

(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2014-201567

(P2014-201567A)

(43) 公開日 平成26年10月27日(2014.10.27)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>A61K 36/18 (2006.01)</b>	A 61 K 35/78	C 4 C O 8 8
<b>A61P 43/00 (2006.01)</b>	A 61 P 43/00	1 1 1
<b>A61P 3/04 (2006.01)</b>	A 61 P 3/04	
<b>A61P 9/00 (2006.01)</b>	A 61 P 9/00	
<b>A61P 9/10 (2006.01)</b>	A 61 P 9/10	1 O 1

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願2013-80906 (P2013-80906)	(71) 出願人	000000918 花王株式会社 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番1 0号
(22) 出願日	平成25年4月9日(2013.4.9)	(74) 代理人	110000084 特許業務法人アルガ特許事務所
		(74) 代理人	100077562 弁理士 高野 登志雄
		(74) 代理人	100096736 弁理士 中嶋 俊夫
		(74) 代理人	100117156 弁理士 村田 正樹
		(74) 代理人	100111028 弁理士 山本 博人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 G L P - 1 分泌促進剤

## (57) 【要約】

【課題】 優れた G L P - 1 分泌促進作用を有し、且つ安全性が高い医薬品、医薬部外品、食品、飼料及びそれらに配合可能な素材を提供する。

【解決手段】 カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする。

【選択図】 なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする G L P - 1 分泌促進剤。

**【請求項 2】**

カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする食欲抑制剤。

**【請求項 3】**

カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする心機能悪化の予防及び／又は改善剤。

**【請求項 4】**

カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする動脈硬化の予防及び／又は改善剤。

**【発明の詳細な説明】**

10

**【技術分野】****【0 0 0 1】**

本発明は、G L P - 1 (Glucagon-like peptide-1) 分泌促進剤に関する。

**【背景技術】****【0 0 0 2】**

近年、脂質異常症、高血圧症等の生活習慣病が大きな問題となっている。生活習慣病においては、遺伝因子の他、食生活等の生活習慣が発症に寄与すると考えられている。また肥満は、消費カロリー量に対して摂取カロリー量が過剰となることが発生の原因の一つとなっている。これら生活習慣病や肥満を予防、改善するには生活習慣の改善が有効と考えられているが、生理系統を調節して生活習慣病の発症や肥満の予防に有用な素材、特に日常的に摂取できる飲食品として利用可能な素材への期待が高まっている。

20

**【0 0 0 3】**

G L P - 1 は、胃排泄や胃酸分泌の抑制、及び食欲と摂食の抑制等の中権神経系に対する作用を有することが知られ、中権神経系に存在する G L P - 1 受容体を介して食欲と摂食抑制効果が発揮されることが報告されている（非特許文献 1）。従って、G L P - 1 の分泌を高めることは、食欲抑制に有用である。

**【0 0 0 4】**

更に G L P - 1 は、心筋細胞、心内膜、冠動脈の血管内皮細胞や平滑筋に存在する G L P - 1 の受容体を介したシグナル伝達により、心筋細胞内の c A M P を高め心筋収縮力を増強させたり、N O 産生を促して、G L U T 1 を介した糖取り込みを増加させて心機能改善作用を示すことが報告されている。G L P - 1 は、血管内皮細胞上に存在する G L P - 1 R を介したシグナル伝達により血管内皮細胞からの N O 産生を増加させ、血管弛緩反応を改善させることが報告されている（非特許文献 2）。N O 産生の増加には、血小板凝集抑制作用（非特許文献 3）や、血栓形成を促進する因子である P A I 1 を抑制する作用（非特許文献 4）があり、動脈硬化を改善させることが報告されている。また、D a h 1 食塩感受性ラットに G L P - 1 、エキセナチド（G L P - 1 受容体作動薬）アナログを投与（4週間、皮下投与）することにより、収縮期血圧が有意に低下することが報告されている（非特許文献 5）。

