

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-193497

(P2017-193497A)

(43) 公開日 平成29年10月26日(2017.10.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 36/899 (2006.01)	A 6 1 K 36/899	4 B 0 1 8
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 0 8 6
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	4 C 0 8 8
A 6 1 K 31/575 (2006.01)	A 6 1 K 31/575	
A 6 1 K 31/7028 (2006.01)	A 6 1 K 31/7028	

審査請求 未請求 請求項の数 13 O L (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-83486 (P2016-83486)
 (22) 出願日 平成28年4月19日 (2016.4.19)

特許法第30条第2項適用申請有り 平成28年(2016年)3月28日に日本薬学会第136回年会にて発表。平成28年(2016年)2月1日発行の刊行物「日本薬学会第136回年会PROGRAM (ファルマシア2号付録)」にて発表。平成28年(2016年)2月1日に日本薬学会第136回年会講演要旨集ウェブサイト (<http://nenkai.pharm.or.jp/136/pc/ipdfview.asp?i=12>) に掲載。

(71) 出願人 594045089
 オリザ油化株式会社
 愛知県一宮市北方町北方字沼田一番地
 (72) 発明者 戸田 一弥
 愛知県一宮市北方町北方字沼田一番地 オリザ油化株式会社内
 (72) 発明者 竹田 翔伍
 愛知県一宮市北方町北方字沼田一番地 オリザ油化株式会社内
 (72) 発明者 下田 博司
 愛知県一宮市北方町北方字沼田一番地 オリザ油化株式会社内
 (72) 発明者 村井 弘道
 愛知県一宮市北方町北方字沼田一番地 オリザ油化株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 筋肉増強剤

(57) 【要約】

【課題】本発明は新規な筋肉増強剤を提供することを目的とする。

【解決手段】1. 米糠及び/又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。

2. 上記1.に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。

3. ステイグマステロール、エルゴステロールパーオキサイド、 β -シトステロールグルコシド、グルコシルセラミドのうち少なくとも1種の化合物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。

4. 米糠及び/又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋肉増量剤。

5. 上記4.に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋肉増量剤。

6. ステイグマステロールを有効成分とする筋肉増量剤。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

米糠及び／又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。

【請求項 2】

請求項 1 に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。

【請求項 3】

ステイグマステロール、エルゴステロールパーオキサイド、 β -シトステロールグルコシド、グルコシルセラミドのうち少なくとも 1 種の化合物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。

10

【請求項 4】

米糠及び／又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋肉増強剤。

【請求項 5】

請求項 4 に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋肉増量剤。

【請求項 6】

ステイグマステロールを有効成分とする筋肉増量剤。

【請求項 7】

米糠及び／又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋肉増量遺伝子発現促進剤。

20

【請求項 8】

請求項 7 に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋肉増量遺伝子発現促進剤。

【請求項 9】

ステイグマステロール及びグルコシルセラミドのうち少なくとも 1 種を有効成分とする筋肉増量遺伝子発現促進剤。

【請求項 10】

米糠及び／又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋収縮向上剤。

30

【請求項 11】

請求項 10 に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋収縮力向上剤。

【請求項 12】

グルコシルセラミドを有効成分とする筋収縮力向上剤。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 請求項 12 のいずれか 1 つに記載の剤を有効成分とする筋肉増強剤。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は新規な成分を有効成分とする筋肉増強剤に関する。本発明は、飲食品（健康食品、特定保健用食品、機能性表示食品）、医薬部外品、医薬品等に広く利用することができる。

【背景技術】

【0002】

麹菌（*Aspergillus*）は日本において古くから日本酒や味噌、醤油の製造に用いられており、我々の生活に必要不可欠な菌である。これらの発酵物は単なる食品だけでなく、機能

50

性を有する食品として注目されており、発酵に伴って様々な生理活性物質が新たに産生する可能性がある。

【0003】

一方、スフィンゴ脂質は、皮膚の保湿効果、水分調節、弾力性保持、表面保護（バリアー効果）、コラーゲン保護、酸化防止（ビタミンCやEの安定化）等の機能が知られており、化粧品分野で広く用いられている。また、最近では、スフィンゴ脂質の作用として、外界から体内への抗原の侵入を阻止し、アレルギー性皮膚炎を抑えることが明らかになり、医薬品としての開発も進められている。

【0004】

米から、スフィンゴ脂質含有組成物の製造方法としては、例えば、米糠油の製造工程で得られるガム質を、有機溶剤により脱脂し、この脱脂物を水またはアルコール抽出する方法が知られている（特許文献1）。

10

【0005】

一方、フィトステロールの摂取により血中コレステロールが低下することが知られている。フィトステロールは、例えばトウモロコシ、豆又は他の植物油等の植物性油に少量見出される植物ステロール類であり、それらは遊離のステロール、脂肪酸エステル及びグリコシドとして生じる。フィトステロールは構造的にコレステロールに類似し、主要な差異はそれらの側鎖の炭素骨格に生じる。多くの異なるフィトステロール構造が、天然に見出されている。最も一般的なものは、カンペステロール、ベータ-シトステロール及びステイグマステロールである。特に、ステイグマステロール(stigmasterol)は血中のコレステロール低下作用が著しい(非特許文献1)。

20

【0006】

また、特開2005-73502号公報（特許文献2）には、コウタケを抽出して得られるコウタケ抽出物からなるアポトーシス誘導能を有する食品又は食品素材が記載されている。また同公報には、このコウタケ抽出物ががんの抑制、予防効果を示すこと、及び、アポトーシス誘導能を有する食品又は食品素材がコウタケ由来のエルゴステロールパーオキシドからなるものであることが記載されている。

【0007】

一方、生活習慣病から派生する疾患を総合的に予防、治療する目的で下記の問題解決を試みた。既に桑幹粉末に桑葉粉末以上の血糖降下作用（特願2011-90489）と共に特異的にケルセチン、クロロゲン酸を多量含有するポリフェノール類に長寿遺伝子の活性化を来すレスベラトロールを発見した。さらに血管漏弱性疾患に起因する出血に強力な止血作用を示す -シトステロール配糖体を多量含有しているオオマツヨイグサ粉末が高血糖、高血圧および高脂血症などの生活習慣病に起因する出血性疾患に対する総括的な予防効果を有することが知られている。

