



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114007631 B

(45) 授权公告日 2023.05.30

(21) 申请号 202080043217.4
 (22) 申请日 2020.05.19
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 114007631 A
 (43) 申请公布日 2022.02.01
 (30) 优先权数据
 10-2019-0064098 2019.05.30 KR
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2021.11.30
 (86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/KR2020/006545 2020.05.19
 (87) PCT国际申请的公布数据
 W02020/242113 KO 2020.12.03
 (73) 专利权人 HL科学株式会社
 地址 韩国京畿道
 (72) 发明人 李海莲 金钟来 金台其 朴美龄
 李钟旭 杨镇成

(74) 专利代理机构 北京市中伦律师事务所
 11410
 专利代理师 杨黎峰 刘烽

(51) Int.Cl.
 A61K 36/8998 (2006.01)
 A61K 36/47 (2006.01)
 A61K 31/366 (2006.01)
 A61K 31/7048 (2006.01)
 A61P 3/00 (2006.01)
 A61P 3/04 (2006.01)
 A61P 3/10 (2006.01)
 A23L 33/105 (2016.01)
 A23L 2/52 (2006.01)
 A23G 4/12 (2006.01)
 A23G 4/06 (2006.01)

(56) 对比文件
 张金桃. 一种健康型天然菊花茶饮料的研制. 农村科学实验. 2016, (08), 49-51.

审查员 李冰韶

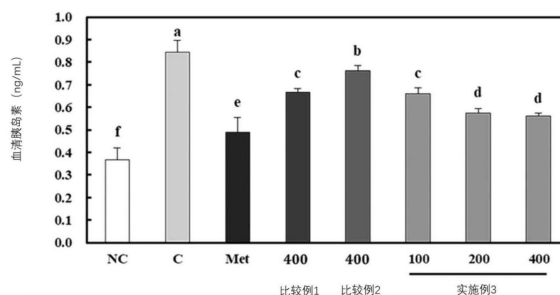
权利要求书1页 说明书16页 附图5页

(54) 发明名称

印度醋栗提取物与大麦芽提取物的复合物作为唯一活性成分的组合在制备用于预防、改善或治疗代谢综合征的药物中的应用

(57) 摘要

本发明涉及一种含有印度醋栗 (amla) 提取物和大麦芽提取物的复合物作为活性成分的用于预防、减轻或治疗代谢综合征的组合物。特别地, 根据本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物通过降低体重、血糖、血胰岛素和血糖化血红蛋白而在减轻肥胖症或糖尿病方面展现协同效应, 因此可作用于预防或治疗诸如肥胖症和糖尿病的代谢综合症的药物组合物或健康功能性食品。



1. 印度醋栗提取物与大麦芽提取物的复合物作为唯一活性成分的组合在制备用于预防、改善或治疗代谢综合征的药物中的应用，

其中印度醋栗提取物与大麦芽提取物的重量比为4:1至1:1，

其中所述代谢综合征是肥胖症，

其中所述印度醋栗提取物在酸水解的条件下包含1mg/g至5mg/g的鞣花酸，并且

其中所述大麦芽提取物包含6mg/g至11mg/g的皂草苷。

2. 根据权利要求1所述的应用，其中印度醋栗提取物与大麦芽提取物的重量比为4:1或1:1。

3. 根据权利要求1所述的应用，其中所述印度醋栗提取物在无酸水解的条件下包含5mg/g至25mg/g的游离鞣花酸。

4. 根据权利要求1所述的应用，其中所述印度醋栗提取物或大麦芽提取物是压榨的提取物，或者是使用选自由水、1至4个碳原子的低级醇及其混合物组成的组的提取溶剂提取的提取物。

5. 根据权利要求1所述的应用，其中所述印度醋栗提取物或大麦芽提取物为干粉形式。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的应用，其中所述组合物为药物组合物。

7. 印度醋栗提取物与大麦芽提取物的复合物作为唯一活性成分的组合在制备用于预防、改善或治疗代谢综合征的产品中的应用，

其中印度醋栗提取物与大麦芽提取物的重量比为4:1至1:1，

其中所述代谢综合征是肥胖症，

其中所述印度醋栗提取物在酸水解的条件下包含1mg/g至5mg/g的鞣花酸，并且

其中所述大麦芽提取物包含6mg/g至11mg/g的皂草苷。

8. 一种用于预防、改善或治疗代谢综合征的药物的制备方法，其包括：

从印度醋栗中获得印度醋栗提取物，包括压榨和干燥过程；

从大麦芽中获得大麦芽提取物，包括压榨和干燥过程；以及

将所述印度醋栗提取物和大麦芽提取物以4:1至1:1的重量比混合，以获得其复合物，

其中所述药物以所述复合物作为唯一活性成分，并且

其中所述代谢综合征是肥胖症，

其中所述印度醋栗提取物在酸水解的条件下包含1mg/g至5mg/g的鞣花酸，并且

其中所述大麦芽提取物包含6mg/g至11mg/g的皂草苷。

印度醋栗提取物与大麦芽提取物的复合物作为唯一活性成分的组合物在制备用于预防、改善或治疗代谢综合征的药物中的应用

[0001] 本申请要求基于2019年5月30日提交的韩国专利申请号10-2019-0064098的优先权,并且该对应申请的说明书和附图中所公开的全部内容均并入本申请中。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种包含天然提取物作为活性成分的用于预防、改善或治疗代谢综合征的组合物。

背景技术

[0003] 肥胖症是指脂肪在体内过度堆积的病状,并且其可能由各种原因如遗传因素、缺乏运动、压力、激素失衡和西化饮食等造成。最近,由于能量摄入和消耗的失衡,肥胖症的患病率正逐年增加,并且根据2017年国家健康和营养调查(National Health and Nutrition Survey),韩国19岁以上的肥胖症率为34.1%,并且与2001年的29.2%相比增加了4.9%。肥胖症本身可能是一个健康问题,但它目前被认为是严重的健康问题,因为它与代谢综合症诸如高脂血症、高血压、2型糖尿病和高血糖等密切相关。

[0004] 目前,用于治疗或改善肥胖症的方法有多种方式,并且一种方法是肥胖症治疗剂。代表性肥胖症治疗剂包括食欲抑制剂(诸如芬特明、苯甲曲秦、马吲哚等)和脂肪吸收抑制剂(诸如奥利司他),但是食欲抑制剂有一个问题,即通过刺激中枢神经系统产生副作用,诸如心悸、胸痛、头晕、焦虑和无知觉等,并且脂肪吸收抑制剂具有胃肠副作用,诸如抑制脂溶性维生素吸收、消化功能紊乱等。

[0005] 除了用这些肥胖症治疗剂进行药物疗法之外,还进行限制能量摄取的饮食疗法、增加能量消耗的运动疗法、精神疗法、行为疗法、手术疗法等,但是作为治疗肥胖症的优选方法,通过运动促进能量消耗和组合副作用较少的用于治疗肥胖症的药物已被认为是最安全并且最有效的方法。

[0006] 因此,迫切需要开发一种用于抑制或治疗肥胖症或糖尿病的物质,其对人体是安全的并且显示出优异的效果。

[0007] 本说明书中提到并引用了多个文件。引用文件的公开内容以引用的方式整体并入本文,并且本发明所属的技术领域的水平和本发明的内容将进行更清晰的描述。

发明内容

[0008] 技术问题

[0009] 本发明人尝试开发一种显示治疗和抑制肥胖症或糖尿病的效果且无副作用的天然物质,并且因此确认了在各种天然原料中印度醋栗提取物和大麦芽提取物对于诸如肥胖症或糖尿病的代谢综合征有优异的治疗效果,并且通过使每种原材料的功效最大化,找到了对于治疗代谢综合征有协同效应的混合比例,从而完成了本发明。

[0010] 因此,本发明的目的是提供以下实施方案。

[0011] 实施方案1.一种包含印度醋栗(余甘子)提取物与大麦芽(多棱大麦)提取物的复合物作为活性成分的用于预防、改善或治疗代谢综合征的组合物;或一种印度醋栗(余甘子)提取物和大麦芽(多棱大麦)提取物的复合物用于预防、改善或治疗代谢综合征或者用于制备用于预防、改善或治疗代谢综合征的药物或健康功能性食品用途。

[0012] 实施方案2.根据实施方案1所述的组合物或用途,其中所述印度醋栗提取物与上述大麦芽提取物的重量比为4:1至1:1。

[0013] 实施方案3.根据前述实施方案中任一项所述的组合物或用途,其中与每种单一物质相比,所述印度醋栗提取物与大麦芽提取物的复合物具有协同效应。

[0014] 实施方案4.根据前述实施方案中任一项所述的组合物或用途,其中所述印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物通过抑制脂肪的消化和吸收并抑制脂肪合成和促进脂解,通过抑制胰脂肪酶的酶活性来保留抑制脂肪堆积和减轻体重的功效;或者通过调控血糖的吸收和促进葡萄糖代谢来保留降低血糖、胰岛素和糖化血红蛋白的功效。

[0015] 实施方案5.根据前述实施方案中任一项所述的组合物或用途,其中所述代谢综合征是肥胖症或糖尿病。

[0016] 实施方案6.根据前述实施方案中任一项所述的组合物或用途,其中所述印度醋栗提取物在酸水解的条件下包含1至5mg/g的鞣花酸。

[0017] 实施方案7.根据前述实施方案中任一项所述的组合物或用途,其中所述印度醋栗提取物在无酸水解的条件下包含5至25mg/g的游离鞣花酸。

[0018] 实施方案8.根据前述实施方案中任一项所述的组合物或用途,其中所述大麦芽提取物包含6至11mg/g的皂草苷。

[0019] 实施方案9.根据前述实施方案中任一项所述的组合物或用途,其中所述印度醋栗提取物或大麦芽提取物是压榨的,或者是使用选自自由水、1至4个碳原子的低级醇及其混合物组成的组的任一种作为提取溶剂来提取的。

[0020] 实施方案10.根据前述实施方案中任一项所述的组合物或用途,其中所述印度醋栗提取物或大麦芽提取物是干粉。

[0021] 实施方案11.一种药物组合物或药物,其包含根据前述实施方案中任一项所述的用于预防、改善或治疗代谢综合征的组合物。

[0022] 实施方案12.一种食品组合物、一种健康功能性食品或一种食品,其包含根据前述实施方案中任一项所述的用于预防、改善或治疗代谢综合征的组合物。

[0023] 实施方案13.一种用于预防、改善或治疗代谢综合征的方法,其包括向患有代谢综合征或处于患有代谢综合征风险中的受试者施用根据前述实施方案中任一项所述的组合物。

[0024] 实施方案14.一种用于制备根据前述实施方案中任一项所述的组合物的方法,其包括:

[0025] 从印度醋栗中获得印度醋栗提取物,包括压榨和干燥过程;

[0026] 从大麦芽中获得大麦芽提取物,包括压榨和干燥过程;以及

[0027] 通过将所述印度醋栗提取物和大麦芽提取物以4:1至1:1的重量比混合来制备复合物。

[0028] 本发明的其他目的和优点将通过以下对具体实施方式、权利要求和附图的详细描述而更加明显。

[0029] 技术方案

[0030] 本发明的一个方面是提供一种用于预防、改善或治疗代谢综合征的组合物,其包含印度醋栗(余甘子)提取物与大麦芽(多棱大麦)提取物的复合物作为活性成分。

[0031] 印度醋栗(*Phyllanthus emblica* L.)也叫余甘子(*Embllica officinalis* Gaertn)或Amla,并且根据每个区域或语言具有独特的名称。例如,它还被称为Amalaki、Embllic Leafflower、Yougan(油甘)、Anmaroku(奄摩勒)、Embllic • myrobalan、Malaka、Malacca树、Alonla、Amila、Amilaki、Amila chatra、Nellikai、Nelli、Tasha、Kayruk、Kemurak、Mak Kham pom等。印度醋栗是一种野生分布的植物并且自然生长在广泛的区域中,诸如南亚(包括尼泊尔)和东南亚(包括马来西亚以及中部和南部地区等)。在台湾和喜马拉雅山海拔1500mm以上的山坡上大量种植。

[0032] 印度醋栗是一种落叶乔木,高度为3至8m,并且叶子长约10mm且宽约2至3mm,并且4月至5月开黄绿色带柠檬香味的小花。果实呈扁球形,大小为平均18至25mm,并且它们在成熟时为浅黄色、有光泽和黄绿色,有6条筋。新鲜果实味道酸甜,并有苦味,且余味甜。当果实干燥时,其变成黑色,并且即使干燥了,营养物质也不会被削弱,因此分配干燥的果实。Amla还被称为amalaka,在尼泊尔被认为是圣树。

[0033] 已知印度醋栗(Amla)含有维生素C、矿物质、氨基酸、单宁、芦丁等。印度醋栗的维生素C含量是橙子的20倍,并且对热的稳定性很高,并且因此即使长期暴露在高温下,维生素也几乎不被破坏。维生素C的耐热性被认为是来源于一起包含的单宁成分,并且抗氧化、抗肿瘤和抗炎活性等由这些成分显示出来。此外,各种生理组分,诸如鞣花酸、没食子酸、槲皮素等,都包含在印度醋栗(Amla)中。

[0034] 大麦芽(*Hordeum vulgare* L.)是指通过播种大麦种子而长出的在大麦幼苗期的嫩叶的状态。在一个实施方案中,大麦芽可以是播种后约8-15天内的约10-20cm的嫩叶。大麦是大约10,000年前首先在欧亚大陆种植的谷物之一,并且被称为人类种植的最古老的作物之一。大麦芽因具有大量各种类型的维生素(包括维生素A、维生素B和维生素C)以及矿物质(诸如钙、镁和钾等)并且含有大量膳食纤维而被已知为营养丰富的食物来源,并且因此作为健康功能性食品和医疗用品的材料工业用途的可能性正在增加。在美国、日本等,大麦嫩叶被冻干并制成粉末,从而作为健康食品被开发和销售,并且在韩国,它被商业化并以粉末、药丸、青汁、茶叶、化妆品等形式销售,作为普通食品和健康功能性食品。在药理活性的方面中,大麦芽通过各种生物活性物质显示出各种功能,诸如抗氧化活性、使排便顺畅、改善胆固醇水平、改善血糖水平、改善高脂血症和对肥胖的抑制作用等。这些生物活性作用被认为是来源于类黄酮,包括皂角苷、大麦黄素等。

[0035] 本发明的组合物包含印度醋栗和大麦芽提取物作为活性成分,并且本文所用的术语“提取物”的含义包括通过将原材料压榨或用提取溶剂处理而获得的提取结果或配制的加工产品(例如,粉末化)。

[0036] 当本发明的组合物中所用的提取物是通过将原材料用提取溶剂处理来获得的,则可使用各种提取溶剂,并且例如可使用极性溶剂或非极性溶剂。作为极性溶剂,可使用(i)水、(ii)醇类(优选地,甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、1-戊醇、2-丁氧基乙

醇或乙二醇)、(iii) 乙酸、(iv) DMF0(二甲基甲酰胺)和(v) DMSO(二甲亚砜)等,并且作为非极性溶剂,可使用丙酮、乙腈、乙酸乙酯、乙酸甲酯、氟代烷烃、戊烷、己烷、2,2,4-三甲基戊烷、癸烷、环己烷、环戊烷、二异丁烯、1-戊烯、1-氯丁烷、1-氯戊烷、邻二甲苯、二异丙基醚、2-氯丙烷、甲苯、1-氯丙烷、氯苯、苯、乙醚、二乙基硫化物、氯仿、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、苯胺、二乙胺、醚、四氯化碳和THF等。

[0037] 优选地,本发明中所用的提取物可以通过压榨原料,或者使用选自由水、具有1至4个碳原子的低级醇及其混合物组成的组中的任何一种作为提取溶剂进行提取,但不限于此。

[0038] 此外,本文所用的术语‘提取物’具有通常在如前文所述的领域中用作粗提取物的含义,并且从广义上讲,包括提取物被额外分馏的级分。换句话说,它不仅包括通过压榨或使用前述提取溶剂获得的提取物,而且还包括通过对其额外应用纯化处理所获得的提取物。例如,通过使提取物通过具有一定分子量截留值的超滤膜所获得的级分,以及通过另外进行的各种纯化方法(诸如通过各种色谱法(制备用于根据大小、电荷、疏水性或亲和力进行分离)进行的分离)所获得的级分等。

[0039] 此外,本发明的提取物可以之后进行额外过程,例如通过过滤或进行浓缩或干燥过程移除溶剂,或者进行所有过滤、浓缩和干燥。例如,过滤可以使用滤纸或使用减压过滤器,并且浓缩可以使用减压浓缩器,并且干燥可以进行喷雾干燥或冷冻干燥等,以获得粉末状提取物。

[0040] 根据本发明的一个实施方案,如上文所制备的印度醋栗提取物可以包含1至25mg/g鞣花酸,并且可以根据分析方法,在酸水解条件下包含1至5mg/g鞣花酸,并且可以在不进行酸水解的条件下包含5至25mg游离鞣花酸。此外,如上文所制备的大麦芽提取物可以包含6至11mg/g皂草苷。

[0041] 在本发明的组合物中,前述印度醋栗提取物和大麦芽提取物可以呈混合物或复合物的形式被包含在内。与每种单一物质相比,混合物或复合物具有协同效应。更具体地,印度醋栗提取物和大麦芽提取物可以4:1至1:1的重量比如以4:1、2:1或1:1的重量比被包含在内,但不限于此。

[0042] 根据一个实施方案,本发明的组合物可以通过以下来制备,包括:从印度醋栗中获得印度醋栗提取物,包括压榨和干燥过程;从大麦芽中获得大麦芽提取物,包括压榨和干燥过程;以及通过将印度醋栗提取物和大麦芽提取物以4:1至1:1的重量比混合来制备复合物。

[0043] 本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的这种混合物或复合物通过抑制脂肪的消化和吸收并抑制脂肪合成和促进脂解,通过抑制胰脂肪酶的酶活性来保留抑制脂肪堆积和体减轻重的功效;或者通过调控血糖的吸收和促进葡萄糖代谢来保留降低血糖、胰岛素和糖化血红蛋白的功效,从而显示预防、改善或治疗诸如肥胖症或糖尿病的代谢综合征的效果。

[0044] 在本文中,术语“胰脂肪酶”是将甘油三酯(TG)(其为从胰腺分泌的甘油三酯)水解成甘油单酯(MG)和脂肪酸的脂肪酶,并且还称为胰腺三酰甘油脂肪酶,并且是促进细胞内甘油三酯的吸收的酶。因此,胰脂肪酶活性抑制能力可作用评估体内脂肪吸收的指标。

[0045] 在本文中,术语“cAMP(环单磷酸腺苷)”通过活化腺苷酸环化酶或抑制细胞间cAMP

磷酸二酯酶作用而具有增加的细胞间浓度,因为 β -肾上腺素拮抗剂、前列腺素E2(PGE2)和组胺与细胞表面受体结合。cAMP通过活化激素敏感性脂肪酶(HSL)(其为脂肪酶)而参与促进甘油三酯分解和促进热生成。因此,cAMP水平可用作评估脂解的指标。

[0046] 在本文中,术语“甘油释放”指示所释放的甘油的量,并且当甘油三酯(TG)存在于在脂肪细胞中堆积的脂肪球中时,被分成甘油和脂肪酸。因此,游离甘油的量可用作评估脂肪球中甘油三酯(TG)的分解的指标。

[0047] 在本文中,术语“IRS(胰岛素受体底物)”为分布在全身组织(诸如肌肉、肝、脂肪组织等)中的胰岛素受体底物,并且参与胰岛素信号传导通路,以发挥调控糖和脂质代谢的功能。

[0048] 在本文中,术语“PI3K(磷酸肌醇3激酶)”为参与胰岛素信号传导通路的磷酸化,并且与胰岛素受体底物“IRS(胰岛素受体底物)”相互作用以发挥调控血糖吸收和抑制脂肪合成的功能。

[0049] 在本文中,术语“GLUT4(葡萄糖转运蛋白4)”为主要存在于脂肪细胞和肌肉细胞中的葡萄糖受体,并且成为通过依赖胰岛素将葡萄糖从细胞转运至细胞膜中而抑制脂肪合成的指标。当发生由脂肪堆积所致的胰岛素抵抗时,GLUT4易位不顺利发生,并且GLUT4表达的增加通过将葡萄糖转运至细胞内并将其用作能量来发挥调控葡萄糖代谢的功能。

[0050] 此外,本发明提供了一种用于预防和治疗诸如肥胖症或糖尿病的代谢综合征的药物组合物,其被配制成药物单位剂型,通过包含含有活性成分的组合物以及添加药学上可接受的载剂、赋形剂或稀释剂等来实现。

[0051] 在本文中,药学上可接受的载剂通常用于配制并且包括乳糖、右旋糖、蔗糖、山梨醇、甘露醇、淀粉、阿拉伯树胶、磷酸钙、藻酸盐、明胶、硅酸钙、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素、水、糖浆、甲基纤维素、羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸丙酯、羟基苯甲酸丙酯、滑石、硬脂酸镁和矿物油等,但不限于此。

[0052] 此外,当配制包含活性成分的组合物时,其可使用通常使用的稀释剂或赋形剂诸如填充剂、增量剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、表面活性剂等来制备。

[0053] 此外,药物剂型可以通过配制成口服制剂(诸如散剂、颗粒剂、片剂、胶囊、混悬液、乳剂、糖浆、气溶胶等)、外用制备物、栓剂和无菌注射液的形式来使用。

[0054] 用于口服施用的固体制备物可以通过将至少一种赋形剂与提取物或粉末混合来制备,并且例如,淀粉可以通过混合碳酸钙、蔗糖或乳糖、明胶等来制备。此外,除简单赋形剂之外,还可以使用润滑剂,诸如脂酸镁和滑石。

[0055] 在用于非肠道施用的制剂中,可包含无菌水溶液、非水溶剂、混悬液、乳剂、冻干制剂和栓剂。

[0056] 作为非水溶剂和混悬液,可使用植物油(诸如丙二醇、聚乙二醇和橄榄油)以及可与油酸乙酯一起注射的酯等。

[0057] 作为栓剂的基础化合物,可以使用witepsol、macrogol、tween 61、可可脂、月桂精酯、甘油、明胶等。此外,还可以使用润滑剂,诸如硬脂酸镁和滑石。

[0058] 本发明的药物组合物可以根据所需方法来口服施用或非肠道施用(例如,静脉内、皮下、腹膜内或局部应用),并且剂量根据患者状况和体重、疾病程度、年龄、性别、药物形式、施用途径和时期而不同,但其可由本领域的技术人员适当地选择。

[0059] 此外,本发明提供了一种用于预防或改善诸如肥胖症或糖尿病的代谢综合征的健康功能性食品组合物,其被配制成健康功能性食品,通过包含含有活性成分的组合物以及添加食品补充添加剂来完成。

[0060] 在本文中,能够添加提取物的食品包括例如各种食品、饮料、口香糖、茶、复合维生素、保健功能性食品等。本发明的健康功能性食品组合物除含有提取物之外,对其他组分没有特别限制,并且其可以含有各种调味剂或天然碳水化合物等(诸如常见的食品和饮料)作为附加组分。

[0061] 在天然碳水化合物中,可存在常见的糖类,诸如单糖,例如葡萄糖、果糖;二糖,诸如麦芽糖、蔗糖;多糖,例如糊精、环糊精等,以及糖醇,诸如木糖醇、山梨醇、赤藓醇等。

[0062] 除此之外,作为调味剂,可以有利地使用天然调味剂(奇异果甜蛋白、甜叶菊提取物(例如莱苞迪甙A、甘草素等))和合成调味剂(糖精、天冬甜素等)。

[0063] 除此以外,本发明的提取物、粉末或复合物可含有各种营养物质、维生素、矿物质(电解质)、调味剂(诸如合成调味剂和天然调味剂)、着色剂和增强剂、果胶酸及其盐、有机酸、保护性胶体增稠剂、pH调节剂、稳定剂、防腐剂、甘油、醇类、用于碳酸饮料的碳化剂等。

[0064] 此外,本发明的提取物、粉末或复合物可含有用于制备天然果汁和蔬菜饮料的果肉。这种成分可以单独使用或组合使用。

[0065] 有益效果

[0066] 本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物组成的复合物展现出抑制脂肪的消化吸收的功效,并且更具体地,它展现出抑制消化吸收的功效并且促进GLUT4信号传导,包括IRS和PI3K,从而抑制来自葡萄糖代谢的脂肪合成;并且通过调控cAMP表达促进脂解,从而增加细胞外释放的甘油的量以抑制脂肪堆积;并且调控血糖的吸收并且促进葡萄糖代谢,从而降低体重、血糖、胰岛素和糖化血红蛋白,从而使其保留预防、改善或治疗诸如肥胖症或糖尿病的代谢综合症的优异功效。

[0067] 此外,本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物为包含无毒、无副作用且对人体无害的天然提取物的复合物,并且可用于有效预防、改善或治疗代谢综合征。

附图说明

[0068] 图1为显示包括印度醋栗提取物和大麦芽提取物的11种天然物质的胰脂肪酶抑制活性的图。

[0069] 图2为显示取决于印度醋栗提取物和大麦芽提取物的混合比的细胞内cAMP水平的图。

[0070] 图3为显示取决于印度醋栗提取物和大麦芽提取物的混合比的细胞内甘油释放的图。

[0071] 图4为显示与以单一物质处理时相比,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的细胞内P-IRS1/IRD1的蛋白表达比的协同效应的图。

[0072] 图5为显示与呈单一物质处理时相比,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的细胞内P-PI3K/PI3K的蛋白表达比的协同效应的图。

[0073] 图6为显示与以单一物质处理时相比,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的细胞内GLUT4的蛋白表达比的协同效应的图。

[0074] 图7为显示与以单一物质处理时相比,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的细胞内脂肪堆积的抑制的协同效应的图。

[0075] 图8为显示与以单一物质处理时相比,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的实验动物的血糖(葡萄糖)的图。

[0076] 图9为显示与以单一物质处理时相比,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的实验动物血液中胰岛素的图。

[0077] 图10为显示与以单一物质处理时相比,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的实验动物血液中的糖化血红蛋白(血红蛋白A1c;HbA1c)的图。

具体实施方式

[0078] 发明模式

[0079] 在下文中,将通过实施例对本发明进行更详细的描述。这些实施例旨在更具体地说明本发明,并且对于本领域技术人员而言清楚的是,本发明的范围不应受这些实施例限制。

[0080] 实施例

[0081] 1.测试物质制备方法

[0082] 1.1印度醋栗(Amla)提取物的制备(比较例1)

[0083] 在洗涤印度醋栗(Amla,源于尼泊尔)的果实并压榨之后,获得印度醋栗果实提取物。然后,在过滤并浓缩,并且然后干燥之后,制备出待用于本发明中的印度醋栗提取物。

[0084] 1.2大麦芽提取物的制备(比较例2)

[0085] 在收获大麦芽(源于韩国)并压榨之后,为了移除诸如纤维素的不溶性纤维,进行过滤,并且然后干燥。将干燥的粉末匀化,以制备待用于本发明中的大麦芽提取物。

[0086] 1.3复合物的制备(实施例1至5)

[0087] 将比较例1至比较例2中制备的印度醋栗(Amla)提取物和大麦芽提取物按以下表1的重量比组合以制备复合物。

[0088] [表1]

分类	印度醋栗:大麦芽的 组合比	印度醋栗提取物 (重量%)	大麦芽提取物 (重量%)
实施例 1	1:1	50	50
[0089] 实施例 2	4:1	80	20
实施例 3	2:1	66.67	33.33
实施例 4	1:2	33.33	66.67
实施例 5	1:4	20	80

[0090] 1.4候选材料制备方法

[0091] 通过国内和国外文献综述,对抗肥胖症或抗糖尿病活性材料进行了检索,并且考虑到国内原材料的可利用性和作为食品成分摄入的可利用性而选择获得的天然材料作为

候选材料并用于研究。候选材料A、B、C和D分别代表莲叶、桔梗花、柘木和肉桂,并且将它们通过添加热水来提取并进行喷雾干燥,然后用于研究。E和F代表桑叶和莲,并且通过添加热水来提取,然后浓缩并进行喷雾干燥,且用于研究。G、H和I代表甜菜根、石榴和酸樱桃,并且将它们浓缩并进行喷雾干燥,然后用于研究。

[0092] 1.5标记物组分含量确认

[0093] 针对印度醋栗 (Amla) 提取物和大麦芽提取物的标记物组分含量分析和原材料标准化,对于印度醋栗 (Amla) 提取物 (比较例1-1、比较例1-2、比较例1-3) 和大麦芽提取物 (比较例2-1、比较例2-2、比较例2-3) 的每种原材料,制备三种原材料。

[0094] 将印度醋栗 (Amla) 提取物的标记物组分设定为‘鞣花酸’,并且将大麦芽提取物的标记物组分设定为皂草苷,并且对它们进行分析。印度醋栗 (Amla) 提取物的标记物组分的含量根据分析方法排列在表2和表3中,并且大麦芽提取物的标记物组分的含量排列在表4中。

[0095] 更具体地,如下进行每种提取物的标记物组分的含量的分析。

[0096] 用于定量印度醋栗 (Amla) 提取物的鞣花酸的分析方法如下。

[0097] 在酸水解之后使用高效色谱法测量印度醋栗 (Amla) 提取物中鞣花酸的含量。通过使用Capcellpak C18 UG120 (4.6mmX50mm, 5 μ m) 为色谱柱,并且使用蒸馏水和甲醇中的0.85%磷酸盐 (A) 与甲醇 (B) 的6:4混合溶液为移动床的梯度法进行分离,并且用UV检测器在370nm的波长下检测鞣花酸。因此,确认根据实验方法1.1制备的印度醋栗 (Amla) 提取物中鞣花酸的含量的范围为1-5mg/g。

[0098] [表2]

分类	鞣花酸的含量 (mg/g)
[0099] 比较例 1-1	3.17
比较例 1-2	1.91
比较例 1-3	4.65

[0100] 在用于定量印度醋栗 (Amla) 提取物的游离鞣花酸的分析方法中,在不经酸水解的条件下的分析方法如下。

[0101] 在甲醇超声提取之后使用高效色谱法测量印度醋栗 (Amla) 提取物中游离鞣花酸含量。通过使用Capcellpak C18 UG120 (4.6mmX50mm, 5 μ m) 为色谱柱,并且使用蒸馏水和甲醇中的0.85%磷酸盐 (A) 与甲醇 (B) 的6:4混合溶液为移动床的梯度法进行分离,并且用UV检测器在370nm的波长下检测鞣花酸。因此,确认根据实验方法1.1制备的印度醋栗 (Amla) 提取物中游离鞣花酸的含量的范围为5-25mg/g。

[0102] [表3]

	分类	游离鞣花酸的含量 (mg/g)
[0103]	比较例 1-1	11.73
	比较例 1-2	5.36
	比较例 1-3	24.15

[0104] 用于定量大麦芽提取物的皂草苷的分析方法如下。

[0105] 使用高效色谱法测量大麦芽提取物中皂草苷的含量。通过使用Capcellpak C18 UG120(4.6mmX50mm,5 μ m)为色谱柱,并且使用0.1%甲酸(A)及甲醇(B)为移动床的梯度法进行分离,并且用UV检测器在340nm的波长下检测皂草苷。因此,确认根据实验方法1.2制备的大麦芽提取物中皂草苷的含量的范围为6-11mg/g。

[0106] [表4]

	分类	皂草苷的含量 (mg/g)
[0107]	比较例 2-1	6.56
	比较例 2-2	7.38
	比较例 2-3	10.54

[0108] 2. 功效评估

[0109] 2.1 胰脂肪酶抑制活性测量

[0110] 胰脂肪酶为将甘油三酯(TG)(其为甘油三酯)水解成甘油单酯(MG)和脂肪酸的酶,并且推动脂肪消化,且帮助肠上皮细胞吸收分解产物。因此,由于向肠细胞和消化道的脂肪吸收随着甘油三酯的分解而被抑制,所以当胰脂肪酶的活性被抑制时,胰脂肪酶的活性抑制能力是预测抗肥胖活性的非常有用的测试方法。在此实施例中,胰脂肪酶抑制活性如下测量。首先,添加169 μ L Tris缓冲液(100mM Tris-HCl,5mM CaCl₂,pH 7.0)和20 μ L样品并混合到6 μ L酶溶液中,在所述溶液中,将猪胰脂肪酶以0.5g/200mL的浓度溶解于酶缓冲液(10mM MOPS,1mM EDTA,pH 6.8)中,然后在37 $^{\circ}$ C下孵育15分钟。然后,在添加5 μ L底物溶液(在二甲基甲酰胺中的10mM对硝基苯丁酸酯丁酸对硝基苯)并且在37 $^{\circ}$ C下孵育30分钟之后,使用UV-可见分光光度计在405nm处测量吸光度。2.3 细胞培养和分化诱导

[0111] 确认了与以单一物质处理的情况相比,本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物在脂肪细胞分化过程中影响脂肪合成和脂肪分解的效果。在此实施例中,从美国典型培养物保藏中心(ATCC;Rockville,MD,USA)分配3T3-L1细胞并进行实验。将3T3-L1前脂肪细胞在37 $^{\circ}$ C和5% CO₂下的培养箱(Thermo Fisher Scientific Inc.,Pittsburgh,PA,USA)中,使用含有10%新生小牛血清(NCS)和1%青霉素-链霉素、1% L-谷氨酰胺、1%丙酮酸钠、1%hepes和1% NEAA混合物的高葡萄糖杜氏改良伊格尔培养基(DMEM)培养,并且每2天更换培养溶液,并且当细胞80%或更多地以单层贴附在烧瓶底部时,使用PBS溶液

洗涤细胞表面,并且在添加0.25%胰蛋白酶-EDTA之后,将其置于培养箱中3分钟,并且分离细胞。然后,使用离心机(GYROZEN 416G),通过在1600rpm下离心5分钟来收集细胞,并且为了分化细胞,使用DMEM培养溶液,将 1×10^5 个细胞/孔的细胞平等地等分于6孔板(TPP)中,所述培养溶液包含10%胎牛血清(FBS)和1%青霉素-链霉素、1% L-谷氨酰胺、1%丙酮酸钠、1%hepes、1% NEAA混合物、庆大霉素,并且当100%融合时,通过在含有10% FBS和1%青霉素-链霉素、1% L-谷氨酰胺、1%丙酮酸钠、1%hepes、1%NEAA混合物和庆大霉素的DMEM培养溶液中混合3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(IBMx,0.5mM)、胰岛素($10 \mu\text{g}/\text{mL}$)和地塞米松(DEX, $1 \mu\text{M}$) (其为脂肪生成混合物(MDI溶液))来诱导分化。分化期共持续9天,并且对于分化的前3天,更换相同的培养溶液,并且对于分化的中间3天,每天更换仅含有胰岛素($10 \mu\text{g}/\text{mL}$)的包含10% FBS的DMEM的培养溶液,并且对于分化的后3天,每天更换含有10% FBS的DMEM培养溶液。在脂肪生成机制中,每天在与分化开始的同一时间处理样品,并且在脂解机制中,从分化结束之前3天起,将其处理3天。

[0112] 2.4复合物对细胞间cAMP水平的协同效应的确认

[0113] cAMP通过活化激素敏感性脂肪酶(HSL) (其为脂肪酶)而参与促进甘油三酯分解和促进热生成。在此实施例中,为了测量细胞间cAMP水平,使用了cAMP ELISA试剂盒(Cell Biolabs Inc., San Diego, CAUSA),并且对其进行如下测量。首先,将 1×10^6 个细胞添加到裂解缓冲液中并均匀化,并且在13,000rpm下离心5分钟,并且将上清液用作样品。每个孔中以50 μL 等分样品和标准试剂,并且以25 μL 等分过氧化物酶cAMP示踪剂缀合试剂,然后以50 μL 等分兔抗cAMP多克隆抗体试剂,并且在室温下静置2小时,盖上盖板。在2小时内,用洗涤缓冲液以250 μL 进行等分,并且进行总计5次洗涤操作,并且在每个孔中以100 μL 等分在室温下升温的底物溶液,然后将其在室温下静置20分钟。在20分钟内,在每个孔中等分100 μL 停止溶液以停止反应,并且在450nm波长下测量吸光度。

[0114] 2.5复合物对细胞间甘油释放的协同效应的确认

[0115] 脂肪分解是脂肪细胞中的甘油三酯被水解成游离酸和甘油的过程,为了确认对脂肪细胞中脂肪分解的效应,测量了脂肪分解期间增加的甘油。在此实施例中,为了测量对脂肪细胞分化过程中释放的甘油的量的效应,使用游离甘油试剂,应用磷酸甘油氧化酶-TRINDER酶反应方法,通过诸如McGowan的方法等测量培养溶液中的甘油含量,并且测量如下。首先,通过浓缩对每个样品进行处理,并且收集每个培养溶液并且分别在分化后期(第9天)使用,并且将培养溶液(1mL)和游离甘油试剂(800 μL)混合并在37 $^{\circ}\text{C}$ 热板中反应10分钟,然后使用ELISA读取器(Molecular Devices, USA),在540nm波长下测量光密度。通过使用游离甘油作为标准试剂制备标准曲线来测量甘油含量,并且使用BSA作为标准试剂,通过Bradford法测量蛋白质含量。

[0116] 2.6复合物对细胞间IRS、PI3K和GLUT4的协同效应的确认

[0117] IRS(胰岛素受体底物)是分布在全身组织中的胰岛素受体底物,并且参与胰岛素信号传导通路并调控葡萄糖和脂肪代谢,并且PI3K(磷酸肌醇3激酶)是参与胰岛素信号传导通路的酶,并且通过与IRS相互作用来发挥调控血糖吸收和抑制脂肪合成的功能。GLUT4(葡萄糖转运4)是主要存在于脂肪细胞和肌肉细胞中的葡萄糖受体,并且通过胰岛素的作用,促进葡萄糖从细胞中转运到细胞膜。当内脏脂肪堆积发生胰岛素抵抗时,GLUT4不能顺利地由细胞质易位到细胞膜。在此实施例中,为了测量IRS、PI3K和GLUT4的蛋白质表达,使

用Bradford测定进行蛋白免疫印迹的细胞裂解液的蛋白质定量。将蛋白质(40 μ g)装入10% Mini-PROTEAN® TGXTM预制凝胶(Bio-Rad)中,并且使用Trans-Blot® TurboTM转移系统(Bio-Rad)进行转移。将膜在封闭缓冲液(在具有1% Tween® 20的Tris缓冲盐溶液中的5%脱脂乳)中封闭1小时,并且在清洗之后,使其与IRS、PI3K和GLUT4一级抗体反应。在洗涤并且使HRP聚合的二级抗体(Cell Signaling, 1:3000)反应1小时之后,然后将其洗涤并且使用EzWest Lumi plus(ATT0, Tokyo, Japan)显色,并且使用Ez-Capture II (ATT0) 和CS分析仪3.0软件(ATT0)进行分析。

[0118] 2.7复合物对细胞间脂肪堆积的抑制的协同效应的确认

[0119] 为了测量本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物在从前脂肪细胞向脂肪细胞分化过程中对脂肪细胞分化的效应,进行了油红O染色。换言之,根据细胞培养和分化诱导方案,每天更换含有10% FBS的DMEM培养液(包含脂肪生成混合物和提取物),并且在分化的后期(第9天),分别进行油红O染色。吸取培养溶液,并且用PBS溶液洗两次,然后将PBS溶液完全吸取,并且添加10%福尔马林并在室温下静置5分钟,然后吸取10%福尔马林并再次添加新的10%福尔马林,并且在室温下静置2小时或更长时间。然后,吸食福尔马林,加入60%的异丙醇并立即吸食,然后将烧瓶完全干燥,并且添加油红O溶液以将脂肪球染色60分钟。在染色之后,将它们用蒸馏水洗4次,并且用显微镜和照相机观察脂肪球的细胞间堆积。为了定量脂肪球堆积的含量,在良好干燥的条件下添加100%异丙醇,并且洗脱油红O染料,然后使用ELISA读取器(Molecular Devices, USA)在520nm波长下测量光密度。然后,将100%异丙醇用作空白。

[0120] 2.8复合物对肥胖症诱导的小鼠的体重变化的效应的确认

[0121] 确认了本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物对高脂肪饮食引起的肥胖症诱导的小鼠的体重变化的效应。作为实验动物,约20g的4周雄性C57BL/6J小鼠由Saeron Bio Inc. (Uiwang-si, Korea)提供。在明和暗为12小时(明/暗循环),温度为23 \pm 2 $^{\circ}$ C并且相对湿度为50 \pm 5%的条件下,经过1周的适应期之后,将它们用于实验。在适应期间,允许自由食用AIN-93G饮食和饮用水,并测量体重以通过随机方法分离出每组8只小鼠。适应期结束时,以自由饮食摄入的形式进行样品摄入,持续15周,并且每周测量饮食摄入量 and 体重,并且在实验结束时,将体重增加量除以同期的饮食摄入量(总食物消耗)以计算食物效率比(FER)。实验组的分类和实验饮食的组成示于表5中,并且饮食效率的方程示于以下方程3中。

[0122] 方程3

[0123] $FER = \text{体重增加量(g)} / \text{总食物消耗量(g)} \times 100$

[0124] [表5]

实验组	实验饮食
正常组 (NC)	AIN 93G 饮食
对照组 (C)	60%高脂肪饮食
阳性对照组 (Met)	60%高脂肪饮食 + 二甲双胍 250 mg/kg b.w.
[0125] 实施例 3 100 mg/kg	60%高脂肪饮食 + IG:BP (2:1) 100 mg/kg b.w.
实施例 3 200 mg/kg	60%高脂肪饮食 + IG:BP (2:1) 200 mg/kg b.w.
实施例 3 400 mg/kg	60%高脂肪饮食 + IG:BP (2:1) 400 mg/kg b.w.

[0126] 2.9复合物对肥胖症诱导的小鼠的器官和组织重量变化的效应的确认

[0127] 确认了本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物对高脂肪饮食引起的肥胖症诱导的小鼠的器官和组织重量变化的效应。对于组织切除,在血液采集之后,切除器官(肝、肾、脾)和白色脂肪组织(皮下脂肪、内脏脂肪(附睾脂肪和腹膜内脂肪)),然后用生理盐水溶液洗涤,并且用滤纸去除水分,然后测量重量。

[0128] 2.10复合物对肥胖症诱导的小鼠血液中葡萄糖、胰岛素和HbA1c的变化的效应的确认

[0129] 确认了本发明的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物对高脂肪饮食引起的肥胖症诱导的小鼠血液中葡萄糖、胰岛素和HbA1c的变化的效应。对于血液分析,在实验结束时,在禁食12小时之后用异氟烷麻醉实验小鼠,并且通过肝静脉收集血液,并且通过全血和离心分离(14,000rpm,20min,4℃)的血清分析血液,并且使用ELISA试剂盒(Biovision)测量。

[0130] 3.实验结果

[0131] 3-1.11种天然物质的胰脂肪酶抑制活性

[0132] 测量了通过实验方法中所提出的制备方法制备的11种天然物质的胰脂肪酶抑制活性。如图1和表6中所表明,确认了在相同浓度下比较例1的样品的脂肪酶抑制活性最高,为 $83.77 \pm 0.27\%$,并且确认了比较例2的样品的脂肪酶抑制活性为第二优的,为 $42.81 \pm 2.09\%$ 。此结果确认了,在11种天然物质的胰脂肪酶抑制活性中,印度醋栗提取物和大麦芽提取物是最优异的,并且印度醋栗提取物和大麦芽提取物通过充当胰脂肪酶抑制剂来减少体内的脂肪吸收,并且保留了抗肥胖症活性。

[0133] [表6]

	分类	样品	胰脂肪酶抑制能力 (%)
[0134]	A	莲叶	25.36
	B	桔梗花	13.48
	C	柘木	36.75
	比较例 1	印度醋栗	83.77
	D	肉桂	14.39
[0135]	E	桑叶	14.75
	F	莲	1.05
	G	甜菜根	13.62
	H	石榴	31.97
	I	酸樱桃	26.91
	比较例 2	大麦芽	42.81

[0136] 3-4. 以各种重量比组合的印度醋栗和大麦芽对细胞间cAMP水平的影响的确认

[0137] 通过以各种重量比将通过实验方法中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物组合来测量细胞间cAMP水平。如图2所表明,印度醋栗和大麦芽的单一物质在相同浓度下显示的活性分别为 1479.3 ± 16.8 和 1300.0 ± 81.9 ,而根据印度醋栗和大麦芽的混合比率的cAMP水平在印度醋栗:大麦芽的比率为4:1和2:1下分别为 2472.3 ± 163.8 和 2508.3 ± 106.3 ,因此显示出与单一物质相比的显著协同效应。随后,以在1:1、1:2和1:4下测量的 2132.7 ± 149.4 、 1763.7 ± 101.1 和 1469.7 ± 24.5 的顺序显示优异的活性。结果确认,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物与每种单一物质相比具有显著协同效应,可通过cAMP表达调控来促进脂肪分解。

[0138] 3-5. 以各种重量比组合的印度醋栗和大麦芽复合物对细胞间甘油释放的影响的确认

[0139] 通过以各种重量比将通过实验方法中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物组合来测量细胞间甘油释放。如图3所表明,印度醋栗和大麦芽的单一物质在相同浓度下显示的活性分别为 0.55 ± 0.03 和 0.47 ± 0.03 ,而根据印度醋栗和大麦芽的混合比率的甘油释放在印度醋栗:大麦芽的比率为4:1和2:1下分别为 1.01 ± 0.17 和 1.01 ± 0.01 分别,其为与单一物质相比的显著协同效应。随后,以在1:1、1:4和1:2下测量的 0.77 ± 0.06 、 0.69 ± 0.06 和 0.60 ± 0.09 的顺序显示优异的活性。结果确认,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物与每种单一物质相比具有显著协同效应,其分解存在于在脂肪细胞中堆积的脂肪球中的甘油三酯(其为中性脂肪),从而增加甘油释放。

[0140] 3-6. 印度醋栗和大麦芽复合物对于细胞间IRS1的协同效应

[0141] 通过组合通过实验结果中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提

取物确认了细胞间P-IRS1/IRS1的表达比率。如图4中所表明,在相同浓度下,印度醋栗和大麦芽的单一物质显示表达比率分别为0.42和0.32,而实施例3印度醋栗和大麦芽的复合物显示与单一物质相比的显著协同效应,表达比率为0.86。此外,50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的治疗组显示表达比率分别为0.51和0.63,因此印度醋栗和大麦芽的复合物以浓度依赖性方式增加了细胞间P-IRS1/IRS1的表达比率,并且结果确认,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物可调控血糖吸收并通过增加P-IRS1/IRS1的表达比率来抑制来自葡萄糖代谢的脂肪合成。

[0142] 3-7. 印度醋栗和大麦芽复合物对于细胞间PI3K的协同效应

[0143] 通过组合通过实验结果中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物确认了细胞间P-PI3K/PI3K的表达比率。如图5中所表明,在相同浓度下,印度醋栗和大麦芽的单一物质显示表达比率分别为1.93和1.26,而实施例3印度醋栗和大麦芽的复合物显示与单一物质相比的显著协同效应,表达比率为4.31。此外,50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的治疗组显示表达比率分别为1.05和1.47,因此印度醋栗和大麦芽的复合物以浓度依赖性方式增加了细胞间P-PI3K/PI3K的表达比率,并且结果确认,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物可调控血糖吸收并抑制来自葡萄糖代谢的脂肪合成。

[0144] 3-8. 印度醋栗和大麦芽复合物对于细胞间GLUT4的协同效应

[0145] 通过组合通过实验结果中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物确认了细胞间GLUT4的表达比率。如图6中所表明,在相同浓度下,印度醋栗和大麦芽的单一物质显示表达比率分别为0.18和0.11,而实施例3印度醋栗和大麦芽的复合物显示与单一物质相比的显著协同效应,表达比率为0.38。此外,50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的治疗组显示表达比率分别为0.14和0.33,因此印度醋栗和大麦芽的复合物以浓度依赖性方式增加了细胞间GLUT4的表达比率,并且结果确认,印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物可调控血糖吸收并通过促进GLUT4信号传导来抑制来自葡萄糖代谢的脂肪合成。

[0146] 3-9. 印度醋栗和大麦芽复合物对于细胞间脂肪堆积的抑制的协同效应

[0147] 进行油红O染色,以通过将通过实验方法中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物组合来测量对脂肪细胞分化的效应。如图7中所表明,在相同浓度下,印度醋栗和大麦芽的单一物质显示细胞间甘油三酯的含量分别为 0.60 ± 0.02 和 1.10 ± 0.05 ,而实施例3印度醋栗和大麦芽的复合物为 0.29 ± 0.03 ,因此显示了与单一物质相比的显著协同效应。此外,在50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的治疗组中,其分别为 0.88 ± 0.02 和 0.57 ± 0.03 ,并且确认了印度醋栗和大麦芽的复合物以浓度依赖性方式抑制脂肪细胞中的脂肪堆积。

[0148] 3-10. 印度醋栗和大麦芽复合物对肥胖症诱导的小鼠的体重变化的效应的确认

[0149] 为了通过将通过实验方法中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物组合来确认高脂肪饮食的肥胖症诱导的小鼠的体重变化的效应,测量了实验动物的体重。如表9中所表明,通过高脂肪饮食诱导肥胖症的对照组显示体重增加 30.92 ± 3.53 ,而实施例3印度醋栗和大麦芽的复合物显示浓度依赖性体重减轻,根据施用组100、200和400 mg/kg 分别为 28.13 ± 3.93 、 25.78 ± 3.35 和 24.70 ± 1.85 。同样在比较饮食效率的结果中,确认了与对照组相比,其在印度醋栗和大麦芽复合物中以浓度依赖性方式降低,从而确认了印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物在体重减轻方面显示出优异的效应。

[0150] [表9]

组	HFD补充					
	NC	C	Met	实施例3 100	实施例3 200	实施例3 400
[0151] 初始体重 (g)	19.11±0.23 ^{ab}	19.35±0.84	19.26±0.66	19.40±0.72	19.57±0.40	18.82±0.53
最终体重 (g)	32.24±3.74 ^a	50.27±3.67 ^a	39.46±2.16 ^d	47.53±3.56 ^{ab}	45.35±3.30 ^{bc}	43.52±2.16 ^c
体重增加量* (g)	13.13±3.67 ^d	30.92±3.53 ^a	20.20±1.89 ^c	28.13±3.93 ^{ab}	25.78±3.35 ^b	24.70±1.85 ^b
食物摄取 (g/天/小鼠)	2.49±0.19 ^c	2.91±0.23 ^a	2.66±0.18 ^b	2.89±0.18 ^a	2.98±0.21 ^a	2.71±0.20 ^b
FER**	5.03±1.41 ^d	10.12±1.15 ^a	7.25±0.68 ^c	9.28±1.30 ^{ab}	8.25±1.07 ^{bc}	8.68±0.65 ^b

[0152] 3-11. 印度醋栗和大麦芽复合物对肥胖症诱导的小鼠的器官和脂肪组织重量变化的效应的确认

[0153] 为了确认通过实验方法中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦叶提取物的复合物对高脂肪饮食的肥胖症诱导的小鼠的器官和脂肪组织重量变化的效应,测量了实验动物的器官(肝、肾、脾)和白色脂肪组织(皮下脂肪、内脏脂肪(附睾脂肪和腹膜内脂肪))。如表10中所表明,高脂肪饮食诱导肥胖症的对照组的白色脂肪组织的总量以及皮下脂肪组织和内脏脂肪组织的重量分别为7.06±0.72、3.57±0.62和3.49±0.32,而在实施例3印度醋栗和大麦叶的复合物中,与对照组相比,根据100、200和400mg/kg的施用组,白色脂肪组织的总量分别减少至5.52±0.86、5.37±0.31和3.95±0.41,并且皮下脂肪组织的重量减少至2.62±0.43、2.31±0.18和1.54±0.31,并且内脏脂肪组织的重量减少至2.90±0.67、3.06±0.14和2.41±0.15,由此确认了印度醋栗提取物与大麦芽提取物的复合物以浓度依赖的方式减少脂肪组织的重量,因此确认了印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物对身体脂肪堆积的抑制显示出优异的效应。

[0154] [表10]

组	HFD补充					
	NC	C	Met	实施例3 100	实施例3 200	实施例3 400
[0155] 器官重量 (g)						
肝	1.19±0.14 ^c	3.35±0.64 ^a	1.57±0.21 ^{bc}	1.81±0.25 ^b	1.72±0.17 ^b	1.58±0.20 ^{bc}
肾	0.29±0.03 ^b	0.40±0.04 ^a	0.36±0.02 ^a	0.37±0.04 ^a	0.37±0.01 ^a	0.37±0.04 ^a
脾	0.09±0.02 ^c	0.14±0.03 ^a	0.10±0.01 ^{bc}	0.13±0.03 ^{ab}	0.13±0.03 ^{ab}	0.11±0.03 ^{abc}
脂肪组织重量 (g)						
总WAT	1.87±0.32 ^a	7.06±0.72 ^a	4.11±1.52 ^{cd}	5.52±0.86 ^b	5.37±0.31 ^{bc}	3.95±0.41 ^d
皮下WAT	0.77±0.14 ^d	3.57±0.62 ^a	1.74±0.85 ^{bc}	2.62±0.43 ^b	2.31±0.18 ^{bc}	1.54±0.31 ^{cd}
内脏WAT	1.10±0.19 ^c	3.49±0.32 ^a	2.37±0.68 ^b	2.90±0.67 ^{ab}	3.06±0.14 ^{ab}	2.41±0.15 ^b

[0156] 3-12. 印度醋栗和大麦芽复合物对肥胖症诱导的小鼠的血糖变化的效应的确认

[0157] 为了确认通过实验方法中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物对高脂肪饮食的肥胖症诱导的小鼠的血糖变化的效应,测量了实验动物的血糖。如图8中所表明,在400mg/kg的相同浓度下,印度醋栗和大麦芽的单一物质显示血糖数值分别为4.74±0.64和6.99±0.79,而在实施例3印度醋栗和大麦芽的复合物中,血糖为4.63±0.51,因此相比于单一物质,显示了显著的降低效应。此外,在100、200和400mg/kg的治疗组中,确认了印度醋栗和大麦芽的复合物以浓度依赖性方式降低血糖,由此确认了印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物显示出对血糖降低的优异效应。

[0158] 3-13. 印度醋栗和大麦芽复合物对肥胖症诱导的小鼠血液中胰岛素变化的效应的确认

[0159] 为了确认通过实验方法中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的高脂肪饮食的肥胖症诱导的小鼠的胰岛素变化,测量了实验动物血液中的胰岛素。如图9中所表明,在400mg/kg的相同浓度下,印度醋栗和大麦芽的单一物质显示血液中胰岛素数值分别为0.67±0.01和0.76±0.02,并且在实施例3印度醋栗和大麦芽的复

合物中,血液中胰岛素为 0.56 ± 0.01 ,因此相比于单一物质,显示了显著的降低效应。此外,在100、200和400mg/kg的治疗组中,确认了印度醋栗和大麦芽的复合物以浓度依赖性方式降低了胰岛素,从而确认了印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物显示出对血液中胰岛素降低的优异效应。

[0160] 3-14. 印度醋栗和大麦芽复合物对肥胖症诱导的小鼠血液中糖化血红蛋白(HbA1c)的效应的确认

[0161] 为了确认通过实验方法中所提出的制备方法制备的印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物的高脂肪饮食的肥胖症诱导的小鼠血液中糖化血红蛋白的变化,测量了实验动物血液中的HbA1c。如图10中所表明,在400mg/kg的相同浓度下,印度醋栗和大麦芽的单一物质显示血液中HbA1c分别为 7.50 ± 0.11 和 9.67 ± 0.57 ,而在实施例3印度醋栗和大麦芽的复合物中,血液中胰岛素为 7.15 ± 0.22 ,因此相比于单一物质,显示了显著的降低效应。此外,在100、200和400mg/kg的治疗组中,确认了印度醋栗和大麦芽的复合物以浓度依赖性方式降低了血液中的HbA1c,从而确认了印度醋栗提取物和大麦芽提取物的复合物显示出对血液中HbA1c降低的优异效应。

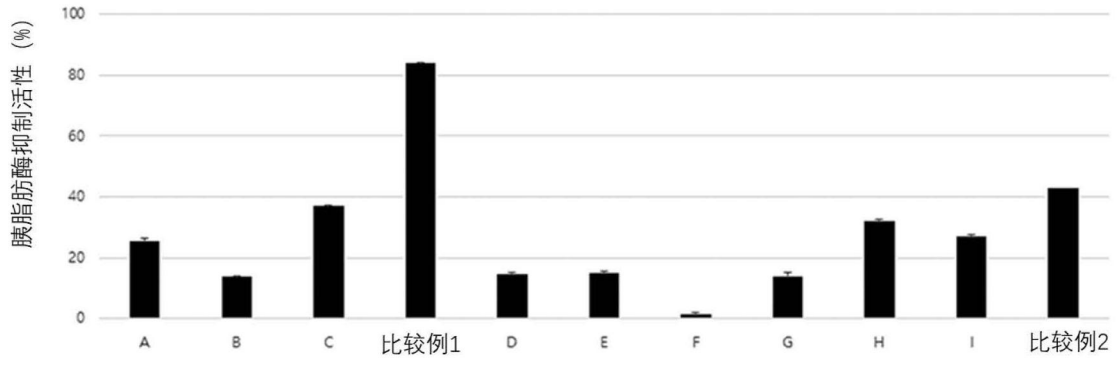


图1

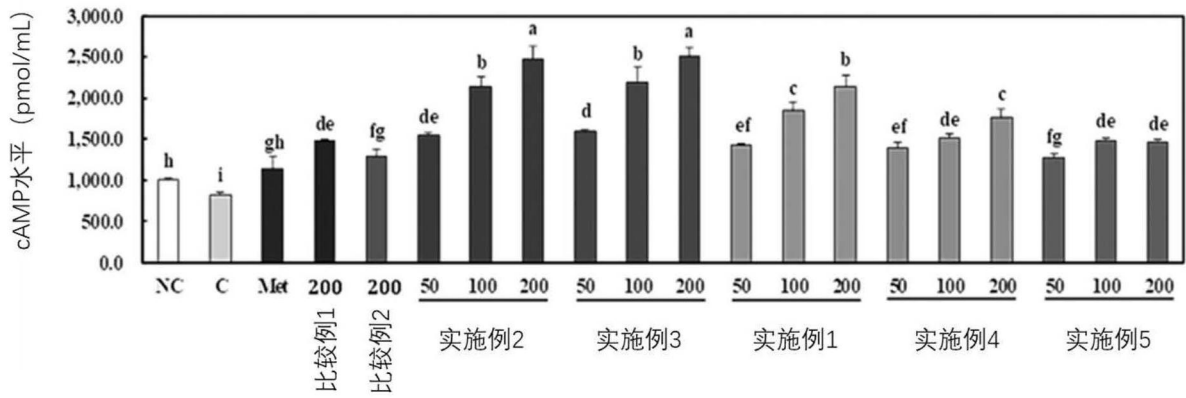


图2

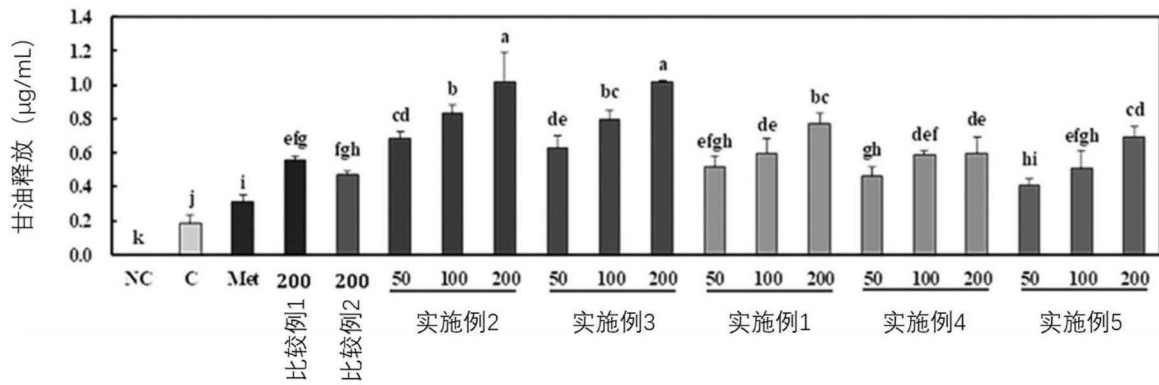


图3

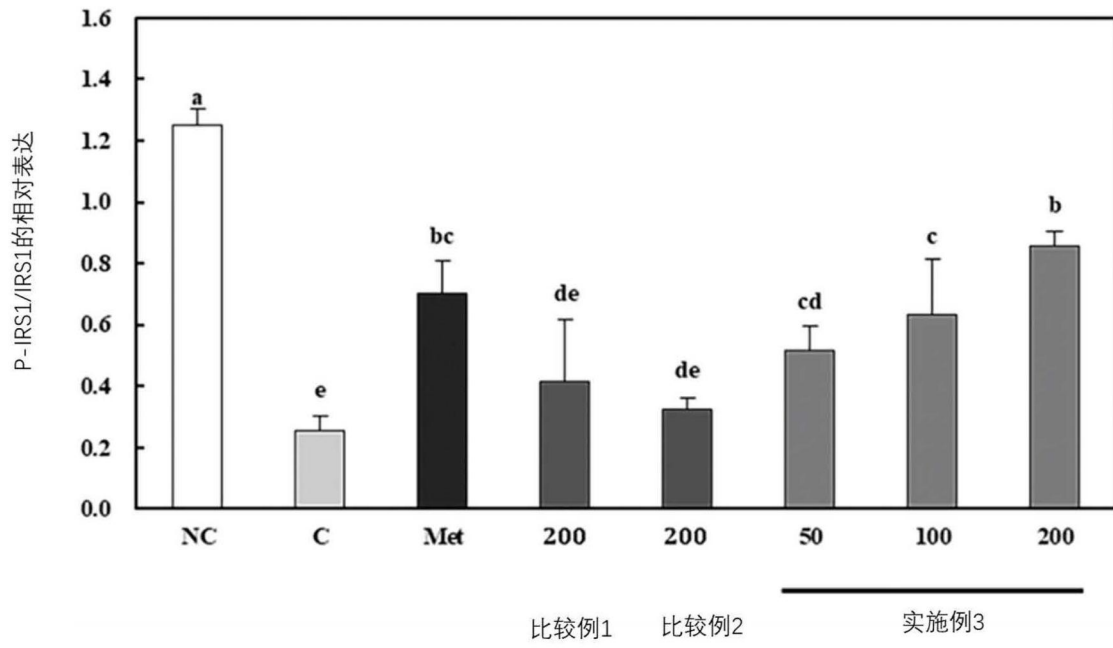


图4

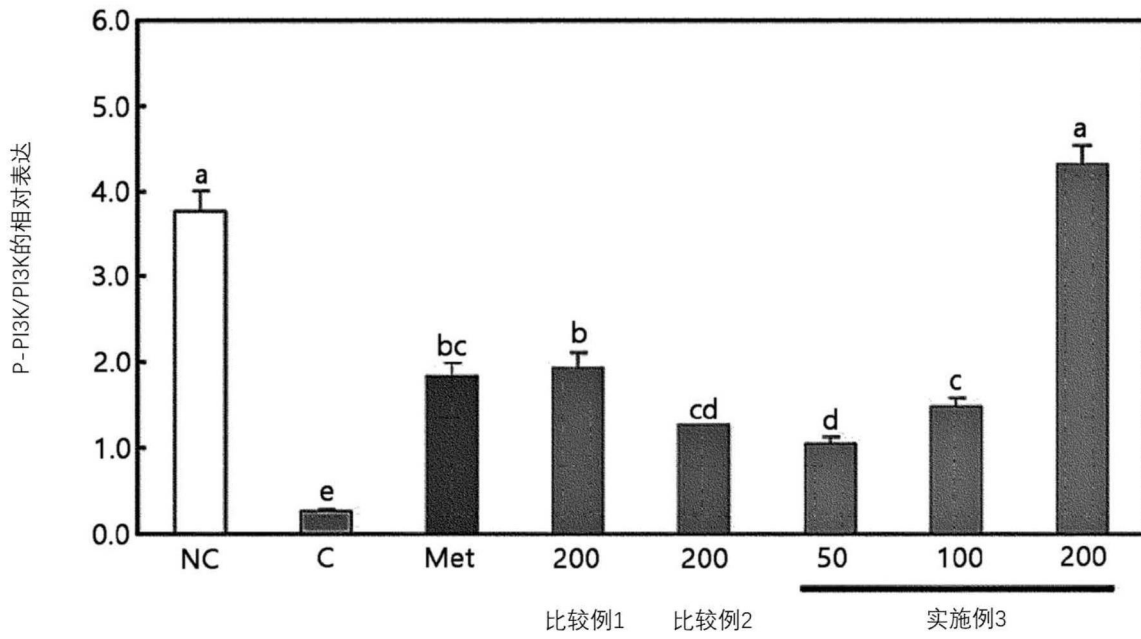


图5

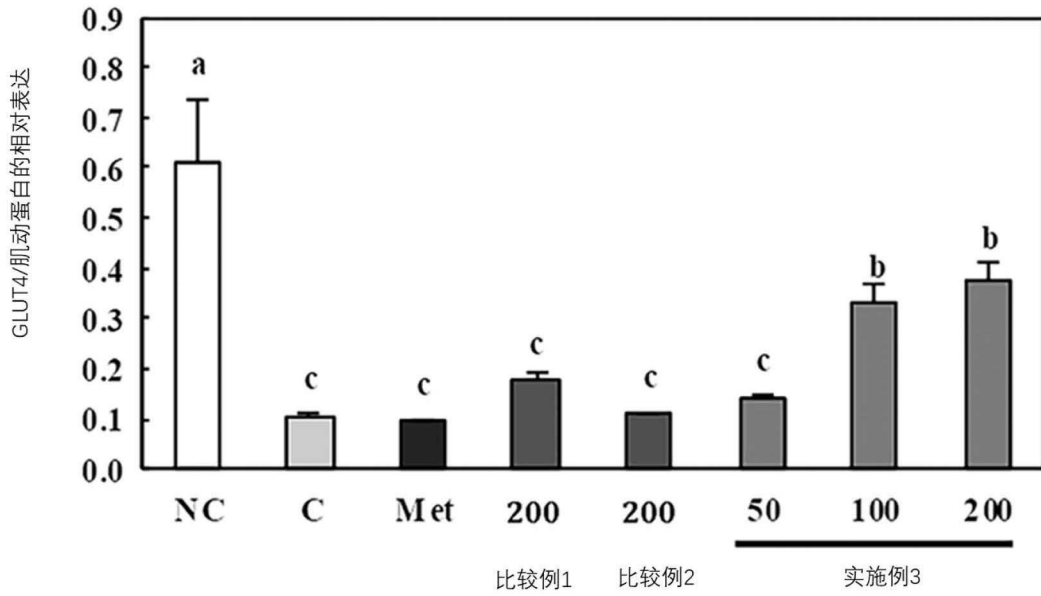


图6

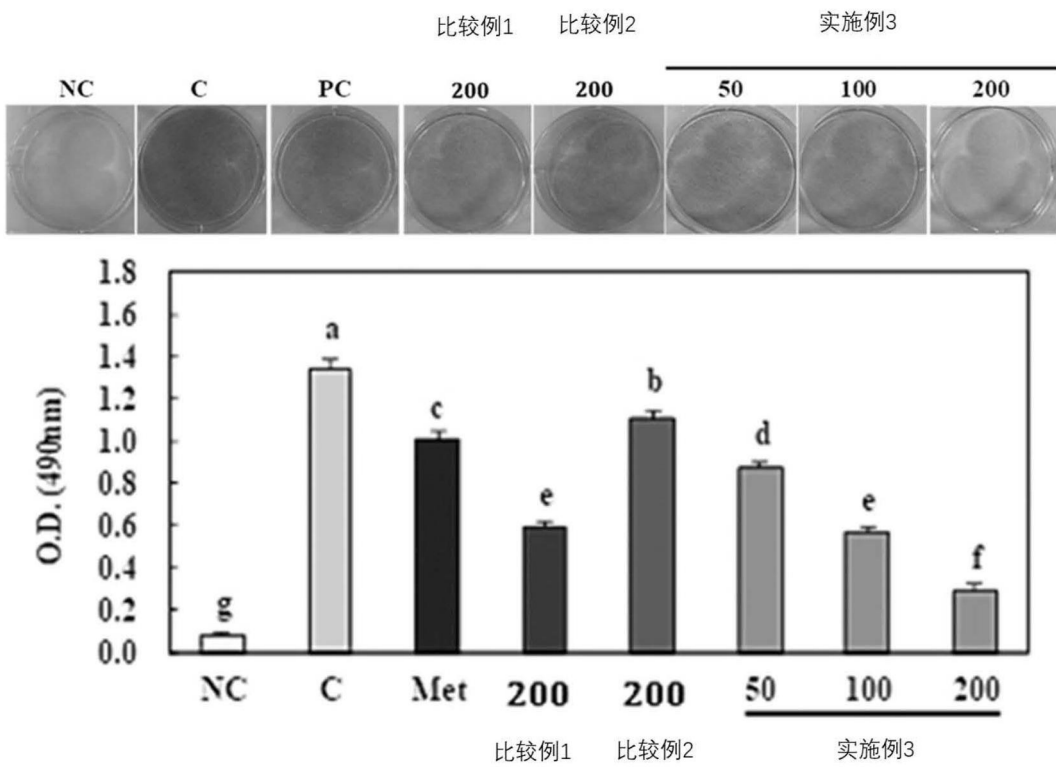


图7

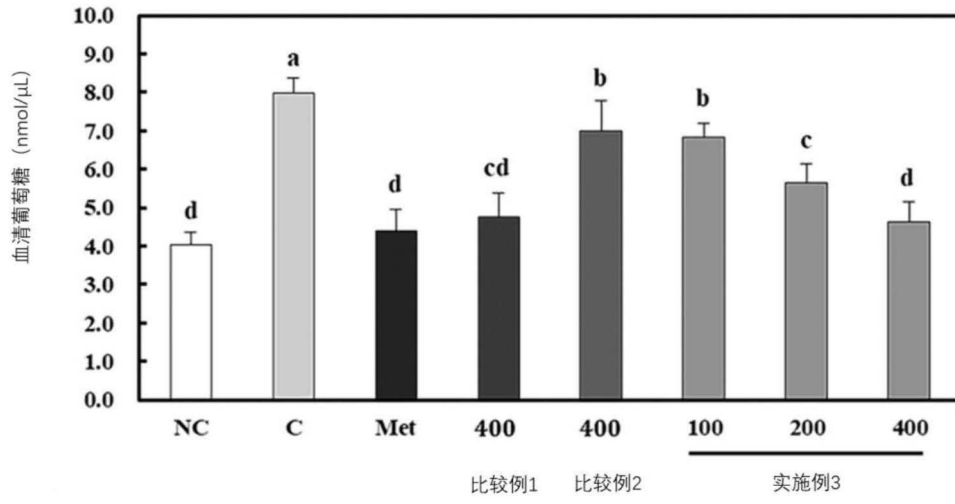


图8

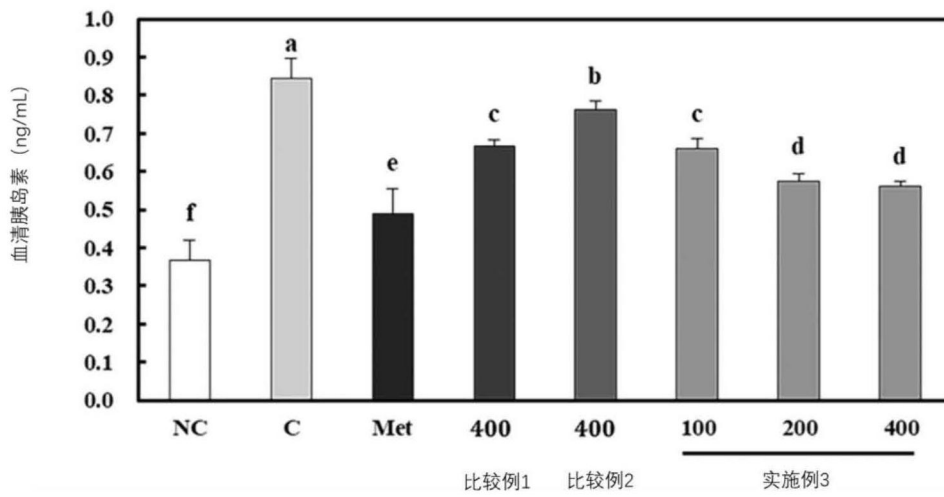


图9

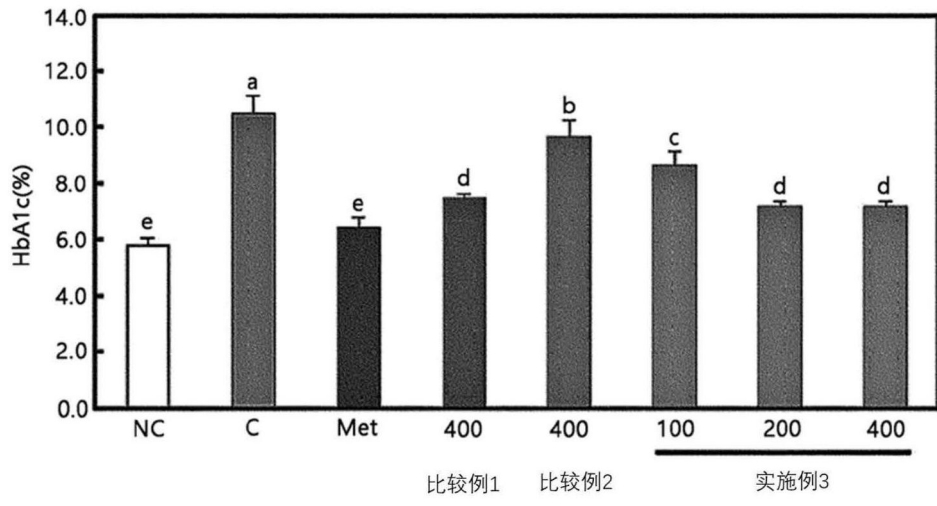


图10