30

従って、G L P - 1 の効果を高めることは、心機能改善、動脈硬化改善、高血圧等の生活習慣病の改善に有用である。

40

**【0 0 0 5】**

しかし、G L P - 1 の活性本体はポリペプチドであり、G L P - 1 を経口摂取すると、消化管内で消化酵素により消化・分解され易く、生体内での半減期は非常に短い。そのため、体外から G L P - 1 を投与しても、その血中濃度を一定に保つのは非常に困難である。従って、生体内での G L P - 1 濃度を長時間にわたって高めるためには、体外からの G L P - 1 の投与よりも内因性 G L P - 1 の分泌を促進することが望ましい。

**【0 0 0 6】**

ここで培養系での研究から、G L P - 1 の分泌を促進する物質として、パルミチン酸、オレイン酸、肉加水分解物（M H）、ガストリン放出ペプチド（G R P）、カルバコール、フォルスコリン、イオノマイシン、酢酸ミリスチン酸ホルボール（P M A）、必須アミ

50

ノ酸（EAA）、ロイシン、イソロイシン、スキムミルク、カゼイン、レプチン、ムスカリーン性受容体M1、M2、キラヤ又はその抽出物、リゾホスファチジルイノシトール又はその塩が、これまでに報告されている（非特許文献6～10、特許文献1～2）。

#### 【0007】

一方、カシュウイモは、ヤモノイモ科の植物であり、当該カシュウイモ又はその抽出物はリパーゼ阻害（特許文献3）、血糖降下作用（特許文献4）を有し、糖尿病治療（特許文献5）に有効であることが報告されている。

しかしながら、カシュウイモと、GLP-1分泌促進との関係については知られていない。

#### 【先行技術文献】

10

#### 【特許文献】

#### 【0008】

【特許文献1】特開2012-131742号公報

【特許文献2】国際公開第2012/086406号

【特許文献3】特開2005-8572号公報

【特許文献4】特開2002-154978号公報

【特許文献5】特開平08-325159号公報

#### 【非特許文献】

#### 【0009】

20

【非特許文献1】Eur J Pharmacol, 2002, 440(2-3):269-279

【非特許文献2】医学のあゆみ, 2012, 241(7):507-516

【非特許文献3】Br J Pharmacol. 1987;92:181-187

【非特許文献4】Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1998;18:1771-1779., Eur J Biochem. 2000;267:1001-1007

【非特許文献5】Cardiovascular Diabetology 2010, 9:32

【非特許文献6】Endocrinology, 2001, 142(10):4522-4528

【非特許文献7】Journal of Endocrinology, 2006, 191,159-170

【非特許文献8】Nutrition, 2009, 25(3):340-349

【非特許文献9】Endocrinology, 2003, 144(7):3244-3250

【非特許文献10】Diabetes, 2006, 52(2):252-259

30

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0010】

本発明は、優れたGLP-1分泌促進作用を有し、且つ安全性が高い医薬品、医薬部外品、食品、飼料及びそれらに配合可能な素材を提供することに関する。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0011】

本発明者らは、上記課題を解決すべく研究を行った結果、カシュウイモの抽出物にGLP-1分泌促進作用があることを見出した。

#### 【0012】

40

すなわち、本発明は、下記に係るものである。

(1) カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とするGLP-1分泌促進剤。

(2) カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする食欲抑制剤。

(3) カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする心機能悪化の予防及び／又は改善剤。

(4) カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする動脈硬化の予防及び／又は改善剤。

#### 【発明の効果】

#### 【0013】

本発明のGLP-1分泌促進剤等は、優れたGLP-1分泌促進作用を有し、かつ長期

50

間摂取しても安全性も高いことから、食欲抑制、胃排泄抑制、心機能悪化の予防及び／又は改善、動脈硬化の予防及び／又は改善の効果を発揮し得る医薬品、医薬部外品及び食品、或いはこれらへ配合するための素材又は製剤として有用である。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】カシュウイモの抽出物による、ELISAによりGLP-1分泌を測定した図である。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本発明において、「GLP-1分泌促進」とは、経口摂取した場合に、消化管粘膜上皮の内分泌細胞(L細胞)からのGLP-1分泌を促進すること、あるいは食事、特に脂質を多く含む食事を摂取することで引き起こされる生体内でのGLP-1分泌を促進することをいう。あるいは、主として食後に生じる生体内でのGLP-1分泌に伴う血中GLP-1濃度上昇を増強するか、上昇したGLP-1濃度を維持するか、又は上昇したGLP-1濃度の低下を抑制することをいう。

【0016】

「食欲抑制」とは、食欲ないしは摂食量の低下、それに伴う体重増加の抑制をいう。当該抑制はGLP-1の中枢神経系の視床下部摂食中枢を介する作用が主である。

本発明において、「予防」とは、個体における疾患若しくは症状の発症の防止又は遅延、あるいは個体の疾患若しくは症状の発症の危険性を低下させることをいう。「改善」とは、疾患、症状又は状態の好転、疾患、症状又は状態の悪化の防止又は遅延、あるいは疾患又は症状の進行の逆転、防止又は遅延をいう。

「心機能改善」とは、心臓の筋収縮力を増強させたり、心筋のインスリン感受性と心臓の糖取り込みを増強させ、それに伴う心機能を改善することをいう。当該作用はGLP-1の心臓への直接作用だけでなく、脳から迷走神経により伝達される神経刺激を介する作用もある。

「動脈硬化改善」とは、eNOS活性化を介して内皮依存性の血管拡張反応を改善することで動脈硬化を改善することをいう。当該作用は、GLP-1の血管内皮細胞のGLP-1Rを介したシグナル伝達による作用のみならず、動脈壁への単球・マクロファージの集積と炎症反応を抑制させたり、腸管のカイロミクロン分泌調節を介する作用も含む。

「食後」とは摂取した食事中の炭水化物があおむね吸収されるまでの時間を指し、食事の摂取後の直後(0分)から6時間後まで、好ましくは5時間後まで、より好ましくは4時間後まで、更に好ましくは3時間後までの時間をいう(Diabete Care, 2001, 24(4):775-778)。

【0017】

本発明において、カシュウイモはヤモノイモ科ヤマノイモ属のDioscorea bulbifera Linn.をいう。

【0018】

斯かるカシュウイモは、いずれの任意の部位、例えば全草、葉、茎、芽、花、蕾、根、根茎、仮球茎、球茎、塊茎、種子等、又はそれらの組み合わせを使用することができるが、塊根を用いるのが好ましい。

斯かるカシュウイモは、そのまま、又はそれを圧搾することにより得られる搾汁、カシュウイモの乾燥物若しくはその粉碎物、或いはこれから抽出した抽出物として用いることができるが、抽出物として用いるのが好ましい。

【0019】

上記抽出物としては、カシュウイモを常温又は加温下抽出するか、又はソックスレー抽出器等の抽出器具を用いて抽出すること等の、既知の抽出方法により得られる各種溶剤抽出物、又はその希釀液、その濃縮液、その乾燥末、ペースト若しくはその活性炭処理したものが挙げられる。

【0020】

10

20

30

40

50

既知の抽出方法としては、例えば、固液抽出、液液抽出、浸漬、煎出、浸出、還流抽出、超音波抽出、マイクロ波抽出、攪拌等が挙げられる。抽出時間を短縮する場合には、攪拌を伴う固液抽出が望ましい。この固液抽出の好適な条件の一例としては、10～100

下、100～400 rpm/minで1～30分間の攪拌が挙げられる。浸漬の好適な一例として、10～50で、1時間～14日間の浸漬が挙げられる。また、抽出時間を短縮する場合には、攪拌を伴う固液抽出が望ましい。

上記抽出物の酸化を防止するため、煮沸脱気や窒素ガス等の不活性ガスを通気して溶存酸素を除去しつつ、いわゆる非酸化的雰囲気下で抽出する手段を併用してもよい。

#### 【0021】

抽出のための溶剤には、極性溶剤、非極性溶剤のいずれをも使用することができる。溶剤の具体例としては、例えば、水；メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール類；プロピレンギリコール、ブチレンギリコール等の多価アルコール類；アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類；酢酸メチル、酢酸エチル等のエステル類；テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル等の鎖状及び環状エーテル類；ポリエレンギリコール等のポリエーテル類；スクワラン、ヘキサン、シクロヘキサン、石油エーテル等の炭化水素類；トルエン等の芳香族炭化水素類；ジクロロメタン、クロロホルム、ジクロロエタン等のハロゲン化炭化水素類；及び超臨界二酸化炭素；ピリジン類；油脂、ワックス等その他オイル類等の有機溶剤；ならびにこれらの混合物が挙げられる。好適には、水、アルコール類、アルコール-水混合液、炭化水素類が挙げられ、アルコール-水混合液、炭化水素類がより好ましい。アルコール類としては炭素数1～5のアルコール類が好ましく、エタノールがより好ましい。炭化水素類としてはヘキサンが好ましい。

#### 【0022】

抽出のための溶剤としてアルコール-水混合液を使用する場合には、アルコール類と水との配合割合（容量比）としては、0.001～100：99.999～0が好ましく、5～95：95～5がより好ましく、20～80：80～20が更に好ましい。エタノール水溶液の場合、エタノール濃度が、好ましくは40容量%以上、より好ましくは45容量%以上である。また好ましくは40～100容量%、より好ましくは70～95容量%である。

#### 【0023】

溶剤の使用量としては、カシュウイモ（乾燥質量換算）1gに対して好ましくは1mL以上、より好ましくは5mL以上、好ましくは100mL以下、より好ましくは50mL以下である。また、好ましくは1～100mL、より好ましくは8～50mLである。抽出時間としては、好ましくは1分間以上、より好ましくは10分間以上、好ましくは30日間以下、より好ましく10日間以下である。また好ましくは1分間～30日間、より好ましくは10分間～10日間である。このときの抽出温度は、好ましくは0以上、より好ましくは10以上、更に好ましくは20以上、好ましくは溶媒沸点以下、より好ましくは100以下、更に好ましくは90以下である。また、好ましくは0～溶媒沸点、より好ましくは10～100、更に好ましくは20～90である。

#### 【0024】

斯くして得られる抽出物は、抽出液や画分をそのまま用いてもよく、適宜な溶媒で希釈した希釈液として用いてもよく、或いは濃縮エキスや乾燥粉末としたり、ペースト状に調製したものでもよい。また、凍結乾燥し、用時に、通常抽出に用いられる溶剤、例えば水、エタノール、プロピレンギリコール、ブチレンギリコール、水・エタノール混液、水・プロピレンギリコール混液、水・ブチレンギリコール混液等の溶剤で希釈して用いることもできる。また、リポソーム等のベシクルやマイクロカプセル等に内包させて用いることもできる。

#### 【0025】

上記抽出物は、食品上・医薬品上許容し得る規格に適合し本発明の効果を発揮するものであれば粗精製物であってもよく、更に得られた粗精製物を既知の分離精製方法を適宜組み合わせてこれらの純度を高めてもよい。精製手段としては、有機溶剤沈殿、遠心分離、

10

20

50

30

40

50

限界濾過膜、高速液体クロマトグラフやカラムクロマトグラフ等が挙げられる。

【0026】

後記実施例に示すように、カシュウイモの抽出物は、下部消化管（回腸～結腸）細胞からのGLP-1分泌を促進する作用を有する。従って、上記カシュウイモ又はその抽出物は、GLP-1分泌促進に有用であり、これらには、食欲抑制、胃排泄抑制効果が期待できる（上記非特許文献1）。更には、血管保護強化効果により、心機能悪化の予防及び／又は改善、動脈硬化の予防及び／又は改善効果が期待できる（上記非特許文献2～5）。

【0027】

従って、上記カシュウイモ又はその抽出物は、GLP-1分泌促進剤、食欲抑制剤、心機能悪化の予防及び／又は改善剤、動脈硬化の予防及び／又は改善剤（以下、「GLP-1分泌促進剤等」とする）として、使用することができ、更にこれらの剤を製造するために使用することができる。

10

【0028】

当該GLP-1分泌促進剤等は、それ自体、ヒトを含む動物に摂取又は投与した場合にGLP-1分泌促進、食欲抑制、体重減少、心機能悪化の予防及び／又は改善、動脈硬化の予防及び／又は改善の各効果を発揮する、ヒト若しくは動物用の医薬品、医薬部外品、食品、又は飼料であってもよく、或いは当該医薬品、医薬部外品、食品又は飼料に配合して使用される素材又は製剤であってもよい。

20

【0029】

また、当該食品には、運動不足者や中高年者等におけるGLP-1分泌促進、食欲抑制、心機能悪化の予防及び／又は改善、動脈硬化の予防及び／又は改善をコンセプトとし、必要に応じてその旨を表示した食品、機能性食品、病者用食品、特定保健用食品が含まれる。これらの食品は機能表示が許可された食品であるため、一般的の食品と区別することができる。

20

【0030】

上記GLP-1分泌促進剤等を、ヒト又は動物に投与して使用する場合の使用は、治療的使用であっても、非治療的使用であってもよい。

30

ここで、「非治療的」とは、医療行為を含まない、すなわちヒトを手術、治療又は診断する方法を含まない概念である。

【0031】

上記カシュウイモ又はその抽出物を含有する上記医薬品（医薬部外品も含む）の剤型は、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、静脈内注射剤、筋肉注射剤、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、点眼剤、点鼻剤、湿布剤、バップ剤、軟膏、ローション、クリーム等のいずれでもよい。投与形態も経口投与（内用）、非経口投与（外用、注射）のいずれであってもよい。これらの投与形態のうち、好ましい形態は経口投与である。

30

【0032】

また、このような種々の剤型の医薬製剤を調製するには、上記カシュウイモ又はその抽出物を其々単独で、又は他の薬学的に許容される賦形剤、結合剤、增量剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、分散剤、緩衝剤、保存剤、嬌味剤、香料、被膜剤、担体、希釈剤、本発明以外の薬効成分等を適宜組み合わせて調製することができる。また、経口用液体製剤は、嬌味剤、緩衝剤、安定化剤等を加えて常法により調製することができる。

40

【0033】

経口投与用製剤中の、上記カシュウイモ又はその抽出物の含有量は、固形分濃度として、一般的に好ましくは0.0001質量%以上、より好ましくは0.001質量%以上、好ましくは20質量%以下、より好ましくは10質量%以下である。また、好ましくは0.01～10質量%、より好ましくは0.05～5質量%である。

【0034】

上記カシュウイモ又はその抽出物を含有する上記食品の形態としては、清涼飲料水、茶系飲料、コーヒー飲料、果汁飲料、炭酸飲料、ジュース、ゼリー、ウエハース、ビスケット、パン、麺、ソーセージ等の飲食品や栄養食等の各種食品の他、更には、上述した経口

50

投与製剤と同様の形態（錠剤、カプセル剤、シロップ等）の栄養補給用組成物が挙げられる。

【0035】

種々の形態の食品は、上記カシュウイモ又はその抽出物を単独で、又は他の食品材料や、溶剤、軟化剤、油、乳化剤、防腐剤、香料、安定剤、着色剤、酸化防止剤、保湿剤、増粘剤、本発明以外の有効成分等を適宜組み合わせて調製することができる。

【0036】

当該食品飼料中の、上記カシュウイモ又はその抽出物の含有量は、一般的に好ましくは0.0001質量%以上、より好ましくは0.001質量%以上、好ましくは10質量%以下、より好ましくは5質量%以下である。また、好ましくは0.01~10質量%、より好ましくは0.05~5質量%である。10

【0037】

また、飼料としては、ウサギ、ラット、マウス等に用いる小動物用飼料、犬、猫、小鳥、リス等に用いるペットフード等の飼料等が挙げられ、上記食品と同様の形態に調製できる。

【0038】

本発明のGLP-1分泌促進剤等の摂取量は、対象の種、体重、性別、年齢、状態又はその他の要因に従って変動し得る。投与の用量、経路、間隔、及び摂取の量や間隔は、当業者によって適宜決定され得るが、成人に対して1日あたり、上記カシュウイモ又はその抽出物（乾燥物換算）として、一般的に好ましくは20μg/60kg体重以上、より好ましくは200μg/60kg体重以上、更に好ましくは2mg/60kg体重以上、好ましくは1000mg/60kg体重以下、より好ましくは500mg/60kg体重以下、更に好ましくは200mg/60kg体重以下である。また、好ましくは20μg~2000mg/60kg体重、より好ましくは200μg~1000mg/60kg体重、更に好ましくは2~5000mg/60kg体重である。20

【0039】

投与又は摂取対象者としては、病者又は健常者に関わらず、それを必要若しくは希望する人であれば特に限定されないが、運動不足者や中高年者が好ましい。また肥満患者だけでなく、太りやすい体質の者、又は適切な体重維持を望む者等に適用することができ、特にこれらの対象者において食欲旺盛な対象者が好ましい。あるいは、心機能が低下していたり、血管内皮機能が低下し、動脈硬化症や高血圧症の患者だけでなく、その予備群にも適用することができる。30

【0040】

上述した実施形態に關し、本発明においては以下の態様が開示される。

<1> カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とするGLP-1分泌促進剤。

<2> カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする食欲抑制剤。

<3> カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする心機能悪化の予防及び/又は改善剤。

<4> カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする動脈硬化の予防及び/又は改善剤。

<5> GLP-1分泌促進剤を製造するための、カシュウイモ又はその抽出物の使用。

<6> 食欲抑制剤を製造するための、カシュウイモ又はその抽出物の使用。

<7> 心機能悪化の予防及び/又は改善剤を製造するための、カシュウイモ又はその抽出物の使用。

<8> 動脈硬化の予防及び/又は改善剤を製造するための、カシュウイモ又はその抽出物の使用。

<9> GLP-1分泌促進に使用するための、カシュウイモ又はその抽出物。

<10> 食欲抑制に使用するための、カシュウイモ又はその抽出物。

<11> 心機能悪化の予防及び/又は改善に使用するための、カシュウイモ又はその抽出物。

<12> 動脈硬化の予防及び/又は改善に使用するための、カシュウイモ又はその抽出物

10

20

30

40

50

- < 1 3 > 非治療的に使用するための、< 9 > ~ < 1 2 > に記載の植物又はそれらの抽出物。
- < 1 4 > カシュウイモ又はその抽出物を、ヒト若しくは動物に投与又は摂取する G L P - 1 分泌促進方法。
- < 1 5 > カシュウイモ又はその抽出物を、ヒト若しくは動物に投与又は摂取する食欲抑制方法。
- < 1 6 > カシュウイモ又はその抽出物を、ヒト若しくは動物に投与又は摂取する心機能悪化の予防及び／又は改善方法。
- < 1 7 > カシュウイモ又はその抽出物を、ヒト若しくは動物に投与又は摂取する動脈硬化の予防及び／又は改善方法。 10
- < 1 8 > 非治療的方法である、< 1 4 > ~ < 1 7 > に記載の方法。
- < 1 9 > カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする胃排泄抑制剤。
- < 2 0 > カシュウイモ又はその抽出物を有効成分とする血管保護強化剤。
- < 2 1 > < 1 > ~ < 2 0 > のいずれかにおいて、上記抽出物は、好ましくは水抽出物またはエタノール水溶液抽出物である。

## 【実施例】

## 【0041】

## 製造例 1：カシュウイモ抽出物の調製

ヤマノイモ科カシュウイモの塊根 (Kathmandu産、不二化成より入手) の細断物 40 g 20 に、50 vol % エタノール水 400 mL を加え、室温、静置条件にて、15日間抽出した。その後、ろ過により非抽出部と分離し、カシュウイモ 50 vol % エタノール抽出液 315 mL を得た。本抽出液の蒸発残分を測定したところ、0.96% (w/v) であった。

## 【0042】

上記製造例で得られた抽出物を、50 vol % エタノール水により抽出物濃度 1% (w/v) となるように希釈し、試験サンプルとした。コントロールとしては、50 vol % エタノール水を用いた。

NCI-H716 細胞(ヒト結腸由来細胞；ATCCより購入、Dr. Herbert K. Oieらにより開発され、agencies of the United States Public Health Serviceから供給)は 37 30 、5% CO<sub>2</sub>存在下で培養した。培養液は、RPMI 1640 (10%ウシ胎児血清含有、高グルコース；Invitrogen社)を用いた。上記細胞を、マトリゲル (100 μL/well (N=4)) となるように播き、D MEM (10%ウシ胎児血清含有、高グルコース；Invitrogen社)培地で培養した。3日後に当該培地を試験サンプル/PMA (Phorbol 12-myristate 13-acetate) (陽性コントロール)を含む KRB (Krebs-Ringer bicarbonate、Sigma社) buffer + 0.2%BSA に交換し、2時間培養した後、培地を回収した。培地はdiprotin-A(DPP4阻害剤、Sigma社)、及びPMSF(Phenylmethylsulfonyl fluoride、セリンプロテアーゼ阻害剤、Sigma社)を加えた微量遠心管に回収し、浮遊した細胞を除去した後、G L P - 1 定量まで - 80 で保存した。培地中 G L P - 1 はGLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1 (ACTIVE) ELISA KIT (LINCO Research)を用いた E L I S A により定量した。その結果を図 1 及び表 1 に示す。 40

## 【0043】

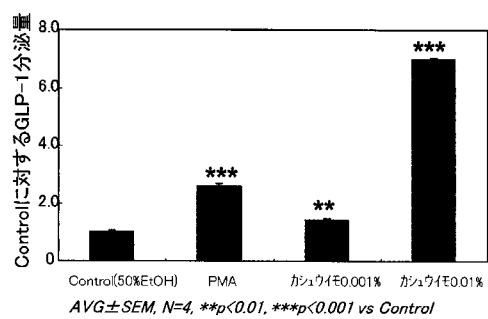
## 【表 1】

サンプル	コントロール比
コントロール (50% EtOH)	1.00±0.04
PMA	2.57±0.14
カシュウイモ抽出物 0.001%	1.42±0.03
カシュウイモ抽出物 0.01%	6.98±0.06

## 【0044】

表1及び図1より、カシュウイモ抽出物は0.001%、0.01%の濃度において、細胞のGLP-1分泌を有意に促進した。

【図1】



---

フロントページの続き

(72)発明者 陳 シュ  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内

(72)発明者 橋爪 浩二郎  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内

(72)発明者 藤井 良恵  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内

(72)発明者 大崎 紀子  
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内

F ターム(参考) 4C088 AB84 AC01 BA08 CA03 NA14 ZA36 ZA45 ZA70