30

【0008】

【特許文献1】特開2001-97983号公報

【特許文献2】特開2005-73502号公報

【非特許文献1】Batta et al. 2006, Metabolism Clinical and Experimental 55: 292-29

40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

このような背景の下、本発明者は、米糠及び米胚芽を発酵させることにより得られるグルコシルセラミド、ステイグマステロール、エルゴステロールパーオキシド、及び -シトステロール配糖体に筋肉増強作用を有することを見出し、本発明を完成させた。

即ち、本発明は新規な筋肉増強剤を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0010】

上記課題を解決するための本発明の技術的特徴は以下のとおりである。

50

1. 米糠及び/又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。
2. 上記1.に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。
3. ステイグマステロール、エルゴステロールパーオキサイド、 β -シトステロールグルコシド、グルコシルセラミドのうち少なくとも1種の化合物を有効成分とする筋分化誘導促進剤。
4. 米糠及び/又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋肉増量剤。
5. 上記4.に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋肉増量剤。
6. ステイグマステロールを有効成分とする筋肉増量剤。
7. 米糠及び/又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋肉増量遺伝子発現促進剤。
8. 上記7.に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋肉増量遺伝子発現促進剤。
9. ステイグマステロール及びグルコシルセラミドのうち少なくとも1種を有効成分とする筋肉増量遺伝子発現促進剤。
10. 米糠及び/又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とする筋収縮力向上剤。
11. 上記10.に記載された上記発酵抽出物を極性溶媒で分配した分配物を有効成分とする筋収縮力向上剤。
12. グルコシルセラミドを有効成分とする筋収縮力向上剤。
13. 上記1.~12.の剤を有効成分とする筋肉増強剤。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】米胚芽発酵抽出物からCompound 1~5単離する方法を示すスキーム図である。

【図2】分化誘導促進における米由来タンパク質との比較試験の結果を示すグラフである。

【図3】早熟分化マーカー（myogenin）による筋分化誘導促進作用の評価結果を示すグラフである。

【図4】成熟分化マーカー（MyHP）による筋分化誘導促進作用の評価結果を示すグラフである。

【図5】筋細胞増殖促進作用における未発酵米胚芽発酵抽出物及び米由来タンパク質との比較試験の結果を示すグラフである。

【図6】筋細胞増殖促進作用の評価結果を示すグラフである。

【図7】筋肉増量遺伝子IGF-1発現促進活性の評価結果を示すグラフである。

【図8】筋収縮促進作用評価結果を示すグラフである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0012】

以下に本発明を詳細に説明する。

本発明は、米糠及び/又は米胚芽を発酵させて発酵物を得て、その後、前記発酵米物を極性溶媒で抽出した発酵抽出物を有効成分とすることを特徴とする。

【0013】

「米糠及び/又は米胚芽」には、玄米の精米工程で生じる生糠を用いるとよい。玄米は、果皮、種皮、胚乳および胚芽からなり、胚乳組織の外層には糊粉層という薄い層がある。精米が進むに従って、果皮、種皮だけでなく、糊粉層までが米糠（生糠）として排除される。必要に応じて、果皮、種皮、米胚芽または糊粉の混合物を用いるか、果皮、種皮、米胚芽または糊粉のいずれかを分離したものをを用いることができる。

【0014】

また、上記米糠及び／又は米胚芽は脱脂したものと使用することが好ましい。より高濃度の有効成分を含有する組成物を得ることができるからである。この脱脂の方法は特に限定されず、

このとき、好ましい脱脂用溶媒としては、*n*-ヘキサン、アセトン等が挙げられる。特に、脱脂用溶媒として *n*-ヘキサンをを用いることが好ましい。抽出油分を食用油として使用し得るとともに、米胚芽発酵抽出物を食品素材等に利用しやすくなるからである。

尚、これらの脱脂用の溶媒は、1種のみを用いても良いし2種以上併用しても良い。

上記「発酵」の際に使用する微生物は特に限定されないが、麹菌、酵母、クエン酸菌、乳酸菌、および酢酸菌等を用いることができる。そして、これらのうち、麹菌が好ましい。

上記「麹菌」として、特に限定されないが、例えば、清酒用、焼酎用、泡盛用、味噌用もしくは醤油用の麹菌から選ばれる1以上のものを用いることができる。

例えば、アスペルギルス・カワチ (*Aspergillus kawachii*)、アスペルギルス・アワモリ (*Aspergillus awamori*)、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*)、アスペルギルス・ソーヤ (*Aspergillus sojae*)、アスペルギルス・サイトイ (*Aspergillus saitoi*)、アスペルギルス・ウサミ (*Aspergillus usamii*) から選ばれる1以上のものである。発酵の温度は特に限定されないが、10~60、更には20~40、特に25~35が好ましい。これらの範囲とすることにより、麹菌による発酵が進むのに最適な温度だからである。

また、発酵時間は、特に限定されず、1~7日、更には、2~4日行うことが好ましい。

【0015】

「極性溶媒」として、水、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール、1,3-ブチレングリコール、エチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン、酢酸エチル等の極性溶媒を使用することができる。これらの溶媒を2種以上混合してもよい。

望ましくは、水エタノールまたはこれらの混合物である含水エタノールを抽出溶媒として用いると、有効成分が効率よく抽出される。

【0016】

抽出溶媒としての含水エタノールを用いる場合、エタノールの濃度が特に限定されないが、特にエタノール濃度10~90% (wt/wt)、望ましくはエタノール濃度20~80% (wt/wt) であるとよい。エタノール濃度90% (wt/wt) 以下としたのは、エタノール濃度が高すぎると、発酵抽出物の油分が含水エタノール中に溶け出しやすくなるからである。

【0017】

抽出温度としては、20~80、望ましくは40~50程度で行うとよい。抽出温度が低すぎると、有効成分が抽出されにくくなり、抽出温度が高すぎると、有効成分が分解し、生理活性(健康機能性)が低下するためである。

【0018】

抽出方法としては、攪拌抽出、連続抽出、浸漬抽出、向流抽出、超臨界抽出など任意の方法を採用することができ、室温ないし還流加熱下において任意の装置を使用することができる。

【0019】

また、本発明は上記発酵抽出物をそのまま使用してもよいが、その発酵抽出物をその後、分液用極性溶媒で分配したものをを使用することもできる。

上記「分配」の方法は特に限定されないが、液液分配を行うことが好ましい。液液分配で用いる溶媒は特に限定されず、例えば、水、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール、1,3-ブチレングリコール、エチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン、ヘキサン、酢酸エチル、クロロホルム等を用いることができ、これらのうち、ヘキサン、メタノール、クロロホルムを用いること好ましい。

【0020】

上記方法によって、ステイグマステロール、エルゴステロールパーオキサイド、 β -シトステロールグルコシド、グルコシルセラミド等の化合物を得ることができるが、これらに

10

20

30

40

50

限定されない。尚、これらは1種だけの化合物を単離したものを使用してもよいし、これらの混合物、或いは、クルードなものを用いてもよい。

【0021】

また、本発明は、ステイグマステロール、エルゴステロールパーオキサイド、 β -シトステロールグルコシド、グルコシルセラミドのうちのいずれか1つを有効成分とすることを特徴とする。

上記化合物を得る方法は特に限定されないが、上述したように上記発酵物を精製、単離することによって得ることができる。

【0022】

本発明は、様々な用途に適用することができる。用途として、医薬品、試薬、経口摂取用組成物（たとえば、健康食品、機能性表示食品、サプリメント、特定用途食品、及びペット用サプリメント等）が挙げられる。

10

【0023】

本発明を含む医薬組成物は、賦形剤、担体又は添加剤を含んでいてもよい。賦形剤、担体及び添加剤としては、通常使用され、かつ薬学的に許容されるものであれば特に限定されず、その種類及び組成は、適宜変更が可能である。

【0024】

賦形剤としては、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム等が挙げられ、担体としては、滅菌水、生理食塩水、及び各種緩衝液等が挙げられる。添加剤としては、粘ちょう剤、緩衝材、保存剤、防腐剤等が挙げられる。

20

【0025】

医薬用組成物の剤型としては特に制限されるものではなく、必要に応じて適宜選択すればよいが、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤等の経口剤；注射剤、坐剤、塗布剤等の非経口剤が挙げられる。

【0026】

錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤等の経口剤は、例えば、デンプン、乳糖、白糖、トレハロース、マンニト、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類等を用いて常法に従って製造される、これらの製剤中の本発明の化合物の配合量は特に限定されるものではなく、適宜設定することができる。この種の製剤には、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料等を適宜使用することができる。

30

【0027】

非経口剤の場合、患者の年齢、体重、疾患の程度等に応じて用量を調節し、例えば、静注、点滴静注、皮下注射、筋肉注射等によって投与する。この非経口剤は常法に従って製造され、希釈剤として一般に注射用蒸留水、生理食塩水等を用いることができる。さらに必要に応じて、殺菌剤、防腐剤、安定剤等を加えてもよい。また、この非経口剤は安定性の点から、バイアル等に充填後冷凍し、通常の凍結乾燥処理により水分を除き、使用直前に凍結乾燥物から液剤を再調製することもできる。さらに必要に応じて、張化剤、安定剤、防腐剤、無痛化剤等を加えてもよい。その他の非経口剤の例として、外用液剤、軟膏等の塗布剤、直腸内投与のための坐剤等が挙げられ、これらも常法に従って製造される。

40

【0028】

本発明を健康食品（機能性表示食品、特定保健用食品、健康飲料及びサプリメントを含む）に用いる場合、各種健康食品の原材料として本発明の化合物を健康食品に添加したり、必要に応じてデキストリン、乳糖、デンプン等の賦形剤や香料、色素等とともにペレット、錠剤、顆粒等に加工したり、またゼラチン等で被覆してカプセルに成形加工して健康食品を製造することができる。

【0029】

健康食品に配合される筋肉増強剤の配合割合は、該筋肉増強剤から期待される効果が得られるのであれば特に制限されないが、通常、1回あたりの摂取量が0.0001~2000mg程度である。

50

【 0 0 3 0 】

これらの健康食品には、その種類に応じて種々の成分を配合することができ、例えば、ブドウ糖、果糖、ショ糖、マルトース、ソルビトール、ステビオサイド、コーンシロップ、乳糖、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、L-アスコルビン酸、d1-トコフェロール、エリソルビン酸ナトリウム、グリセリン、プロピレングリコール、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、アラビアガム、カラギーナン、カゼイン、ゼラチン、ペクチン、寒天、ビタミンB類、ニコチン酸アミド、パントテン酸カルシウム、アミノ酸類、カルシウム塩類、色素、香料、保存剤等の食品素材を使用することができる。さらに、健康維持機能をもった筋肉増強剤には、他の抗酸化物質や健康食品素材などの配剤、例えば、抗酸化物質（還元型アスコルビン酸（ビタミンC）、ビタミンE、還元型グルタチン、トコトリエノール、ビタミンA誘導体、リコピン、ルテイン、アスタキサンチン、ゼアキサンチン、フコキサンチン、尿酸、ユビキノン、コエンザイムQ10、葉酸、ニンニクエキス、アリシン、セサミン、リグナン類、カテキン、イソフラボン、カルコン、タンニン類、フラボノイド類、クマリン、イソクマリン類、ブルーベリーエキス）、健康食品素材（V.（ビタミン）A、V.B1、V.B2、V.B6、V.B12、V.C、V.D、V.E、V.P、コリン、ナイアシン、パントテン酸、葉酸カルシウム、EPA、オリゴ糖、食物繊維、スクアレン、大豆レシチン、タウリン、ドナリエラ、プロテイン、オクタコサノール、DHA、卵黄レシチン、リノール酸、ラクトフェリン、マグネシウム、亜鉛、クロム、セレン、カリウム、ヘム鉄、カキ肉エキス、キトサン、キチンオリゴ糖、コラーゲン、コンドロイチン、ウコン、カンゾウ、クコシ、ケイヒ、サンザシ、生姜、霊芝、シジミエキス、スッポン、カミツレ、カモミール、セイヨウタンポポ、ハイビスカス、ハチミツ、ポーレン、ローヤルゼリー、ライム、ラベンダー、ローズヒップ、ローズマリー、ビフィズス菌、フェーカリス菌、ラクリス、小麦胚芽油、ゴマ油、シソ油、大豆油、中鎖脂肪酸、アガリクス、イチヨウ葉エキス、ウコン、コンドロイチン、玄米胚芽エキス、レイシ、タマネギ、DPA、甜茶、冬虫夏草、ニンニク、蜂の子、パパイア、プーアル、プロポリス、メグスリの木、ヤブシタケ、ノコギリヤシ、ヒアルロン酸、コラーゲン、ギャバ、ハーブシールオイル、サメ軟骨、グルコサミン、レシチン、ホスファチジルセリン、田七ニンジン、桑葉、大豆抽出物、エキナセア、エゾウコギ、大麦抽出物、オリーブ葉、オリーブ実、ギムネマ、バナバ、サラシア、ガルシニア、キトサン、セントジョーンズワート、ナツメ、ニンジン、パッションフラワー、ブロッコリー、ブラセンタ、ハトムギ、ブドウ種子、ピーナッツ種皮、ビルベリー、ブラックコホシュ、マリアアザミ、月桂樹、セージ、ラフマ、黒酢、ゴーヤー、マカ、紅花、亜麻、ウーロン茶、花棘、カフェイン、カプサイシン、キシロオリゴ糖、グルコサミン、ソバ、シトラス、食物繊維、プロテイン、ブルーベリー、スピルリナ、大麦若葉、核酸、酵母、椎茸、梅肉、アミノ酸、深海鮫抽出物、ノニ、カキ肉、シャンピニオン、オオパコ、アセロラ、パイナップル、バナナ、モモ、アンズ、メロン、イチゴ、ラズベリー、オレンジ、フコイダン、メシマコブ、クランベリー、コンドロイチン硫酸、亜鉛、鉄、セラミド、シルクペプチド、グリシン、ナイアシン、チエストツリー、L-システイン、赤ワイン葉、ミレット、ホーステール、ピオチン、セントラアジアティカ、ハスカップ、ピクノジェノール、フキ、ルバーブ、クローブ、カテキン、プーアル、クエン酸、ビール酵母、メリロート、ブラックジンジャー、シヨウガ、ガジュツ、ナットウキナーゼ、ベニコウジ、トコトリエノール、ラクトフェリン、シナモン、韃靼ソバ、ココア、ユズ種子エキス、シソの実エキス、ライチ種子エキス、月見草エキス、黒米エキス、リポ酸、生コーヒー豆エキス、温州みかんエキス、トリテルペノイド、キウイ種子エキス、赤シヨウガエキス、アスタキサンチン、クルミエキス、レスベラトロール、赤米エキス、白キクラゲ多糖体、イチゴ種子エキス、イチゴ種子エキス、ニラ種子エキス、リンゴンベリーエキス、桜の花エキス、ササクレヒトヨダケエキス、マキベリーエキス、米ポリアミン、小麦ポリアミン、黒シヨウガエキス、ジュンサイエキス、ツバメの巣エキス、紫茶エキス、菊の花エキス、シーベリーエキス）なども配合することができる。

10

20

30

40

50

【0031】

上記筋肉増強剤は、本発明を健康食品として使用する場合、その形態としては、各種一般飲食品の剤型として使用することができる。ここで「各種一般飲食品の剤型として使用することができる。」とは、上記筋肉増強剤としての効果を発揮することを目的として剤型として一般飲食品を選択することができるという意味であり、筋肉増強剤から期待される効果を希望する人のみが食することを目的としており、上記筋肉増強剤としての効果を期待しない人をも含む広く万人に食することができるという意味ではない。

また、上記筋肉増強剤として効果を発揮するための配合量は特に限定されないが、飲食品に対して有効成分の含量が合計1～20wt%であるのが好ましい。また、配合する一般飲食品として特に限定さないが、例えば、食用油（サラダ油）、菓子類（ガム、キャンディー、キャラメル、チョコレート、クッキー、スナック、ゼリー、グミ、錠菓等）、麺類（そば、うどん、ラーメン等）、乳製品（ミルク、アイスクリーム、ヨーグルト等）、調味料（味噌、醤油等）、スープ類、飲料（ジュース、コーヒー、紅茶、茶、炭酸飲料、スポーツ飲料等）等が挙げられる。

【0032】

これら一般飲食品には、その種類に応じて種々の成分を配合することができ、例えば、ブドウ糖、果糖、ショ糖、マルトース、ソルビトール、ステビオサイド、コーンシロップ、乳糖、クエン酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸、L-アスコルビン酸、d1-トコフェロール、エリソルビン酸ナトリウム、グリセリン、プロピレングリコール、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、プロピレングリコール脂肪酸エステル、アラビアガム、カラギーナン、カゼイン、ゼラチン、ペクチン、寒天、ビタミンB類、ニコチン酸アミド、パントテン酸カルシウム、アミノ酸類、カルシウム塩類、色素、香料、保存剤等の食品素材を使用することができる。さらに、健康維持機能をもった上記筋肉増強剤には、他の抗酸化物質や健康食品素材などの配剤、例えば、抗酸化物質（還元型アスコルビン酸（ビタミンC）、ビタミンE、還元型グルタチン、トコトリエノール、ビタミンA誘導体、リコピン、ルテイン、アスタキサンチン、ゼアキサンチン、フコキサンチン、尿酸、ユビキノン、コエンザイムQ10、葉酸、ニンニクエキス、アリシン、セサミン、リグナン類、カテキン、イソフラボン、カルコン、タンニン類、フラボノイド類、クマリン、イソクマリン類、ブルーベリーエキス）、健康食品素材（V.（ビタミン）A、V.B1、V.B2、V.B6、V.B12、V.C、V.D、V.E、V.P、コリン、ナイアシン、パントテン酸、葉酸カルシウム、EPA、オリゴ糖、食物繊維、スクアレン、大豆レシチン、タウリン、ドナリエラ、プロテイン、オクタコサノール、卵黄レシチン、リノール酸、ラクトフェリン、マグネシウム、クロム、セレン、カリウム、ヘム鉄、カキ肉エキス、キトサン、キチンオリゴ糖、コラーゲン、コンドロイチン、ウコン、カンゾウ、クコシ、ケイヒ、サンザシ、生姜、霊芝、シジミエキス、カンゾウ、クコシ、ケイヒ、サンザシ、生姜、霊芝、オオバコ、カミツレ、カモミール、セイヨウタンポポ、ハイビスカス、ハチミツ、ポーレン、ローヤルゼリー、ライム、ラベンダー、ローズヒップ、ローズマリー、セージ、ピフィズス菌、フェーカリス菌、ラクリス、小麦胚芽油、ゴマ油、シソ油、大豆油、中鎖脂肪酸、アガリクス、イチヨウ葉エキス、ウコン、コンドロイチン、玄米胚芽エキス、レイシ、タマネギ、DHA、EPA、DPA、甜茶、冬虫夏草、ニンニク、蜂の子、パパイア、プーアル、プロポリス、メグスリの木、ヤブシタケ、ロイヤルゼリー、ノコギリヤシ、ヒアルロン酸、コラーゲン、ギャバ、ハーブシールオイル、サメ軟骨、グルコサミン、レシチン、ホスファチジルセリン、田七ニンジン、桑葉、大豆抽出物、エキナセア、エゾウコギ、大麦抽出物、オリーブ葉、オリーブ実、ギムネマ、バナバ、サラシア、ガルシニア、キトサン、セントジョーンズワート、ナツメ、ニンジン、パッションフラワー、プロッコリー、プラセンタ、ハトムギ、ブドウ種子、ピーナツ種皮、ビルベリー、ブラックコホシュ、マリアアザミ、月桂樹、セージ、ローズマリー、ラフマ、黒酢、ゴーヤー、マカ、紅花、亜麻、ウーロン茶、花棘、カフェイン、カプサイシン、キシロオリゴ糖、グルコサミン、ソバ、シトラス、食物繊維、プロテイン、ブルーベリー、スピルリナ、大麦若葉、核酸、酵母、椎茸、梅肉、アミノ酸、深海鮫抽出

10

20

30

40

50

物、ノニ、カキ肉、スッポン、シャンピニオン、オオバコ、アセロラ、パイナップル、バナナ、モモ、アンズ、メロン、イチゴ、ラズベリー、オレンジ、フコイダン、メシマコブ、クランベリー、コンドロイチン硫酸、亜鉛、鉄、セラミド、シルクペプチド、グリシン、ナイアシン、チェストツリー、L-システイン、赤ワイン葉、ミレット、ホーステール、ビオチン、センテラアジアティカ、ハスカップ、ピクノジェノール、フキ、ルバーブ、クローブ、ローズマリー、カテキン、プーアル、クエン酸、ビール酵母、メリロート、ブラックジンジャー、ショウガ、ガジュツ、ナットウキナーゼ、ベニコウジ、トコトリエノール、ラクトフェリン、シナモン、韃靼ソバ、ココア、ユズ種子エキス、シソの実エキス、ライチ種子エキス、月見草エキス、黒米エキス、 γ -リポ酸、ギャバ、生コーヒー豆エキス、フキエキス、キウイ種子エキス、温州みかんエキス、アカショウガエキス、アスタキサンチン、クルミエキス、ニラ種子エキス、赤米エキス、カンカエキス、白キクラゲ多糖体、フコキサンチン、リンゴンベリーエキス、桜の花エキス、マキベリーエキス、ササクレヒトヨタケエキス、米ポリアミン、小麦ポリアミン、黒ショウガエキス、ジュンサイエキス、ツバメの巣エキス、紫茶エキス、菊の花エキス、シーベリーエキス)なども配合することができる。

10

【0033】

具体的な製法としては、上記筋肉増強剤を粉末セルロースとともにスプレードライまたは凍結乾燥し、これを粉末、顆粒、錠剤または溶液にすることで容易に飲食品（健康食品、機能性表示食品等をも含む）等含有させることができる。また、上記筋肉増強剤を、例えば、油脂、エタノール、グリセリンあるいはこれらの混合物に溶解して液状にし、飲料

20

【実施例】

【0034】

実施例：米胚芽発酵抽出物及び有効成分の単離

(1) 米胚芽発酵抽出物の調製

脱脂米胚芽1.4 kgと等量の蒸留水を混合し、オートクレーブ滅菌したものに560 mgの麹菌および香煎42 gを加えて混合したものを35 °Cの条件下で3日間発酵させ、麹菌発酵米胚芽を得た。この発酵米胚芽を3 kgのメタノールでの加温抽出を3回行い、抽出液を減圧濃縮

30

(2) 有効成分の単離

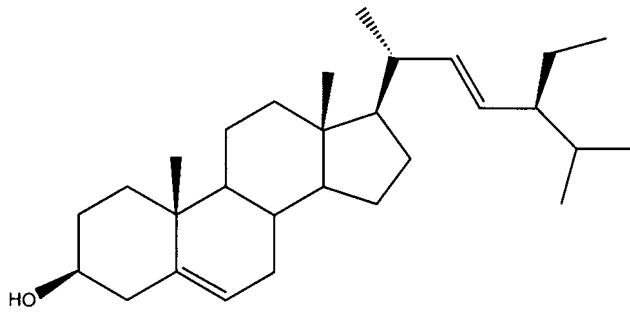
このメタノール抽出液 83 gをヘキサン、酢酸エチル、クロロホルム：メタノール = 6 : 1で順次分液を行い、ヘキサン可溶部17.67 g、酢酸エチル可溶部5.73 g、クロメタ可溶部3.73 gを得た。それぞれの可溶部を図1の分画スキームに従って分画を行い、Compound 1-5の5成分を単離した。単離した5成分についてNMRによる構造解析を行った。これらのうち、Compound 1、2、4、5について構造解析を行った。

ここで、上記Compound 1、2、4、5の化学式を以下に示す。

【0035】

【化 1】

Compound 1

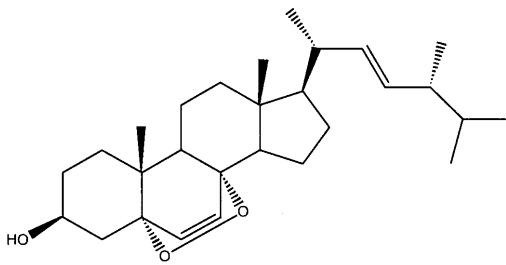


スティグマステロール

10

【化 2】

Compound 2

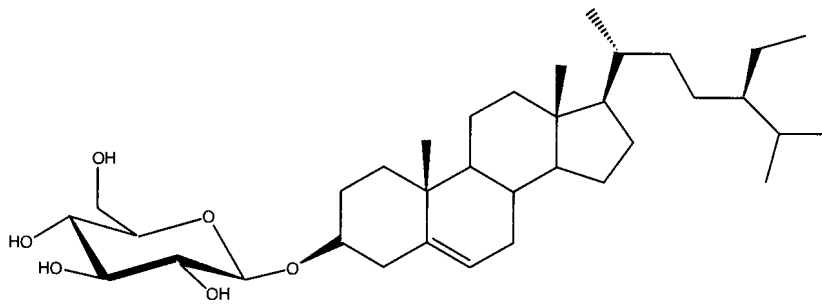


エルゴステロールパーオキシド

20

【化 3】

Compound 4

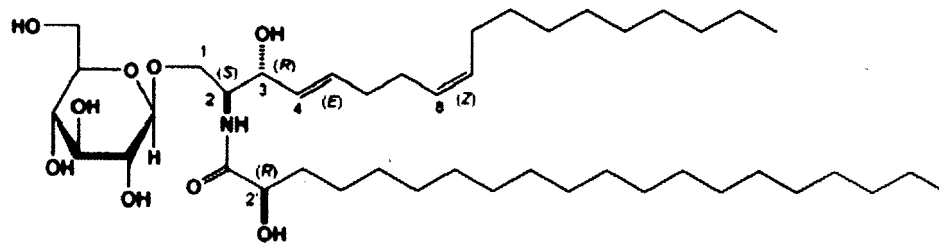


β-シトステロールグルコシド

30

【化4】

Compound 5



グルコシルセラミド

10

【0036】

試験例1：筋分化誘導促進作用

(1) 米胚芽発酵抽出物における試験

マウス筋芽細胞C2C12に対して米胚芽発酵抽出物を1-100 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で添加し、それと同時に分化誘導を行った。1週間培養した後、細胞を回収し、筋早熟分化マーカーであるmyogeninと筋成熟分化マーカー-myosin, heavy polypeptide (MyHP) のmRNA発現量を定量解析した。その際、内因性コントロールとしてGAPDHを使用し補正した。尚、比較例として、発酵工程を有さない米抽出物及び発酵工程がない米由来タンパクであるオリザプロテイン (オリザ油化株式会社製) についても同様の試験を行った。その結果を図2に示す。

20

(2) 単離成分における試験

上記方法と同様にして、米胚芽発酵エキスより単離した成分(Compound, 1-5)について1及び10 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で試験を行った。その結果を図3 (myogenin) 及び図4 (MyHP) に示す。

【0037】

試験例1における実施例の効果

図2に示されるように、米胚芽発酵抽出物によって有意に筋細胞増殖が促進した。また、ポジティブコントロールであるIGF-1も有意に増殖した。また、未発酵米胚芽エキスでは細胞増殖を抑制する作用が見られ、発酵を行っていない米抽出物である米由来タンパク質 (オリザプロテイン) では、筋増殖促進効果は米胚芽発酵エキスと比較して弱かった。以上のことから、米胚芽を発酵することで今までにはなかった筋肉増強効果を得ることができ、それはタンパク質を摂取するよりも強いことが確認された。

30

また、図3に示すように、筋早熟分化マーカーであるmyogeninにおいてCompound 1-5 (1および10 $\mu\text{g/mL}$) の添加によって発現が促進した。特に、Compound 1 (1 $\mu\text{g/mL}$) 及びCompound 5 (1および10 $\mu\text{g/mL}$) の添加で有意に発現が促進した。一方で、図4示すように、筋成熟分化マーカーであるMyHPにおいてCompound 1 (1および10 $\mu\text{g/mL}$)、Compound 3 (10 $\mu\text{g/mL}$)、Compound 4 (1 $\mu\text{g/mL}$)、Compound 5 (1および10 $\mu\text{g/mL}$) の添加によって発現が促進した。特に、Compound 1 (1 $\mu\text{g/mL}$) 及びCompound 5 (10 $\mu\text{g/mL}$) の添加で有意に発現が促進した。以上のことから、Compound 1-5には早熟期及び成熟期の筋分化誘導を促進する活性があることが確認された。以上により、米胚芽発酵エキス及びCompound 1-5は筋分化誘導促進剤として機能することが確認された。

40

【0038】

試験例2：筋細胞増殖促進作用 (筋量増大作用)

(1) 米発酵米胚芽抽出物による評価

マウス筋芽細胞C2C12に対して米発酵米胚芽抽出物、比較例として米由来タンパク質 (オリザプロテイン) を1-100 $\mu\text{g/mL}$ で添加し、それと同時に分化誘導を行った。1週間培養した後、MTTアッセイを行い、細胞増殖に及ぼす影響を評価した。尚、比較例として、発酵

50

工程を有さない米抽出物及び発酵工程がない米由来タンパクであるオリザプロテイン（オリザ油化株式会社製）についても同様の試験を行った。その結果を図5に示す。

（2）単離成分による評価

マウス筋芽細胞C2C12に対して米胚芽発酵エキス及び米胚芽発酵エキスより単離した成分（Compound 1）を0.1-30 µg/mLの濃度で添加し、それと同時に分化誘導を行った。1週間培養した後、MTTアッセイを行い、細胞増殖に及ぼす影響を評価した。その結果を図6に示す。

【0039】

試験例2における実施例の効果

図5に示されるように、米胚芽発酵抽出物によって有意に筋細胞増殖が促進した。また、ポジティブコントロールであるIGF-1も有意に増殖した。また、未発酵米胚芽エキスでは細胞増殖を抑制する作用が見られ、米由来タンパク質では、筋増殖促進効果は米胚芽発酵エキスと比較して弱かった。以上のことから、米胚芽を発酵することで今までにはなかった筋肉増強効果を得ることができ、それはタンパク質を摂取するよりも強いことが確認された。

また、図6に示すように、Compound 1を3-30 µg/mLの濃度で添加することで細胞増殖が有意に増加した。また、ポジティブコントロールである米胚芽発酵エキス（10 µg/mL）も有意に増加した。以上のことから、米胚芽発酵エキス及びその成分であるCompound 1は筋細胞の増殖を促進する活性があることが示唆された。以上により米胚芽発酵エキス及びその成分であるCompound 1は筋量増大剤として有用であることが確認された。

【0040】

試験例3：筋肥大促進因子IGF-1発現促進活性

マウス筋芽細胞C2C12に対して米胚芽発酵エキスより単離した成分（Compound 1-5）を1及び10 µg/mLの濃度で添加し、それと同時に分化誘導を行った。1週間培養した後、細胞を回収し、筋肉増量因子IGF-1のmRNA発現量を定量解析した。その際、内因性コントロールとしてGAPDHを使用し補正した。その結果を図7に示す。

【0041】

試験例3における実施例の効果

図7に示すように、筋肉増量因子であるIGF-1においてCompound 1（1 µg/mL）及びCompound 5（1 µg/mL）の添加で発現が促進した。以上のことから、Compound 1及び5は筋肉増量遺伝子発現促進剤として有用であることが確認された。

【0042】

試験例4：筋収縮促進作用

コラーゲングルに包埋したマウス筋芽細胞C2C12に対して米胚芽発酵エキス（10 µg/ml）及びCompound 5（10 µg/ml）、インスリン様成長因子1（IGF-1、1 ng/ml）を添加し、それと同時に分化誘導を行った。2週間分化誘導を行った後、コラーゲングルの大きさを測定し収縮力に及ぼす影響を評価した。その結果を図8に示す。

【0043】

試験例4における実施例の効果

筋収縮の指標としてコラーゲングル収縮試験を行った。その結果、図8に示すように、ポジティブコントロールであるIGF-1と同様に米胚芽発酵エキス及びCompound 5の添加によって有意にコラーゲングルの収縮が認められた。以上のことから、Compound 5には筋収縮力向上剤として有用であることが確認された。

【0044】

実施例の効果

以上により、米胚芽発酵エキス及びそれにより得られたCompound 1-5は筋肉増強剤として有用であることが確認された。

【0045】

本発明の筋肉増強剤の配合例を以下に示すが、下記配合例は本発明を限定するものではない。

10

20

30

40

50

配合例 1 : チューインガム (機能性表示食品又は特定保健用食品)

砂糖	53.0	w t %
ガムベース	20.0	
グルコース	10.0	
水飴	16.0	
香料	0.5	
筋肉増強剤	0.5	

100.0 w t %

【0046】

配合例 2 : グミ (機能性表示食品又は特定保健用食品)

10

還元水飴	40.0	w t %
グラニュー糖	20.0	
ブドウ糖	20.0	
ゼラチン	4.7	
水	9.68	
キウイ果汁	4.0	
キウイフレーバー	0.6	
色素	0.02	
筋肉増強剤	1.0	

100.0 w t %

20

【0047】

配合例 3 : キャンディー (機能性表示食品又は特定保健用食品)

砂糖	50.0	w t %
水飴	33.0	
水	14.4	
有機酸	2.0	
香料	0.2	
筋肉増強剤	0.4	

100.0 w t %

【0048】

配合例 4 : ヨーグルト (ハード・ソフト) (機能性表示食品又は特定保健用食品)

30

牛乳	41.5	w t %
脱脂粉乳	5.8	
砂糖	8.0	
寒天	0.15	
ゼラチン	0.1	
乳酸菌	0.005	
筋肉増強剤	0.4	
香料	微量	
水	残余	

100.0 w t %

40

【0049】

配合例 5 : 清涼飲料 (機能性表示食品又は特定保健用食品)

果糖ブドウ糖液糖	30.0	w t %
乳化剤	0.5	
筋肉増強剤	0.05	
香料	適量	
精製水	残余	

100.0 w t %

【0050】

50

配合例 6 : ソフトカプセル (機能性表示食品又は特定保健用食品)

米胚芽油	87.0 wt %	
乳化剤	12.0	
筋肉増強剤	1.0	
<hr/>		100.0 wt %

【 0051 】

配合例 7 : 錠剤 (機能性表示食品又は特定保健用食品)

乳糖	54.0 wt %	
結晶セルロース	30.0	
澱粉分解物	10.0	10
グリセリン脂肪酸エステル	5.0	
筋肉増強剤	1.0	
<hr/>		100.0 wt %

【 0052 】

配合例 8 : 顆粒内服剤 (医薬品)

筋肉増強剤	1.0 wt %	
乳糖	30.0	
コーンスターチ	60.0	
結晶セルロース	8.0	
ポリビニールピロリドン	1.0	20
<hr/>		100.0 wt %

【 0053 】

配合例 9 : 錠菓

砂糖	76.4 wt %	
グルコース	19.0	
シヨ糖脂肪酸エステル	0.2	
筋肉増強剤	0.5	
精製水	3.9	
<hr/>		100.0 wt %

【 0054 】

配合例 15 : キャットフード

とうもろこし	34.0 wt %	
小麦粉	35.0	
ミートミール	15.0	
牛脂	8.9	
食塩	1.0	
かつおエキス	4.0	
筋肉増強剤	1.0	
タウリン	0.1	
ビタミン類	0.5	40
ミネラル類	0.5	
<hr/>		100.0 wt %

【 0055 】

配合例 16 : ドッグフード

とうもろこし	30.0 wt %	
肉類 (チキン)	15.0	
脱脂大豆	10.0	
小麦粉	25.0	
糟糠類	5.0	
筋肉増強剤	5.0	50

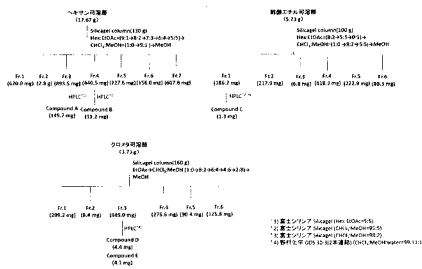
動物性油脂	8.9
オリゴ糖	0.1
ビタミン	0.5
ミネラル	0.5
100.0 wt %	

【産業上の利用可能性】

【0056】

以上、説明したように、本発明は、新規な筋肉増強剤を提供することができる。

【図1】



【図3】

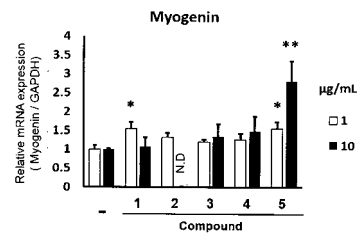


図3 筋早熟分化マーカー (myogenin) による筋分化誘導促進作用
データは平均値±標準偏差で示し (n=4)、N.Dはデータなしを表している。有意差検定はDunnett法を用い*P<0.05、**P<0.01で示した。

【図2】

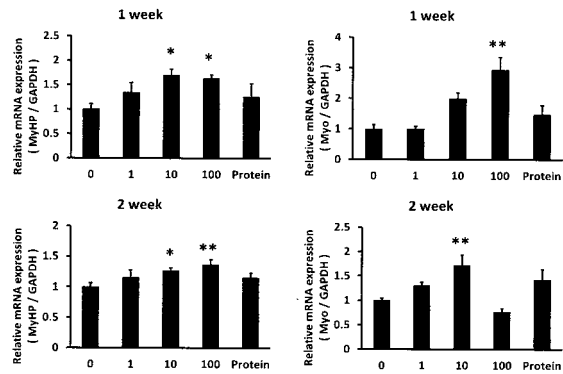


図2. 分化誘導促進における米由来タンパク質との比較試験
データは平均値±標準偏差で示し (n=4)、数字は米胚芽発酵エキスの添加濃度 (μg/mL) を示しており、Proteinは米由来タンパク質 10 μg/mL を示している。有意差検定はDunnett法を用い*P<0.05、**P<0.01で示した。

【図4】

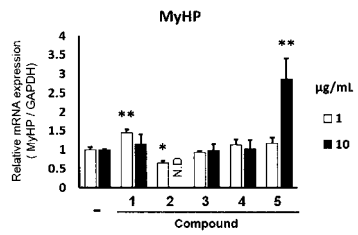


図4 筋成熟分化マーカー (MyHP) による筋分化誘導促進作用
データは平均値±標準偏差で示し (n=4)、N.Dはデータなしを表している。有意差検定はDunnett法を用い*P<0.05、**P<0.01で示した。

【 図 5 】

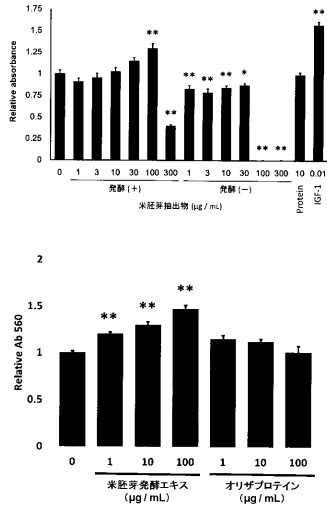


図5 筋細胞増殖促進作用における未発酵米胚芽発酵抽出物及び米由来タンパク質との比較試験
 データは平均値±標準偏差で示している (n=6)。Protein およびオリザプロテインは米由来タンパク質を表している。有意差検定は Dunnet 法を用い *P<0.05、**P<0.01 で示した。

【 図 6 】

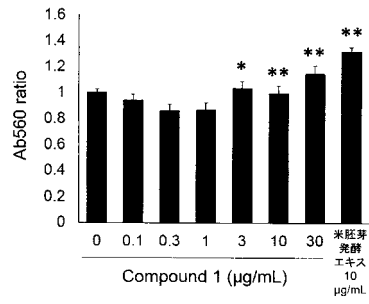


図6 筋細胞増殖促進作用
 データは平均値±標準偏差で示している (n=6)。有意差検定は Dunnet 法を用い *P<0.05、**P<0.01 で示した。

【 図 7 】

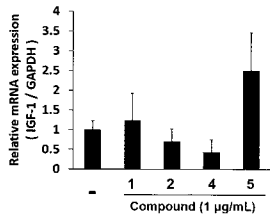


図7 筋肉増殖遺伝子 IGF-1 発現促進活性
 データは平均値±標準偏差で示し (n=4)、N.D はデータなしを表している。有意差検定は Dunnet 法を用いた。

【 図 8 】

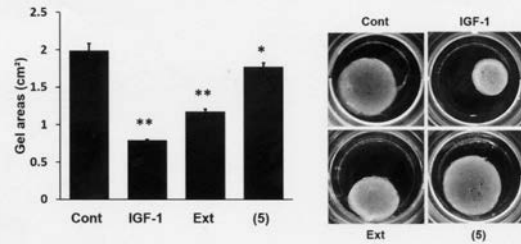


図8 筋収縮促進作用
 データは平均値±標準偏差で示し (n=6)、Cont : コントロール、IGF-1 : IGF-1 (10 ng/mL)、Ext : 米胚芽発酵エキス (10 μg/mL)、(5) : Compound 5 (10 μg/mL) を添加したデータと実際のゲルの写真を表している。有意差検定は Dunnet 法を用い *P<0.05、**P<0.01 で示した。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)
A 2 3 L 33/105 (2016.01) A 2 3 L 33/105

Fターム(参考) 4B018 MD07 MD49 MD91 ME14 MF01 MF13
4C086 AA01 AA02 DA11 EA03 MA01 MA04 MA52 NA14 ZA94 ZC02
4C088 AB74 AC04 BA10 CA06 MA52 NA14 ZA94 ZC02