

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5718468号

(P5718468)

(45) 発行日 平成27年5月13日(2015. 5. 13)

(24) 登録日 平成27年3月27日(2015. 3. 27)

(51) Int.Cl.

F 1

A 6 1 K 36/60 (2006. 01)

A 6 1 K 35/78

D

A 6 1 K 36/899 (2006. 01)

A 6 1 K 35/78

U

A 6 1 K 36/00 (2006. 01)

A 6 1 K 35/78

W

A 6 1 P 3/04 (2006. 01)

A 6 1 P 3/04

A 6 1 P 3/10 (2006. 01)

A 6 1 P 3/10

請求項の数 7 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-528130 (P2013-528130)  
 (86) (22) 出願日 平成23年9月9日(2011. 9. 9)  
 (65) 公表番号 特表2013-537890 (P2013-537890A)  
 (43) 公表日 平成25年10月7日(2013. 10. 7)  
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2011/006694  
 (87) 国際公開番号 W02012/033378  
 (87) 国際公開日 平成24年3月15日(2012. 3. 15)  
 審査請求日 平成25年3月18日(2013. 3. 18)  
 (31) 優先権主張番号 10-2010-0089122  
 (32) 優先日 平成22年9月10日(2010. 9. 10)  
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

(73) 特許権者 508092761  
 コリア フード リサーチ インスティチ  
 ユート  
 大韓民国 4 6 3 - 7 4 6 ギョンギード  
 ソンナムーシ プンダンーグ ペキョン  
 ードン 5 1 6  
 (74) 代理人 100102842  
 弁理士 葛和 清司  
 (72) 発明者 キム, ヒョン グ  
 大韓民国 4 4 3 - 7 2 1 キョンギード  
 、スウォンーシ、ヨントンーグ、メタン  
 2ードン、ハングック 1 チャ アパー  
 ト、1 0 4 - 5 0 4

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ハリグワ及びヨクイニンを含む肥満抑制又は血糖降下用組成物、並びにその用途

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) ハリグワ 7 0 % エタノール抽出物 及びヨクイニン 水抽出物 1 0 0 重量部に対して  
 紅参、高麗人参、山薬、桑葉、ケンボナシの実、ケンボナシの幹、ケンボナシの葉、甘草  
 、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択さ  
 れたいずれか1つ以上の生薬材 1 0 ~ 5 0 重量部を混合して混合物を得る段階；

(b) 前記混合物に、ハリグワ 7 0 % エタノール抽出物 及びヨクイニン 水抽出物 1 0 0 重  
 量部に対して機能性物質としてビタミン 1 ~ 5 重量部、糖類 1 ~ 1 0 重量部、スクアレン  
 0 . 5 ~ 5 重量部、タウリン 0 . 5 ~ 5 重量部、ハーブ 1 ~ 1 0 重量部、オクタコサノール  
 0 . 1 ~ 5 重量部、及びアルギン酸ナトリウム 1 ~ 5 重量部からなる群から選択されたい  
 ずれか1つ以上の機能性物質を添加し混合してハリグワ及びヨクイニン、生薬材並びに  
 機能性物質が混合した混合物を得る段階；

(c) 前記混合物を 5 ~ 2 0 °C で 1 0 ~ 2 0 時間熟成させる段階；

(d) 錠剤機を用いて錠剤を製造する段階、及び

(e) ヒドロキシプロピルメチルセルロース溶液でコーティングする段階とを含み、  
前記ハリグワ 7 0 % エタノール抽出物及びヨクイニン水抽出物が 1 : 1 重量比で含まれる  
肥満抑制又は血糖降下用のハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造方法。

【請求項 2】

(a) ハリグワ 7 0 % エタノール抽出物；

(b) ヨクイニン 水抽出物；

(c) 紅参、高麗人参、山藥、桑葉、ケンポナシの実、ケンポナシの幹、ケンポナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択されたいずれか1つ以上の生薬材；及び

(d) ビタミン、糖類、スクアレン、タウリン、ハーブ、オクタコサノール及びアルギン酸ナトリウムからなる群から選択されたいずれか1つ以上の機能性物質を含み、  
前記ハリグワ70%エタノール抽出物及びヨクイニン水抽出物が1：1重量比で含まれる肥満抑制又は血糖降下用のハリグワ及びヨクイニン錠剤。

【請求項3】

前記錠剤が、

(a) ハリグワ 70%エタノール抽出物 及び ヨクイニン水抽出物 100の重量部；

(b) ハリグワ 70%エタノール抽出物 及び ヨクイニン水抽出物 100の重量部に対して紅参、高麗人参、山藥、桑葉、ケンポナシの実、ケンポナシの幹、ケンポナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択されたいずれか1つ以上の生薬材10～50重量部；及び

(c) ハリグワ 70%エタノール抽出物 及び ヨクイニン水抽出物 100の重量部に対して、機能性物質としてビタミン1～5重量部、糖類1～10重量部、スクアレン0.5～5重量部、タウリン0.5～5重量部、ハーブ1～10重量部、オクタコサノール0.1～5重量部、及びアルギン酸ナトリウム1～5重量部からなる群から選択されたいずれか1つ以上の機能性物質を含むものである請求項2に記載の錠剤。

【請求項4】

(a) ハリグワ 70%エタノール抽出物；

(b) ヨクイニン水抽出物；

(c) 紅参、高麗人参、山藥、桑葉、ケンポナシの実、ケンポナシの幹、ケンポナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択されたいずれか1つ以上の生薬材；及び

(d) ビタミン、糖類、スクアレン、タウリン、ハーブ、オクタコサノール及びアルギン酸ナトリウムからなる群から選択されたいずれか1つ以上の機能性物質を含み、  
前記ハリグワ70%エタノール抽出物及びヨクイニン水抽出物が1：1重量比で含まれる肥満抑制又は血糖降下用の健康機能食品又は食品添加用組成物。

【請求項5】

前記組成物が、

(a) ハリグワ 70%エタノール抽出物 及び ヨクイニン水抽出物 100の重量部；

(b) ハリグワ 70%エタノール抽出物 及び ヨクイニン水抽出物 100の重量部に対して紅参、高麗人参、山藥、桑葉、ケンポナシの実、ケンポナシの幹、ケンポナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択されたいずれか1つ以上の生薬材10～50重量部；及び

(c) ハリグワ 70%エタノール抽出物 及び ヨクイニン水抽出物 100の重量部に対して、機能性物質としてビタミン1～5重量部、糖類1～10重量部、スクアレン0.5～5重量部、タウリン0.5～5重量部、ハーブ1～10重量部、オクタコサノール0.1～5重量部、及びアルギン酸ナトリウム1～5重量部からなる群から選択されたいずれか1つ以上の機能性物質を含むものである請求項4に記載の組成物。

【請求項6】

(a) ハリグワ 70%エタノール抽出物；

(b) ヨクイニン水抽出物；

(c) 紅参、高麗人参、山藥、桑葉、ケンポナシの実、ケンポナシの幹、ケンポナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択されたいずれか1つ以上の生薬材；及び

(d) ビタミン、糖類、スクアレン、タウリン、ハーブ、オクタコサノール及びアルギン酸ナトリウムからなる群から選択されたいずれか1つ以上の機能性物質を含み、  
前記ハリグワ70%エタノール抽出物及びヨクイニン水抽出物が1：1重量比で含まれる

10

20

30

40

50

肥満抑制又は血糖降下用の薬剤学的組成物。

【請求項 7】

前記組成物が、

(a) ハリグワ 70%エタノール抽出物及びヨクイニン水抽出物 100 重量部；

(b) ハリグワ 70%エタノール抽出物及びヨクイニン水抽出物 100 重量部に対して紅参、高麗人参、山薬、桑葉、ケンポナシの実、ケンポナシの幹、ケンポナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択されたいずれか 1 つ以上の生薬材 10～50 重量部；及び

(c) ハリグワ 70%エタノール抽出物及びヨクイニン水抽出物 100 重量部に対して機能性物質としてビタミン 1～5 重量部、糖類 1～10 重量部、スクアレン 0.5～5 重量部、タウリン 0.5～5 重量部、ハーブ 1～10 重量部、オクタコサノール 0.1～5 重量部、及びアルギン酸ナトリウム 1～5 重量部からなる群から選択されたいずれか 1 つ以上の機能性物質を含むものである請求項 6 に記載の組成物。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を含む肥満抑制又は血糖降下用の薬剤学的組成物に関し、特に、ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を含む肥満抑制又は血糖降下用の薬剤学的組成物、ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を含む肥満抑制又は血糖降下用の健康機能食品又は食品添加用組成物、ハリグワ及びヨクイニンを主原料として製造した、肥満抑制機能と血糖降下効果のある錠剤、並びにその製造方法に関する。

