

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2007年10月4日 (04.10.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/111306 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 36/42 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

岡山福岡市東区箱崎六丁目10番1号 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP).

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2007/056226

(74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒1000004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(22) 国際出願日:

2007年3月26日 (26.03.2007)

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ:

特願2006-083581 2006年3月24日 (24.03.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人九州大学 (KYUSHU UNIVERSITY, NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 Fukuoka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 佐藤 匡央 (SATO, Masao) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP). 今泉 勝己 (IMAIZUMI, Katsumi) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP). 大久保 敬 (OKUBO, Hiroshi) [JP/JP]; 〒8128581 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号 国立大学法人九州大学内 Fukuoka (JP). 尾崎 行生 (OZAKI, Yukio) [JP/JP]; 〒8128581 福

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: LIPID METABOLISM AMELIORATING AGENT

(54) 発明の名称: 脂質代謝改善剤

(57) Abstract: Disclosed is a food or pharmaceutical composition comprising kakrol (*Momordica dioica* Roxb.). Kakrol, which is a vegetable originally produced in Bangladesh, resembles balsam pear. The food or pharmaceutical composition is useful for the treatment of a disease or condition associated with lipid metabolism, hyperlipemia (including primary (familial, sporadic) and secondary hyperlipemia, hypercholesterolemia and hyper(LDL)cholesterolemia), arteriosclerosis, ischemic heart disease (including angina pectoris and cardiac infarction), cerebrovascular disease (including cerebral infarction and cerebral hemorrhage) or lifestyle-related disease. The food or pharmaceutical composition can prevent the absorption of a lipid.

(57) 要約: 本発明は、カックロールを含む、食品又は医薬組成物を提供する。バングラディッシュ原産のカックロール (Kakrol) 青果は、ニガウリに似ている。本発明の食品又は医薬品組成物は、脂質代謝に関連した疾患又は状態に、高脂血症 (原発性 (家族性、散発性)、二次性、高コレステロール血症、高LDL-コレステロール血症を含む。)、動脈硬化、虚血性心疾患 (狭心症、心筋梗塞を含む。)、脳血管障害 (脳梗塞、脳出血を含む。)、又は生活習慣病の処置のために有用である。本発明の食品又は医薬組成物は、脂質の吸収を阻害する。

WO 2007/111306 A1

明 細 書

脂質代謝改善剤

技術分野

[0001] 本発明は、ウリ科の植物であるカックロールに関する。より詳細には、本発明は、カックロールの脂質代謝改善剤としての新たな機能に関する。本発明は食品及び医薬品の分野で有用である。

背景技術

[0002] ニガウリの果肉や種子は南アジアにおいて、伝統的に薬効のある植物として糖尿病治療に利用されている。近年の研究により、血清及び肝臓中のTGを減少させ、脂肪肝を予防する作用があるという報告がある(非特許文献1、2)。さらに、作用機構は未解明であるが、糖尿病改善作用が認められてきている(非特許文献3、特許文献1)。このように、ニガウリは糖尿病や高脂血症の改善など、様々な高機能性が認められている有用な野菜である。

[0003] 一方、カックロール(Kakrol、Momordica dioica Roxb.)は、バングラディシュ周辺で雨季に収穫される野菜である。ニガウリと同様ウリ科に属し、ニガウリに類似した形をしているが、ニガウリほどには苦味がない。カックロールについては、これまで、栽培法、単為結実、組織培養カルスからの植物体再生、及び形態学上・生理学上の特徴等の面から研究されてきた(非特許文献4～7)。

[0004] さらにカックロールはビタミン高含有であることが知られているが、多くの機能性について検討の余地がある。

特許文献1:特開平11-59692(特許第3261090号)

非特許文献1:Gamarallage V. K. Senanayake, et al., J. Nutr. Sci. Vitaminol., 50 253-257, 2004

非特許文献2:Gamarallage V. K. Senanayake, et al., J. Ethnopharmacology, 91 257-262, 2004

非特許文献3:Dhanasekar S., et al., Biol. Pharm. Bull., 28(6) 978-983, 2005

非特許文献4:Mohammad Ali, et al., Scientia Horticulturae, 47 335-343, 1991

非特許文献5: Mohammad Nazmul Islam Mnik, et al., J. Fac. Agr., Kyushu Univ., 45 (2) 459-463, 2001

非特許文献6: Shaila Arifa Nabi, et al., J. Fac. Agr., Kyushu Univ., 46(2) 303-309, 2002

非特許文献7: Mohammad Golam Rasul, et al., J. Fac. Agr., Kyushu Univ., 49(1) 1-11, 2004

発明の開示

[0005] 本発明者らは、SDラットにおいて、カックロール粉末を3%含む食餌を与えた際の脂質代謝に及ぼす影響について検討した。その結果、カックロールを含む食事を与えた群が、コントロール群に比較して、脂質代謝に関連した指標において有意な改善が見られること、また糞中への脂肪酸排泄量が有意に高いことを発見し、本発明を完成した。

[0006] 本発明は、すなわち、カックロール、及び食品又は医薬として許容可能な添加物を含む、食品又は医薬組成物を提供する。

[0007] カックロール(kakrol、学名: Momordica dioica Roxb.)は、ニガウリと同じウリ科モメルディカ属の植物である。カックロールは、蔓性多年草、雌雄異株であり、地下部に塊根を作る(図1～4参照)。インド亜大陸ベンガル地方原産といわれており、高温多湿気候に適し、栽培は容易である。バングラデシュ国では雨季の重要な野菜となっている。果実はレモン型で、小突起に覆われ、1個の重さは50～100gであり、ニガウリのような苦みを全く持たない。

[0008] 本発明の食品又は医薬組成物に、カックロールを用いる場合、栽培法、形態学上・生理学上の特徴によらず、あらゆる品種を用いることができる。カックロールの栽培法及び形態学上・生理学上の特徴に関しては、当業者は、上述の非特許文献4～7等を参照することができる。

[0009] 本明細書で「カックロール」というときは、特別な場合を除き、カックロールの植物体の全体又は一部を指し、これには、カックロール果実(食するのに適した段階の果実(青果)を指して「カックロール」ということもある。)、果肉、皮、種子、葉、茎、根、花、蕾が含まれる。本発明の食品又は医薬組成物の原料として、果実が適している。果

実は、果皮及び種子を除くことなく、そのまま用いてもよい。カックロールの食するのに適した果実の段階(青果)では種子はまだ柔らかく、果肉とともに食することができる。必要に応じ、果肉、皮若しくは種子を、単独又は組み合わせて用いてもよい。

[0010] 本明細書で「カックロール」というときは、特別な場合を除き、加工の有無、程度を問わず、カックロールを原料とした抽出物、抽出物残滓、分画物、単離物、濃縮物、加工物、乾燥物を含む。

[0011] 乾燥物には、凍結乾燥物の粉末が含まれる。抽出物には、水又は水系溶媒による抽出物、メタノール、エタノール、ヘキサン、アセトン等の有機溶媒による抽出物が含まれる。

[0012] 本発明の食品又は医薬組成物には、青果を乾燥物にして用いることができる。

[0013] 本発明の食品又は医薬組成物は、脂質代謝に関連した疾患又は状態を処置するために有用である。より特定すると、血清脂質濃度又は肝臓脂質濃度に関連した疾患又は状態を処置するために有用である。血清脂質及び肝臓脂質には、コレステロール(遊離型、エステル型)、トリアシルグリセロール(TG)(トリグリセリド、中性脂肪ということもある。)、リン脂質(PL)、非エステル型脂肪酸が含まれる。本発明の食品又は医薬組成物は、特に、血清中の総コレステロール濃度、肝臓中のコレステロール濃度、トリアシルグリセロール(TG)濃度、及び／又はリン脂質(PL)濃度を低減させるのに効果がある。本発明の食品又は医薬組成物は、より具体的には、高脂血症(原発性(家族性、散発性)、二次性を含む。高コレステロール血症、高中性脂肪血症、高コレステロール高中性脂肪血症を含む。)、動脈硬化、虚血性心疾患(狭心症、心筋梗塞)、脳血管障害(脳梗塞、脳出血)、脂肪肝、糖尿病、肥満、生活習慣病(糖尿病、脳卒中、心臓病、高脂血症、高血圧、肥満)を処置するために有用である。なお、本発明者らの検討によると、9～18週齢の雌雄アポE欠損マウスでの評価においては、カックロール青果の乾燥物を摂取した群が、血清中の血清中のチオバルビツール酸反応物(TBARS)濃度がコントロール群と比較して低くなった(実施例4参照)ことから、本発明の医薬又は食品組成物は、酸化ストレスに関連した疾患又は状態(例えば動脈硬化)を処置するために、特に有用であると考えられる。

[0014] 本発明者らの検討によると、5週齢の雄SDラットでの評価においては、カックロール

青果の乾燥物を摂取した群は、血清中の総コレステロール濃度が、コントロール群に比較して低くなり、特にLDL-コレステロール及びVLDL-コレステロールがかなり低下したと考察された(実施例3参照)。また、9～18週齢の雌雄アポE欠損マウスでの評価においては、カックロール青果の乾燥物を摂取した群は、血清中の総コレステロール濃度、VLDL及びLDL濃度がコントロール群と比較して有意に低かったが、HDL濃度は群間に有意差は見られなかった(実施例4参照)。したがって、本発明の医薬又は食品組成物は、特に、高コレステロール血症及び／又は高LDL-コレステロール血症を処置するために有用である。

[0015] また、本発明者らの検討によると、5週齢の雄SDラットでの評価においては、カックロール青果の乾燥物を摂取した群には、食効率、肝臓重量、膵臓重量、血清アミラーゼ活性においてコントロール群に比較して高いとの実験結果が得られた(実施例3参照)。食効率が高いことは、エネルギー代謝の効率化が行われていることを指し、また、肝臓重量の増加は脂肪肝ではなく、代謝亢進の可能性を示唆する。さらに、膵臓重量の増加は、消化酵素、インシュリン、グルカゴンなどの血糖調節作用が効率的に行える可能性を有し、血清アミラーゼは、膵臓重量の増加に伴って増加していることから、膵臓の活発な活動を意味する。したがって、本発明の食品又は医薬組成物は、このようなカックロールの作用により改善される疾患又は状態の処置にも有用である。

[0016] さらに本発明者らの検討によると、7週齢の雄SDラットでの評価においては、カックロール青果の乾燥物を摂取した群の糞中への脂肪酸排泄量は、コントロール群と比較して有意に高かった(実施例4参照)。したがって、本発明の医薬又は食品組成物は、食餌由来の脂質の吸収を阻害する作用があり、そのようなカックロールの作用により改善される疾患又は状態の処置にも有用である。なお、本明細書において、生体内での吸収に関連して「脂質」というときは、特別な場合を除き、単純脂質(例えば油脂; 油脂は、脂肪酸とグリセリンから成る3価のエステルであり、トリグリセリド(TG)ということもある。)、複合脂質(例えばリン脂質、糖脂質)、コレステロールを含む。単純脂質と複合脂質には、構成成分として不飽和脂肪酸又は飽和脂肪酸が含まれる。脂質の吸収阻害は、通常、排泄又は吸収された脂肪酸量を測定することにより、評価する

ことができる。

[0017] 本明細書において、疾患又は状態を「処置(する)」というときは、特別な場合を除き、対象となる疾患もしくは状態を、予防もしくは治療すること、軽度に抑えること、又は進行を抑えることを意味する。「処置」には、根本的な治療が含まれ、また長期的な予防及び／又は治療とが含まれる。

[0018] 本発明の食品組成物は、飲料の形態であるものも含む。本発明の食品組成物は、栄養機能食品、特定保健用食品、健康食品、栄養補助食品、ドリンク剤、ジュース、濃縮ジュース等とすることができる。食品組成物はまた、乾燥品、加工品(例えば、漬け物。塩漬、しょうゆ漬、みそ漬、ぬかみそ漬、粕漬、麴漬、調味漬、酢漬)、エキスの形態とすることもでき、以下で説明する医薬組成物である場合に準じて、エキス、濃縮物等を含むカプセル剤、錠剤、丸剤、タブレット、散剤、顆粒剤等の形態とすることもできる。食品組成物として摂取するカククロールの量は、以下で説明する医薬組成物である場合に準じて、適宜とすることができる。

[0019] 本発明の食品組成物は、食品として許容可能な種々の添加物、例えば甘味料、着色料、保存料、酸化防止剤、香料、酸味料、調味料、防かび剤(防ばい剤)、pH調整剤、栄養強化剤、乳化剤、増粘剤、安定剤、ゲル化剤、糊剤、発色剤、漂白剤を含んでもよい。

[0020] 本発明の組成物を医薬組成物とする場合、有効成分であるカククロールの量、投与期間、間隔は、目的、症状、対象者の年齢、体重等に応じて適宜とすることができる。治療の目的では、例えば、臨床上有効量を、数週間～数ヶ月の間、継続して投与することができる。より具体的には、成人患者に対して、一日当たり、青果の乾燥物(実施例参照)として 10g～1000g(好ましくは25g～500g、より好ましくは50g～250g)に相当する量を、単回又は複数回(例えば3回)に分割して投与することができる。このような量の1/10～1/1(例えば1/3)を一単位剤形中に含むように設計された製剤は、本発明の好ましい態様の一つである。

[0021] また、健康維持及び／又は発症予防等の目的では、より少ない量での投与が効果的である場合がある。より具体的には、成人である対象者に対して、一日当たり、青果の乾燥物(実施例参照)として 1g～100g(好ましくは2.5g～50g、より好ましくは5g～

25g)に相当する量を、単回又は複数回に分割して投与することができる。このような量の1/10～1/1を一単位剤形中に含むように設計された製剤もまた、本発明の好ましい態様の一つである。

[0022] 青果の乾燥物に相当する量は、当業者であれば、本明細書の実施例等を参考にして、青果全体、青果の抽出物、抽出物残滓、分画物、単離物、濃縮物もしくは加工物、又は青果の一部(例えば、果肉、皮、種子)、その乾燥物、抽出物、抽出物残滓、分画物、単離物、濃縮物もしくは加工物等について、それぞれ求めることができる。

[0023] 投与経路、剤形も適宜設計することができ、例えば、全身的な投与のため、又は局所投与のために製剤化することができ、内服剤、外用剤、固形剤、液状製剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤、丸剤、タブレット、エキス剤、軟膏剤、硬膏剤、ハップ剤、ローション剤、リニメント剤、又は坐剤とすることができる。また、除放化製剤、放出制御型製剤とすることもできる。製剤化は、従来の方法にしたがって行うことができる。

[0024] 本発明の医薬組成物は、医薬として許容できる種々の添加物、例えば、附形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、コーティング剤、懸濁化剤、乳化剤、安定剤、保存剤、緩衝剤を含んでもよい。

[0025] 本発明の食品又は医薬組成物は、他の食事療法(脂肪制限、糖質・アルコール制限、食物繊維を多く摂取する等。)、薬物療法(コレステラミン、ニコチン酸、メバロチン等の抗コレステロール剤の投薬。)、運動療法と併用して用いることができる。

[0026] 本発明の組成物には、その具体的な用途(例えば、生活習慣病予防のため、体質改善のため、長期的な治療のため、等。)、及び／又はその具体的な使い方(例えば、量、回数、継続的に使用すべき旨、期間、等。)を表示することができる。

[0027] 本発明はまた、カックロールを摂取させることにより脂質代謝を改善する、ヒト又は非ヒト動物における脂質代謝に関連した疾患又は状態の処置方法、カックロールを含む、脂質代謝改善剤、及びカックロールを脂質代謝改善のために用いるための指針(例えば、具体的な用途、及び／又はその具体的な使い方に関する情報、そのような情報を記載した書面)を含む、製品も提供する。また、カックロールを摂取させることを含む、脂質吸収の阻害方法、カックロールを含む、脂質吸収阻害剤も提供する。

図面の簡単な説明

[0028] [図1]図1は、カックロール全体の写真である。

[図2]図2は、カックロール果実の写真である。

[図3]図3は、カックロール果実の写真である。

[図4]図4は、カックロール塊根の写真である。

実施例

[0029] [実施例1:成分比較等]

九州大学内で栽培したカックロールの青果について、成分及び脂肪酸組成を比較した。対照として、ニガウリ(佐土原3号)を用いた。

[0030] カックロール及びニガウリの成分を下表に示した。

[0031] [表1]

	Kakrol	Bitter gourd
Crude protein (mg/g d.w.) ¹	101.4	-
Total lipid (mg/g d.w.) ²	35.0	100.4
α -Tocopherol (μ g/g d.w.) ³	121.5	196.1
β -caroten (μ g/g d.w.) ^{4x}	10.5	36.4
Ascorbic acid (mg/g d.w.) ⁵	25.1	11.0
¹	Kjeldahl method.	
²	Holch's method.	
^{3,4}	HPLC.	
⁵	Hydrajin method	

また、脂肪酸組成を下表に示した。

[0032] [表2]

	Kakrol	Bitter gourd
	(%)	
16:0	23.4	10.7
18:0	5.7	51.0
18:1	9.7	10.3
18:2 (n-6)	43.3	13.5
18:3 (n-3)	17.9	14.7

測定は、Folch法(クロロホルム/メタノール=2:1)で抽出後、けん化し、脂肪酸画分をガスクロマトグラフィーで行った。

[0033] ニガウリに比べてカックロールは、脂質量が少ない(カロリーが低い)割には-tocoph

erol(ビタミンE)量が多く、また、血清コレステロール低下作用の強いリノール酸が多く含まれていた。なお、カックロールのコレステロール低下作用について後述するが、含有量からすると、このリノール酸が効いてコレステロールを下げているのではない。

[0034] [実施例2:凍結乾燥粉末の調製]

カックロール青果を3cm角に切り凍結乾燥し、ミキサーで粉砕した。青果1004gから、淡緑色の粉末131.3gを得た。得られた乾燥物は、苦みはなく、キュウリの味に似ており、青臭い匂いを有した。これを以下の実施例で用いた。

[0035] [実施例3:脂質代謝に与える影響の評価]

方法:

5週齢の雄SDラットを市販の固形食で1週間予備飼育後、体重により2群に分け、1群6匹とした。AIN-76(米国国立栄養研究所(American Institute of Nutrition, AIN))組成に準じ、5%コーン油を含むコントロール食(コントロール群)、及び5%のコーン油と3%のkakrol凍結乾燥粉末(実施例2)を含むカックロール食(カックロール群)を、摂食量を調節しながら与え、2週間飼育した。

[0036] 食餌組成を下表に示した。

[0037] [表3]

	Control	Kakrol
	(g/kg diet)	
Cornstarch	150	150
Casein	200	200
Sucrose	500	470
Corn oil	50	50
Cellulose	50	50
凍結乾燥粉末(実施例2)	-	30
Mineral mixture (AIN-76)	35	35
Vitamin mixture (AIN-76)	10	10
DL-Methionine	3	3
Coline bitartrate	2	2
Total	1000	1000

絶食をさせずに断頭により屠殺後、肝臓、脾臓、白色脂肪組織(睾丸周辺、腸間膜周辺、腹膜後腔周辺)及び筋肉を摘出した。肝臓脂質は化学法(コレステロール:Spe

rry S., J. Biol. Chem., 187, 97-106, 1950, トリグリセリド: Fletcher S., Clin. Chim. Acta. 22, 393-397, 1968, リン脂質: Rouser S., Lipids, 1, 85-86, 1966) により測定し、血清脂質は酵素法キット(コレステロール: デターミナーTC555、協和メディクス、HDL分画試薬: 簡易DCM 測定法, トリグリセリド: トリグリセライドE-テストワコー、和光純薬工業)、血清グルコースは酵素法キット(グルコースC-II-テストワコー、和光純薬工業)を用いて測定した。血清アミラーゼ濃度はキット(アミラーゼテストワコー、和光純薬工業)を用いて測定した。また、肝臓の脂肪酸合成系・脂肪酸酸化系の酵素活性を測定した。

[0038] 結果:

結果を下表に示した。

[0039] [表4]

Table 4 成長に関連したパラメータ

	Control	Kakrol
Initial body weight (g)	201.7±3.0	201.8±2.9
Final body weight (g)	283.9±3.3	293.7±4.2
Body weight gain (g)	82.3±1.9	91.9±4.2
Food intake (g/day)	21.0±0.2	20.9±0.5
Food efficiency (mg weight gain/g food intake)	279.9±6.1	313.7±12.8*

Values are means±SE (n=6)

*Significantly different from the control rats at $p<0.05$

[0040] [表5]

Table 5 白色脂肪組織(White adipose tissue WAT) 重量

	Control	Kakrol
Total WAT (g)	9.12±0.50	8.72±0.76
Retroperitoneal WAT (g)	2.96±0.13	2.58±0.33
Mesenteric WAT (g)	3.08±0.26	3.25±0.27
Epididymal WAT (g)	3.08±0.18	2.88±0.29
Relative WAT weight (g/100g body weight)	3.22±0.20	2.97±0.26

Values are means±SE (n=6)

[0041] [表6]

Table 6 大腿筋重量

	Control	Kakrol
Total muscle weight (g)	4.04±0.09	3.91±0.12
Right muscle weight (g)	2.02±0.05	1.96±0.01
Left muscle weight (g)	2.02±0.04	1.96±0.05
Relative muscle weight (g/100g body weight)	1.42±0.02	1.33±0.03*

Values are means±SE (n=6)

*Significantly different from the control rats at $p<0.05$

[0042] [表7]

Table 7 肝臓重量および膵臓重量

	Control	Kakrol
Total liver weight (g)	13.73±0.43	15.62±0.55*
Relative liver weight (g liver/100g body weight)	4.84±0.14	5.32±0.14*
Total pancreas weight (g)	0.46±0.02	0.55±0.03*
Relative pancreas weight (g pancreas/100g body weight)	0.16±0.01	0.19±0.01*

Values are means±SE (n=6)

*Significantly different from the control rats at $p<0.05$

体重増加量、終体重、摂食量及び脂肪組織重量に群間に有意差は見られなかったが、食効率、肝臓重量及び膵臓重量はControl群と比較してKakrol群が有意に増加した。また、相対筋重量は有意に減少した。

[0043] [表8]

Table 8 血清中のGOTレベルおよびアミラーゼレベル

	Control	Kakrol
GOT (IU ¹ /L)	193.9±16.8	175.3±12.9
Amylase (unit ²)	1474.2±50.8	1761.8±93.7*

Values are means±SE (n=6)

*Significantly different from the control rats at $p<0.05$ ¹ 1IU=1μmol-L-glutamate/min² One unit is defined as an activity that a 100mL serum decompose 10 mg starch within 30 minutes at 37°C.

血清中のGOT活性は群間に有意差は見られなかったが、血清中のアミラーゼ活性はControl群と比較してKakrol群が有意に増加した。

[0044] [表9]

Table 9 血清グルコースレベル

	Control	Kakrol
Glucose level (mg/dL)	149.4±4.6	147.3±1.0
Values are means±SE (n=6)		

[0045] [表10]

Table 10 脂質レベル(血清、肝臓)

	Control	Kakrol
Serum (mg/dL)		
Total-Cholesterol	110.7±8.2	76.7±6.5**
HDL-Cholesterol	62.5±3.9	44.3±3.9**
Triacylglycerol	261.7±37.4	236.4±35.3
Liver (mg/g Liver)		
Cholesterol		
Total	4.72±0.48	2.21±0.24**
Free	2.53±0.22	1.49±0.07**
Esterified	2.18±0.42	0.72±0.26**
Triacylglycerol	56.14±12.57	20.27±4.31*
Phospholipid	34.72±1.19	27.49±0.92**

Values are means±SE (n=6)

**Significantly different from the control rats at $p<0.05$
and $p<0.01$, respectively

血清中の総コレステロール濃度、HDL-コレステロール濃度はControl群と比較してKakrol群が有意に減少した。HDL-コレステロール濃度の低下が総コレステロール濃度の低下に比較して少ないことから、LDL-コレステロール+VLDL-コレステロールがかなり低下したと考えられる。

[0046] また、肝臓中のコレステロール濃度、トリアシルグリセロール(TG)濃度及びリン脂質(PL)濃度は、Control群と比較してKakrol群が有意に減少した。なお、血清TG濃度及び血清グルコース濃度においては、群間に有意差は見られなかった。

[0047] [表11]

Table 11 脂肪酸の合成および β 酸化に関連する酵素の活性

	Control	Kakrol
	(nmol/min/mg protein)	
Fatty acid synthesis		
FAS	26.34 $\pm$ 2.02	26.89 $\pm$ 1.86
Malic Enzyme	113.66 $\pm$ 10.92	120.11 $\pm$ 12.02
G6PDH	148.10 $\pm$ 12.89	113.62 $\pm$ 13.26
β -oxidation		
Mitochondoria		
CPT	1.92 $\pm$ 0.17	2.35 $\pm$ 0.21
Peroxisome		
ACO	1.37 $\pm$ 0.07	1.01 $\pm$ 0.07*

Values are means $\pm$ SE (n=6)*Significantly different from the control rats at $p < 0.05$

FAS、Malic Enzyme及びG6PDH活性は群間に有意差は見られなかった。また、CPT活性も群間に有意差は見られなかった。一方、ACO活性は、Control群と比較してKakrol群が有意に減少した。

[0048] 考察:

Kakrolには血清コレステロール濃度の低下作用があり、肝臓脂質の低下作用を示す物質が含まれていることが示唆された。食品成分で同様の作用が見られるものとしては、大豆タンパク質が挙げられるが、その際の食餌中の大豆タンパク質の割合は20%である。3%カックロール食における本実施例での結果は従来の食品成分からは予想できない顕著なものであるといえる。

[0049] [実施例4:脂質代謝に与える影響の評価]

SDラット又はアポE欠損マウスにカックロール凍結乾燥粉末を摂取させ、カックロールが脂質代謝に及ぼす影響と、その作用機構について検討した。

[0050] 方法:

[実験1 糞中への脂肪酸排泄量の測定]

AIN-76組成に準じて5%コーン油を含む食餌(Control群)と5%コーン油及び3%カックロール凍結乾燥粉末を含む食餌(Kakrol群)、5%コーン油及び3%ニガウリ凍結乾燥粉末を含む食餌(Bitter gourd群)を与えた7週齢の雄SDラットの糞を3日間回収し、滴定により脂肪酸量を測定した。

[0051] [実験2 アポE欠損マウスにおける脂質代謝の評価]

9～18週齢の雌雄アポE欠損マウス29匹を市販固形食で1週間予備飼育した後、AIN-76組成に準じ、10%ラードを含むControl食(Control群、雄雌8匹)及び10%ラードと3%のカックロール凍結乾燥粉末を含むカックロール食(Kakrol群、雄6匹、雌7匹)をP air feedingで9週間飼育した。

[0052] 食餌組成を下表に示した。

[0053] [表12]

	Control	Kakrol
	(g/kg diet)	
Sucrose	450	420
Casein	200	200
Cornstarch	150	150
Lard	100	100
Cellulose	50	50
Kakrol	-	30
Mineral mixture (AIN-76)	35	35
Vitamin mixture (AIN-76)	10	10
DL-Methionine	3	3
Coline bitartrate	2	2

The diets are formulated according to the AIN-76 formula.

6時間絶食させた後、動脈採血により屠殺し、肝臓、心臓、白色脂肪組織(睾丸・卵巣周辺、腸間膜周辺、腹膜後腔・腎周辺、皮下)及び大動脈を摘出した。肝臓脂質は化学法により測定し、血清脂質は酵素法キットを用いて測定した(実施例3参照)。血清中のチオバルビツール酸反応物(TBARS)は化学法により測定した。

[0054] 結果:

[実験1 糞中への脂肪酸排泄量の測定]

[0055] [表13]

Table 13 糞中への脂肪酸排泄量

	Control	Kakrol	Bitter gourd
Fatty acids in feces (mg/day)	34.50 ± 3.74 ^a	83.44 ± 4.73 ^b	37.31 ± 4.17 ^a
FA extraction rate (%/day)	4.56 ± 0.50 ^a	13.99 ± 0.76 ^b	5.90 ± 0.64 ^a

Values are mean ± SE (n=6~8)

Different superscript letters are significantly different at p<0.01 by Tukey-Kramer

糞中への脂肪酸排泄量は、Control群及びBitter gourd群と比較してKakrol群で有

意に高かった。

[0056] [実験2 アポE欠損マウスにおける脂質代謝の評価]

[0057] [表14]

Table 14 成長に関連したパラメータ

	Male		Female		ANOVA
	Control	Kakrol	Control	Kakrol	
Initial body weight (g)	28.28 ± 0.89	29.35 ± 0.71	23.34 ± 0.50	23.29 ± 0.31	
Final body weight (g)	36.31 ± 1.50	33.00 ± 2.91	25.45 ± 0.53	24.9 ± 0.22	
Body weight gain (g)	8.04 ± 1.06	3.65 ± 2.32	2.11 ± 0.50	1.61 ± 0.35	N.S.
Food intake (g/day)	4.10 ± 0.09	4.06 ± 0.25	3.94 ± 0.07	3.90 ± 0.13	N.S.
Food efficiency	31.42 ± 4.41	12.74 ± 8.32	8.44 ± 1.91	6.50 ± 1.38	N.S.
(mg weight gain/g Total food intake)					
Relative liver weight	4.65 ± 0.36	3.84 ± 0.20	4.61 ± 0.29	4.77 ± 0.26	N.S.

Values are mean±SE (n=6~8)

N.S.: Not Significant

初体重、終体重、体重増加量、摂食量及び体重あたりの肝臓重量は群間に有意差は見られなかったが、食効率はControl群と比較してKakrol群で有意に低かった。

[0058] [表15]

	Male		Female		ANOVA	
	Control	Kakrol	Control	Kakrol	MF	MF×G
Total WAT	9.390 ± 1.380	5.880 ± 1.650	4.794 ± 0.400	3.408 ± 0.210	p<0.01	N.S.
(g/100g final body weight)						
Perirenal and retroperitoneal	1.459 ± 0.240	0.850 ± 0.330	0.821 ± 0.080	0.572 ± 0.030	p<0.05	N.S.
Mesenteric	1.423 ± 0.180	1.133 ± 0.280	0.861 ± 0.120	0.670 ± 0.100	p<0.01	N.S.
Epididymal or periovular	3.031 ± 0.390	1.986 ± 0.570	1.327 ± 0.130	1.012 ± 0.050	p<0.01	N.S.
Subcutaneous	3.469 ± 0.630	1.911 ± 0.490	1.780 ± 0.160	1.150 ± 0.060	p<0.01	N.S.

Values are mean±SE (n=6~8)
N.S.: Not Significant

総脂肪重量、腸間膜及び皮下脂肪組織重量はControl群と比較してKakrol群で有意に低かった。また、腹膜後腔及び腎周辺、睪丸・卵巢周辺の脂肪組織重量は群間に有意差は見られなかった。

[0059] [表16]

Table 16 脂質レベル(血清、肝臓)

	Male		Female		ANOVA	
	Control	Kakrol	Control	Kakrol	MF	MF×G
Serum (mg/dL)						
Total-Cholesterol	858.2 ± 87.2	589.5 ± 49.1	624.2 ± 35.9	464.4 ± 30.7	p<0.01	N.S.
HDL-Cholesterol	45.50 ± 9.95	24.10 ± 2.34	29.00 ± 4.25	28.90 ± 4.35	N.S.	N.S.
VLDL and LDL-Cholesterol	812.7 ± 79.9	565.4 ± 47.6	595.1 ± 34.4	435.5 ± 31.2	p<0.01	N.S.
Liver (mg/g Liver)						
Total-Cholesterol	3.24 ± 0.61	2.76 ± 0.18	2.74 ± 0.19	3.14 ± 0.27	N.S.	N.S.
Triacylglycerol	139.10 ± 27.43	70.06 ± 15.29	88.22 ± 13.29	80.78 ± 8.76	N.S.	N.S.
Phospholipid	27.11 ± 0.71	30.47 ± 0.58	29.2 ± 0.51	30.06 ± 0.57	N.S.	N.S.

Values are mean±SE (n=6~8)

N.S.: Not Significant

血清中の総Chol濃度、VLDL及びLDL濃度はControl群と比較してKakrol群で有意に低かったが、HDL濃度は群間に有意差は見られなかった。一方、肝臓中の総Chol

血清中のTBARS濃度はControl群と比較してKakrol群で有意に低かった。

[0061] 考察:

カックロールの肝臓脂質及び血清コレステロール濃度低下作用は、TGの吸収を抑制することに起因していると示唆された。よって今後はカックロールの脂質吸収阻害の機構を明らかにするため、小腸吸収細胞での脂質の輸送に及ぼす影響を検討する。また今回飼育したアポE欠損マウスの大動脈切片を作成し、カックロールが動脈硬化症の進展に及ぼす影響も評価する予定である。

請求の範囲

- [1] カックロール、及び食品又は医薬として許容可能な添加物を含む、食品又は医薬組成物。
- [2] 脂質代謝に関連した疾患又は状態を処置するための、請求項1に記載の食品又は医薬組成物。
- [3] 疾患又は状態が、高脂血症(原発性(家族性、散発性)、二次性を含む。また、高コレステロール血症を含む。)、脂肪肝、動脈硬化、虚血性心疾患(狭心症、心筋梗塞を含む。)、脳血管障害(脳梗塞、脳出血を含む。))又は生活習慣病である、請求項2に記載の食品又は医薬組成物。
- [4] カックロールが、カックロール青果、その乾燥物、抽出物、分画物、単離物、もしくは濃縮物又はそれらのいずれかの加工物である、請求項1～3のいずれか1項に記載の食品又は医薬医薬組成物。
- [5] カックロールを摂取させることにより脂質代謝を改善する、脂質代謝に関連した疾患又は状態の処置方法。
- [6] カックロールを含む、脂質代謝改善剤。
- [7] カックロール、及びカックロールを脂質代謝改善のために用いるための指針を含む、製品。
- [8] カックロールを、青果の乾燥物として 10g～1000g(好ましくは25g～500g、より好ましくは50g～250g)に相当する量で含む、請求項4に記載の食品又は医薬組成物。
- [9] カックロールを摂取させることを含む、脂質吸収の阻害方法。
- [10] カックロールを含む、脂質吸収阻害剤。

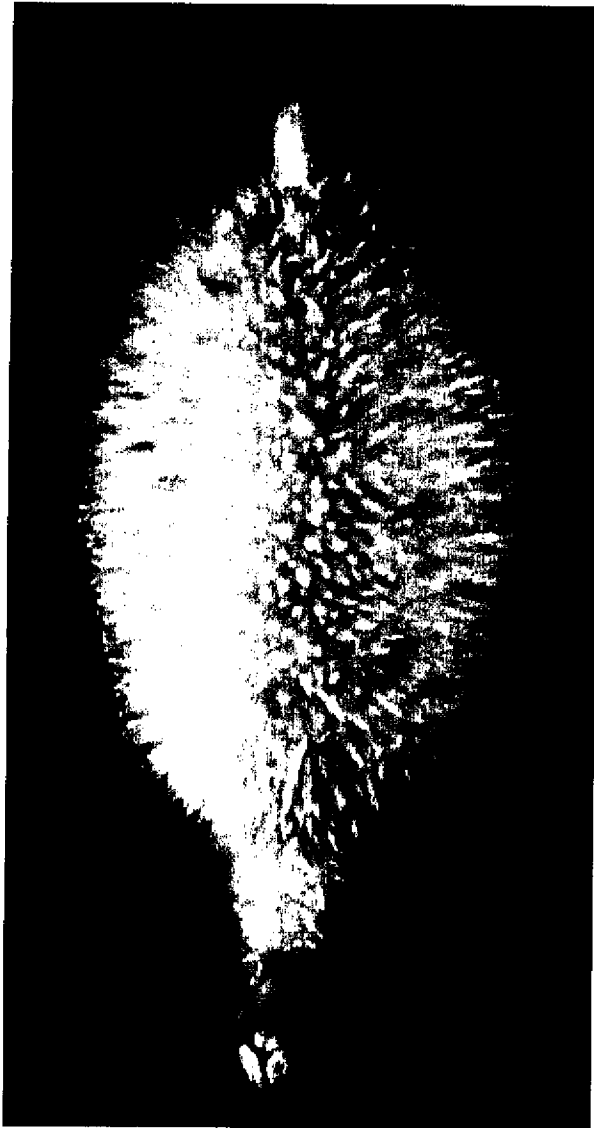
[図1]



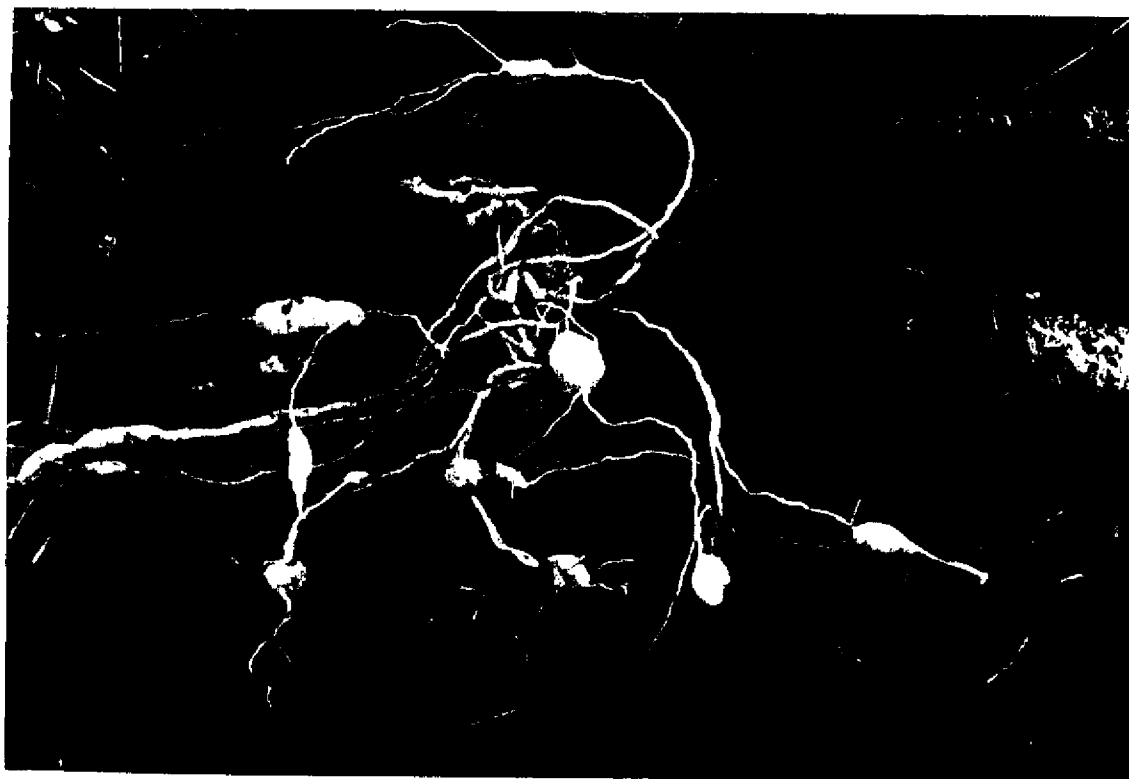
[図2]



[図3]



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/056226

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/42(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K36/42, A23L1/30, A61P1/16, A61P3/06, A61P9/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2007
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2007	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2007

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), CApplus (STN), JMEDPlus (JDream2), JSTPlus (JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Reddy, G.et al, Anithyperglycemic activity of Momordica dioica fruits in alloxan-induced diabetic rats, Nigerian Journal of Natural Products and Medicine, 2005, Vol.9, pp.33-34	1-4, 6-8, 10
X	Fernandopulle B.M.R., Oral hypoglycaemic effects of Momordica dioica in the rat, Medical Science Research, 1994, Vol.22, No.2, pp. 137-139	1-4, 6-8, 10
Y	JP 2001-278804 A (Miyazaki-Ken), 10 October, 2001 (10.10.01), (Family: none)	1-4, 6-8, 10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 April, 2007 (25.04.07)

Date of mailing of the international search report

15 May, 2007 (15.05.07)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/056226

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Rao, B. Kameswara et al, Antidiabetic and hypolipidemic effects of Momordica cymbalaria Hook.fruit powder in alloxan-diabetic rats, Journal of Ethnopharmacology, 1999, Vol. 67, No. 1, pp. 103-109	1-4, 6-8, 10
Y	Kameswararao B et al, Evaluation of antidiabetic effect of Momordica cymbalaria fruit in alloxan-diabetic rats, Fitoterapia, 2003, Vol. 74, No. 1-2, pp. 7-13 (abstract) [online] STN, MEDLINE, AN. 2003115484, DN, PubMed ID: 12628387	1-4, 6-8, 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/056226

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 5, 9
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The inventions as set forth in claims 5 and 9 pertain to methods for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. A61K36/42(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P9/10(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. A61K36/42, A23L1/30, A61P1/16, A61P3/06, A61P9/10			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2007年 日本国実用新案登録公報 1996-2007年 日本国登録実用新案公報 1994-2007年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), Cplus(STN), JMEDPlus(JDream2), JSTPlus(JDream2)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
X	Reddy, G. et al, Anithyperglycemic activity of Momordica dioica fruits in alloxan-induced diabetic rats, Nigerian Journal of Natural Products and Medicine, 2005, Vol. 9, pp. 33-34	1-4, 6-8, 10	
X	Fernandopulle B.M.R., Oral hypoglycaemic effects of Momordica dioica in the rat, Medical Science Research, 1994, Vol. 22, No. 2, pp. 137-139	1-4, 6-8, 10	
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 25.04.2007		国際調査報告の発送日 15.05.2007	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 鶴見 秀紀 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 8415

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 2001-278804 A(宮崎県)2001. 10. 10(ファミリーなし)	1-4, 6-8, 10
Y	Rao, B. Kameswara et al, Antidiabetic and hypolipidemic effects of Momordica cymbalaria Hook.fruit powder in alloxan-diabetic rats, Journal of Ethnopharmacology, 1999, Vol. 67, No. 1, pp. 103-109	1-4, 6-8, 10
Y	Kameswararao B et al, Evaluation of antidiabetic effect of Momordica cymbalaria fruit in alloxan-diabetic rats, Fitoterapia, 2003, Vol. 74, No. 1-2, pp. 7-13 (abstract) [online] STN, MEDLINE, AN. 2003115484, DN, PubMed ID:12628387	1-4, 6-8, 10

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（P C T 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 5, 9 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲 5, 9 の発明は、治療による人の処置方法に関するものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって P C T 規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。