

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4776171号
(P4776171)

(45) 発行日 平成23年9月21日(2011.9.21)

(24) 登録日 平成23年7月8日(2011.7.8)

(51) Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 36/70	(2006.01)	A 6 1 K 35/78	E
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	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1

請求項の数 4 (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2004-32125 (P2004-32125)	(73) 特許権者	399030060
(22) 出願日	平成16年2月9日(2004.2.9)		学校法人 関西大学
(65) 公開番号	特開2005-220110 (P2005-220110A)		大阪府吹田市山手町3丁目3番35号
(43) 公開日	平成17年8月18日(2005.8.18)	(74) 代理人	100081422
審査請求日	平成19年1月30日(2007.1.30)		弁理士 田中 光雄
		(74) 代理人	100106518
			弁理士 松谷 道子
		(74) 代理人	100116311
			弁理士 元山 忠行
		(74) 代理人	100122301
			弁理士 富田 憲史
		(72) 発明者	小幡 斉
			大阪府吹田市山手町3丁目3番35号 学 校法人関西大学工学部内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 デンプン分解酵素阻害活性を有する蕎麦殻エキス

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

精製蕎麦殻エキスを有効成分とするデンプン分解酵素阻害用の医薬組成物であって、該精製蕎麦殻エキスが、水、メタノールまたはエタノールあるいはそれらの混合物で蕎麦殻を抽出し、抽出物から分子量10000以上の画分を得て、蒸発乾固させ、これを水、メタノールまたはエタノールあるいはそれらの混合物に溶解して抽出し、抽出液を蒸発乾固させることを特徴とする方法により製造されるものである、医薬組成物。

【請求項2】

該有機溶媒がエタノールである請求項1記載の医薬組成物。

【請求項3】

分子量10000以上の画分が限外濾過により得られる請求項1または2記載の医薬組成物。

【請求項4】

- アミラーゼを阻害するものである請求項1または2記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、デンプン分解酵素阻害活性を有する蕎麦殻抽出エキス、該エキスを有効成分として含有するデンプン分解酵素阻害剤、ならびに該エキスを有効成分として含む糖尿病、高血糖および/または肥満の治療および/または予防薬、さらには該エキスを含む機能

性食品に関する。

【背景技術】

【0002】

デンプンなどの炭水化物は、消化酵素（ α -アミラーゼ、グルコシダーゼなど）によって分解されてグルコースになり、それがエネルギー源になる。しかし、食事を多く食べ過ぎた場合、糖尿病予備軍あるいは患者は、血糖値が上昇してしまう。また、最近の食生活は炭水化物を多く摂取し過ぎる傾向にあり、上記のような糖尿病あるいは高血糖の問題とともに肥満の問題もクローズアップされている。このような状況から、消費者においてもこれらの症状を抑制あるいは予防する機能を有する健康食品に対するニーズが高まっている。

10

【0003】

従来から、このような症状を治療および/または予防するために、抗糖尿病成分、血糖値抑制成分あるいは抗肥満成分として合成物や天然物由来のエキスを医薬品や食品の成分として利用する試みがなされている。例えば、 α -アミラーゼ阻害成分として、グアバ葉エキス（特許文献1参照）、バナバエキス（特許文献2参照）、カシュウエキス（特許文献3参照）などが報告されており、グルコシダーゼ阻害成分として甘茶エキス（特許文献4参照）、現代米エキス（特許文献5参照）、シソエキス（特許文献6参照）などが報告されている。

【0004】

しかしながら、従来のデンプン分解阻害剤はその効果が不十分なもの、原料が限られているため製造量が少ないもの、製造に時間とコストがかかるもの等があり、種々の問題を有している。

20

【0005】

蕎麦殻抽出物および分画物に関しては、過酸化脂質抑制剤、コレステロール低下剤、中性脂肪低下剤または高脂血症改善剤としての用途が挙げられているが、デンプン分解酵素の抑制剤としての用途には全く触れられていない（特許文献7参照）。また、この蕎麦殻分画物の活性は分子量が10000以下の画分において高いことから、本発明のものと区別されることは明らかである。

【特許文献1】国際特許出願公開第WO01/66714号公報

【特許文献2】特開2003-095941号公報

【特許文献3】特開2002-045181号公報

【特許文献4】特開2003-252784号公報

【特許文献5】特開2002-316939号公報

【特許文献6】特開2000-102383号公報

【特許文献7】特開平10-218786号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

かかる事情に鑑みると、大量に原料が入手でき、製造も簡単で、しかも効果の優れたデンプン分解阻害剤の開発が急務となっていた。

40

【課題を解決するための手段】

【0007】

そこで本発明らは上記課題を解決せんと鋭意研究を重ね、蕎麦殻を水または有機溶媒あるいはそれらの混合物で抽出することにより、デンプン分解酵素阻害活性の高いエキスが得られることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0008】

すなわち、本発明は、

(1) 蕎麦殻を水または有機溶媒あるいはそれらの混合物で抽出して得られる、デンプン分解酵素阻害活性を有するエキス；

(2) 分子量10000以上の画分である(1)記載のエキス；

50

- (3) - アミラーゼを阻害するものである(1)または(2)記載のエキス；
 (4) 該有機溶媒がエタノールである(1)ないし(3)のいずれかに記載のエキス；
 (5) (1)ないし(4)のいずれかに記載のエキスを有効成分として含む、デンプン分解酵素阻害剤；
 (6) (1)ないし(4)のいずれかに記載のエキスを有効成分として含む、糖尿病、高血糖および/または肥満の治療および/または予防薬；
 (7) (1)ないし(4)のいずれかに記載のエキスを有効成分として含む機能性食品；ならびに
 (8) 蕎麦である(7)記載の機能性食品を提供するものである。

10

【発明の効果】

【0009】

本発明によれば、蕎麦殻からデンプン分解酵素活性の高いエキスが得られるので、これを有効成分とする糖尿病、高血糖および/または肥満の治療および/または予防薬を製造することができる。また、本発明のエキスを食品や食品素材に使用して糖尿病、高血糖および/または肥満の治療および/または予防の機能を有する機能性食品を得ることもできる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

本発明のデンプン分解酵素阻害活性を有するエキスは、蕎麦殻を水または有機溶媒あるいはそれらの混合物で抽出して得ることができる。以下の説明からもわかるように、本発明のエキスの製造には何ら特別な設備等を必要としない。蕎麦殻は、以前は廃棄物としてあまり利用されていなかったものであり、その量も豊富であるため、本発明は未利用バイオマスの有効利用という観点からも優れたものであり、かつ環境に優しい発明といえる。

20

【0011】

原料の蕎麦殻はいずれのものであってもよい。蕎麦の品種や産地はデンプン分解酵素阻害活性に有意な影響を及ぼさない。なお、本明細書において本発明により得られる蕎麦殻抽出物を「本発明のエキス」と総称することがある。したがって、本明細書において「本発明のエキス」という場合、蕎麦殻を水または有機溶媒あるいはそれらの混合物にて抽出しただけのもの、ならびにそれらの抽出物をさらに精製したもの(分子量分画したのも

30

【0012】

蕎麦殻はそのまま抽出に供してもよく、抽出効率を高めるために抽出前に粉碎や抽出溶媒に浸漬する等の処理を行ってもよい。粉碎装置としては公知のグラインダーやミル等を用いることができる。

【0013】

蕎麦殻の抽出の好ましい形態は固液抽出である。溶媒としては水または有機溶媒、あるいはそれらの混合物が用いられる。それらの配合比は当業者が簡単な予備実験により決定することができる。有機溶媒としては親水性ものものが好ましい。なかでもメタノール、エタノール、プロパノール、i-プロパノール、n-ブタノールのごときアルコール類が好ましく、本発明の蕎麦殻エキスを医薬品や食品に使用すること、すなわち安全性や抽出効率等を考慮すると、エタノールが最も好ましい。抽出温度は特に制限はなく、好ましくは80 ないし100 であるが、常温であってもよい。固液抽出方法および装置は当該分野において広く知られているものであってよく、当業者は適宜選択して用いることができる。例えば、実験室的にはソックスレー抽出器を用いてもよく、工業的には、固定された固体相に液相を浸透還流させるタイプの装置、あるいは液相中に固相体を分散させるタイプの装置など、種々のものを用いることができる。

40

【0014】

このような抽出操作により得られた蕎麦殻抽出物をそのまま本発明のエキスとして使用してもよく、さらに精製して使用してもよい。本発明のエキスの精製には種々の手段・方

50

法を用いることができ、当業者はそれらを容易に選択し、あるいは組み合わせて使用することができる。例えば、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィーなどの各種クロマトグラフィー法、セルロース膜や合成膜を用いる限外濾過法、逆浸透法、吸着法、有機溶媒分画などの分離法を用いることができる。また必要に応じて、生じた沈殿を遠心分離してもよい。後述のように、本発明のエキス中のデンプン分解酵素阻害活性の多くは分子量約10000以上の画分に存在することから、分子量分画段階を精製工程中に含めることが好ましい。分子量分画法にはゲル濾過法や限外濾過膜などによる方法があり、当業者は適宜選択して用いることができる。

【0015】

本発明のエキスの形態は、その用途に応じて様々なものとすることができる。例えば、ロータリーエバポレーターによる蒸発により本発明のエキスを濃縮して用いてもよく、あるいは水等で希釈して用いてもよい。また、液状の本発明のエキスを蒸発乾固や凍結乾燥などの方法により固形ないし粉末として用いてもよい。このような手法は当業者によく知られている。以下に、本発明のエキスの用途を例示説明する。

【0016】

本発明のエキスの1の用途は、デンプン分解酵素阻害剤中に有効成分として用いることである。その場合、本発明のエキスを適宜濃縮あるいは希釈して用いてもよく、液状あるいは固形（粉末・顆粒等）に処理加工して用いてもよい。本発明のデンプン分解酵素阻害剤の剤形はいずれのものであってもよく、液剤、粉末、錠剤、カプセル剤、シロップ剤などとすることができる。このような薬剤に使用する担体あるいは賦形剤としては水、エタノール、グリセロール、糖蜜などの水性担体、ショ糖、タルク、微細結晶セルロースなどの固体担体等が挙げられるが、これらに限定されない。また、本発明のエキスのほかに、デンプン分解酵素阻害活性を有することが確認されている物質をデンプン分解酵素阻害剤中に使用してもよい。本発明のエキスの投与量は天然物であることから毒性は考えられないため、特に上限はないが、通常には、体重70kgの成人1日当たり、原料の蕎麦殻に換算して約20gまでであろう。

【0017】

本発明のエキスのさらなる用途は、デンプン分解酵素を阻害することにより治療および/または予防することのできる症状、例えば、糖尿病、高血糖および/または肥満の治療および/または予防薬中の有効成分として用いることである。かかる薬剤は経口投与するのが好ましい。剤形はいずれのものであってもよく、液剤、粉末、錠剤、カプセル剤、シロップ剤などとすることができる。このような薬剤に使用する担体あるいは賦形剤としては水、エタノール、グリセロール、糖蜜などの水性担体、ショ糖、タルク、微細結晶セルロースなどの固体担体等が挙げられるが、これらに限定されない。また、糖尿病、高血糖および/または肥満の治療および/または予防に関して効果が確認されている他の物質と併用してもよい。本発明のエキスの投与量は天然物であることから毒性は考えられないため、特に上限はないが、通常には、体重70kgの成人1日当たり、原料の蕎麦殻に換算して約20gまでであろう。

【0018】

本発明のエキスを種々の食品や食品素材中に使用して、糖尿病、高血糖および/または肥満の治療および/または予防の機能を有する機能性食品を得ることもできる。かかる機能性食品の形状はいずれのものであってもよい。本発明のエキスはいずれの食品あるいは食品素材中に含有させてもよいが、麺類中、とりわけ蕎麦中に用いることが好ましい。本発明のエキスを食品添加物として使用してもよく、調味料として使用してもよい。それらの形状は特に限定されない。例えば、ソース中に含有させてもよく、あるいはふりかけ中に含有させてもよい。

【0019】

以下に実施例を示して本発明をさらに詳細かつ具体的に説明するが、実施例は本発明を限定するものではない。

【実施例1】

【 0 0 2 0 】

1. 食品加工廃棄物からのデンプン分解酵素阻害剤のスクリーニング

脱脂大豆、蕎麦殻、米ぬか、醤油粕、ワイン粕、あん粕、梅の種、チーズホエー各々 20 g (乾燥重量) を、ソックスレー抽出器を用いて水 150 ml またはエタノール 150 ml にて 10 時間抽出し、抽出物をロータリーエバポレーターにて蒸発乾固させてから水を添加して、各々 2.1 g の水抽出物およびエタノール抽出物を試料として得た。上記原料はワイン粕を除き一般的な食品加工メーカーから入手したものである。ワイン粕はメルシャン社から入手した。

次いで、これらの試料の α -アミラーゼ阻害活性および β -グルコシダーゼ阻害活性を測定した。測定方法は以下の如し。

(i) α -アミラーゼ阻害活性の測定

アミラーゼテストワコー (和光純薬) を用いて測定を行った。試料終濃度は 1 mg / ml (w / v)、 α -アミラーゼ終濃度は 0.098 U / ml とした。試料を添加しない系を対照とした。

(i i) β -グルコシダーゼ阻害活性の測定

マルトース水溶液 (10%) を基質として、37℃ で適当時間反応させ、遊離するグルコース量を測定することにより行った。試料終濃度は 1 mg / ml (w / v)、 β -グルコシダーゼ終濃度は 0.25 U / ml とした。試料を添加しない系を対照とした。グルコース量の測定はグルコース C I I - テストワコー (和光純薬) を用いて行った。

各抽出物の α -アミラーゼ阻害活性を図 1 (a) に示す。蕎麦殻抽出物は抽出溶媒 (水またはエタノール) に関係なく上記測定において α -アミラーゼを 100% 阻害した。次いで、ワイン粕のエタノール抽出物、脱脂大豆のエタノール抽出物の β -グルコシダーゼ阻害活性が強かった。各抽出物の β -グルコシダーゼ阻害活性を図 1 (b) に示す。試験試料のなかで蕎麦殻抽出物が抽出溶媒 (水、エタノール) に関係なく上記測定において最強の β -グルコシダーゼ阻害活性を示した。次いで、醤油粕抽出物、脱脂大豆抽出物の β -グルコシダーゼ阻害活性が強かった。

これらの結果より、蕎麦殻水抽出物およびエタノール抽出物は α -アミラーゼおよび β -グルコシダーゼに対していずれも高い阻害活性を示し、効果的にデンプン分解を阻害すると考えられた。特に蕎麦殻抽出物は α -アミラーゼに対して強い阻害活性を示した。

【 0 0 2 1 】

2. 精製蕎麦殻エキスの調製

本発明の精製蕎麦殻エキスの製造スキームを図 2 に示す。上記 1 で説明した方法において抽出溶媒として 150 ml の水を用いて、20 g の蕎麦殻から 2.1 g の蕎麦殻水抽出物を得た (抽出溶媒として 150 ml のエタノールを用いても以下に述べるのと同様の結果が得られた)。この蕎麦殻水抽出物を限外濾過膜 (分画分子量 10000 のセロファンチューブ、和光純薬) に入れ、水に対して透析して、分子量 10000 以上の画分と分子量 10000 以下の画分とに分けた。分子量 10000 以上の画分は 0.71 g 得られ、分子量 10000 以下の画分は 1.39 g 得られた。分子量 10000 以上の画分ロータリーエバポレーターにて蒸発乾固した後、エタノール 150 ml に溶解した。このエタノール溶液をソックスレー抽出器で 10 時間抽出し、抽出液をロータリーエバポレーターを用いて蒸発乾固させ、水に溶解して、0.027 g の精製された分子量 10000 以上の画分 (以下、「精製蕎麦殻エキス」という) を得た。なお、上記のロータリーエバポレーターによる蒸発乾固操作を凍結乾燥に代えて行ってもよい。最終段階にて使用する水は精製水 (例えば Milli Q 水) が好ましい。

【 0 0 2 2 】

3. 本発明のエキスの諸特性

上の 2 で説明した蕎麦殻水抽出物、限外濾過後の分子量 10000 以上の画分、分子量 10000 以下の画分、および精製蕎麦殻抽出エキスの α -アミラーゼ阻害活性を調べた。上の 1 (i) で説明した方法により α -アミラーゼ阻害活性の測定を行い、 α -アミラーゼ活性を 50% 阻害するに必要な試料濃度 (「IC₅₀」という) で表した。蕎麦殻水

10

20

30

40

50

抽出物、分子量10000以上の画分、分子量10000以下の画分、および精製蕎麦殻エキスの IC_{50} 値はそれぞれ、 $65 \mu g/ml$ (w/v)、 $31 \mu g/ml$ (w/v)、 $2 mg/ml$ (w/v)、および $7.2 \mu g/ml$ (w/v)であった(図2)。

以上の結果から、本発明のエキスの - アミラーゼ阻害活性の多くが分子量10000以上の画分にあったことより、阻害物質は高分子量の物質である可能性が示唆された。

そこで、上記2で説明した各段階における試料中のポリフェノール量を測定した。ポリフェノール量の測定にはFolin-Ciocalteuの方法を用いた。すなわち、試料200 μl と水3.2mlを試験管に入れて攪拌した。そこに飽和炭酸ナトリウム溶液を400 μl 加え30分間放置した。その後、調製した溶液は、分光光度計を用いて波長760nmの吸光度を測定した。検量線はカテキンを用いて作成した。蕎麦殻水抽出物、限外濾過後の分子量10000以上の画分、および精製蕎麦殻エキス中のポリフェノール量はそれぞれ、試料の22%、32%、および46%(w/v、カテキン当量)であった。

このように、精製段階が進むにつれて、試料中に含まれるポリフェノール量が増加していること、ならびに試料を有機溶媒(ベンゼン、トルエン、クロロホルム)分画を試みたところ、これらの有機溶媒に阻害活性物質が可溶であることから(データ示さず)、本発明のエキス中のデンプン分解酵素阻害物質はポリフェノール類であると考えられた。

上記1の方法により得られた蕎麦殻水抽出物および蕎麦殻エタノール抽出物の - アミラーゼ阻害活性を、抗糖尿病機能エキスとして市販されている月見草エキスおよび冷え性・肩こり改善エキスとして市販されている蕎麦の葉エキスと比較した。いずれの試料も1mg/mlとして測定した。蕎麦殻水抽出物および蕎麦殻エタノール抽出物の - アミラーゼ阻害活性はこれらの市販品と遜色ないどころか、それらの阻害活性を上回っていた(図3)。

さらに、蕎麦殻水抽出物の - アミラーゼ阻害活性を、最近になって - アミラーゼ阻害効果があることが明らかとなり市販飲料にも添加されているグアバ葉水抽出液(グアバ葉100g(乾燥重量)を2リットルの蒸留水にて80で30分抽出したもの)と比較した。本発明の蕎麦殻水抽出物の - アミラーゼ阻害活性の IC_{50} 値は $65 \mu g/ml$ (w/v)であったが、グアバ葉水抽出液のそれは $600 \mu g/ml$ (w/v)であった。

【産業上の利用可能性】

【0023】

本発明の蕎麦殻を抽出して得られるエキスはデンプン分解酵素阻害剤活性が高く、抗糖尿病、抗高血糖、抗肥満医薬や機能性食品の分野に広く利用することができる。

【図面の簡単な説明】

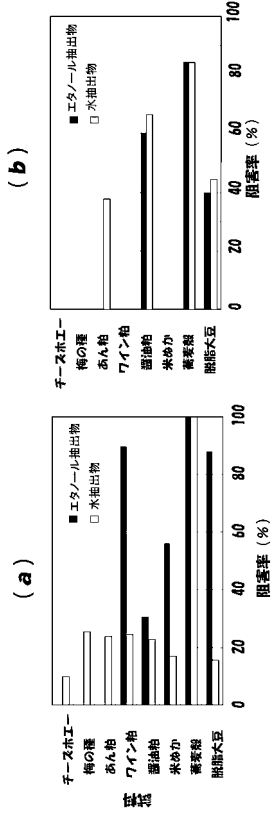
【0024】

【図1】図1は各種の食品加工廃棄物からのデンプン分解酵素阻害剤のスクリーニング結果を示す図である。左パネル(a)は - アミラーゼ阻害活性、右パネル(b)は - グルコシダーゼ阻害活性を示す。

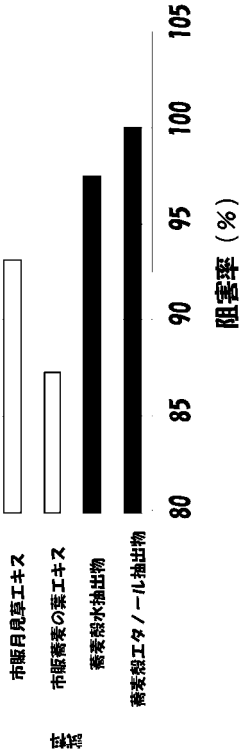
【図2】図2は本発明の蕎麦殻水抽出物および精製蕎麦殻エキスの製造工程を示す図である。20gの蕎麦殻を原料として使用した。各工程で得られた調合物の重量および - アミラーゼに対する IC_{50} 値も図中に示す。

【図3】図3は本発明の蕎麦殻水抽出物およびエタノール抽出物の - アミラーゼ阻害活性を市販品と比較したものである。

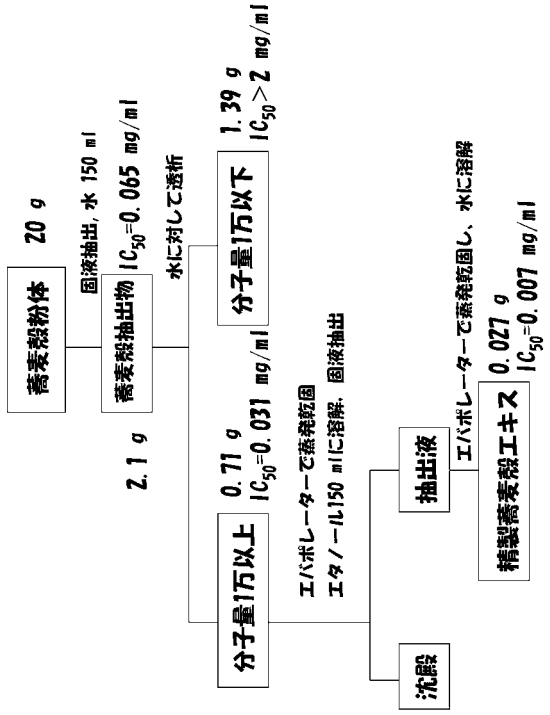
【 図 1 】



【 図 3 】



【 図 2 】



フロントページの続き

(72)発明者 河原 秀久

大阪府吹田市山手町3丁目3番35号 学校法人関西大学工学部内

審査官 鈴木 理文

(56)参考文献 特開2004-000164(JP,A)

特開平10-218786(JP,A)

J. Agric. Food Chem., 2003年, Vol.51 No.6, pp.1586-1591

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 36/70

A61P 3/04

A61P 3/10

A61P 43/00

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamII)