



ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD.

# 月見草エキス

## *EVENING PRIMROSE EXTRACT*

### 抗糖尿病・ダイエット食品素材

- **月見草エキス-P**  
(粉末、食品用途)
- **月見草エキス-WSPS**  
(水溶性粉末、食品用途)
- **月見草エキス-PC**  
(粉末、化粧品用途)
- **月見草エキス-LC**  
(液体、化粧品用途)

**オリザ油化株式会社**

ver. 6.0 JT

抗糖尿病・ダイエット食品素材

# 月見草エキス

EVENING PRIMROSE EXTRACT

## 1. はじめに

月見草は、アカバナ科マツヨイグサ属の植物です。種子から搾油される月見草油は - リノレン酸を豊富に含み、ヨーロッパでは医薬品として扱われております。現在、肥満、糖尿病、高コレステロール血症、PMS（月経前症候群）をはじめとする種々の疾病に適用されています。

オリザ油化株式会社は植物種子中の**ポリフェノール類**に着目し、その機能性についての研究・開発をすすめています。ポリフェノール類は、疾病や老化の原因となる活性酸素を消去することが期待される、近年注目の素材です。オリザ油化株式会社は、月見草種子からポリフェノール類を高濃度に濃縮した**月見草エキス**を開発しました。**月見草エキス**には、他に類をみない高いポリフェノール含量と、強い抗酸化性を有することがみいだされました。さらに、新たな生理活性として、**月見草エキス**の抗糖尿病作用、胃がん細胞に対するアポトーシス誘発作用を発見し、複数の学术论文に発表しました。

疾病や老化の予防に、ぜひ**月見草エキス**をお役立て下さい。

## 2. 月見草エキスについて

### 月見草エキスの原料

一般に月見草と呼ばれているものは以下の4種類です。**月見草エキス**は、メマツヨイグサを原料としています。

- ・ マツヨイグサ ( *Oenothera striata* )
- ・ メマツヨイグサ ( *Oenothera biennis* )
- ・ コマツヨイグサ ( *Oenothera laciniata* )
- ・ オオマツヨイグサ ( *Oenothera erythrosepala* )

### 月見草エキスの食経験

月見草は、古くから北米や中国で栽培されています。北アメリカンインディアンは、全草を腫れ物の治療に、根を痔疾の治療と体力増進に使用してきました。また中国では、根を解熱に、種子を感冒と咽喉炎に使用してきました。

現在、月見草種子は健康補助食品の - リノレン酸の原料として広く使われています。全草および葉の抽出物は、お茶として飲用されています。また、根はピクルスとして食され、種子はスープに混ぜて飲まれ、あるいはマフィンに練り込んで食されます。このように、月見草は、世界各地で古くからの食経験がある食品であるといえます。

### ポリフェノール含量

月見草種子抽出物と、ポリフェノール含量が高いといわれているバナバ葉、グァバ葉、ブドウ種子、ギムネマ葉抽出物のポリフェノール含量を測定しました。その結果、**月見草エキス**には他に類のない、きわめて多くのポリフェノールが含量されていることを確認しました(図1)。

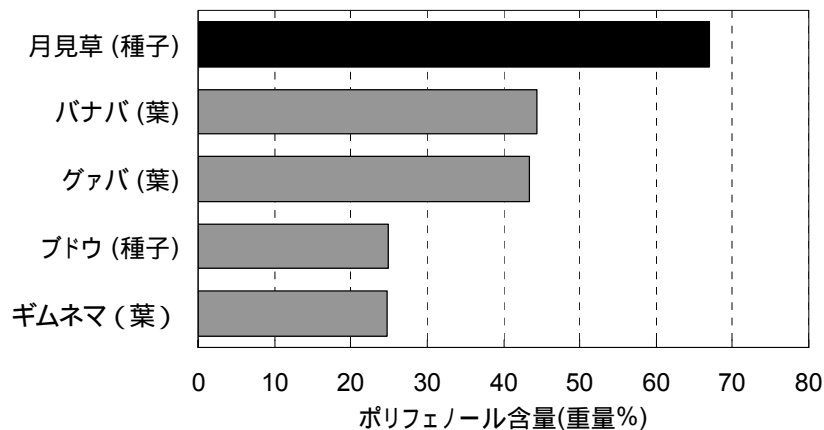


図1. 各植物抽出物中のポリフェノール含量 (没食子酸当量)

## 月見草エキスに含まれるポリフェノール類

月見草エキスに含まれるポリフェノール類には、没食子酸、エラグ酸、ペンタガロイルグルコース、カテキン、プロアントシアニジンなどがあります(図2)。ポリフェノール類は総じて抗酸化活性を有しますが、没食子酸には収斂作用、エラグ酸にはメラニン生成抑制作用、ペンタガロイルグルコースには抗炎症作用、カテキンには消臭作用や抗菌作用、プロアントシアニジンには動脈硬化予防作用といった様々な機能が報告されています。

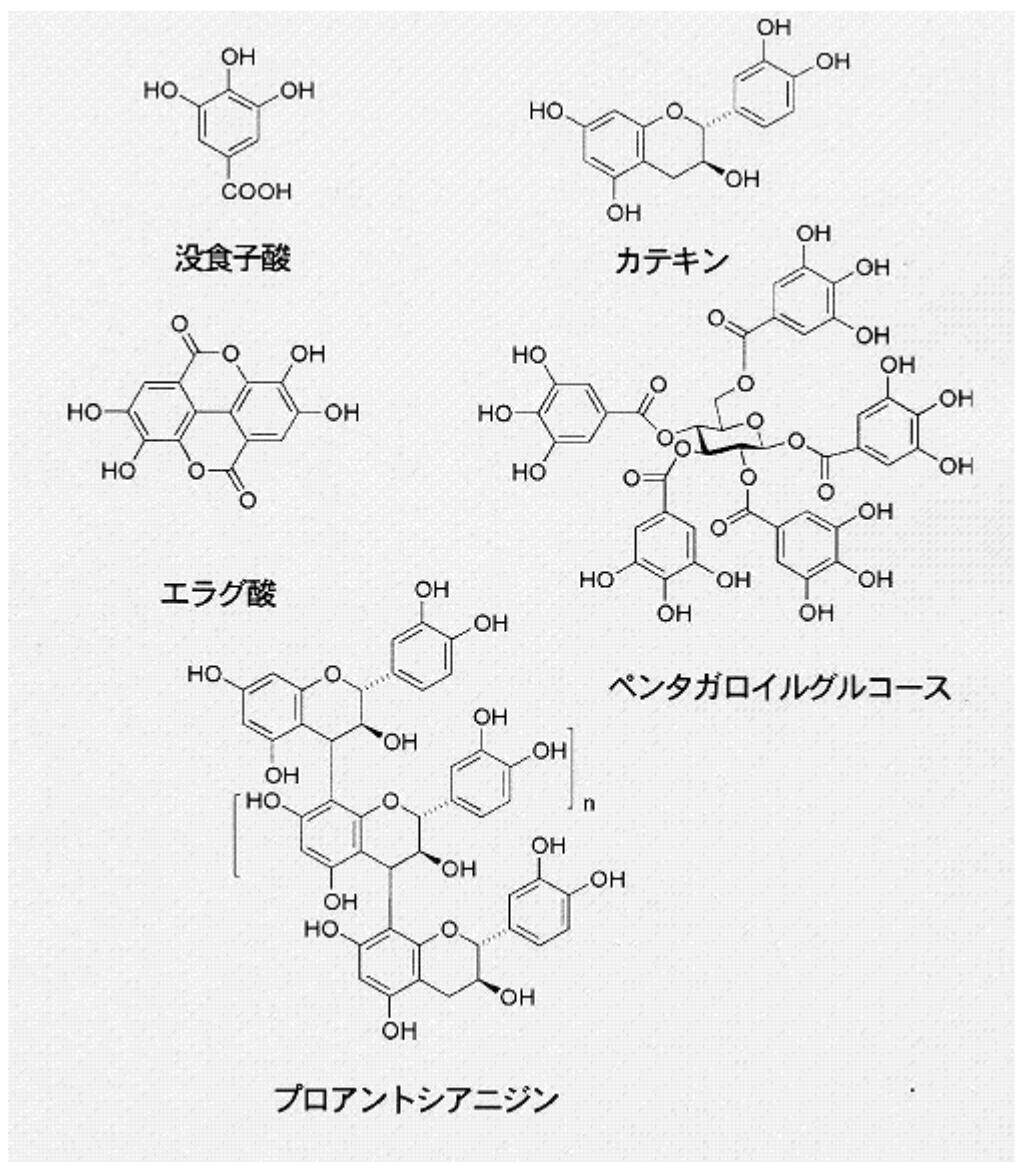


図2 月見草エキスに含有される主なポリフェノール類

### 3 . 月見草エキスの機能性

#### 月見草エキスの抗酸化力

生体内の活性酸素やフリーラジカルを除去するような食品を摂取することは、動脈硬化をはじめとする生活習慣病の予防、老化の予防に効果があるといわれています。月見草種子抽出物は、ポリフェノール含量が高いといわれているバナバ葉、グアバ葉、ブドウ種子、ギムネマ葉抽出物と比較しても、きわめて強い抗酸化力を持っていることが分かりました。