20

【背景技術】

【0002】

現代において、経済的発展による食生活の西欧化及び生活の利便化に伴う活動量の減少と体重の増加、並びに社会の複雑化などにより、疾病の様相が大きく変化している。過去とは異なり、動脈硬化、高血圧、癌、肥満及び糖尿病などの慢性退行性疾患が主な死亡原因となっている。これら慢性退行性疾患のうち、特に糖尿病は、肥満と共にその患者数が急速に増加しているだけでなく、その発症年齢が次第に低くなってきており、一層その深刻さが増している。

30

【0003】

糖尿病とは、血液内に存在するブドウ糖が尿として排出される疾患であり、根本的な治療が不可能な慢性退行性疾患の一つである。急速な経済発展に伴う食生活の変化により平均寿命は延びているものの、糖尿病などの慢性退行性疾患は増加する現象が見られる。韓国国内での糖尿病発病率は約 5～10%に達することが知られており、増加を続ける傾向にある。21 世紀には、糖尿病が国家レベルで深刻な健康障害の疾病となる恐れがある。糖尿病は、全世界的に深刻な健康障害の疾病となる恐れがあり、全世界的に 3 番目に深刻な疾病であり、網膜、腎臓、神経及び心血管系などの様々な合併症を誘発することから、社会的に大きな問題となっている。

【0004】

肥満は高血圧、糖尿病、心臓循環系疾患及び各種癌などを誘発する原因となり、肥満関連の疾病治療に必要な医療費は日増しに増加しているため、体脂肪減少効果を有する物質の解明及びその効果を立証する努力は全世界的に大きな関心事となっている。また、肥満を治療し予防する方法については多くの国で多角的な研究が盛んに行われているが、現在行われている方法として、飲食物の摂取量を抑制してエネルギー消費を減らす食餌療法、運動によりエネルギーを発散させる運動療法、臓器の一部を切除したり、脂肪を吸引する手術療法、及びエネルギー代謝促進剤、食欲抑制剤、消化吸収抑制剤などを用いる薬物療法がある。

40

【0005】

しかし、現在のところ肥満を治療する方法に完全な方法は存在せず、その方法を中断し

50

たときに再び体重が増加するリバウンド現象が現れたり、食餌制限による栄養バランスの崩壊、免疫力低下による感染など様々な副作用が現れている。特に、薬物療法の場合、うつ病、不眠症、消化障害などの様々な副作用が報告されている。よって、このような伝統的な方法以外に、体重減少を促進する効果的かつ安全な方法の開発が切実に求められている。

#### 【0006】

ハリグワ (*Cudrania tricuspidata* (Carr.) Bureau ex Lavallee) は、俗にクジボン、クッカシ、ファルポンと呼ばれ、クワ科に属する落葉高木である。ハリグワの根皮、木質部、樹皮及び葉には人体に有効な様々な成分が含まれているので、従来からハリグワは、根、皮、幹、葉、実などの部位に応じて、血圧降下剤、結核治療剤、解熱剤、鎮咳剤、去痰剤、利尿剤、止血剤、去風剤などの薬材として用いられており、抗真菌剤として水虫に用いられ、消化器官の衰弱による慢性消化不良に用いられている。

10

#### 【0007】

また、ハリグワの実は直径約 2.5 cm の丸い粒状果であり、9 月～10 月に赤色に成熟し、果肉は甘く食用として可能だ。その実にはビタミン B、B1、B2、ビタミン C、リノレン酸、ブドウ糖、マルトース、フルクトース、リンゴ酸、レモン酸など有用な有機物質が含まれており、幹皮には肺癌、大腸癌、皮膚癌、子宮癌などに効果の高い成分が多量に含まれていることが報告されている。ハリグワは抗癌効果のあることが知られているフラボノイドを含有しており、薬材として用いられることが東医宝鑑、薬性論、本草綱目などで古代から広く知られている。

20

#### 【0008】

一方、最近ではハリグワ由来の抽出物を用いた研究が続けられており、韓国のハリグワ関連特許としてはハリグワ飲料及びその製造方法、ソルビトールを用いたハリグワ粉末及び顆粒の製造方法、ハリグワの根由来の抽出物でコーティングした機能性米及びその製造方法などがあるが、本発明において開示しているように、ハリグワ抽出物が肥満及び糖尿の抑制効果を有する技術は開示されていない。

#### 【0009】

ヨクイニン (*Coicis semen*) は健脾滲湿、除痺止瀉及び清熱排膿の効能があり、主にデンプン、脂質、コイキソール、ステロール、アミノ酸、ビタミン B1 及びコイクセノリド (Coixenolide) が含まれる。イネ科の一年生草本として栽培し、ハトムギ、ヘリョ、オクタム、キシル及びコンミともいう。薬理作用としては抗炎症、抗癌作用があり、過コレステロールの含有値を低くし、鎮静及び鎮痛作用があるので、神経痛や関節痛に注射薬としても用いられる。また、消化不良、関節痛及び筋肉の痙攣に有用であり、疲労回復及びシミ、ソバカスの予防に効果があるので、顔にできたシミを除去する美白効果にも優れ、末梢神経を拡張、収縮させる効能があるので、ニキビ、浮腫、脚気及び神経痛などにも効果がある。

30

#### 【0010】

しかし、ハリグワ及びヨクイニンを混合した抽出物が肥満と糖尿を同時に抑制できることは教示も記載もされていない。

#### 【発明の概要】

40

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0011】

本発明者らは、天然物由来の肥満及び糖尿を同時に抑制できる物質を求めて鋭意努力した結果、ハリグワ及びヨクイニン抽出物が ATP citrate lyase と  $H_2O_2$  による膵島 (pancreatic islets) 細胞死滅抑制活性に優れ、肥満抑制及び糖尿降下効果があることを確認し、本発明を完成するに至った。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0012】

本発明の一目的は、ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を含む肥満抑制又は血糖降下用の薬剤学的組成物を提供することにある。

50

## 【0013】

本発明の他の目的は、ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を含む肥満抑制又は血糖降下用の健康機能食品又は食品添加用組成物を提供することにある。

## 【0014】

本発明のさらに他の目的は、ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を含む肥満抑制又は血糖降下用のハリグワ及びヨクイニン錠剤を提供することにある。

## 【0015】

本発明のさらに他の目的は、ハリグワ及びヨクイニン、並びに生薬材として紅参、高麗人参、山薬、桑葉、ケンボナシの実、ケンボナシの幹、ケンボナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択される少なくとも1つの生薬材とを混合して混合物を得る段階と、前記混合物に、機能性物質としてビタミン、糖類、スクアレン、タウリン、ハーブ、オクタコサノール及びアルギン酸ナトリウムからなる群から選択される少なくとも1つの機能性物質を添加して混合し、ハリグワ及びヨクイニン、生薬材、並びに機能性物質を混合した混合物を得る段階と、前記混合物を5～20℃で10～20時間熟成させる段階と、錠剤機を用いて錠剤を製造する段階と、ヒドロキシプロピルメチルセルロース溶液でコーティングする段階とを含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造方法を提供することにある。

## 【発明の効果】

## 【0016】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤は生薬材を含むので、生薬材により機能性が向上したハリグワ及びヨクイニン錠剤、並びにハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造方法を提供することができ、機能性物質をさらに含むことにより、ハリグワ及びヨクイニン錠剤、並びに製造方法を提供することができる。また、本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出物は、ATP citrate lyaseとH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による膵島細胞死滅抑制活性に優れ、肥満抑制及び血糖降下効果を示すので、肥満と糖尿病の予防又は治療のための薬剤学的組成物又は機能性食品として有用に用いられ得る。さらに、本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤は、ハリグワ及びヨクイニンを錠剤状に加工することにより、携帯を便利にし、ハリグワ及びヨクイニンの保存を容易にするだけでなく、ハリグワ及びヨクイニンの摂取を容易にする。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0017】

【図1】本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造工程を示す図である。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0018】

上記目的を達成するための一態様として、本発明は、ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を含む肥満抑制又は血糖降下用の薬剤学的組成物を提供する。

## 【0019】

本発明で使用される用語、「ハリグワ」(*Cudrania Tricuspidata*)とは、俗名としてクジボン、クッカシ、ファルボンと呼ばれ、クワ科に属する落葉高木である。ハリグワの根皮、木質部、樹皮及び葉には人体に有効な様々な成分が含まれているので、従来からハリグワは、その根、皮、幹、葉、樹皮、実などの部位に応じて、血圧降下剤、結核治療剤、解熱剤、鎮咳剤、去痰剤、利尿剤、止血剤、去風剤などの薬材として用いられており、抗真菌剤として水虫に用いられ、消化器官の衰弱による慢性消化不良に用いられているが、本発明においてハリグワが抗肥満及び抗糖尿病効果があることを最初に解明した。本発明の実施例によれば、ハリグワ抽出物に抗肥満及び抗糖尿病効果があることが確認され(表1及び表2)、血糖濃度を低下させることが確認された(表5)。また、脂肪細胞分化時に脂肪の蓄積を抑制することが確認された(表6)。

## 【0020】

本発明で使用される用語、「ヨクイニン」(*Coix lachryma-jobi*)とは、イネ科の一年生草木として栽培され、ハトムギ、ヘリョ、オクタム、キシル及びコ

10

20

30

40

50

ンミともいう。薬理作用としては抗炎症、抗癌作用があることが知られているが、本発明においてヨクイニン抽出物が抗肥満及び抗糖尿病効果があることが確認され（表1及び表2）、血糖濃度を低下させることが確認された（表5）。また、脂肪細胞分化時に脂肪の蓄積を抑制することが確認された（表6）。

#### 【0021】

さらに、本発明の実施例によれば、ハリグワ及びヨクイニンのそれぞれ単独より、ハリグワ及びヨクイニンを同量で含む混合物の場合に、抗肥満及び抗糖尿病効果に優れることが確認された（表1及び表2）。このような結果は、本発明の混合抽出物が肥満抑制又は血糖降下効果を有し、より好ましくは肥満抑制及び血糖降下効果を同時に有することを裏付けるものである。

10

#### 【0022】

本発明は、前記ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を有効成分とすることを特徴とする。具体的には、前記ハリグワ及びヨクイニン抽出物をそれぞれ製造し、その後適正な割合で混合して製造した混合抽出物であってもよい。前記ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物の重量比は1：1であることが好ましい。

#### 【0023】

本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出物は、これらに制限されるものではないが、抽出処理により得られる抽出液、抽出液の希釈液又は濃縮液、抽出液を乾燥して得られる乾燥物、それらの粗精製物又は精製物のいずれかであってもよい。また、それぞれ独立して当業界で通常用いる抽出溶媒を用いて抽出することができ、好ましくは水、炭素数1～6のアルコール、又はそれらの混合溶媒で抽出することができ、より好ましくは前記アルコールはエタノール、メタノール又はブタノールであり、さらに好ましくはエタノール水溶液溶媒で抽出することができる。

20

#### 【0024】

本発明のハリグワ及びヨクイニンを含む薬剤学的組成物は、肥満と血糖降下による糖尿病疾患の予防又は治療のために用いられることが好ましい。

#### 【0025】

本発明によるハリグワ及びヨクイニン抽出物は、ATP citrate lyaseと $H_2O_2$ による膵島（pancreatic islets）細胞死滅抑制活性を調査した結果、ATP citrate lyaseと $H_2O_2$ による膵島（pancreatic islets）細胞死滅抑制活性に優れ、この結果から肥満抑制活性と血糖の降下効能があることが確認された（表2）。また、水とエタノールでそれぞれ抽出したハリグワ及びヨクイニン抽出物が対照群のブドウ糖に比べて血糖上昇率が低く、それぞれのハリグワ及びヨクイニン抽出物が血糖降下効果に優れることが確認された（表5）。

30

#### 【0026】

本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出物は、薬学的に許容可能な担体をさらに含んでもよい。製剤化する場合は、通常用いる充填剤、増量剤、結合剤、湿潤剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤から選択される少なくとも1つを用いることができ、ハリグワ及びヨクイニン100重量部に対して0.1～5重量部含んでもよい。

#### 【0027】

具体的には、本発明において、錠剤やカプセルなどの剤形に製剤するために、乳糖、デンプン、セルロース、微細結晶セルロースから選択される少なくとも1つの賦形剤と、スターチ、デキストリン、蜂蜜、シロップ剤、セルロースから選択される少なくとも1つの結合剤と、結晶セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム塩、メチルセルロースから選択される少なくとも1つの崩壊剤と、ステアリン酸マグネシウム、グリセリルベヘネート、タルク、植物硬化油から選択される少なくとも1つの滑沢剤とを用いることができる。

40

#### 【0028】

本発明において、ハリグワ及びヨクイニン抽出物は、経口、直腸、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、胸骨内、経皮、局所、眼球内又は皮内経路を介して通常の方式で投与する

50

ことができる。投与量は、成人の場合、1回に0.1～10g、好ましくは0.5～5gであり、投与量レベルは、患者の性別、年齢、健康状態、食餌、投与時間、投与方法、薬剤混合及び疾患の重症度に応じて適宜変更され得る。投与は1日に1回投与することもでき、数回に分けて投与することもできる。よって、前記投与量は、いかなる面においても本発明の範囲を限定するものではない。本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出混合物は、古くから食用及び薬用に用いられてきたものであり、その投与量に特に制約はない。本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出物を含む薬剤学的組成物は、有効量の範囲を考慮して製造するようにし、このように剤形化された単位投与型の製剤は、必要に応じて薬剤の投与を監視、観察する専門家の判断と個人の要求により、専門化された投薬法を用いることもでき、一定時間間隔で数回投与することができる。

10

#### 【0029】

他の態様として、本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出物は、肥満と糖尿病疾患の予防又は治療のための健康機能食品又は食品添加用組成物として用いることができる。

#### 【0030】

本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出物は、肥満と糖尿病疾患の改善のための飲食物などに多く用いることができる。本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出物を添加できる食品の種類には特に制限はなく、例えば肉類、ソーセージ、パン、チョコレート、キャンディー類、スナック類、菓子類、ピザ、ラーメン、その他の麺類、ガム類、アイスクリーム類を含む酪農製品、各種スープ、清涼飲料水、茶、ドリンク剤、アルコール飲料及びビタミン複合剤などがある。一般に、飲食物を製造する際に、原料に対して0.01～10重量部、好ましくは0.05～1重量部の量で添加される。しかし、健康及び衛生、健康調節を目的に長期間摂取する場合、前記量は前記範囲以下で用いられることもある。

20

#### 【0031】

本発明の食品組成物は、通常の飲み物のように、様々なタンパク質、脂肪、栄養素、調味剤、香味剤又は天然炭水化物などを追加成分として含有することができる。前述した炭水化物の例としては、単糖（例えば、ブドウ糖、果糖など）、二糖（例えば、マルトース、スクロース、オリゴ糖など）、多糖（例えば、デキストリン、シクロデキストリンなど）などの通常の糖、及びキシリトール、ソルビトール、エリトリトールなどの糖アルコールが挙げられる。香味剤としては、天然香味剤（例えば、タウマチン、レバウディオサイドA、グリチルリチンなどのステビア抽出物）及び合成香味剤（例えば、サッカリン、アスパルテムなど）を用いることができる。

30

#### 【0032】

前記以外に、本発明の組成物は、様々な栄養剤、ビタミン、電解質、風味剤、着色剤、ペクチン酸及びその塩、アルギン酸及びその塩、有機酸、保護性コロイド増粘剤、pH調整剤、安定化剤、防腐剤、グリセリン、アルコール、炭酸飲料に用いられる炭酸化剤などを含有することができる。その他に、本発明の組成物は、天然果物ジュース、果物飲料及び野菜飲料の製造のための果肉を含有することができる。これらの成分は、独立して又は組み合わせて用いることができる。これらの添加剤の比率は、それほど重要ではないが、本発明の組成物100重量部当たり0.01～0.1重量部の範囲から選択されるのが一般的である。

40

#### 【0033】

さらに他の態様として、本発明は、ハリグワ抽出物及びヨクイニン抽出物を含む肥満抑制又は血糖降下用のハリグワ及びヨクイニン錠剤を提供する。本発明の錠剤は、肥満抑制及び血糖降下効果を同時に提供できることが好ましい。

#### 【0034】

前記錠剤は、紅参、高麗人参、山薬、桑葉、ケンボナシの実、ケンボナシの幹、ケンボナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆 からの群から選択される少なくとも1つの生薬材を含むことが好ましい。

#### 【0035】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤、並びにハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する

50

際に主材料として用いるハリグワ及びヨクイニンは、葉、幹、実から選択される少なくとも1つの成分を粉末状に加工したものをを用いることができる。粉末状への加工は当業界で公知の方法により制限なく行うことができるが、その例として、粉碎機で粉碎して粉末状に加工することができる。また、粉碎機で粉碎した後にメッシュ(mesh)を用いてより粉末化することができる。好ましくは40～100メッシュに粉末化した粉末を用いることができる。

#### 【0036】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤、並びにハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に主材料として用いるハリグワ及びヨクイニンは、葉、幹、実から選択される少なくとも1つの成分を溶媒に入れ、それから抽出して得たハリグワ及びヨクイニン抽出物を濾過し、その後噴霧乾燥して固相とし、その固相のハリグワ及びヨクイニンを粉末状に加工したものをを用いることができる。粉末状への加工は当業界で公知の方法により制限なく行うことができるが、その例として、粉碎機で粉碎して粉末状に加工することができる。また、粉碎機で粉碎した後にメッシュを用いてより粉末化することができる。好ましくは10～100メッシュ、より好ましくは40～100メッシュに粉末化した粉末を用いることができる。

#### 【0037】

以下、本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤、並びにハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に用いるハリグワ及びヨクイニンは、粉末状のハリグワ及びヨクイニンであると定義する。

#### 【0038】

また、前記ハリグワ及びヨクイニンは、1～20mm、好ましくは1～15mm、より好ましくは1～10mm、さらに好ましくは1～5mmの所定のサイズに切断したものをを用いることができる。

#### 【0039】

本発明において、前記ハリグワ及びヨクイニンは、溶媒として精製水又はエタノール(ethanol)を用いて抽出物を得ることができる。前記エタノールは、好ましくは50%～100%濃度のエタノール、より好ましくは70%濃度のエタノールを用いることができる。前記溶媒として精製水を用いる場合は、ハリグワ及びヨクイニンの重量に対して3～50倍量の精製水、好ましくは3～30倍量の精製水にハリグワ及びヨクイニンを入れ、90～110℃で初期の精製水含有量が10～50%となるように抽出してハリグワ及びヨクイニン抽出物を得ることができる。前記溶媒としてエタノールを用いる場合は、ハリグワ及びヨクイニンの重量に対して3～50倍量、好ましくは3～10倍量のエタノールにハリグワ及びヨクイニンを入れ、50～60℃で1～5時間抽出してハリグワ及びヨクイニン抽出物を得ることができる。

#### 【0040】

前記ハリグワ及びヨクイニン抽出物は、波長が1mm～1mのマイクロ波(microwave)の存在下、50～60℃の溶媒、1～2時間の条件で抽出して得ることができ、ここでの溶媒は前述した精製水又はエタノールを用いることができる。

#### 【0041】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に、副材料として紅参、高麗人参、山薬、桑葉、ケンボナシの実、ケンボナシの幹、ケンボナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子、黄耆、白朮、白茯苓、熟地黄、芍薬、川芎、当帰及び肉桂から選択される少なくとも1つの生薬材を用いることができ、好ましくは2種以上の生薬材を用いることができる。本発明の具体的な実施例においては、2種の生薬材を含有させて錠剤を製造した。

#### 【0042】

本発明において、ハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に用いる副材料の生薬材は粉末状で用いることができ、生薬材の粉末化工程は前述したハリグワ及びヨクイニンを粉末化する工程で行うことができる。

## 【0043】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に、ハリグワ及びヨクイニン100重量部に対して生薬材10～50重量部を含有させてもよい。本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に、ハリグワ及びヨクイニン100重量部に対して生薬材10重量部未満を用いると、生薬材の機能性発現が微小で、50重量部を超えて生薬材を用いると、生薬材の含有量増加に伴う生薬材の機能性向上が微小になるので、本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤、並びにハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に、ハリグワ及びヨクイニン100重量部に対して生薬材10～50重量部を含むことが好ましい。

## 【0044】

本発明は、ハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に、錠剤の機能性を向上させるために、ハリグワ、ヨクイニン及び生薬材以外に、ビタミン(vitamin)、糖類(saccharide)、スクアレン(Squalene)、タウリン(taurine)、ハーブ(herb)、オクタコサノール(Octacosanol)、アルギン酸ナトリウム(Sodium Alginate)からなる群から選択される少なくとも1つの機能性物質をさらに含有させてもよく、好ましくは2種以上の機能性物質を用いることができる。本発明の具体的な実施例によれば、2種以上の機能性物質を含有させて錠剤を製造した。

10

## 【0045】

上記の場合、機能性物質はビタミンを用いることができ、ここでハリグワ及びヨクイニン100重量部に対してビタミン1～5重量部を用いることができる。前記ビタミンは、ビタミンD、ビタミンB1、ビタミンB2、ビタミンB6、ビタミンB12、ビタミンB13、ビタミンC、ビオチン、葉酸、コリン、イノシトール、ビタミンL、ビタミンPから選択される少なくとも1つを用いることができる。

20

## 【0046】

上記の場合、機能性物質は糖類を用いることができ、ここでハリグワ及びヨクイニン100重量部に対して糖類1～10重量部を用いることができる。前記糖類は、乳糖、オリゴ糖、砂糖、果糖、ブドウ糖、デキストリン、キシリトール、エリトリトール、パラチノース、マンニトール、マルチトール、イノシトール、クエルシトールから選択される少なくとも1つを用いることができる。

## 【0047】

上記の場合、機能性物質はハーブを用いることができ、ここでハリグワ及びヨクイニン100重量部に対してハーブ1～10重量部を用いることができる。前記ハーブは、緑茶、ホンダワラ、アロエ、ヨモギ、クロレラ、紅茶、ウーロン茶、アケビ、タラノキ、ハルニレから選択される少なくとも1つを用いることができる。

30

## 【0048】

上記の場合、機能性物質はアルギン酸ナトリウムを用いることができ、ここでハリグワ及びヨクイニン100重量部に対してアルギン酸ナトリウム1～5重量部を用いることができる。

## 【0049】

上記の場合、機能性物質は、ビタミン(vitamin)、糖類(saccharide)、スクアレン(Squalene)、タウリン(taurine)、ハーブ(herb)、オクタコサノール(Octacosanol)、アルギン酸ナトリウム(Sodium Alginate)から選択される2種以上をそれぞれの含有量で用いることができる。

40

## 【0050】

また、本発明は、ハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に、錠剤の機能性を向上させるために、二次機能性物質であるコロハ種子(Fenugreek seed)の粉末又はカラムシの葉(ramie leaf)の粉末をさらに含有させて用いることができる。

## 【0051】

前記二次機能性物質は、ハリグワ及びヨクイニン100重量部に対してコロハ種子の粉末0.5～10重量部、又はカラムシの葉の粉末0.5～10重量部をさらに含んでもよい。また、前記二次機能性物質は、二次機能性物質の重量に対して3～30倍の精製水に

50

添加し、90～110℃で初期の精製水の体積に対して5～50%、好ましくは5～35%、より好ましくは5～30%、さらに好ましくは5～25%となるように抽出し、その後濾過して噴霧乾燥方法により粉末化し、次いで粒子サイズを10～100メッシュ(mesh)に調節したものを用いることができる。

#### 【0052】

さらに他の態様として、本発明は、(a) ハリグワ及びヨクイニン100重量部に対して紅参、高麗人参、山薬、桑葉、ケンボナシの実、ケンボナシの幹、ケンボナシの葉、甘草、桂皮、黄連、覆盆子、菟絲子、蛇床子、枸杞子、五味子及び黄耆からなる群から選択される少なくとも1つの生薬材10～50重量部を混合して混合物を得る段階と、(b) 前記混合物に、ハリグワ及びヨクイニン100重量部に対して機能性物質としてビタミン1～5重量部、糖類1～10重量部、スクアレン0.5～5重量部、タウリン0.5～5重量部、ハーブ1～10重量部、オクタコサノール0.1～5重量部、及びアルギン酸ナトリウム1～5重量部からなる群から選択される少なくとも1つの機能性物質を添加、混合してハリグワ及びヨクイニン、生薬材、並びに機能性物質を混合した混合物を得る段階と、(c) 前記混合物を5～20℃で10～20時間熟成させる段階と、(d) 錠剤機を用いて錠剤を製造する段階と、(e) ヒドロキシプロピルメチルセルロース溶液でコーティングする段階とを含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造方法を提供する。

10

#### 【0053】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際のハリグワ及びヨクイニン錠剤の原料成分の混合は、ハリグワ及びヨクイニン錠剤の原料成分が十分に混合されるように、10～20℃で20～60分間行うことができる。ここで、ハリグワ及びヨクイニン錠剤の原料成分を混合する際に、ハリグワ及びヨクイニンと生薬材を一度に混合することができ、機能性物質をさらに添加する場合は、ハリグワ及びヨクイニン、生薬材、機能性物質を一度に混合するか、又は生薬材、機能性物質を1次混合し、その後ハリグワ及びヨクイニン成分を添加して2次混合することができる。

20

#### 【0054】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に、ハリグワ及びヨクイニン錠剤の原料成分を混合し、その後10～30℃で1～5時間、好ましくは10～20℃で2～4時間、より好ましくは20℃で3時間熟成させることができる。ハリグワ及びヨクイニン錠剤の原料成分は水分含有量がそれぞれ異なるので、ハリグワ及びヨクイニン錠剤の原料成分の水分平衡が達成されるようにし、ハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造をより円滑にするために、上記の条件でハリグワ及びヨクイニン錠剤の原料成分を混合し、その後熟成を行うことが好ましい。

30

#### 【0055】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤、並びにハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に用いる賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤から選択される少なくとも1つを含んでもよい。

#### 【0056】

本発明のハリグワ及びヨクイニン錠剤、並びにハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に用いる賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤から選択される少なくとも1つを、ハリグワ及びヨクイニン100重量部に対して0.1～5重量部含んでもよい。

40

#### 【0057】

上記の場合、賦形剤の一例として、乳糖、デンプン、セルロース、微細結晶セルロースから選択される少なくとも1つを用いることができる。

#### 【0058】

上記の場合、結合剤の一例として、スターチ、デキストリン、蜂蜜、シロップ剤、セルロースから選択される少なくとも1つを用いることができる。

#### 【0059】

上記の場合、崩壊剤の一例として、結晶セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム塩、メチルセルロースから選択される少なくとも1つを用いることがで

50

きる。

【0060】

上記の場合、滑沢剤の一例として、ステアリン酸マグネシウム、グリセリルベヘネート、タルク、植物硬化油から選択される少なくとも1つを用いることができる。

【0061】

前述した賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤は錠剤を製造する際に用いる成分であるので、本発明においてこれらの成分を用いる場合は、当業者が適宜選択して適用することができる。

【0062】

また、前記ハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造する際に、錠剤機を用いてハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造し、その後ハリグワ及びヨクイニン錠剤の表面をコーティングすることにより、表面がコーティングされたハリグワ及びヨクイニン錠剤を得ることができる。ここで、錠剤の表面にコーティングするコーティング剤は、人体に有害でなく、食品関連分野においてコーティング剤として用いられるものであればいかなるものでもよく、このようなコーティング剤の一例として、ヒドロキシプロピルメチルセルロース (Hydroxypropyl methyl cellulose, HPMC)、シェラック (Shellac)、ゼラチン (gelatin)、アラビアガム (Arabic Gum)、カカオ (cacao)、レシチン (lecitin) を用いて錠剤の表面にコーティングすることができ、より好ましくはヒドロキシプロピルメチルセルロース 0.3% を溶液として用いる。

【0063】

前記ハリグワ及びヨクイニン錠剤の表面にコーティング剤でコーティングする際に、スプレー (spray) などの噴霧装置を用いて前記コーティング剤でハリグワ及びヨクイニン錠剤の表面をコーティングすることができる。一方、ハリグワ及びヨクイニン錠剤の表面にコーティング剤でコーティングする方法は当業者が適宜選択して適用することができる。

【0064】

さらに他の態様として、本発明は、前記薬剤学的組成物を肥満又は糖尿病患者に投与する段階を含む肥満又は糖尿病治療方法を提供する。

【0065】

本発明において、前記肥満又は糖尿病患者とは、肥満又は糖尿病が発病しているか、発病し得る、ヒトを含む全ての動物を意味し、本発明のハリグワ及びヨクイニン抽出物を含む薬剤学的組成物を肥満又は糖尿病患者に投与することにより、患者を効率的に治療することができる。

【0066】

本発明で使用される用語、「投与」とは、任意の適切な方法で肥満又は糖尿病患者に本発明の薬剤学的組成物を導入することを意味し、投与経路は目的組織に到達させ得るものであれば経口又は非経口の様々な経路を介して投与することができる。

【0067】

本発明の治療方法は、ハリグワ及びヨクイニン抽出物を含む薬剤学的組成物を薬剤学的有効量で投与することを含んでもよい。適切な総1日使用量は、正常な医学的判断の範囲内において担当医により決定され、1回又は数回に分けて投与することができる。しかし、本発明の目的上、特定の患者に対する具体的な治療の有効量は、達成しようとする反応の種類と程度、場合によって異なる製剤が用いられるか否かを初めとする、具体的な組成物、患者の年齢、体重、一般的な健康状態、性別及び食餌、投与時間、投与経路及び組成物の分泌率、治療期間、具体的な組成物と共に又は同時に用いられる薬物などを初めとする様々な因子や、医薬分野で周知の類似の因子に応じて異なる量であることが好ましい。

【0068】

以下、本発明を実施例及び試験例により詳細に説明する。ただし、下記実施例及び実験例は本発明を例示するものにすぎず、本発明の内容が下記実施例及び実験例に限定されるものではない。

## 【実施例 1】

## 【0069】

抗肥満及び抗糖尿病天然物素材の選抜 本草学及び東医宝鑑などの資料において肥満と糖尿病の処方と共通に用いられ、食品として許容される天然物約60種を検討した。そのうち、ATP citrate lyase 活性阻害（抗肥満）と $H_2O_2$ による膵島（pancreatic islets）の酸化的損傷抑制（抗糖尿病）を同時に示す天然物15種を選抜して調査した。

## 【0070】

本実験に試料として用いられた蘇葉、冬瓜、黄連、木通、南瓜、竹葉、地骨皮、独活、桑枝、山茱萸、五味子、黄耆、ヨクイニン、ハリグワ、ブロッコリーは京東市場で購入した。全ての生薬材は45℃で熱風乾燥し、乾燥した各試料は粉碎機（M20, IKA, Germany）を用いて粉碎し、次いで0.2mm PE フィルムに密封包装して冷凍庫に保管して用いた。

10

## 【実施例 2】

## 【0071】

ATP-citrate lyase 活性阻害（抗肥満）効果の測定 実施例1で選択された天然物15種のATP-citrate lyase 活性阻害（抗肥満）効果を確認するために、下記の通り実験を行った。

## 【0072】

12週齢の雄SDラットに高濃度糖の食餌（63%スクロース、30%カゼイン、4%塩混合物、2%セルロース粉末、1%ビタミン混合物、及び0.1%塩化コリン（choline chloride））を3日間与えた。3日後に雄ラットを頸椎脱臼（cervical dislocation）させて犠牲にし、肝臓を分離して氷で冷却されたバッファ（0.25Mスクロース、50mM Tris-HCl、pH8.2、10mM  $MgCl_2$ 、5mM DTT（dithiothreitol）、及び0.1mM PMSF（phenylmethylsulfonyl fluoride））で破碎した。次に、40%飽和硫酸アンモニウム溶液に沈殿させて4℃、17,500×gで15分間分離した上澄液を濾過及び高速遠心分離（4℃、100,000gで1時間）し、再分画したものを-80℃で保管してATP-citrate lyase 試料として用いた。前記雄ラットの肝臓のATP citrate lyase 活性は、NADHによるoxaloacetateのmalate dehydrogenase-catalyzed reductionで測定して活性を分析した。

20

30

## 【実施例 3】

## 【0073】

膵島細胞の酸化的損傷抑制（抗糖尿病）効果の測定 実施例1で選択された天然物15種の膵島（pancreatic islets）の酸化的損傷抑制（抗糖尿病）効果を測定するために、下記の通り実験を行った。

## 【0074】

ラットの膵臓を分離して37℃で15分間コラゲナーゼV溶液（2mg/ml）で処理し、冷たいKrebs-ringer bicarbonate バッファを加えて分解を停止させた。同じバッファで3回洗浄した後、立体顕微鏡（stereomicroscope）を用いて膵島（islets）を分離（handpicking）した。分離した細胞は、10%ウシ胎児血清（fetus calf serum）、100U/ml ペニシリン、及び100/ml ストレプトマイシンが添加されたRPMI 1640において37℃、95% $O_2$ 及び5% $CO_2$ の条件で24時間培養した。膵島を96ウェルプレートで150µl RPMI 1640 培地において10 islets/well の濃度となるように一晩前培養（preincubation）した。前培養後に実施例1で準備した天然物試料を各ウェルに入れて37℃で48時間培養し、前記各ウェルに500µM  $H_2O_2$ を入れてさらに2時間培養し、次いで10µl MTT 溶液を加えて37℃で4時間さらに培養した。上澄液（Supernatant）を捨て、100µl DMSO（dinethylsulphoxide）を入れて高発色反応物（dark blue crystal formazan）を完全に溶解し、570nmで吸光度を測定して膵島の酸化的損傷抑制活性を分析した。

40

50

## 【0075】

実施例2及び実施例3で測定した結果から、天然物60種のうち、ATP citrate lyaseとH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による膵島細胞死滅抑制活性に優れた天然物15種のIC<sub>50</sub>の測定結果を下記表1に示す。

## 【0076】

【表1】

| グループ        | ATP citrate<br>lyase<br>(抗肥満) | Islets<br>apoptosis<br>(抗糖尿病) |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|
| H1 (蘇葉)     | 23.6±2.4 <sup>b</sup>         | 61.2±3.5 <sup>e</sup>         |
| H2 (冬瓜)     | 10.6±1.5 <sup>a</sup>         | 60.9±4.2 <sup>e</sup>         |
| H3 (黄連)     | 37.4±2.4 <sup>cd</sup>        | 57.3±4.3 <sup>de</sup>        |
| H4 (木通)     | 40.7±3.4 <sup>cd</sup>        | 55.9±3.0 <sup>de</sup>        |
| H5 (南瓜)     | 10.4±1.5 <sup>a</sup>         | 15.0±1.8 <sup>ab</sup>        |
| H6 (ブロッコリー) | 39.0±2.6 <sup>cd</sup>        | 43.4±2.4 <sup>cd</sup>        |
| H7 (竹葉)     | 35.2±3.4 <sup>cd</sup>        | 19.5±3.9 <sup>b</sup>         |
| H8 (地骨皮)    | 34.9±2.5 <sup>c</sup>         | 49.3±4.5 <sup>d</sup>         |
| H9 (独活)     | 39.1±2.5 <sup>cd</sup>        | 16.1±2.3 <sup>ab</sup>        |
| H10 (桑枝)    | 44.1±3.6 <sup>d</sup>         | 39.9±4.1 <sup>c</sup>         |
| H11 (山茱萸)   | 10.3±1.6 <sup>a</sup>         | 49.8±5.5 <sup>d</sup>         |
| H12 (五味子)   | 27.9±2.5 <sup>b</sup>         | 43.7±6.6 <sup>cd</sup>        |
| H13 (黄耆)    | 41.1±3.6 <sup>d</sup>         | 19.9±3.1 <sup>b</sup>         |
| H14 (ヨクイニン) | 10.2±1.8 <sup>a</sup>         | 14.8±2.2 <sup>b</sup>         |
| H15 (ハリグワ)  | 9.8±1.6 <sup>a</sup>          | 10.7±1.6 <sup>a</sup>         |

## 【0077】

その結果、表1に示すように、15種の天然物試料のうち、H5 (南瓜)、H14 (ヨクイニン)、及びH15 (ハリグワ)の天然物はATP citrate lyase及びH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による膵島細胞死滅抑制活性に優れ、H2とH11はATP citrate lyase抑制活性に優れ、H9はH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による膵島細胞死滅抑制活性に優れることが確認された。

## 【0078】

ATP citrate lyaseとH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による膵島細胞死滅抑制活性に最も優れるH14とH15をそれぞれ単独で又は同量配合した試料を用いてATP citrate lyaseとH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による膵島細胞死滅抑制活性を測定し、その結果を下記表2に示す。

## 【0079】

【表 2】

| グループ        | ATP citrate<br>lyase<br>(抗肥満) | Islets<br>apoptosis<br>(抗糖尿病) |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|
|             |                               |                               |
| H14 (ヨクイニン) | 10.2 ± 1.8 <sup>a</sup>       | 14.8 ± 2.2 <sup>b</sup>       |
| H15 (ハリグワ)  | 9.8 ± 1.6 <sup>a</sup>        | 10.7 ± 1.6 <sup>a</sup>       |
| H14+H15     | 7.8 ± 1.4 <sup>a</sup>        | 9.6 ± 1.3 <sup>a</sup>        |

## 【0080】

その結果、表 2 に示すように、ATP citrate lyase と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による膵島細胞死滅抑制活性は、H14 (ヨクイニン) と H15 (ハリグワ) をそれぞれ単独で用いた場合よりも同量配合して用いた場合に著しく増加することが確認された。これらの結果から、肥満と糖尿病を同時に抑制できる 2 種の機能素材 (H14, H15) であるハリグワ及びヨクイニンを選抜した。

10

## 【0081】

前記 H14 及び H15 配合物を糖尿病食品専門流通業社と共同で糖尿病患者 12 人に 2 カ月間摂取させた結果、血糖が 10% 減少することが確認された。これらの結果は、ハリグワ及びヨクイニン同時配合物が抗糖尿病に効果があることを示唆するものである。また、表 1 及び表 2 の結果は、ハリグワ及びヨクイニン同時配合物が抗肥満及び抗糖尿病に効果があることを示唆している。

20

## 【実施例 4】

## 【0082】

精製水で抽出したハリグワ及びヨクイニン抽出物の製造 ハリグワ及びヨクイニンを日陰で自然乾燥し、次いで粉碎機で粉碎し、粒度サイズが 80 メッシュ (mesh) のハリグワ及びヨクイニンそれぞれの粉末 20 g をハリグワ及びヨクイニン粉末の重量に対して 50 倍量の 1 L 精製水に添加し、沸騰させて 2 時間抽出してハリグワ及びヨクイニン抽出物を得た。前記ハリグワ及びヨクイニン抽出物を濃縮し、その後真空凍結乾燥してハリグワ及びヨクイニンそれぞれの抽出粉末を得た。

## 【実施例 5】

## 【0083】

エタノールで抽出したハリグワ及びヨクイニン抽出物の製造 ハリグワ及びヨクイニンを日陰で自然乾燥し、次いで粉碎機で粉碎し、粒度サイズが 80 メッシュ (mesh) のハリグワ及びヨクイニンそれぞれの粉末 20 g をハリグワ及びヨクイニン粉末の重量に対して 50 倍量の 1 L の 70% エタノールに添加し、80℃で 2 時間抽出してハリグワ及びヨクイニン抽出物を得た。前記ハリグワ及びヨクイニン抽出物を濃縮し、その後真空凍結乾燥してハリグワ及びヨクイニンそれぞれの抽出粉末を得た。

30

## 【0084】

実施例 4 及び実施例 5 において精製水又は 70% エタノールで製造したハリグワ及びヨクイニン抽出物の収率を測定し、3 回繰り返し実験を行った結果を下記表 3 に示す。

## 【0085】

40

【表 3】

|                               | 収率%   |          |
|-------------------------------|-------|----------|
|                               | 溶媒    |          |
|                               | 水     | 70%エタノール |
| ヨクイニン (Alday)                 | 31.71 | 2.86     |
| ハリグワ (Curdrania tricuspidata) | 22.41 | 21.12    |

## 【0086】

その結果、表 3 に示すように、ハリグワ及びヨクイニンを精製水で抽出した場合、ハリ

50

グワは22.41%、ヨクイニンは31.72%の収率でそれぞれの抽出粉末を得た。エタノールで抽出した場合、ハリグワは21.12%、ヨクイニンは2.86%の収率でそれぞれの抽出粉末を得た。

【実施例6】

【0087】

精製水で抽出したハリグワ及びヨクイニン抽出物精製粉末の製造方法　ハリグワ及びヨクイニンを日陰で自然乾燥し、次いで粉碎機で粉碎し、粒度サイズが80メッシュ(mesh)のハリグワ及びヨクイニン粉末をハリグワ及びヨクイニン粉末の重量に対して50倍量の精製水に添加し、波長が500±5mmのマイクロ波の存在下、100℃で1時間抽出してハリグワ及びヨクイニン抽出物を得た。前記ハリグワ及びヨクイニン抽出物を噴霧乾燥し、その後粒度サイズを調節して粒度サイズが80メッシュのハリグワ及びヨクイニン粉末を得た。

10

【実施例7】

【0088】

生薬材である山薬、桑葉を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造　ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例6で得たものを用いた。

【0089】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末100重量部に対して山薬27重量部、桑葉9重量部、キシリトール4重量部、ビタミンC 3.8重量部、オクタコサノール1重量部、及びステアリン酸マグネシウム0.2重量部を20℃で40分間ホバートミキサーで1次混合し、その後ハリグワ及びヨクイニン粉末を添加して均等に混合した。ここで、山薬、桑葉、キシリトール、ビタミンC、オクタコサノール及びステアリン酸マグネシウムは全てそれぞれ粉碎機で粉碎してハリグワ及びヨクイニン粉末と同じ粒度サイズに調節したものを用いた。

20

【0090】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末が含まれる混合物を20℃で3時間熟成させ、錠剤機を用いて圧力8kg/cm<sup>2</sup>、瞬間温度80℃で錠剤し、1個当たりの重量が0.3gのハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

【0091】

前記ハリグワ及びヨクイニン錠剤の表面にヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)3%溶液でスプレー(spray)コーティングして表面がHPMCでコーティングされたハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

30

【実施例8】

【0092】

生薬材である甘草、桂皮を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造　ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例6で得たものを使用した。

【0093】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末100重量部に対して甘草27重量部、桂皮9重量部、キシリトール4重量部、ビタミンC 3.8重量部、オクタコサノール1重量部、及びステアリン酸マグネシウム0.2重量部を含有させて実施例7と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

40

【実施例9】

【0094】

生薬材である黄連、黄耆を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造　ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例6で得たものを使用した。

【0095】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末100重量部に対して黄連27重量部、黄耆9重量部、キシリトール4重量部、ビタミンC 3.8重量部、オクタコサノール1重量部、及びステアリン酸マグネシウム0.2重量部を含有させて実施例7と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

50

## 【実施例 10】

## 【0096】

生薬材である白朮、白茯苓を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例 6 で得たものを使用した。

## 【0097】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末 100 重量部に対して白朮 27 重量部、白茯苓 9 重量部、キシリトール 4 重量部、ビタミン C 3.8 重量部、オクタコサノール 1 重量部、及びステアリン酸マグネシウム 0.2 重量部を含有させて実施例 7 と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

## 【実施例 11】

## 【0098】

生薬材である熟地黄、芍薬を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例 6 で得たものを使用した。

## 【0099】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末 100 重量部に対して熟地黄 27 重量部、芍薬 9 重量部、キシリトール 4 重量部、ビタミン C 3.8 重量部、オクタコサノール 1 重量部、及びステアリン酸マグネシウム 0.2 重量部を含有させることを除いて実施例 7 と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

## 【実施例 12】

## 【0100】

生薬材である山薬、桑葉、及び二次機能性物質であるコロハ種子を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例 6 で得たものを使用した。

## 【0101】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末 100 重量部に対して山薬 27 重量部、桑葉 9 重量部、キシリトール 4 重量部、ビタミン C 3.8 重量部、オクタコサノール 1 重量部、ステアリン酸マグネシウム 0.2 重量部、及びコロハ種子 3 重量部をさらに含有させて実施例 7 と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

## 【実施例 13】

## 【0102】

生薬材である山薬、桑葉、及び二次機能性物質であるカラムシの葉を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例 6 で得たものを使用した。

## 【0103】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末 100 重量部に対して山薬 27 重量部、桑葉 9 重量部、キシリトール 4 重量部、ビタミン C 3.8 重量部、オクタコサノール 1 重量部、ステアリン酸マグネシウム 0.2 重量部、及びカラムシの葉 2.5 重量部をさらに含有させて実施例 7 と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

## 【実施例 14】

## 【0104】

エタノールで抽出したハリグワ及びヨクイニン抽出物精製粉末の製造方法 ハリグワ及びヨクイニンを日陰で自然乾燥し、次いで粉碎機で粉碎し、粒度サイズが 80 メッシュ (mesh) のハリグワ及びヨクイニン粉末をハリグワ及びヨクイニン粉末の重量に対して 50 倍量の 70 % 濃度のエタノールに添加し、波長が 500 ± 5 nm のマイクロ波の存在下、80 °C で 2 時間抽出して減圧濃縮し、エタノールを除去したハリグワ及びヨクイニン抽出物を得た。前記ハリグワ及びヨクイニン抽出物を噴霧乾燥し、その後粒度サイズを調節して粒度サイズが 80 メッシュのハリグワ及びヨクイニン粉末を得た。

## 【実施例 15】

## 【0105】

生薬材である山薬、桑葉を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例 14 で得たものを使用した。

## 【0106】

10

20

30

40

50

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末100重量部に対して山薬27重量部、桑葉9重量部、キシリトール4重量部、ビタミンC 3.8重量部、オクタコサノール1重量部、及びステアリン酸マグネシウム0.2重量部を含有させて実施例7と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

【実施例16】

【0107】

生薬材である甘草、桂皮を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例14で得たものを使用した。

【0108】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末100重量部に対して甘草27重量部、桂皮9重量部、キシリトール4重量部、ビタミンC 3.8重量部、オクタコサノール1重量部、及びステアリン酸マグネシウム0.2重量部を含有させて実施例7と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

10

【実施例17】

【0109】

生薬材である黄連、黄耆を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例14で得たものを使用した。

【0110】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末100重量部に対して黄連27重量部、黄耆9重量部、キシリトール4重量部、ビタミンC 3.8重量部、オクタコサノール1重量部、及びステアリン酸マグネシウム0.2重量部を含有させて実施例7と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

20

【実施例18】

【0111】

白朮、白茯苓を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例14で得たものを使用した。

【0112】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末100重量部に対して白朮27重量部、白茯苓9重量部、キシリトール4重量部、ビタミンC 3.8重量部、オクタコサノール1重量部、及びステアリン酸マグネシウム0.2重量部を含有させて実施例7と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

30

【実施例19】

【0113】

生薬材である熟地黄、芍薬を含むハリグワ及びヨクイニン錠剤の製造 ハリグワ及びヨクイニン粉末は実施例14で得たものを使用した。

【0114】

前記ハリグワ及びヨクイニン粉末100重量部に対して熟地黄27重量部、芍薬9重量部、キシリトール4重量部、ビタミンC 3.8重量部、オクタコサノール1重量部、及びステアリン酸マグネシウム0.2重量部を含有させることを除いて実施例7と同様の方法でハリグワ及びヨクイニン錠剤を製造した。

40

【0115】

試験例1：官能検査

実施例7～実施例11で製造したそれぞれのハリグワ及びヨクイニン錠剤に対して味、香り、色、外観、歯触り、嗜好度などの官能検査を9点尺度で行い、その結果を下記表4に示す。前記官能検査は、食品関連分野に3年以上従事し、官能検査の経験を有する男女20人（男女それぞれ10人）が測定した。その結果を下記表4に示す。

【0116】

【表 4】

| 処理群    | 味    | 香り   | 色    | 外観   | 歯触り  | 嗜好度  |
|--------|------|------|------|------|------|------|
| 実施例 7  | 7. 7 | 7. 6 | 7. 7 | 7. 9 | 7. 7 | 7. 7 |
| 実施例 8  | 8. 3 | 8. 5 | 8. 6 | 8. 4 | 8. 7 | 8. 5 |
| 実施例 9  | 8. 2 | 8. 3 | 8. 2 | 8. 2 | 7. 8 | 8. 1 |
| 実施例 10 | 8. 3 | 8. 5 | 8. 4 | 8. 5 | 8. 5 | 8. 3 |
| 実施例 11 | 8. 2 | 8. 4 | 8. 1 | 8. 0 | 8. 3 | 8. 3 |

【0117】

10

表 4 において、官能検査の項目に対する各数値は、官能検査者の点数の合計を官能検査者数で割り、小数点第 2 位を四捨五入した値であり、官能検査項目の数値が高いほど官能性に優れることを意味する。

【0118】

官能検査の結果、表 4 に示すように、実施例 7～実施例 11 で製造したハリグワ及びヨクイニン錠剤の味、香り、色、外観、歯触り、全体的な嗜好度は大半が 7 点台を超え、官能性に優れることが確認された。

【0119】

試験例 2：ハリグワ及びヨクイニン抽出物の血糖降下効果の測定

実施例 4 及び実施例 5 で製造したハリグワ及びヨクイニン抽出物の経口ブドウ糖負荷に及ぼす効果を測定し、その結果を下記表 5 に示す。

20

【0120】

【表 5】

| 試料                            | 血糖濃度 (min, mg/dL) |            |            |            |            |                    |
|-------------------------------|-------------------|------------|------------|------------|------------|--------------------|
|                               | 0                 | 30         | 60         | 90         | 120        | 血糖上昇 <sup>1)</sup> |
| ハトムギ (水)                      | 127.9±19.2        | 349.8±33.9 | 295.1±46.1 | 197.1±51.7 | 161.4±48.8 | 33.5±37.2<br>(26)  |
| ハトムギ<br>(エタノール) <sup>3)</sup> | —                 | —          | —          | —          | —          | —                  |
| ハリグワ (水)                      | 120.8±25.8        | 279.3±45.8 | 237.4±44.6 | 167.0±32.1 | 151.1±31.9 | 30.3±27.4<br>(25)  |
| ハリグワ<br>(エタノール)               | 121.4±11.3        | 276.1±43.7 | 221.7±56.2 | 170.5±47.2 | 148.8±35.7 | 27.4±35.3<br>(23)  |
| ブドウ糖                          | 116.6±20.9        | 267.7±45.3 | 242.4±47.2 | 187.7±32.3 | 162.0±29.1 | 45.4±24.6<br>(39)  |

注) 動物：ICR mouse (ave. body wt., 28 g)

ブドウ糖投与量：2 g/kg bw, 試料投与用量：500 mg/kg bw

<sup>1) 2)</sup> 120 分 (0 min vs 120 min) の血糖上昇値 (mg/dL), 血糖上昇率 (%)

40

<sup>3)</sup> 試料不足による未公示 <sup>ns</sup> not significant

【0121】

表 5 に示すように、ハリグワ及びヨクイニン抽出物が対照群であるブドウ糖に比べて血糖上昇率が低く、これによりハリグワ及びヨクイニン抽出物が血糖降下効果に優れることが確認された。

【0122】

試験例 3：ハリグワ及びヨクイニン抽出物の抗肥満効果の測定

50

実施例4及び5で製造したハリグワ及びヨクイニン抽出物の抗肥満効果を測定するために、脂肪前駆細胞である3T3-L1を脂肪細胞に分化させる際に前記抽出物が蓄積される脂肪に及ぼす影響を試験した。具体的な方法は次の通りである。

#### 【0123】

##### 3-1: 3T3-L1脂肪前駆細胞の培養

脂肪前駆細胞の培養は、1% P/S (penicillin-streptomycin) と10% BCS (bovine calf serum) が添加されたDMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) を用いて37℃、5% CO<sub>2</sub>の条件で培養した。培養は3日間隔で行い、細胞は100Φplateの底に約70%培養されたときにPBS (phosphate buffered saline) で洗浄し、その後0.25% trypsin-EDTA溶液を入れて37℃、5% CO<sub>2</sub>の条件で3分間静置し、次いで細胞を脱落させ、継代培養して維持した。

10

#### 【0124】

##### 3-2: 3T3-L1脂肪前駆細胞の分化誘導

脂肪前駆細胞の分化を誘導するために、細胞を10% BCSと1% P/Sが添加されたDMEMを用いて6Well plateの各Wellに1.25×10<sup>5</sup> cells/wellでseedingし、2日後に培地を交換して3~4日目に細胞が完全に融合状態となるようにした。融合状態において、培地を分化誘導培地であるMDI (IBMX, Dexa, Insulin) に交換して分化を誘導した。ここで、ハリグワ及びヨクイニン抽出物試料が脂肪細胞分化に及ぼす影響を観察するために、試料の濃度を1mg/mlとして分化誘導培地に共に処理した。分化誘導2日後に試料、10% FBS、1% P/S、5µl/ml insulinを含むDMEMに培地を交換し、分化誘導4日目からは2日に1回、10% FBSと1% P/Sを含むDMEMに交換して細胞を分化させた。

20

#### 【0125】

##### 3-3: Oil-red O染色

Oil-red O染色及び定量分析は、分化誘導して7~9日目の細胞を用いて行った。10% FBS DMEMを除去し、その後細胞をPBSで2回洗浄し、10% formalinを用いて4℃で1時間固定し、次いで蒸留水で3回洗浄した。洗浄された細胞は、細胞内に生成されたlipid dropletと特異的に反応するoil-red O溶液で1時間染色した。染色後に、染色液を除去して蒸留水を用いて3回洗浄し、次いで蒸留水をwellに加えて顕微鏡で観察した。中性脂肪の定量は、蒸留水を除去して完全に乾燥させたwellに100% isopropyl alcoholを2ml添加してoil-red Oを再び溶出させ、その後ELISA readerを用いて490nmで吸光度を測定した。

30

#### 【0126】

それぞれの試料が3T3-L1脂肪細胞 (adipocytes) の分化の際に蓄積される脂肪に及ぼす影響を確認するために、分化誘導培地に各試料を1mg/mlの濃度で希釈してOil-red O stainingを行った結果、ハトムギ (ヨクイニン) エタノール抽出物は対照群に比べて92.9%の脂肪蓄積を示し、ハリグワ水抽出物は60.9%を示し、ハリグワエタノール抽出物は20.5%と最も低かった (表6)。

#### 【0127】

これらの結果は、ヨクイニン抽出物及びハリグワ抽出物が肥満に直接関与する脂肪細胞の分化を抑制することを裏付ける結果であり、ヨクイニン抽出物及びハリグワ抽出物に抗肥満効果があることを示唆するものである。

40

#### 【0128】

【表 6】

| サンプル         | 脂質蓄積 (%) |
|--------------|----------|
| ハリグワ水抽出物     | 60.9     |
| ハリグワエタノール抽出物 | 20.5     |
| ハトムギ水抽出物     | 88.7     |
| ハトムギエタノール抽出物 | 92.9     |

\*濃度：1mg/ml

【0129】

10

製造例 1：ハリグワ及びヨクイニン錠剤製品の製造

原料 1kg を基準にハリグワ抽出粉末 40% (400g)、ヨクイニン抽出粉末 40% (400g)、デキストリン 12% (120g)、ビタミンC 5% (50g) を混合し、その後 HPMC 3% (20g) を配合してハリグワ及びヨクイニン錠剤製品を製造した (表 7)。

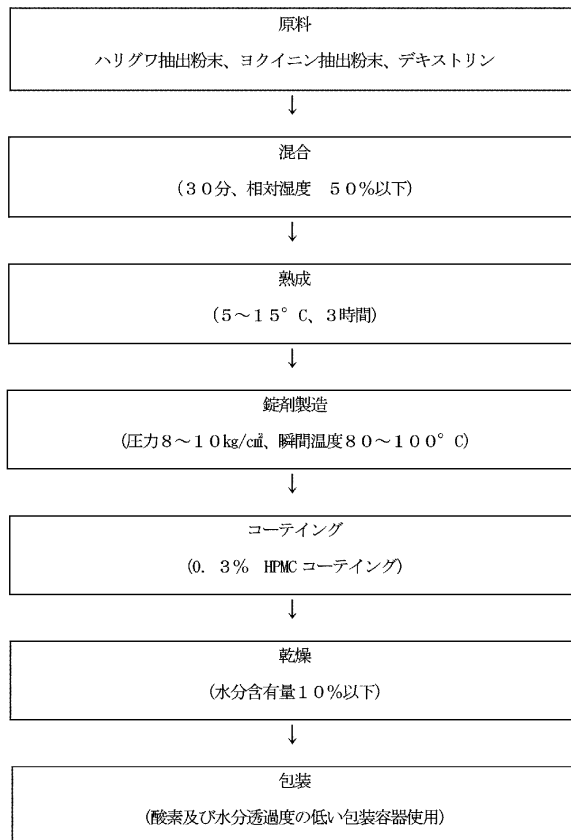
【0130】

【表 7】

| 原料        | 比率% (g)    |
|-----------|------------|
| ハリグワ抽出粉末  | 40 (400)   |
| ヨクイニン抽出粉末 | 40 (400)   |
| デキストリン    | 12 (120)   |
| ビタミンC     | 5 (50)     |
| HPMC      | 3 (30)     |
| 合計        | 100 (1000) |

20

【図 1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
**A 6 1 K** 9/30 (2006.01) A 6 1 K 9/30  
**A 6 1 K** 47/38 (2006.01) A 6 1 K 47/38  
**A 2 3 L** 1/30 (2006.01) A 2 3 L 1/30 B

(72)発明者 ド, ジョン リョン  
 大韓民国 449-130 キョンギード、ヨンギンシー、サンヒョンードン、859、マンヒョ  
 シン マウル ロッテ アパート、107-502

(72)発明者 ハン, チャンーギュ  
 大韓民国 446-560 キョンギード、ヨンギンシー、ギフンードン、マブクードン、621  
 、ギョドン マウル サンヨン アパート、105-1401

審査官 鶴見 秀紀

(56)参考文献 韓国公開特許第2004-0055938 (KR, A)  
 韓国登録特許第0815212 (KR, B1)  
 韓国公開特許第2009-0075343 (KR, A)  
 特開2004-161656 (JP, A)  
 特開2007-252329 (JP, A)  
 特開2004-217532 (JP, A)  
 特表2001-506589 (JP, A)  
 特開2006-199647 (JP, A)  
 国際公開第2009/133458 (WO, A1)  
 特開2007-277128 (JP, A)  
 国際公開第2009/149585 (WO, A1)  
 国際公開第2008/143182 (WO, A1)  
 特表2006-517583 (JP, A)  
 特開2003-261455 (JP, A)  
 特開2005-154281 (JP, A)  
 特開平11-180884 (JP, A)  
 Woong Yang Park et al, Hypoglycemic effect of Cudrania tricuspidata root bark, Korean  
 Journal of Pharmacognosy, 2001年, Vol.32, No.3, pp.248-252, (abstract)[online]STN,  
 EMBASE, AN.2001402273  
 J. Korean Oriental Med., 2002年, Vol.23, No.1, pp.83-91  
 J. Korean Oriental Med., 2009年, Vol.30, No.1, pp.17-25

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 A 6 1 K 36/00-36/9068  
 A 2 3 L 1/30  
 A 6 1 K 9/30  
 A 6 1 K 47/38  
 A 6 1 P 3/04  
 A 6 1 P 3/10  
 CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)  
 JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII)