 6 1 K	35/78	X
A 2 3 L 1/30	(2006.01)	A 2 3 L	1/30	B

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100121050

弁理士 林 篤史

(72)発明者 ファン・ジャークワン

大韓民国, 4 1 2-2 7 0, キョンギード, ゴヤンーシ, ドキャンーグ, ファジョンードン, ダルビットマウル・アパート 8 5 8, # 1 0 9-6 0 4

(72)発明者 キム・ドーウン

大韓民国, 4 6 3-9 0 5, キョンギード, ソンナムーシ, ブンダンーグ, イメードン, イメチョン・チョング・アパート 6 0 3-9 0 1

Fターム(参考) 4B018 LB01 LB06 LB07 LB08 MD08 MD61 ME03 ME04 ME14 MF01
4C088 AB81 BA08 BA23 BA32 CA14 NA14 ZA70 ZC21 ZC33 ZC35
4C206 AA01 AA02 CB19 NA14 ZA70 ZC21 ZC33 ZC35

【要約の続き】

【選択図】図 2