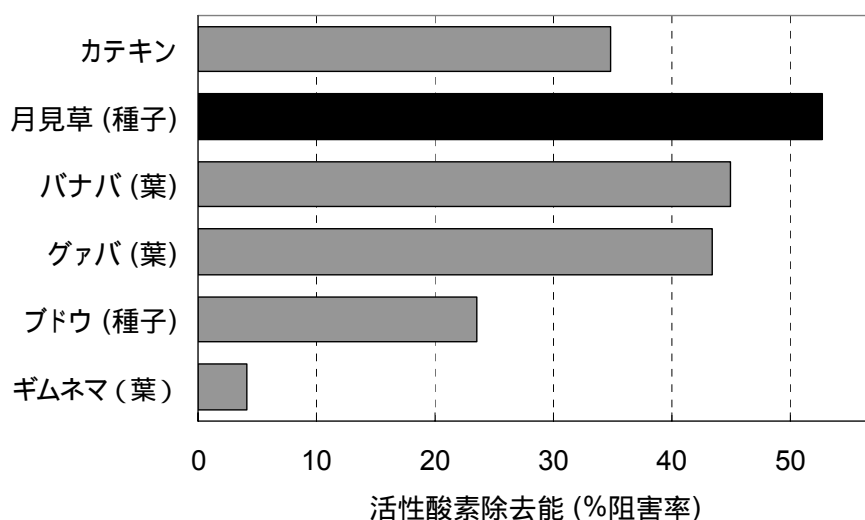


図3. カテキン、および植物抽出物のSOD様活性  
[サンプル濃度 0.05 mg/ml]  
数値が大きいくほど、活性酸素除去能が強い。

表1 月見草エキス - P のスーパーオキシド消去活性

分析試験項目	結果	分析方法
スーパーオキシド消去活性	$3.5 \times 10^5$ 単位/g	電子スピン共鳴 (ESR) 法

分析依頼先 財団法人日本食品分析センター

試験成績書発行年月日 平成14年1月21日

試験成績書発行番号 第302010023-001号

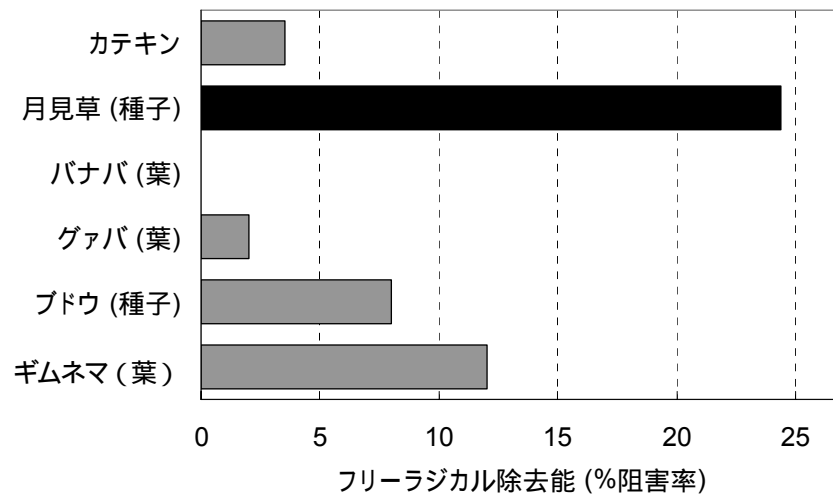


図4. カテキン、および各植物抽出物の DPPH フリーラジカル除去活性 [サンプル濃度 0.1 mg/ml]  
数値が大きいほど、フリーラジカル除去能が強い。

糖質分解酵素阻害作用 (in vitro)

消化酵素の  $\alpha$ -アミラーゼ、 $\alpha$ -グルコシダーゼは、それぞれデンプンと二糖類（ショ糖など）の消化を担っています。これらの酵素が協調して働くことにより、糖質はブドウ糖として吸収され、血糖値を上昇させます（図5）。

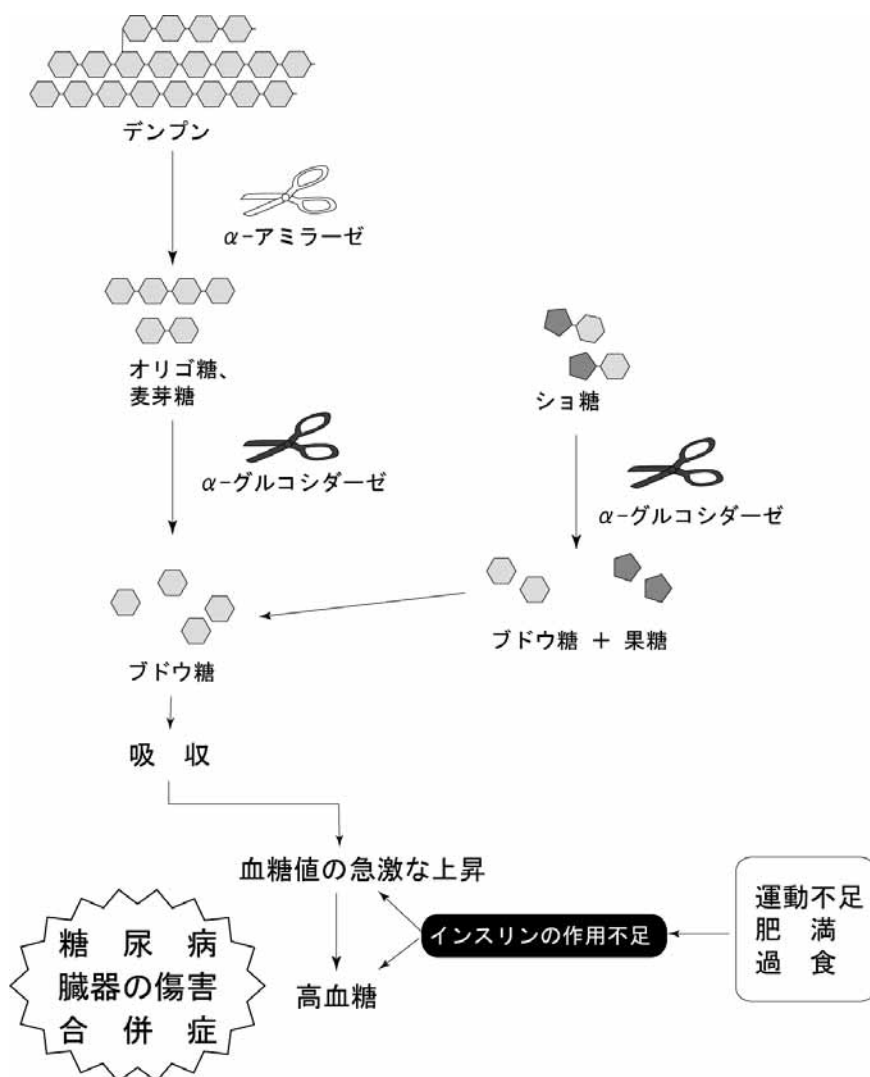


図5. 糖質の摂取と血糖値の上昇、および糖尿病との関係

そこで、月見草エキスがこれらの酵素をどれほど阻害するのかを調べました。比較のため、ポリフェノール含量が高いといわれているバナバ葉、グァバ葉、ギムネマ葉の各抽出物、  
 - アミラーゼを阻害するといわれている白インゲン豆の抽出物、および - グルコシダーゼを阻害する物質（デオキシノジリマイシン）を含むクワ葉の抽出物について、同様の試験を行いました。

月見草エキスの - アミラーゼの阻害活性（図 6）は、ポリフェノールを多く含むバナバ葉、グァバ葉、ギムネマ葉の各抽出物中で最も強いことが分かりました。クワ葉の - アミラーゼの阻害活性はそれほど強くなく、クワ葉抽出物は - グルコシダーゼに特異的に働くといえます。また、白インゲン豆には阻害活性がほとんど認められませんでした。

月見草エキスの - グルコシダーゼの阻害活性（図 7）は、ポリフェノールを多く含むバナバ葉、グァバ葉、ギムネマ葉の各抽出物中で最も強いことが分かりました。また、クワ葉の抽出物には非常に強い阻害活性があることが、弊社試験からも示されました。

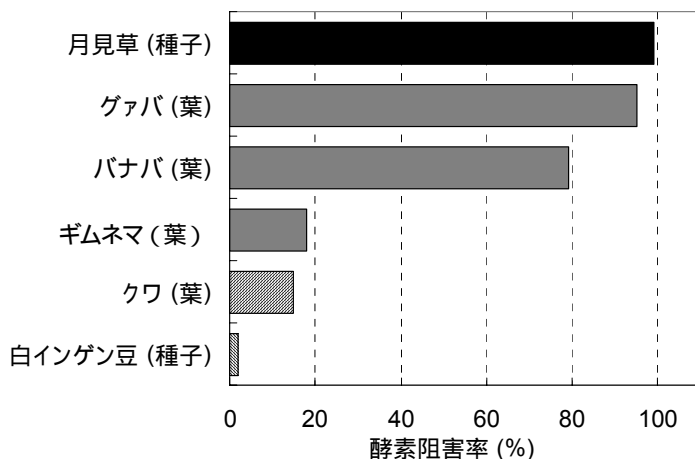


図 6. 植物抽出物の - アミラーゼ阻害率  
 [サンプル濃度 0.1 mg/ml]

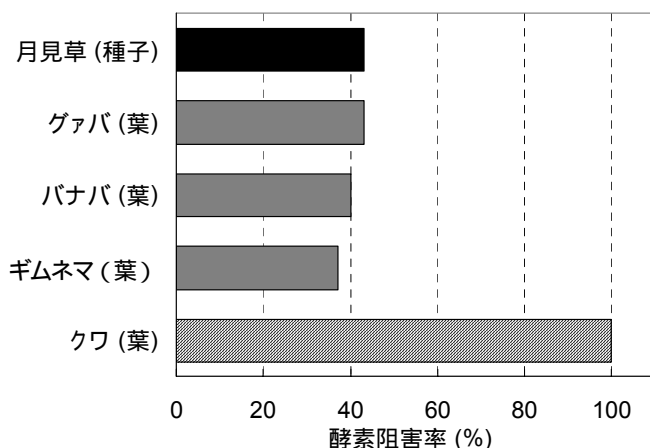


図 7. 植物抽出物の - グルコシダーゼ阻害率  
 [サンプル濃度 0.05 mg/ml]

また、**月見草エキス**中の成分ごとに検討を行い、最も大きな寄与を与える成分がプロアントシアニジンであることを突き止めました (表 2)。

糖尿病患者においては、インスリン感受性が低下した結果、食事後に血糖値が急激に上昇し、様々な臓器に傷害を与えます。血糖値の急激な上昇は、体内のインスリン感受性を低下させ、糖尿病を悪化させるという悪循環をもたらします。したがって、食事の内容に制限を設けたり、食事の時間を長く取るなどの対策が必要となります。また、健常者においても、血糖値の急激な上昇は肥満や糖尿病といった、いわゆるメタボリックシンドロームを引き起こす原因となります。**月見草エキス**を摂取することにより、糖質の消化・吸収を穏やかにし、血糖値の上昇を抑制することが期待されます。

表 2 月見草エキスのポリフェノール成分の、糖質消化酵素阻害寄与率

成分	含量 (%)	$\alpha$ -アミラーゼ		$\alpha$ -グルコシダーゼ	
		IC <sub>50</sub> (mg/ml)	寄与率 (%)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)	寄与率 (%)
月見草エキス	100	0.026		0.34	
PGG	2.7	0.05	1.4	0.10	9.3
没食子酸	3.1	N.D.	--	0.19	5.5
PB1 + PB3	1.5	0.041	1.0	> 2.0	< 0.26
カテキン	3.4	0.10	0.9	6.5	0.18
総 PAC	41.4	0.016	68.0	0.27	52.4

PGG: ペンタガロイルグルコース

PB1: プロシアニジン B1 PB3: プロシアニジン B3

PAC: プロアントシアニジン

N.D.: not detected

#### <参考文献>

「月見草エキスの血糖値上昇抑制作用とその関与成分」*日本食品科学工学会誌*, 50 (4), 180 – 187 (2003).

## アルドースレダクターゼ阻害作用

糖尿病患者の高血糖状態から、どのようなメカニズムで合併症に至るのかについては、いろいろな説が提唱されています。その中でも最も注目されているのが、アルドースレダクターゼという酵素です。この酵素は水晶体、網膜、末梢神経、腎および血管など、糖尿病合併症が出現する種々の組織に存在しており、ブドウ糖を特別な経路で代謝し、ソルビトールの産生を促します。ソルビトールは細胞内において比較的安定で、いったん産生されると細胞内に蓄積し、細胞内浸透圧の亢進、補酵素バランスの異常、最終生成物 AGE (グリケーション最終生成物)の蓄積から合併症に至ると考えられています。

しかし、高血糖状態であっても、アルドースレダクターゼを阻害することができれば、ソルビトール濃度上昇による合併症の原因の一つを抑制することができます (図 8)。月見草エキスは、アルドースレダクターゼを強く阻害することがみだされました (図 9)。

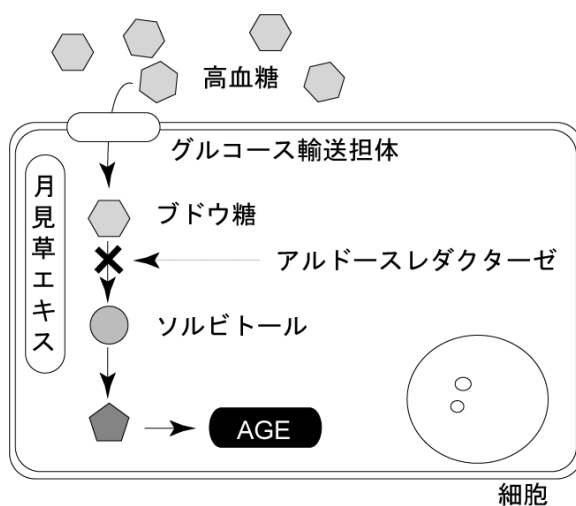


図 8. 細胞内でのアルドースレダクターゼの活性  
AGE: グリケーション最終生成物

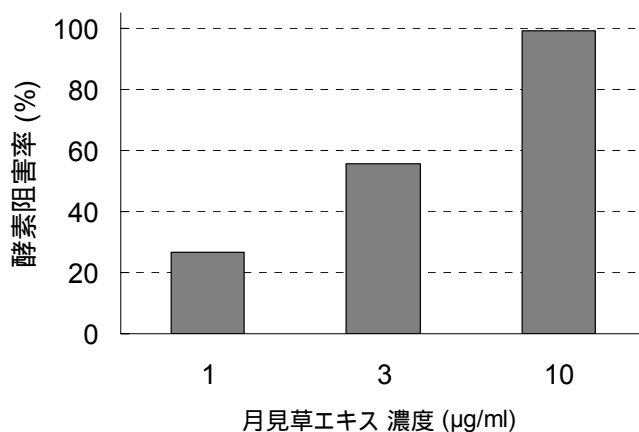


図 9. 月見草エキスのアルドースレダクターゼ阻害活性

### ラットにおける血糖値上昇抑制作用

ラットを用いた糖負荷試験において、**月見草エキス**が糖付加後の血糖値の上昇を穏やかにすることが明らかとなりました (図 10)。

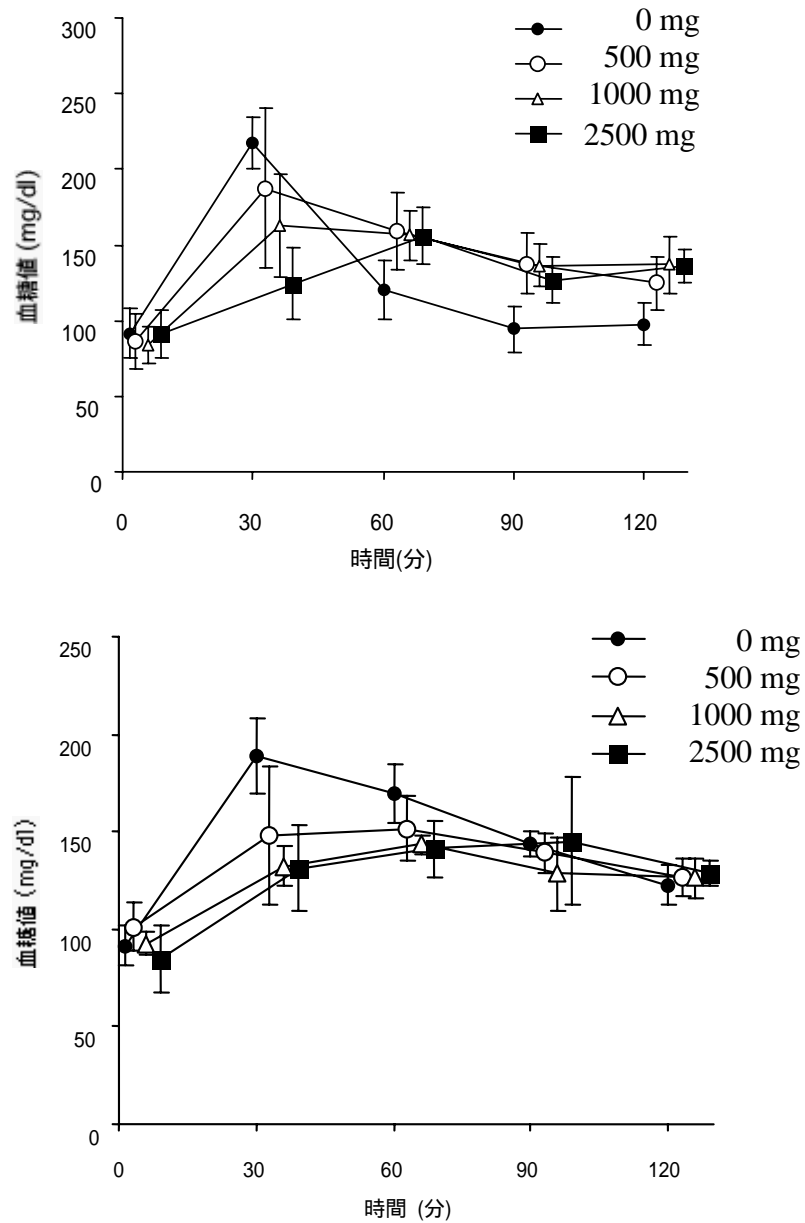


図 10. 糖負荷における血糖値の推移 (ラット,  $n = 8 \sim 9$ )  
 デンプンによる負荷(上)およびショ糖による負荷(下)

### 型糖尿病モデルマウスへの長期摂取試験 (in vivo)

1%の月見草エキスを餌に配合し、非インスリン依存性 (II 型) 糖尿病モデルマウス (KK-Ay) に 6 週間自由摂取させました。血糖値から判断すると、月見草エキス摂取群はコントロール群に比べて、糖尿病の進行が抑制されることが明らかになりました (図 11)。

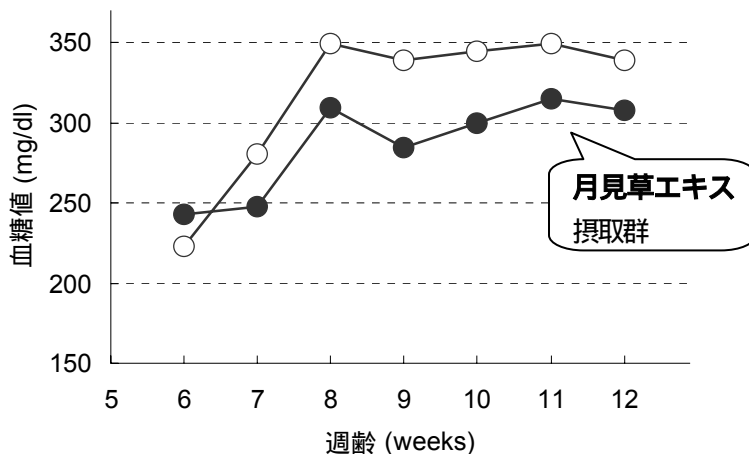


図 11. 月見草エキス摂取群と非摂取群における血糖値の経時変化 (II 型糖尿病モデルマウス,  $n = 8 \sim 9$ )  
月見草エキス摂取群、月見草エキス非摂取群

### 健常者における食後の血糖値上昇抑制作用

健康な男性 9 名、女性 7 名を対象とした食事負荷試験において、食後 30 分後の血糖値の上昇が、月見草エキス摂取群 (200 mg) ではコントロール群に対して有意に抑制されました (図 12)。

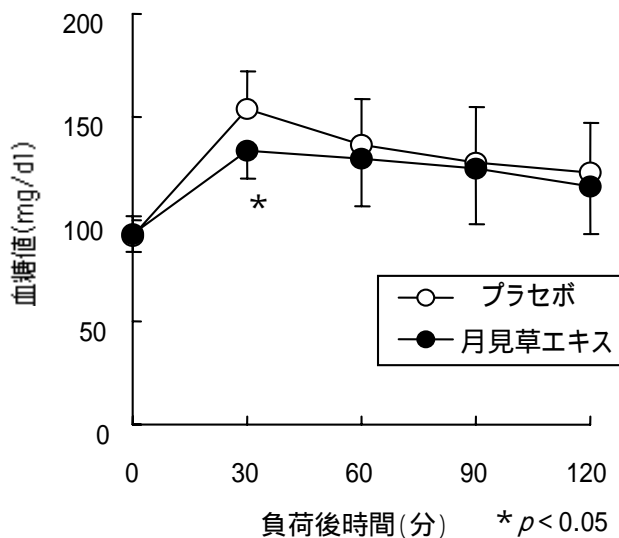


図 12. 健常者における食後の血糖値の推移 ( $n = 13$ )

### 糖尿病患者における食後の血糖値上昇抑制作用

空腹時血糖値が 110 ~ 180 mg/dl にある軽度糖尿病患者 (男性 15 名、女性 3 名) を対象とした食事負荷試験において、**月見草エキス** 摂取群 (200 mg) はプラセボ摂取群に比べて、食後の血糖値の上昇が有意に抑制されました (図 13)。

**月見草エキス** が食事後の急激な血糖上昇を抑制する結果、糖尿病患者において、インスリンがより穏やかに分泌されることも明らかとなりました (表 3)。**月見草エキス** には、糖尿病患者のインスリン分泌の負担を軽減させる効果が期待されます。

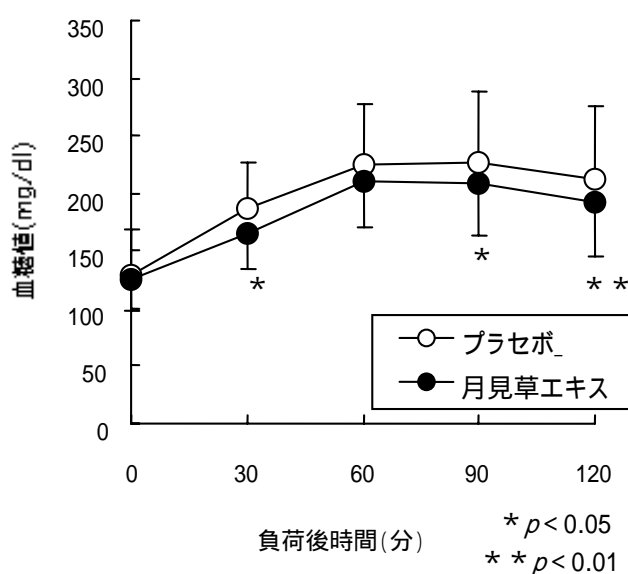


図 12. 糖尿病患者における食後の血糖値の推移 (n = 13)

表 3 食事負荷試験施行時のインスリン値の推移 (n = 13)

	食事負荷試験 インスリン値(μU/dl)					AUC (μU・h/dl)
	負荷前	30分	60分	90分	120分	
月見草エキス	12.7 ± 9.8	22.4 ± 14.5	35.8 ± 33.1	43.7 ± 35.9	42.7 ± 31.4	39.4 ± 34.5
プラセボ	13.3 ± 15.0	28.4 ± 23.9	40.0 ± 31.1	43.6 ± 28.1	50.1 ± 30.0	46.8 ± 31.2
群間有意差	n.s.	P < 0.1	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

AUC: area under curve, n.s.: not significant

<参考文献>

「月見草エキスのヒトにおける食後血糖値上昇抑制作用」 *日本食品科学工学会誌*, 50(10), 451 – 456, (2003).  
 冊子 「境界域及び軽度糖尿病患者における月見草エキスの食事負荷に対する血糖上昇抑制効果」

## ヒト胃がん細胞に対するアポトーシス誘導作用

三重大学医学部の樋廻教授との共同研究により、**月見草エキス**がヒト胃がん細胞に対してアポトーシス誘導作用を有することが発見されました。

蛍光顕微鏡写真から、コントロール群 (A) で変化が見られないのに対し、**月見草エキス**添加群 (B) では、細胞の DNA 断片化がみられ、アポトーシス小体 (矢印) の生成が観察されました。

**月見草エキス**を添加して培養した胃がん細胞から DNA を抽出し、アガロースゲル電気泳動を行ないました。がん細胞の DNA は**月見草エキス**の濃度依存的に断片化することが明らかとなりました (C)。また、DNA の断片化は、経時的に増強されることも分かりました (D)。このような DNA の断片化は、アポトーシスに特徴的なものです。

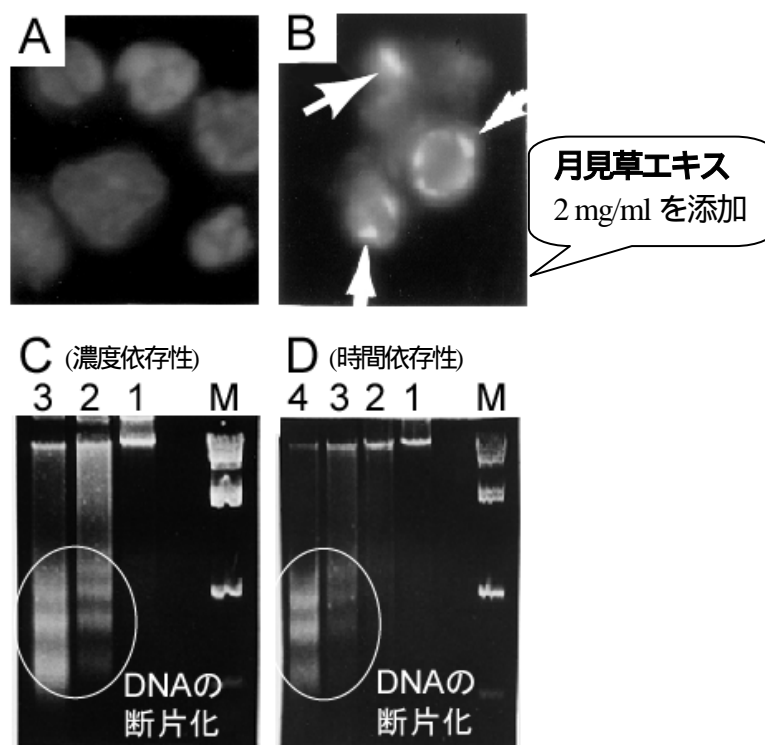


図 13. ヒト胃がん細胞へのアポトーシスの誘導

A, B: 胃がん細胞の核染色蛍光顕微鏡写真。(A) コントロール群。(B) 月見草エキス (2 mg/ml) 添加群ではアポトーシス小体 (矢印) が観察された。

C, D: アガロースゲル電気泳動。(C) 胃がん細胞の DNA は月見草エキスの濃度依存的に断片化した。1; コントロール, 2; 月見草エキス 1 mg/ml, 3; 月見草エキス 2 mg/ml, M; DNA マーカー。(D) 胃がん細胞の DNA は月見草エキス (2 mg/ml) の存在下、2~3 日で断片化した。1; コントロール, 2; 月見草エキス添加 1 日間, 3; 月見草エキス添加 2 日間, 4; 月見草エキス添加 3 日間, M; DNA マーカー。

## チロシナーゼ阻害活性

しみの本体は、皮膚にあるメラニン色素の沈着です。しみの要因にはホルモンバランスの変化や肌荒れ、紫外線、老化等が挙げられますが、いずれも紫外線が関係しています。紫外線を受けた表皮細胞は、表皮の大部分を占める角化細胞を守るために、メラニンを製造する工場であるメラノサイトに向けて情報伝達物質（エンドリセンやホスホリパーゼ）を放出します。これを受けて、チロシナーゼという酵素がメラニンを生成するのです。この一連の反応は、有害な紫外線を肌の内部まで侵入させないための体の自然な働きによるものです。

肌の組織は通常 28 日周期で生まれ変わっています。新陳代謝がスムーズに行われると、このメラニン色素も何ヶ月かで古い細胞と共に外へ排出されてしまいます。しかし、皮膚の新陳代謝が低下するにしたがい、メラニン色素が外に排出されることなく皮膚に沈着しやすくなります。年齢を重ねるにしたがってしみができやすくなるのはこのためです。

チロシナーゼの活性阻害作用を有する成分はメラニン産生を抑制することが期待されます。月見草エキスは種々の成分と比較した結果、同等もしくはそれ以上の阻害活性がみられました (図 14)。

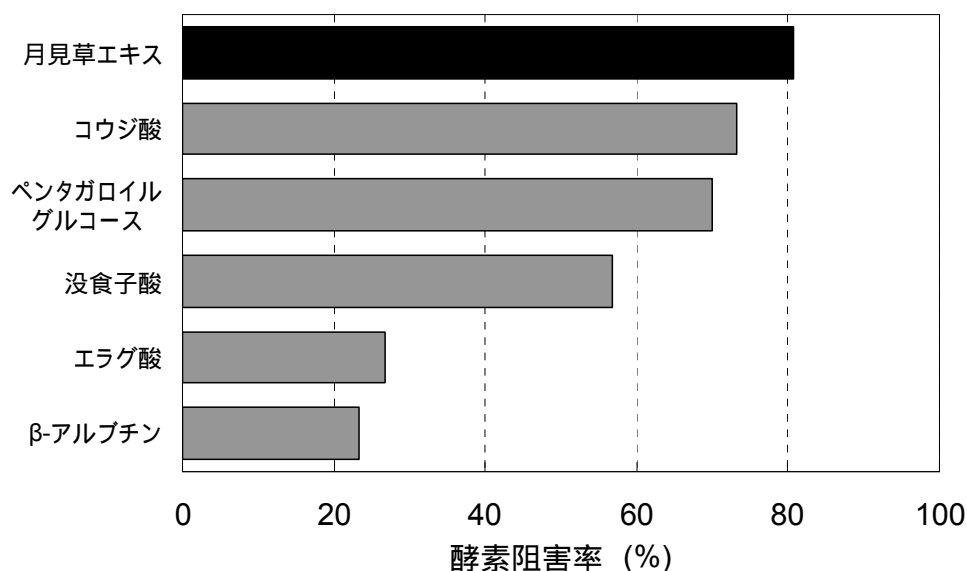


図 14. チロシナーゼ阻害率  
成分濃度 1 mg/ml におけるチロシナーゼ阻害率

## 保湿性試験

ヒトの皮膚に一定量の試料溶液を塗布し、肌水分量を保湿計で計測しました。蒸留水のみを塗布した場合、ほぼ5分で塗布前の水準に戻りましたが、**月見草エキス**溶液塗布では、20分以上水分を保持することが明らかとなりました (図 15)。

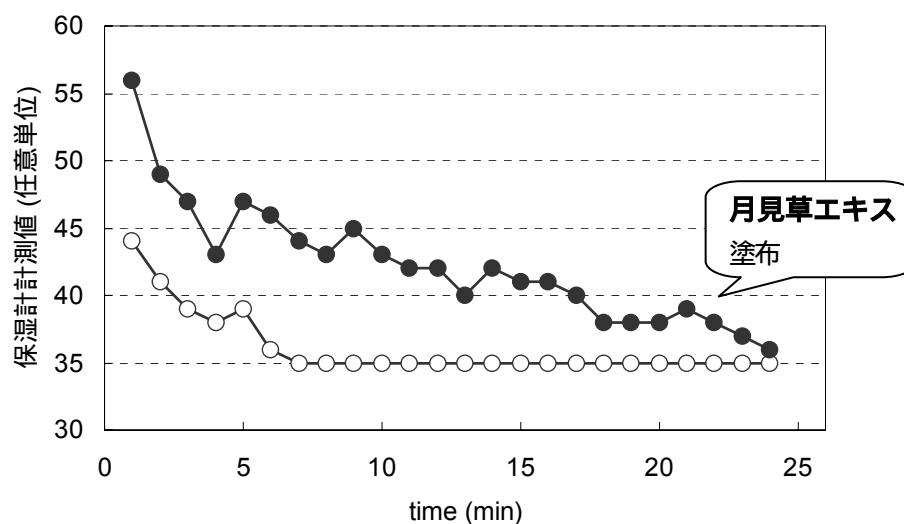


図 15. 肌水分量の推移 (ヒト、女性、 $n = 1$ )  
月見草エキス、蒸留水 (コントロール)

## 4. 月見草エキスの安定性

### 熱安定性

月見草エキスのポリフェノール類は、通常食品加工温度に対して安定です。

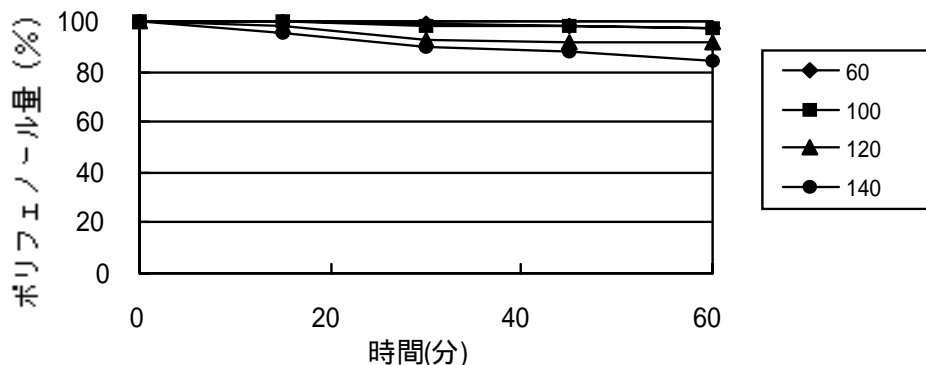


図 16. 月見草エキスの熱安定性  
ポリフェノール量の初期値に対する割合 (%)

### pH 安定性

月見草エキスのポリフェノール類は、酸性から中性において安定です。

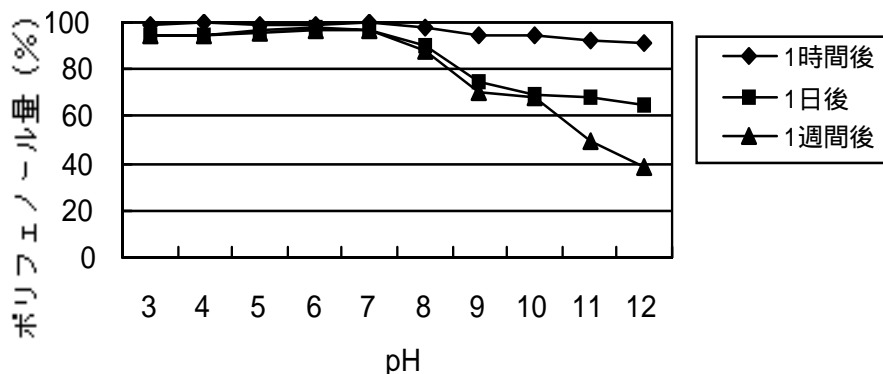


図 17. 月見草エキスの pH 安定性  
ポリフェノール量の pH7 における初期値に対する割合 (%)

## 5. 月見草エキスの推奨摂取量

月見草エキス - P、- WSPS とともに、100 ~ 300 mg/食事の摂取をおすすめします。月見草エキスは、厚生労働省より食品として認められた製品ですので、安心してお召し上がりいただけます。

## 6. 月見草エキスの栄養成分 (100 g あたり)

項目	月見草エキス - P	月見草エキス - WSPS
水分	1.5 g	2.0 g
タンパク質	6.6 g	8.3 g
脂質	4.9 g	0.2 g
灰分	3.7 g	20.7 g
糖質	82.3 g	59.7 g
食物繊維	1.0 g	9.1 g
ナトリウム	14.4 mg	96.5 mg
エネルギー	400 kcal	274 kcal

試験機関 財団法人日本食品分析センター

試験成績書発行年月日 平成12年8月25日・平成13年6月21日

試験成績書発行番号 第300080303-002号・第301060141-001号

## 7. 月見草エキスの安全性

### 残留農薬

原料である月見草種子について、現地生産者に農薬不使用である旨を確認するとともに（本製品に使われる月見草は野生品です）、毒性の強い農薬に関しては分析を行い、安全性を確認しています。

分析項目	結果	検出限界	分析方法
BHC	検出せず	0.02ppm	ガスクロマトグラフ法
DDT	検出せず	0.02ppm	ガスクロマトグラフ法
アルドリン	検出せず	0.01ppm	ガスクロマトグラフ法
ディルドリン	検出せず	0.01ppm	ガスクロマトグラフ法
エンドリン	検出せず	0.01ppm	ガスクロマトグラフ法
ダイアジノン	検出せず	0.05ppm	ガスクロマトグラフ法
パラチオン	検出せず	0.05ppm	ガスクロマトグラフ法
馬拉チオン	検出せず	0.05ppm	ガスクロマトグラフ法

試験依頼先 財団法人日本食品分析センター

試験成績書発行年月日 平成12年8月24日

試験成績書発行番号 第300080303-001号

### 急性毒性試験

5週齢のSD系ラット雌雄各17匹に**月見草エキス**を5,000 mg/kgの用量で経口投与しましたが、観察期間を通じ、それらの死亡は認められませんでした。また、体重変化、および試験終了後の剖検における異常は認められませんでした。ラットに対する**月見草エキス**の致死量(LD<sub>50</sub>)は5,000 mg/kg以上です。

### 復帰突然変異試験 (Ames 試験)

*Salmonella typhimurium* (ネズミチフス菌) 菌株及び *Escherichia coli* (大腸菌) 菌株を、Amesのプレート法を用いて検討しました。その結果、代謝活性化のある場合およびない場合のいずれにおいても、復帰変異体コロニーの出現頻度に有意な増加はみられませんでした。**月見草エキス**は非変異原性であると考えられます。

### 染色体異常試験

**月見草エキス**はCHL/TU細胞に対して染色体異常誘発性を示しませんでした。

### マウスにおける小核試験

**月見草エキス**を投与した動物に、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加は認められませんでした。**月見草エキス**は、非遺伝毒性であると考えられます。

## 8. 月見草エキスの応用例

利用方法	具体例
健康食品	ソフトカプセル、錠剤、ハードカプセル等
食品	キャンディー、チューイングガム、グミ、錠菓、クッキー、チョコレート、ウエハース、ゼリー、ドリンク等
化粧品	石鹸、洗顔料、シャンプー、リンス、化粧水、ローション、ファンデーション、リップクリーム、口紅、歯みがき等

## 9. 荷姿

**月見草エキス - P** (粉末、食品用途)

**月見草エキス - WSPS** (粉末、食品用途)

**月見草エキス - PC** (粉末、化粧品用途)

5kg 内装：アルミ袋

外装：ダンボール包装

**月見草エキス - LC** (液体、化粧品用途)

5kg 内装：キュービーテナー

外装：ダンボール包装

## 10. 保管方法

高温多湿を避け、室温、暗所にて密封状態で保管して下さい。

## 11. 月見草エキスの表示例

### 月見草エキス - P、月見草エキス - WSPS

表示例 : 月見草種子エキス粉末、月見草種子抽出物、月見草種子エキスまたは月見草エキス

\* 食品表示については所轄の保健所及び、地方農政局に御確認下さい。

### 月見草エキス - PC

表示名称 : メマツヨイグサ種子エキス

INCI 名 : Oenothera Biennis (Evening Primrose) Seed Extract

### 月見草エキス - LC

表示名称 : BG、水、メマツヨイグサ種子エキス


INCI 名 : Butylene Glycol

Water

Oenothera Biennis (Evening Primrose) Seed Extract

## 12. 国際特許取得 (糖質吸収阻害剤)

### 米国特許権



US006932990B2

(12) **United States Patent**  
Konishi et al.

(10) **Patent No.:** US 6,932,990 B2  
(45) **Date of Patent:** Aug. 23, 2005

### ヨーロッパ特許権

(19)  europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) **EP 1 312 374 B1**

(12) **EUROPEAN PATENT SPECIFICATION**

(45) Date of publication and mention of the grant of the patent:  
10.09.2008 Bulletin 2008/37

(51) Int Cl.:  
A61K 36/185 (2006.01) A61K 31/05 (2006.01)  
A61P 3/10 (2009.01)

(21) Application number: 01954345.3


(86) International application number:  
PCT/JP2001/006436

(22) Date of filing: 26.07.2001

(87) International publication number:  
WO 2002/009734 (07.02.2002 Gazette 2002/06)

### 中国特許権

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 01816661. X

[51] Int. Cl.  
A61K 36/185 (2006.01)  
A61K 131/00 (2006.01)  
A61K 31/192 (2006.01)  
A61K 31/352 (2006.01)  
A61K 31/7024 (2006.01)  
A61K 31/7048 (2006.01)

[45] 授权公告日 2006年8月9日

[11] 授权公告号 CN 1268351C

## 試験方法

### ポリフェノール含量の定量 (図 1)

80%メタノールに溶解したサンプルを、没食子酸を標準として Folin-Denis 法により測定した。

### SOD 様活性測定 (図 3)

サンプル溶液 (0.050 mg/ml)を SOD テストワコー (和光純薬株式会社)を用いて測定した。

### DPPH ラジカル消去活性測定 (図 4)

サンプル溶液 (0.10 mg/ml) を DPPH 法により測定した。

### -アマラーゼ活性阻害試験 (図 6)

-アマラーゼ酵素活性を、アマラーゼテストワコー (和光純薬株式会社)により測定した。96 穴プレートに -アマラーゼ (ブタ豚由来、Sigma)を含むサンプル溶液 (0.050 mg/ml)を 50  $\mu$ l 添加し、キット添付の基質液を 40  $\mu$ l 添加して 37  $^{\circ}$ C で 10 分間、予備加熱を行った。キット添付の発色液を 100 $\mu$ l 添加して室温で 10 分間放置後、650 nm の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

### -グルコシダーゼ活性阻害試験 (図 7)

ラット腸管アセトン粉末 (Sigma)にリン酸緩衝液 (pH 7.4)を加え、ホモゲナイズし、遠心分離した上清を粗酵素液とした。96 穴プレートに粗酵素液を含むサンプル溶液 (0.10 mg/ml)を添加し、基質液 (0.33 mM の 4-メチルウンベリフェリルグルコシド)を添加して 37  $^{\circ}$ C で反応させた。遊離したウンベリフェロンを分光光度計で測定した。

### アルドースレダクターゼ活性阻害試験 (図 9)

0.18 M リン酸緩衝液 (pH 7.0, 500  $\mu$ l)、1.5 mM  $\beta$ -NADPH (100  $\mu$ l)、100 mM DL-グリセルアルデヒド (100  $\mu$ l)、蒸留水 (295  $\mu$ l)および DMSO に溶解したサンプル (10  $\mu$ l)を混合し、30  $^{\circ}$ C で 5 分間予備加熱した。ここに、アルドースレダクターゼ (以上試薬は和光純薬株式会社, 1 unit/ml, 5  $\mu$ l)を添加して 30  $^{\circ}$ C で 30 分間インキュベートした。氷冷して反応を停止させた。その後、反応液の 340 nm の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

### 糖負荷試験 (図 10)

6~7 週齢の Wistar 系雄性ラットを一晩絶食後、ゾンデを用いてデンプンまたはスクロース 2 g/kg と月見草エキス 0~2,500 mg/kg を蒸留水で懸濁して投与した。経時的に尾静脈から採血し、血糖値を測定した。

### 月見草エキスの長期摂取試験 (図 11)

日本クレアより購入した 5 週齢の KK-Ay マウスを 1 週間予備飼育後、血糖値を測定し、平均値が同じになるようにコントロール群と月見草エキス群とに分けた。コントロール群には通常食 (CE-2、日本クレア)、試験食群には通常食に月見草エキスを 1%添加した餌を与えた。

餌と水は自由摂取とし、1週間ごとに尾静脈から採血し、血糖値を測定した。

#### 健常者に対する食事負荷試験 (図 12)

空腹時血糖値が 70 ~ 110 mg/dl の健康な男性 9 名、女性 7 名 (平均年齢 32 歳) を対象者に選び、クロスオーバー食事負荷試験を行った。一晚絶食した被験者に、月見草エキス 200 mg またはプラセボとしてデキストリン 200 mg を水で摂取させた。5 分後に市販包装白米 200 g を摂取させた。食後 30 分後、60 分後、90 分後、120 分後の血糖値を小型電極式血糖測定器で測定した。

#### 糖尿病患者に対する食事負荷試験 (図 13)

空腹時血糖値が 110 ~ 180 mg/dl の境界域及び軽度糖尿病患者 18 名 (男性 15 名・女性 3 名) を対象者に選び、クロスオーバー食事負荷試験を行った。一晚絶食した被験者に、月見草エキス 200 mg を含有するカプセル、またはプラセボとして米粉 200 mg を含有したカプセルを摂取させた。5 分後に市販包装白米 200 g を摂取させた。食後 30 分、60 分、90 分、120 分に静脈採血を行い、血糖値と血清インスリン値を測定した。

#### ヒト胃がん細胞へのアポトーシス誘導作用 (図 14)

ヒト胃がん細胞を 10% 牛胎児血清含有 RPMI1640 培地で培養した。5 × 10<sup>5</sup> cells/ml に懸濁したヒト胃がん細胞に、月見草エキスのエタノール溶液 (2 mg/ml) を添加し、3 日間培養した。培養後、細胞を遠心分離により回収し、PBS (-) で洗浄した。細胞核を蛍光染色し、蛍光顕微鏡で形態を観察した。

#### ヒト胃がん細胞の DNA 断片化作用 (図 14)

ヒト胃がん細胞を 10% 牛胎児血清含有 RPMI1640 培地で培養した。5 × 10<sup>5</sup> cells/ml に懸濁したヒト胃がん細胞に、月見草エキスのエタノール溶液を添加し、3 日間培養した。遠心分離して細胞を回収し、PBS (-) で洗浄した。細胞を lysis buffer に溶解し、以下の方法によりゲノム DNA を抽出した。細胞溶解液に RNase を加えて 50 °C で 2.5 時間反応させ、さらにプロテアーゼ K を加えて 50 °C で 2.5 時間反応させた。反応液にエタノールを加えて DNA を沈降させた。これを蒸留水に溶解し、2% アガロースゲルで電気泳動した。

#### チロシナーゼ阻害活性 (図 15)

マッシュルーム由来のチロシナーゼ (Sigma) を用いてチロシナーゼ阻害活性を測定した (測定方法の参照: McLeod SD, Smith C, Mason RS., Stimulation of tyrosinase in human melanocytes by pro-opiomelanocortin-derived peptides., *J. Endocrinol.*, 1995, **146**(3), 439-47.)。試料溶液 50 μl と 1/15 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 45 μl を混合し、1,100 unit/ml 酵素溶液 5 μl を加えて 37 °C、10 分間プレインキュベートした。L - DOPA (Sigma) をリン酸緩衝液に溶解し、0.15% の濃度に調整した。プレインキュベートした反応溶液に L - DOPA 溶液を 50 μl 加えて混合し、37 °C で 5 分間インキュベートした。冷却して反応を停止し、490 nm における吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。

**保湿性試験 (図 16)**

月見草エキスを蒸留水に溶解し、1%水溶液とした。この液を被験者の左上腕内側に1滴滴下し、2センチメートル四方の部分に伸ばした。1分後、ペーパーを軽く押し当てることにより、表面部分に浮いている水溶液を吸い取った。皮膚の水分量を水分計 Corneometer CM825を用いて経時的に測定した。

**急性毒性試験**

5週齢のSD系ラット雌雄各17匹に月見草エキスを5,000 mg/kg 経口投与し、温度  $22 \pm 3$ 、湿度  $50 \pm 20\%$ 、餌および水自由摂取の条件下で14日間飼育した。経時的にラットの体重を測定した。試験終了後、マウスの剖検を行い、臓器の形態を視覚的に観察した。

**染色体異常試験**

ほ乳類培養細胞 (CHL/IU) における染色体異常誘発性を評価した。月見草エキスの細胞への添加最終濃度は、以下の通りである。短時間処理法、代謝活性化系の非存在下では 75.0, 106.1, 150.0, 212.1, 300.0  $\mu\text{g/ml}$ 。短時間処理法、代謝活性化系の存在下では 100.0, 141.1, 200.0, 282.8, 400.0  $\mu\text{g/ml}$ 。連続処理法、24時間処理法では 39.5, 59.3, 88.9, 133.3, 200.0  $\mu\text{g/ml}$ 。連続処理法、48時間処理試験では、19.8, 29.6, 44.4, 66.7, 100  $\mu\text{g/ml}$ 。染色体の構造異常及び数的異常の出現頻度を顕微鏡で観察した。

**マウスにおける小核試験**

一群7匹のマウスに月見草エキス 50, 100, 200 mg/kg を腹腔内投与した。24 または 48 時間後に骨髄を抜き出し、スライドガラスに塗抹し、染色した。多染性および正染性赤血球を顕微鏡で観察し、小核の有無を調べた。陰性対照としてラッカセイ油を、陽性対照としてシクロホスファミドを、それぞれ単回腹腔内投与した。

## 製品規格書

製品名

月見草エキス-P

食 品

本品は、月見草すなわちアカバナ科メマツヨイグサ (*Oenothera biennis*) の種子から含水エタノールで抽出して得られた粉末で、没食子酸骨格を有するポリフェノール類を含有する。本品は定量するとき、ポリフェノールを 60.0% 以上含む。

<u>性 状</u>	本品は赤褐色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。	
<u>ポリフェノール含量</u>	60.0% 以上	(食品機能研究法記載 Folin-Denis 法)
<u>乾燥減量</u>	5.0% 以下	(衛生試験法、1 g、105℃、2 時間)
<u>純度試験</u>		
(1) 重金属	10 ppm 以下	(食品添加物公定書、一般試験法、重金属試験法)
(2) ヒ素	1 ppm 以下	(食品衛生検査指針、ヒ素試験法)
<u>一般生菌数</u>	$1 \times 10^3$ 個/g 以下	(衛生試験法、標準寒天培地)
<u>真菌数</u>	$1 \times 10^2$ 個/g 以下	(衛生試験法、ポテトデキストロース寒天培地 クロラムフェニコール添加)
<u>大腸菌群</u>	陰 性	(衛生試験法、BGLB 培地)
<u>組 成</u>	<u>成 分</u>	<u>含有量</u>
	月見草種子抽出物	100%

## 製品規格書

製品名

月見草エキス-WSPS

食 品

本品は、月見草すなわちアカバナ科メマツヨイグサ (*Oenothera biennis*) の種子から熱水で抽出して得られた粉末で、没食子酸骨格を有するポリフェノール類を含有する。本品は定量するとき、ポリフェノールを 50.0% 以上含む。本品は水溶性である。

<u>性 状</u>	本品は茶色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。	
<u>ポリフェノール含量</u>	50.0% 以上	(食品機能研究法記載 Folin-Denis 法)
<u>乾燥減量</u>	5.0% 以下	(衛生試験法、1 g、105℃、2 時間)
<u>純度試験</u>		
(1) 重金属	10 ppm 以下	(食品添加物公定書、一般試験法、重金属試験法)
(2) ヒ素	1 ppm 以下	(食品衛生検査指針、ヒ素試験法)
<u>一般生菌数</u>	$1 \times 10^3$ 個/g 以下	(衛生試験法、標準寒天培地)
<u>真菌数</u>	$1 \times 10^2$ 個/g 以下 (衛生試験法、ポテトデキストロース寒天培地 クロラムフェニコール添加)	
<u>大腸菌群</u>	陰 性	(衛生試験法、BGLB 培地)
<u>組 成</u>	成 分	含有量
	月見草種子抽出物	100%

## 製品規格書

製品名

月見草エキス-PC

化粧品

本品は、月見草すなわちアカバナ科メマツヨイグサ (*Oenothera biennis*) の種子から含水エタノールで抽出して得られた粉末で、没食子酸骨格を有するポリフェノール類を含有する。本品は定量するとき、ポリフェノールを 60.0% 以上含む。

性 状	本品は赤褐色の粉末で、わずかに特有なにおいがある。	
ポリフェノール含量	60.0% 以上	(食品機能研究法記載 Folin-Denis 法)
乾燥減量	5.0% 以下	(1 g、105℃、2 時間)
純度試験		
(1) 重金属	10 ppm 以下	(第 2 法)
(2) ヒ素	1 ppm 以下	(第 3 法、装置 B)
一般生菌数	$1 \times 10^3$ 個/g 以下	(衛生試験法、標準寒天培地)
真菌数	$1 \times 10^2$ 個/g 以下 (衛生試験法、ポテトデキストロース寒天培地 クロラムフェニコール添加)	
大腸菌群	陰 性	(衛生試験法、BGLB 培地)
組 成	成 分	含有量
	メマツヨイグサ種子エキス	100%

この規格及び試験方法において、別に規定するものの他は、外原規通則及び一般試験法を準用するものとする。

## 製品規格書

製品名

月見草エキス-LC

化粧品

本品は、月見草すなわちアカバナ科メマツヨイグサ (*Oenothera biennis*) の種子から含水エタノールで抽出して得られた抽出物を含水1,3-ブチレングリコール(BG)に溶解して得られた溶液である。本品は水溶性である。

<u>性 状</u>	本品は赤褐色の液体で、わずかに特有なにおいがある。											
<u>確認試験</u>												
(1)	本品の水溶液(1 5)5 ml に、塩化第二鉄試液 2 滴を加えるとき、液は青黒色を呈する。	(タンニン)										
(2)	本品の水溶液(1 5)5 ml に、過マンガン酸カリウム試液 1 滴を加えるとき、試液の色は直ちに消える。	(ポリフェノール類)										
<u>ポリフェノール含量</u>	0.5%以上	(食品機能研究法記載 Folin-Denis 法)										
<u>p H</u>	4.00 ~ 5.50	(本品の 10% 水溶液)										
<u>比 重</u>	1.020 ~ 1.060	(25 °C、第 1 法、C)										
<u>純度試験</u>												
(1) 重金属	10 ppm 以下	(第 2 法)										
(2) ヒ素	1 ppm 以下	(第 3 法、装置 B)										
<u>一般生菌数</u>	$1 \times 10^3$ 個/g 以下	(衛生試験法、標準寒天培地)										
<u>真菌数</u>	$1 \times 10^2$ 個/g 以下 (衛生試験法、ポテトデキストロース寒天培地 クロラムフェニコール添加)											
<u>大腸菌群</u>	陰 性	(衛生試験法、BGLB 培地)										
<u>組 成</u>	<table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; border-bottom: 1px solid black;">成 分</th> <th style="text-align: right; border-bottom: 1px solid black;">含有量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BG</td> <td style="text-align: right;">69%</td> </tr> <tr> <td>水</td> <td style="text-align: right;">30%</td> </tr> <tr> <td>メマツヨイグサ種子エキス</td> <td style="text-align: right;">1%</td> </tr> <tr> <td style="border-top: 1px solid black;">合 計</td> <td style="text-align: right; border-top: 1px solid black;">100%</td> </tr> </tbody> </table>		成 分	含有量	BG	69%	水	30%	メマツヨイグサ種子エキス	1%	合 計	100%
成 分	含有量											
BG	69%											
水	30%											
メマツヨイグサ種子エキス	1%											
合 計	100%											

この規格及び試験方法において、別に規定するものの他は、外原規通則及び一般試験法を準用するものとする。

商品企画からOEM生産まで  
お気軽に、ご相談ください。

オリザ油化は、健康に役立つ機能性をもつ  
食品素材の開発をめざしています。  
多品種の機能性食品素材を生産し、多くの  
食品情報を有しております。  
お気軽にお問い合わせください。

製造発売元：オリザ油化株式会社

〒493-8001 愛知県一宮市北方町沼田 1 番地

TEL: (0586)86-5141 (代表) FAX: (0586)86-6191

URL: <http://www.oryza.co.jp/>

E-mail: [info@oryza.co.jp](mailto:info@oryza.co.jp)



東京営業所

〒101-0041 東京都千代田区神田須田町 1-24-10 大東京ビル 5F

TEL (03)5209-9150 FAX (03)5209-9151 E-mail: [tokyo@oryza.co.jp](mailto:tokyo@oryza.co.jp)

- \* 本書の無断複写、及び流用は、著作権法上の例外を除き、禁じられています。
- \* 本カタログに記載された内容は、都合により変更させていただくことがあります。
- \* 本資料は、学術的なデータ等に基づき作成しておりますが、当該製品を配合した消費者向けの製品への表現については、健康増進法や薬事法等の関連法規に従うようご注意ください。

制定日 1999年9月1日

改訂日 2010年3月5日