

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2008年1月17日 (17.01.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/007450 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 36/28 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01) A61P 35/04 (2006.01)

(74) 代理人: 田中 光雄, 外 (TANAKA, Mitsuo et al.); 〒5400001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号
I M Pビル青山特許事務所 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2006/322571

(22) 国際出願日: 2006年11月13日 (13.11.2006)

(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2006-194119 2006年7月14日 (14.07.2006) JP

(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, 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, LV, 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.

(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, 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:

— 國際調査報告書

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ドスノート」を参照。

(54) Title: FOOD, DRINK AND MEDICINAL COMPOSITION HAVING ANTITUMOR EFFECT

(54) 発明の名称: 腫瘍抑制作用を有する飲食物および医薬組成物

(57) Abstract: It is intended to provide a food, a drink and a medicinal composition containing an extract of an asteraceous plant, more specifically speaking feverfew (*Tanacetum parthenium*), which exerts a remarkable antitumor effect when orally taken. Moreover, it is intended to provide a method of inhibiting tumor characterized by comprising administering an extract of an asteraceous plant, more specifically speaking, feverfew (*Tanacetum parthenium*), to a patient; use of an extract of an asteraceous plant, more specifically speaking feverfew (*Tanacetum parthenium*), in producing a medicinal composition for inhibiting tumor; and so on.

(57) 要約: 本発明によれば、経口摂取にて顕著な腫瘍抑制作用を発揮する、キク科植物、詳細にはナツシロギクの抽出物を含む飲食物および医薬組成物が提供される。さらに、キク科植物、詳細にはナツシロギクの抽出物を患者に投与することを特徴とする腫瘍の抑制方法、および腫瘍を抑制するための医薬組成物の製造におけるキク科植物、詳細にはナツシロギクの抽出物の使用なども提供される。

明細書

腫瘍抑制作用を有する飲食物および医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明は、腫瘍抑制作用を有する飲食物および医薬組成物、ならびに腫瘍の抑制方法などに関する。詳細には、キク科植物の抽出物を含有する飲食物および医薬組成物、ならびにキク科植物の抽出物を患者に投与することを特徴とする腫瘍の抑制方法、および腫瘍を抑制するための医薬組成物の製造におけるキク科植物の抽出物の使用などに関する。

背景技術

[0002] 腫瘍は最も治療が困難な疾病の一つとされ、その治療に関して様々な研究がなされ、新たな治療法や治療薬が開発され、治療成績も向上している。しかしながら、これらの治療法や治療薬の多くは患者への負担が大きく、副作用も大きい。とりわけ、転移性の腫瘍は治療が困難であり、多くの研究がなされている(非特許文献1等参照)。最近になって、体に優しい癌治療として、免疫細胞療法や漢方を用いた治療、あるいはキノコ抽出物や植物抽出物に由来する健康食品等が開発されているが、有効性が疑問視されている。

非特許文献1:Ann F. Chambers et al. "Clinical Targets for Anti-Metastasis Therapy" in Advances in CANCER RESEARCH (2000), pages 91–121 (Academic Press).

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0003] 本発明の解決課題は、有効でしかも患者に優しい腫瘍の治療を提供することである。

課題を解決するための手段

[0004] 上記事情および課題に鑑みて本発明者らは鋭意研究を重ね、キク科植物、詳細にはナツシロギクの抽出物を動物に経口投与した場合に顕著な腫瘍抑制作用を見出し、本発明を完成するに至った。

発明の効果

[0005] 本発明によれば、経口摂取にて顕著な腫瘍抑制作用を發揮し、しかも安全性の高い、キク科植物、詳細にはナツシロギクの抽出物を含む飲食物および医薬組成物が提供される。さらに、キク科植物、詳細にはナツシロギクの抽出物を患者に投与することを特徴とする腫瘍の抑制方法、および腫瘍を抑制するための医薬組成物の製造におけるキク科植物、詳細にはナツシロギクの抽出物の使用なども提供される。したがって、有効で体に優しい腫瘍抑制治療が提供される。

[0006] すなわち、本発明は、下記のものを提供する：

- (1)キク科植物の抽出物を含有する、腫瘍を抑制するための飲食物；
- (2)キク科植物がナツシロギクである、(1)記載の飲食物；
- (3)腫瘍が転移性のものである、(1)または(2)記載の飲食物；
- (4)サプリメントである、(1)～(3)のいずれかに記載の飲食物；
- (5)キク科植物の抽出物を含有する、腫瘍を抑制するための医薬組成物；
- (6)キク科植物がナツシロギクである、(5)記載の医薬組成物；
- (7)腫瘍が転移性のものである、(5)または(6)記載の医薬組成物；
- (8)キク科植物の抽出物を摂食することを特徴とする、腫瘍を抑制する方法；
- (9)キク科植物の抽出物が飲食物またはサプリメントとして提供される、(8)記載の方法；
- (10)キク科植物がナツシロギクである、(8)または(9)記載の方法；
- (11)腫瘍が転移性のものである、(8)ないし(10)のいずれかに記載の方法；
- (12)キク科植物の抽出物を患者に投与することを特徴とする、患者における腫瘍の抑制方法；
- (13)キク科植物がナツシロギクである、(12)記載の方法；
- (14)腫瘍が転移性のものである、(12)または(13)記載の方法；
- (15)腫瘍の抑制のための飲食物の製造における、キク科植物の抽出物の使用；
- (16)飲食物がサプリメントである(15)記載の方法；
- (17)キク科植物がナツシロギクである、(15)または(16)記載の方法；
- (18)腫瘍が転移性のものである、(15)ないし(17)のいずれかに記載の方法；
- (19)腫瘍の抑制のための医薬組成物の製造における、キク科植物の抽出物の使

用；

- (20)キク科植物がナツシロギクである、(19)記載の方法；
- (21)腫瘍が転移性のものである、(19)または(20)記載の方法。

図面の簡単な説明

[0007] [図1]図1は、腫瘍マウスにナツシロギク抽出物またはパルテノライドを投与した場合の生存率の経時変化を示すグラフである。実線はビヒクル対照群、破線はパルテノライド40mg/kg/日経口投与群、1点破線はナツシロギク抽出物222mg/kg/日経口投与群である。ナツシロギク抽出物222mg/kg/日投与群はビヒクル対照群との間で有意差を示した($p < 0.05$, Log-Rank test)。

[図2]図2は、腫瘍原発巣の大きさを経時的に観察した結果を示すグラフである。黒丸はビヒクル対照群、白四角はパルテノライド40mg/kg/日経口投与群、黒三角はナツシロギク抽出物222mg/kg/日経口投与群である。縦棒は標準偏差を示す。

[図3]図3は、腫瘍マウスにナツシロギク抽出物またはシスプラチンを投与した場合の体重の経時変化を示すグラフである。黒丸はビヒクル対照群、白四角はナツシロギク抽出物222mg/kg/日経口投与群、黒四角はナツシロギク抽出物888mg/kg/日経口投与群、白三角はシスプラチン10mg/kg/日腹腔内投与群である。^{*}は $p < 0.05$ で、^{**}は $p < 0.01$ で対照群との有意差があることを示す(Studentのt一検定の後F一検定)。

[図4]図4は、腫瘍マウスにナツシロギク抽出物またはシスプラチンを投与した場合の生存率の経時変化を示すグラフである。実線はビヒクル対照群、1点破線はナツシロギク抽出物222mg/kg/日経口投与群、2点破線はナツシロギク抽出物888mg/kg/日経口投与群、点線はシスプラチン10mg/kg/日腹腔内投与群である。ナツシロギク抽出物888mg/kg/日投与群はビヒクル対照群との間で有意差を示した($p < 0.05$, Log-Rank test)。

発明を実施するための最良の形態

[0008] 本発明は、セスキテルペングラクトン類を含む植物の抽出物を含有する、腫瘍を抑制するための飲食物に関するものである。ここで、腫瘍を抑制するとは、腫瘍の治療の

みならず予防も包含する。本発明の飲食物に使用される植物抽出物はセスキテルペンラクトン類を含む植物の抽出物であれば、植物の種類は特に制限はない。セスキテルペンラクトンを多く含む植物の例としては、キク科植物が挙げられ、例えばヨモギ属の植物やタンポポなどが挙げられる。したがって、本発明は1の態様において、キク科植物の抽出物を含有する、腫瘍を抑制するための飲食物を提供する。セスキテルペンラクトン類のなかでもパルテノライドはこれまで種々の生理活性を有することが報告されている物質であり、特開2005-35951に示すように腫瘍の転移を抑制し、動物の延命効果を発揮することが示されている。したがって、パルテノライド含有量の高い植物を用いることが好ましい。そのような植物としてはキク科植物、好ましくはヨモギ属の植物、特に好ましくはナツシロギク(*Tanacetum parthenium*) (フィーバーフュームなど)が挙げられる。したがって、本発明に使用される特に好ましい植物抽出物はナツシロギクの抽出物である。ナツシロギクの植物体、特に葉には通常0.2~0.9%程度のパルテノライドが含まれている。驚くべきことに、ナツシロギク抽出物を動物に経口投与した場合に、パルテノライドに換算すると極めて少量のパルテノライドしか投与しない場合であっても、パルテノライド単品の場合よりも優れた腫瘍抑制効果が得られることが判明した(実施例参照)。

[0009] 植物の抽出物は一般的方法により得ることができる。抽出部位は植物の地上部であればいずれの部位でもよいが、ナツシロギクなどのキク科植物の場合、好ましい抽出部位は葉である。植物をそのまま溶媒に浸漬して抽出物を得てもよいが、破碎してから内容物を抽出するほうが抽出効率が高い。植物は生のままでも、乾燥したものであってもよい。乾燥には、温風乾燥、風乾などの公知の乾燥方法を用いることができる。植物の破碎手段は各種のものが使用可能である。例えば、手もみ、ポッターエルベージュムホモジナイザーなどのホモジナイザー、ワーリングブレンダーなどのブレンダー、ダイノーミルなどの破碎器、フレンチプレス、乳鉢および乳棒、らいかい器、液体窒素による凍結および破碎、超音波処理などの手段により植物を破碎することができる。植物の破碎物を適当な媒体に懸濁し、内容物の抽出を行う。所望により、抽出時に攪拌してもよい。懸濁・抽出媒体としては、エーテル、メタノール、エタノール、あるいはエタノールと水の混合物などが挙げられる。懸濁媒体は、毒性の低いも

の、あるいは無毒であるものが好ましい。かかる観点から、エタノール、あるいはエタノールと水の混合物が特に好ましい懸濁・抽出媒体として挙げられる。懸濁・抽出時の温度、時間などの抽出条件は植物の種類、量などに応じて選択することができる。通常には、常温・常圧で、数時間ないし数日間抽出する。また、植物の地上部、例えば、葉や茎などをそのまま、温風乾燥、風乾などの公知の乾燥方法により乾燥させ、粉碎することにより粉末化したものを、本発明の飲食物や医薬組成物に使用してもよい。

- [0010] 得られた抽出物をそのまま使用してもよく、必要ならば、得られた抽出物を、デカントーション、ろ過、または遠心分離などの公知方法に付して固形分および粒子状物質を除去することができる。得られた抽出物を、例えばエバボレーションなどの公知方法により濃縮してもよい。得られた抽出物を、公知方法により乾燥させて、粉末等の固体としてもよい。また、得られた抽出物を、例えば各種クロマトグラフィーや沈殿法などの公知方法により、さらに精製して用いてもよい。
- [0011] 本発明の飲食物に使用する植物抽出物は上記のようにして得ることができるが、ナツシロギク抽出物は市販もされており、これを使用してもかまわない。これらの抽出物は、使用形態や目的等に応じて、公知方法を用いて種々の形態とすることができ、液体、半固体、固体(例えば凍結乾燥粉末などの粉末)などに調製することができる。
- [0012] キク科植物抽出物、特にナツシロギク抽出物を種々の飲食物に配合して、本発明の飲食物を得ることができる。これらのキク科植物抽出物は天然物由来のため毒性が低く、あるいは無毒であり、あらゆる飲食物に配合することができる。例えば、抽出物をジュースやハーブ系調味料などに配合してもよい。本発明の飲食物は、健康食品、栄養機能食品、あるいは特定保健用食品(いわゆる「トクホ」)などにすることができる。
- [0013] とりわけ、本発明の飲食物の好ましい形態として、サプリメントが挙げられる。サプリメントの形状は、経口摂取可能な形状であればいずれの形状であってもよく、例えば、一般の食品の形状であってもよく、錠剤、カプセル剤、顆粒、粉末(例えば凍結乾燥粉末等)、懸濁液、ドリンク剤、エリキシル、チュアブル形態、ゼリー状などの形状であってもよい。これらのサプリメントは、食品分野や製薬分野で用いられているプロセ

スに準じて製造することができる。例えば、錠剤形状のサプリメントを製造する場合には、製薬分野で用いられている混合、乾燥、打錠等の一般的なプロセスを用いることができる。また例えば、カプセル剤の形状の場合には、混合、カプセル封入等の一般的なプロセスを用いることができる。ソフトカプセル、ハードカプセルも目的に応じて適宜選択することができる。液体のサプリメントを製造するにはエタノール等の毒性の低い媒体に抽出物を溶解ないし懸濁することができる。粉末や顆粒のサプリメントを製造するには、やはり通常の混合、乾燥、粉碎、ふるい分けなどのプロセスを用いることができる。サプリメントの製造に担体や賦形剤を用いる場合には、その種類や量は製薬分野の慣習に準じて選択することができる。固体の担体または賦形剤としては、例えばタルク、カルボキシメチルセルロース、ショ糖、小麦粉などがある。液体の担体としては、例えば水、エタノール、食用油脂などがある。

- [0014] 本発明の飲食物はあらゆる腫瘍の抑制に効果がある。本発明の植物抽出物中にセスキテルペンラクトンが含まれていることから、特開2005－35951の場合と同様に、本発明の飲食物もまた、腫瘍の抑制、特に腫瘍の転移抑制に効果を発揮し、動物の延命を促進する。
- [0015] 1日あたりのキク科植物抽出物の摂取量または摂食量は、含有されるセスキテルペンラクトン類、特にパルテノライド量に依存する。ナツシロギク抽出物であれば、成人(体重70kg)の場合1日あたり、0.05g～50g程度を摂取するのが一般的であり、0.15g～15g程度を摂取または摂食するのが適当である。
- [0016] 本発明の飲食物やサプリメント中には、キク科植物抽出物のみならず、1種またはそれ以上の他の有効成分が混合されていてもよい。例えば、抗腫瘍剤(例えば、フルオロウラシル、ブレオマイシン、パクリタキセル、シスプラチンなど)、ホルモン剤(例えば、タモキシフェン、ホスフェストロールなど)、免疫賦活剤(例えば、アラビノキシラン、キトサン、エゾウコギなど)等の化学療法剤と本発明の飲食物とを併用してもよい。例えば、すでに化学療法、外科療法、放射線療法、ホルモン療法、免疫療法などの治療を受けている人が、本発明の飲食物を摂食することにより、治療効果を促進することも可能である。本発明の飲食物を併用すれば、薬物の投与量を低減でき、患者に優しい治療を実現することができる。

- [0017] 本発明の飲食物はヒト用のみならず、ヒト以外の動物の飼料も包含する。
- [0018] 本発明は、さらなる態様において、キク科植物抽出物、好ましくはナツシロギク抽出物を含有する腫瘍抑制用の医薬組成物を提供する。本発明の医薬組成物中の有効成分は、上記のキク科植物抽出物、好ましくはナツシロギク抽出物である。また、有効成分として、これらの抽出物を精製してパルテノライド含量を高めたものを用いてよい。
- [0019] 本発明の医薬組成物を種々の剤形に処方することができる。有効成分としてナツシロギク抽出物などのキク科植物の抽出物を用いる場合には、本発明の医薬組成物は経口投与に適した剤形とすることが好ましく、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒、粉末、ドリンク剤などとすることができる。また、有効成分としてパルテノライドのようなセスキテルペングラクトン類を用いる場合には、本発明の医薬組成物は経口投与および局所投与に適した剤形とするのが好ましいが、他の投与経路による投与も可能である。これらの剤形は製薬分野において公知の方法により製造することができる。
- [0020] 本発明の医薬組成物はあらゆる腫瘍の抑制に効果がある。本発明の植物抽出物中にセスキテルペングラクトンが含まれていることから、特開2005-35951の場合と同様に、本発明の医薬組成物もまた、腫瘍の抑制、特に腫瘍の転移抑制に効果を發揮し、動物の延命を促進する。
- [0021] 本発明の医薬組成物中の有効成分がキク科植物抽出物の場合、ナツシロギク抽出物を例にとるとその1日の投与量は、成人(体重70kg)の場合1日あたり、0.05g～50g程度が一般的であり、0.15g～15g程度が適當である。これらの投与量は、患者の症状、疾患部位、性別、年齢、体重、副作用の有無、他に受けている治療等の因子に応じて医師が適宜変更できるものである。
- [0022] 本発明の医薬組成物中には、キク科植物抽出物やパルテノライドのみならず、1種またはそれ以上の他の有効成分が混合されていてもよい。例えば、抗腫瘍剤(例えば、フルオロウラシル、ブレオマイシン、パクリタキセル、シスプラチンなど)、ホルモン剤(例えば、タモキシフェン、ホスフェストロールなど)、免疫賦活剤(例えば、アラビノキシラン、キトサン、エゾウコギなど)等の化学療法剤と本発明の医薬組成物とを併用してもよい。例えば、すでに化学療法、外科療法、放射線療法、ホルモン療法、免疫

療法などの治療を受けている人が、本発明の医薬組成物を投与することにより、治療効果を促進することも可能である。本発明の医薬組成物を併用すれば、薬物の投与量を低減でき、患者に優しい治療を実現することができる。

- [0023] 本発明の医薬組成物はヒト用のみならず、ヒト以外の動物用の医薬組成物、例えば、獣医用の医薬組成物も包含する。
- [0024] 本発明は、さらなる態様において、キク科植物の抽出物を摂食することを特徴とする、腫瘍を抑制する方法に関する。摂食とは、口から飲食することをいう。通常には、キク科植物の抽出物は飲食物の形態で提供されるが、サプリメントの形態で提供されてもよい。飲食物やサプリメントの形態については上で説明したとおりである。
- [0025] 上記方法におけるキク科植物の抽出物の摂食量は上で説明したとおりである。
- [0026] 上記方法において好ましいキク科植物の抽出物はナツシロギク抽出物である。
- [0027] 上記方法において、キク科植物抽出物のみならず、1種またはそれ以上の他の有効成分を併用してもよい。他の有効成分は上で列挙したものであってもよい。
- [0028] 上記方法により抑制される好ましい腫瘍は転移性腫瘍である。
- [0029] 上記方法はヒトのみならずヒト以外の動物にも適用できる。
- [0030] 本発明は、さらなる態様において、キク科植物の抽出物を患者に投与することを特徴とする、患者における腫瘍の抑制方法に関する。キク科植物の抽出物をそのまま患者に与えてもよいが、好ましくは医薬組成物の形態として患者に与える。医薬組成物の剤形および投与経路は、本発明の医薬組成物に関して上で説明したとおりである。
- [0031] 上記方法におけるキク科植物の抽出物の投与量は上で説明したとおりである。
- [0032] 上記方法において好ましいキク科植物の抽出物はナツシロギク抽出物である。
- [0033] 上記方法において、キク科植物の抽出物のみならず、1種またはそれ以上の他の有効成分を併用してもよい。他の有効成分は上で列挙したものであってもよい。
- [0034] 上記方法により抑制される好ましい腫瘍は転移性腫瘍である。
- [0035] 上記方法はヒトのみならずヒト以外の動物にも適用できる。
- [0036] 本発明は、さらなる態様において、腫瘍の抑制のための飲食物の製造における、キク科植物の抽出物の使用を提供する。飲食物はサプリメントの形態であってもよい。

飲食物やサプリメントの形態については上で説明したとおりである。

- [0037] 上記使用におけるキク科植物の抽出物の摂取量は上で説明したとおりである。
- [0038] 上記使用において好ましいキク科植物の抽出物はナツシロギク抽出物である。
- [0039] 上記使用において、キク科植物抽出物のみならず、1種またはそれ以上の他の有効成分を併用してもよい。他の有効成分は上で列挙したものであってもよい。
- [0040] 上記使用により抑制される好ましい腫瘍は転移性腫瘍である。
- [0041] 上記使用はヒトのみならずヒト以外の動物にも適用できる。
- [0042] 本発明は、さらなる態様において、腫瘍の抑制のための医薬組成物の製造における、キク科植物の抽出物の使用を提供する。この使用により製造される医薬組成物の形態、投与経路、投与すべきキク科植物の抽出物の量は上で説明したとおりである。
- [0043] 上記使用において好ましいキク科植物の抽出物はナツシロギク抽出物である。
- [0044] 上記使用において、キク科植物抽出物のみならず、1種またはそれ以上の他の有効成分を併用してもよい。他の有効成分は上で列挙したものであってもよい。
- [0045] 上記使用により抑制される好ましい腫瘍は転移性腫瘍である。
- [0046] 上記使用はヒトのみならずヒト以外の動物にも適用できる。
- [0047] なお、本明細書において、腫瘍の抑制とは、腫瘍の発生を予防、防止または抑制すること、腫瘍の発達を抑制または停止させること、腫瘍の転移を抑制または無くすことを包含する。
- [0048] 以下に実施例を示して本発明をより具体的かつ詳細に説明するが、本発明は実施例に限定されるものではない。

実施例 1

- [0049] 実施例1:ナツシロギク抽出物およびパルテノライドの腫瘍マウス生存率上昇効果
実験方法および材料

ナツシロギク抽出物はHANDA FINE CHEMICALS社製のFeverfew Extract(バッヂ番号:051016-107)を使用した。この抽出物中のパルテノライド含量は約0.9%であった。パルテノライドはsigma社製のもの(純度90%以上)を用いた。ナツシロギク抽出物を0.5w/v%メチルセルロース水溶液中に溶解して動物に金属製ゾンデを用いて経口投与した(1日1回、投与体積10mL/kg/回)。ナツシロギク抽出物の

投与量は222mg/kg/日、パルテノライドの投与量は40mg/kg/日とした。ビヒクル対照群には0.5w/v%メチルセルロース水溶液を与えた。各実験あたりの動物数は10匹とした。

- [0050] 使用動物はオスのC3H/HeN Slcマウス(三協ラボサービス株式会社)であり、3週齢、体重9~14gのものを馴化して4週齢で実験に使用した。実験期間中は動物に固体飼料MF(オリエンタル酵母株式会社製)およびフィルター滅菌した水道水を自由に与えた。
- [0051] 腫瘍モデルを以下のようにして作製した。4週齢のあらかじめ除毛したマウスの背部に 1×10^5 個(100μL中)のマウス腫瘍細胞(骨肉腫細胞株のLM8細胞)を皮下注射して腫瘍モデルを作製した。腫瘍モデルを作製した後、8週間にわたり1日1回ナツシロギク抽出物およびビヒクルを経口投与し、生存率を算出した。

[0052] 実験結果

実験結果を図1に示す。ナツシロギク抽出物投与群において延命効果が見られ、特にナツシロギク抽出物222mg/kg/日投与群における延命効果が大きく、パルテノライド40mg/kg/日投与群よりも延命効果が大きかった(50日目でビヒクル対照群の生存率が約0.1であるのに対し、ナツシロギク抽出物222mg/kg/日投与群の生存率は約0.45であった)。ナツシロギク抽出物中のパルテノライド含量を0.9%とすると、ナツシロギク抽出物222mg/kg/日という投与量はパルテノライド2.0mg/kg/日に相当する。抽出物を経口投与した場合に高い腫瘍抑制効果が得られたことは驚くべきことである。その理由としてはナツシロギク抽出物中に含まれる他の成分による相乗作用が考えられる。また、抽出物中の精油成分がうまく作用したとも考えられる。

- [0053] 上記実験に用いたナツシロギク抽出物の安全性について調べた。試験方法はOECD化学テストガイドライン(TG420)の固定用量法とし、Slc:ICR系のメスのマウスを用いた。その結果、ナツシロギク抽出物2000mg/kg用量でも動物の死亡例はなく、一般状態にも異常は認められず、体重増加も順調であった。これらの結果から、ナツシロギク抽出物のLD₅₀値は2000mg/kg用量以上と評価された。

- [0054] また、上記実験に用いたナツシロギク抽出物の変異原性を、検定菌としてSalmonell

a typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537およびEscherichia coli WP2 uvrAを用い、S9mix非存在下および存在下で調べた。その結果、用量5000 μ g／プレートでも変異原性は認められなかった。これらの結果から、ナツシロギク抽出物はきわめて安全性の高いものであることがわかった。

実施例 2

[0055] 実施例2:ナツシロギク抽出物およびパルテノライドの腫瘍転移抑制効果

実験方法および材料

ナツシロギク抽出物およびパルテノライドは実施例1と同じものを使用した。動物への投与方法も実施例1と同じであった。投与量はナツシロギク抽出物222mg/kg/日、パルテノライド40mg/kg/日とし、ビヒクル対照群には0.5w/v%メチルセルロース水溶液を経口投与した。

[0056] 使用動物はオスのC3H/HeN Slcマウス(三協ラボサービス株式会社)であり、3週齢、体重10.3～13.6gのものを馴化して5週齢で実験に使用した。実験期間中は動物に固形飼料MF(オリエンタル酵母株式会社製)およびフィルター滅菌した水道水を自由に与えた。

[0057] 腫瘍モデルを以下のようにして作製した。5週齢のあらかじめ除毛したマウスの背部に 1×10^5 個(100 μ L中)のマウス腫瘍細胞(骨肉腫細胞株のLM8細胞)を皮下注射して腫瘍モデルを作製した。腫瘍モデルを作製した後、1日1回ナツシロギク抽出物、パルテノライドおよびビヒクルを経口投与し、死亡例が認められ、なおかつ肺への転移が認められた時点(処置開始から34日目)で動物の原発性腫瘍、肺および肝臓を取り出し、パラフィン包埋を行った。肺の標本は左葉の中心部を水平方向に薄切り、ヘマトキシリソ・エオジン(HE)染色を行い、顕微鏡下で写真を撮り、写真をコンピューターに取り込み、画像解析ソフト(Image Tool ver.3.00, UTHSCSA)を用いて肺面積および転移巣面積を求め、肺面積に対する転移巣面積の割合(%)を算出した。

[0058] 実験結果

実験結果を表1に示す。

[0059] [表1]

処置群	動物数	転移巣面積 (ピ ² ケセル)	肺面積 (ピ ² ケセル)	転移巣面積の割合 (%)
ビヒクル対照 パルテノライド 40mg/kg/日	101	248024	1154618	21.48
ナツシロギク抽出物 222mg/kg/日	204	86319	923261	9.35
	305	2307	950363	0.24

[0060] ナツシロギク抽出物222mg/kg/日投与群において肺への転移面積が最も小さく、転移巣面積の割合はわずか0.24%であった。パルテノライド40mg/kg/日投与群においても肺への転移抑制効果が見られたが、ナツシロギク抽出物222mg/kg/日投与群よりも効果が劣っており、転移巣面積の割合は9.35%であった。一方、ビヒクル対照群においては転移巣面積の割合は21.48%であった。ナツシロギク抽出物中のパルテノライド含量を0.9%とすると、ナツシロギク抽出物222mg/kg/日という投与量はパルテノライド2.0mg/kg/日に相当する。この実験においても抽出物を経口投与した場合に顕著な腫瘍転移抑制効果が得られることがわかった。

実施例3

[0061] 実施例3:ナツシロギク抽出物およびパルテノライドの原発巣縮小効果

実験方法および材料

ナツシロギク抽出物およびパルテノライドは実施例1および2と同じものを使用した。動物への投与方法も実施例1および2と同じであった。投与量はナツシロギク抽出物222mg/kg/日、パルテノライド40mg/kg/日とし、ビヒクル対照群には0.5w/v%メチルセルロース水溶液を与えた。使用動物も実施例2と同じであり、一群につき8匹を使用した。

[0062] 使用動物はオスのC3H/HeN Slcマウス(三協ラボサービス株式会社)であり、3週齢、体重10~14gのものを馴化して5週齢で実験に使用した。実験期間中は動物に固形飼料MF(オリエンタル酵母株式会社製)およびフィルター滅菌した水道水を自由に与えた。

[0063] 腫瘍モデルの作製は実施例2と同じ方法で行った。腫瘍モデルを作製した後、1日1回ナツシロギク抽出物、パルテノライドおよびビヒクルを経口投与し、腫瘍細胞移植2週間後より33日目まで、1週間に3回腫瘍サイズ(長径および短径)をノギス(CD-1

5PS, Mitutoyo) で計測し、腫瘍体積を算出した。体積は橢円球体と仮定し、下式にて算出した：

$$\text{腫瘍体積} = \frac{4}{3} \pi (\text{短径}/2 \times \text{短径}/2 \times \text{長径}/2)$$

[0064] 実験結果

実験結果を図2に示す。ナツシロギク抽出物222mg/kg/日投与群において原発巣腫瘍体積の増加が最も抑制され、26日目あたりから顕著な効果が出始め、33日目においてナツシロギク抽出物222mg/kg/日投与群ではビヒクル対照群の原発巣腫瘍体積の約40%であった。パルテノライド40mg/kg/日投与群においてはビヒクル対照群との有意差は見られなかった。ナツシロギク抽出物中のパルテノライド含量を0.9%とすると、ナツシロギク抽出物222mg/kg/日という投与量はパルテノライド2.0mg/kg/日に相当する。この実験においても抽出物を経口投与した場合に顕著な原発巣体積減少効果が得られることがわかった。

実施例 4

[0065] 実施例4:ナツシロギク抽出物投与群の体重変化とシスプラチン投与群の体重変化の比較

実験方法および材料

ナツシロギク抽出物はHANDA FINE CHEMICALS社製のFeverfew Extract(バッヂ番号:051016-107)を使用した。この抽出物中のパルテノライド含量は約0.9%であった。ナツシロギク抽出物を0.5w/v%メチルセルロース水溶液中に溶解して動物に金属製ゾンデを用いて経口投与した(1日1回、投与体積10mL/kg/回)。ナツシロギク抽出物の投与量は222mg/kg/日および888mg/kg/日とした。シスプラチンとしては0.5mg/mlの注射剤を、動物の体重を基に必要量を算出して投与した。シスプラチン投与量は10mg/kgとし、注射針(26G、テルモ社製)および注射筒(1mL容量、テルモ社製)を用いて腹腔内注射した。ビヒクル対照群には0.5w/v%メチルセルロース水溶液を経口投与した。各実験あたりの動物数は10匹とした。

[0066] 使用動物はオスのC3H/HeN Slcマウス(三協ラボサービス株式会社)であり、3週齢、体重9.9~13.8gのものを馴化して4週齢で実験に使用した。実験期間中は動物

に固形飼料MF(オリエンタル酵母株式会社製)およびフィルター滅菌した水道水を自由に与えた。

[0067] 腫瘍モデルを以下のようにして作製した。4週齢のあらかじめ除毛したマウスの背部に 1×10^5 個($100 \mu\text{L}$ 中)のマウス腫瘍細胞(骨肉腫細胞株のLM8細胞)を皮下注射して腫瘍モデルを作製した。腫瘍モデルを作製した後、最長で6週間にわたり1日1回ナツシロギク抽出物およびビヒクルを経口投与し、各動物の体重を測定し、生存率を算出した。シスプラチンは腫瘍モデル作製1週間後に腹腔内投与を行った。

[0068] 実験結果

実験結果を図3に示す。シスプラチン投与群では、対照群と比較して投与後6日目以降体重の低下が見られ、実験期間終了時までその傾向が持続した。一方、ナツシロギク抽出物888mg/kg投与群および222mg/kg投与群では、対照群と比較して体重の低下は見られなかった。これらの結果から、ナツシロギク抽出物は副作用がなく、あるいはあったとしてもごく僅かであると考えられ、安全性が高いことがわかった。

実施例 5

[0069] 実施例5:ナツシロギク抽出物投与群の生存率とシスプラチン投与群の生存率の比較

実験方法および材料

実施例4に記載したのと同じであった。

[0070] 実験結果

実験結果を図4に示す。ナツシロギク抽出物888mg/kg投与群では、42日間にわたり生存率の有意な低下は認められなかった。ナツシロギク抽出物222mg/kg投与群でも生存率の低下がよく抑えられ、42日目の生存率は0.7であった。一方、シスプラチン投与群では、40日目に生存率が0.4となり(この時点で対照群の生存率と同じ)、ナツシロギク抽出物投与群よりも生存率が低かった。

[0071] これらの結果より、ナツシロギク抽出物は、腫瘍動物の生存率の低下を極めて効果的に抑制することがわかった。シスプラチンの毒性および副作用を考慮すると、ナツシロギク抽出物と同程度あるいはそれ以上の腫瘍抑制効果を狙って大量に投与する

ことができない。しかも、シスプラチンは高価である。一方、ナツシロギク抽出物は、実施例4に示すように安全性が高く、しかも腫瘍抑制効果が優れている。さらにナツシロギク抽出物は経口投与にて優れた腫瘍抑制作用を発揮する。そのうえナツシロギク抽出物はシスプラチン等の抗癌剤よりもずっと安価である。これらの点も考慮すると、ナツシロギク抽出物は従来の抗癌剤にはない優れた効果および有用性を有するといえる。

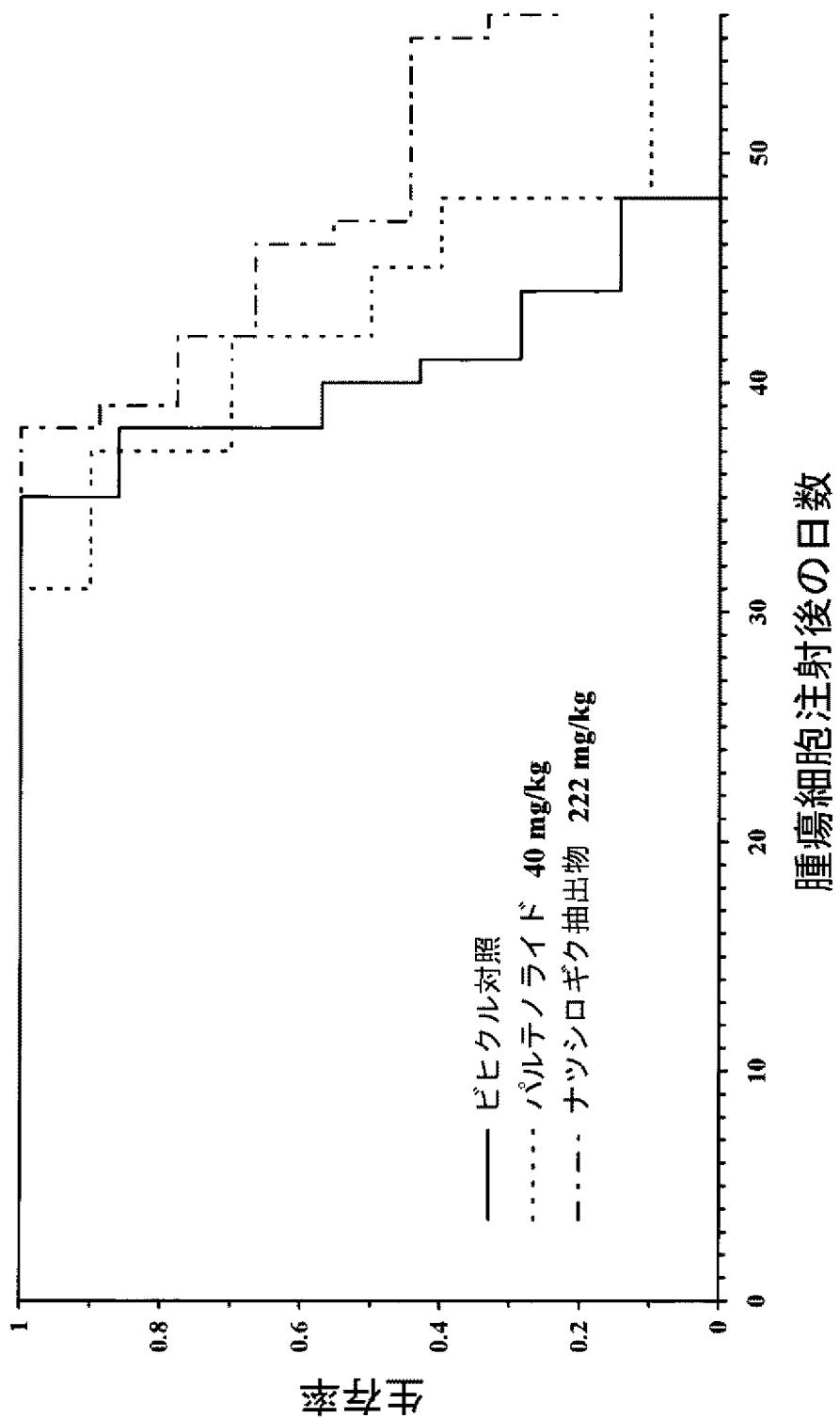
産業上の利用可能性

[0072] 本発明は、健康食品の分野および医薬品の分野等において有用である。

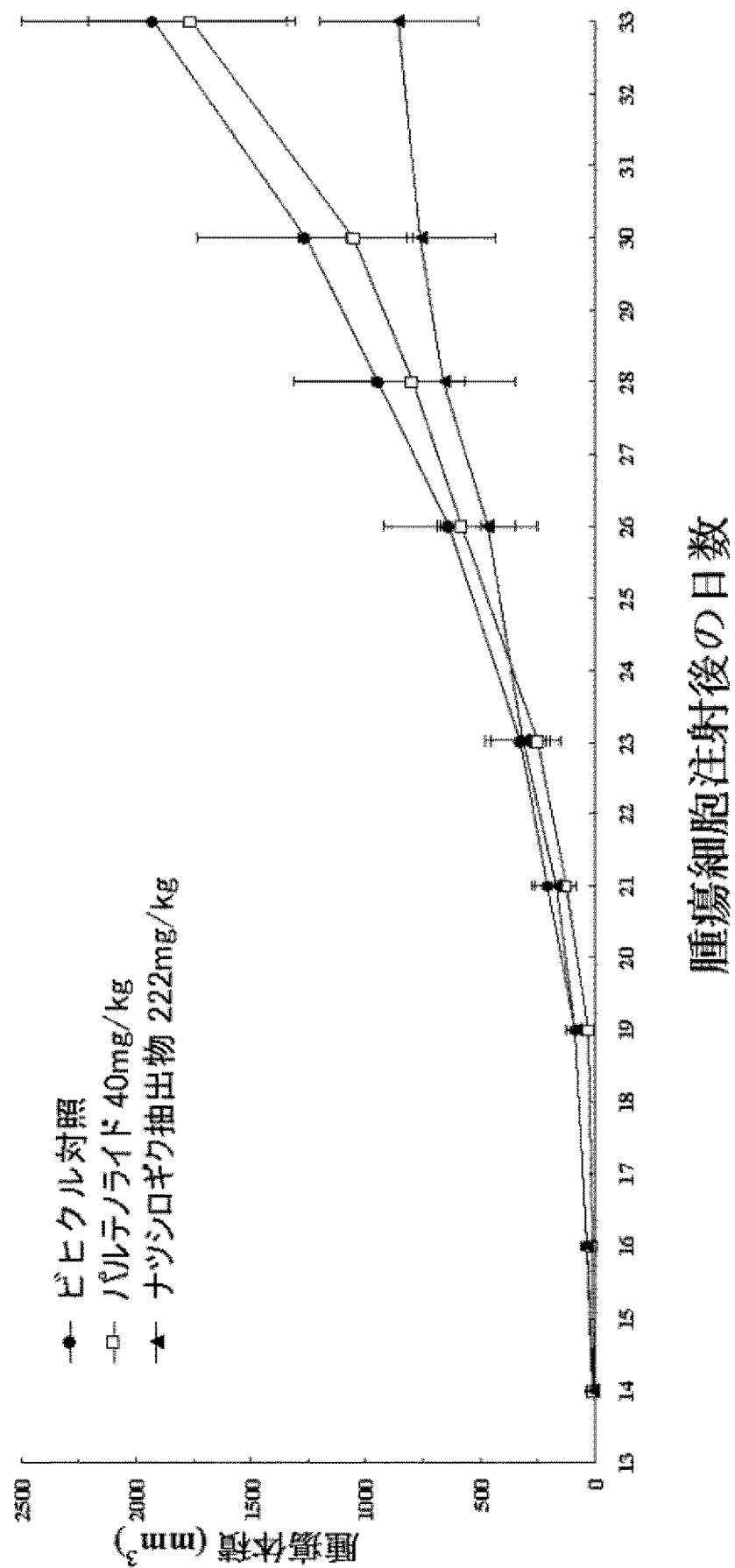
請求の範囲

- [1] キク科植物の抽出物を含有する、腫瘍を抑制するための飲食物。
- [2] キク科植物がナツシロギクである、請求項1記載の飲食物。
- [3] 腫瘍が転移性のものである、請求項1または2記載の飲食物。
- [4] サプリメントである、請求項1～3のいずれか1項記載の飲食物。
- [5] キク科植物の抽出物を含有する、腫瘍を抑制するための医薬組成物。
- [6] キク科植物がナツシロギクである、請求項5記載の医薬組成物。
- [7] 腫瘍が転移性のものである、請求項5または6記載の医薬組成物。
- [8] キク科植物の抽出物を摂食することを特徴とする、腫瘍を抑制する方法。
- [9] キク科植物の抽出物が飲食物またはサプリメントとして提供される、請求項8記載の方法。
- [10] キク科植物がナツシロギクである、請求項8または9記載の方法。
- [11] 腫瘍が転移性のものである、請求項8ないし10のいずれか1項記載の方法。
- [12] キク科植物の抽出物を患者に投与することを特徴とする、患者における腫瘍の抑制方法。
- [13] キク科植物がナツシロギクである、請求項12記載の方法。
- [14] 腫瘍が転移性のものである、請求項12または13記載の方法。
- [15] 腫瘍の抑制のための飲食物の製造における、キク科植物の抽出物の使用。
- [16] 飲食物がサプリメントである請求項15記載の方法。
- [17] キク科植物がナツシロギクである、請求項15または16記載の方法。
- [18] 腫瘍が転移性のものである、請求項15ないし17のいずれか1項記載の方法。
- [19] 腫瘍の抑制のための医薬組成物の製造における、キク科植物の抽出物の使用。
- [20] キク科植物がナツシロギクである、請求項19記載の方法。
- [21] 腫瘍が転移性のものである、請求項19または20記載の方法。

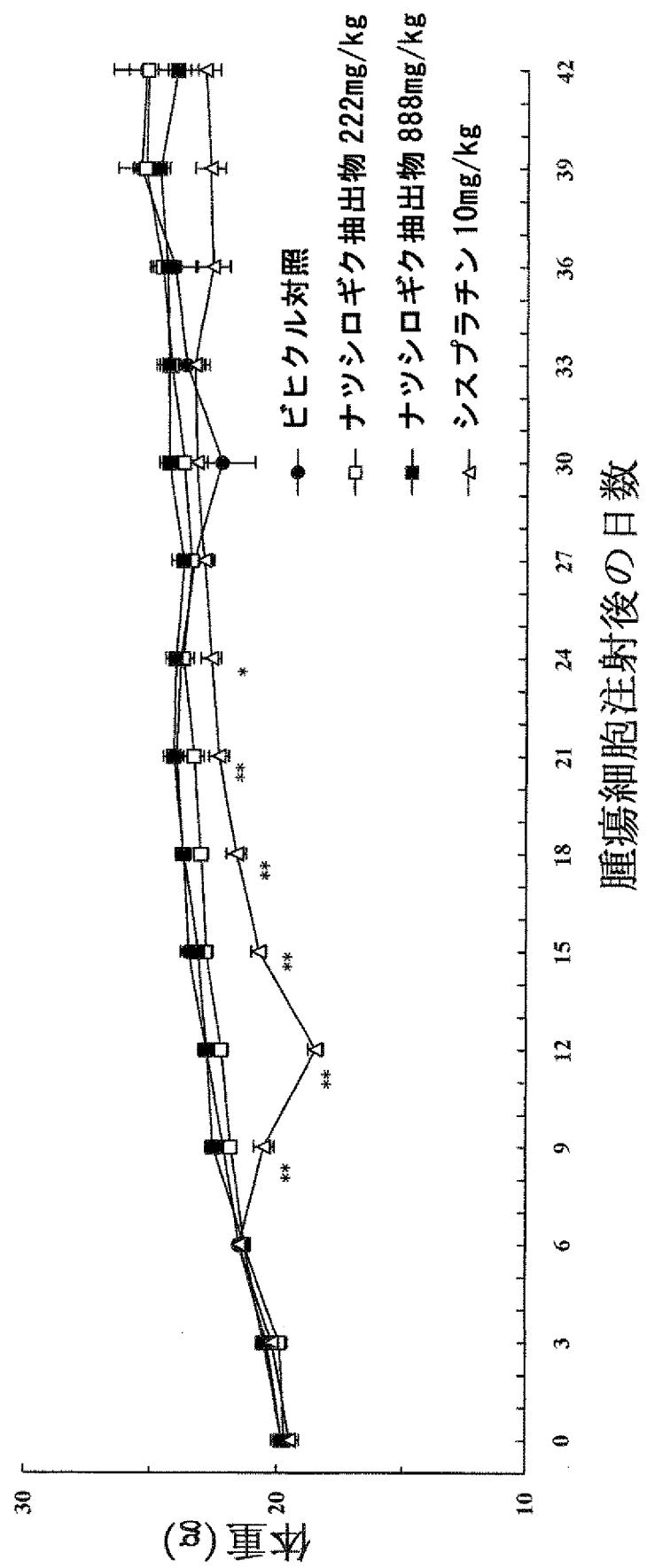
[図1]



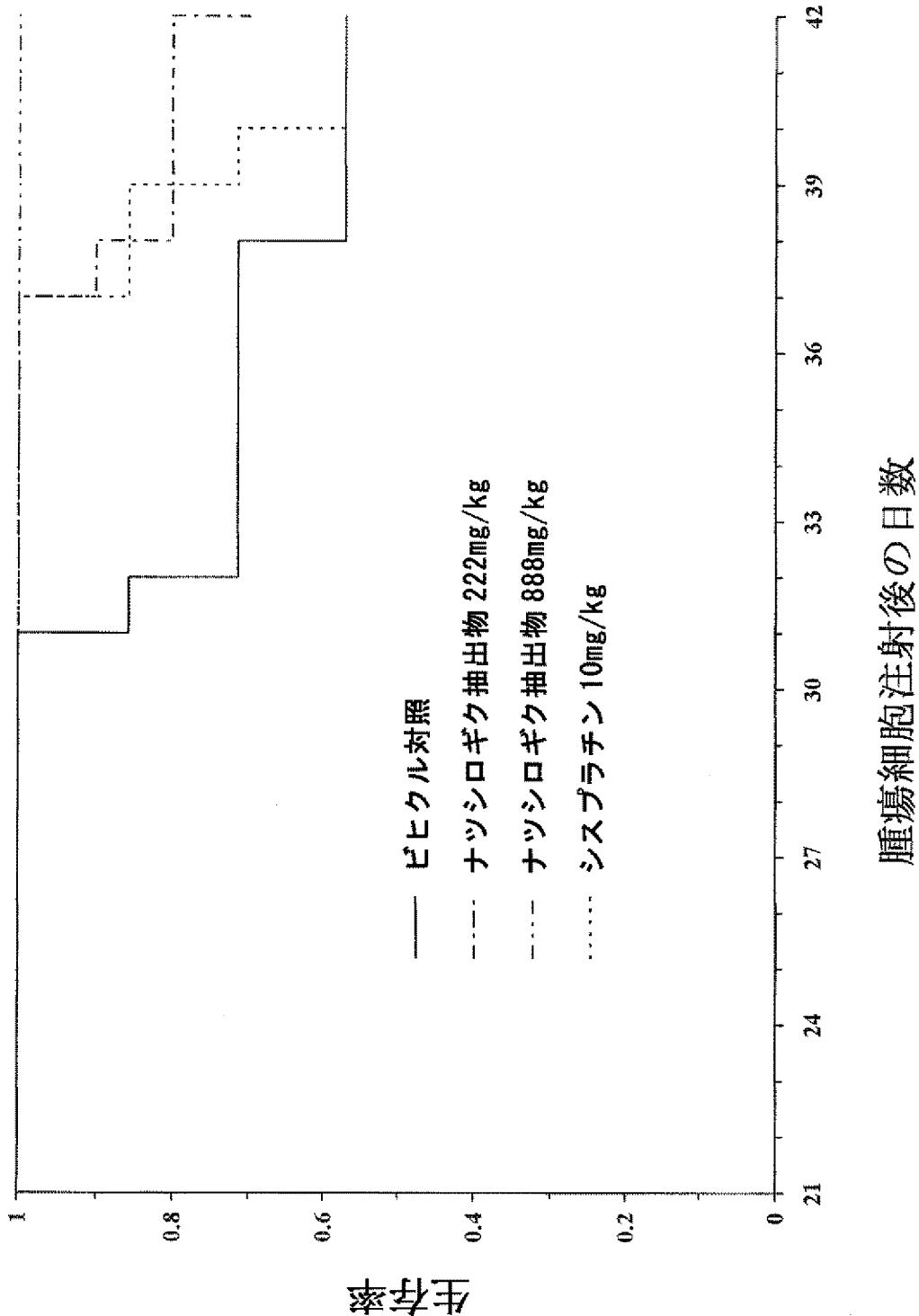
[図2]



[図3]



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/322571

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/28 (2006.01)i, A23L1/30 (2006.01)i, A61P35/00 (2006.01)i, A61P35/04 (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)

A61K36/28, A23L1/30, A61P35/00, A61P35/04

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), Caplus (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 Y	Wu, Changqing et al, Antiproliferative Activities of Parthenolide and Golden Feverfew Extract Against Three Human Cancer Cell Lines, Journal of Medicinal Food, 2006 Mar., Vol. 9, No. 1, pp. 55-61	1-7, 15-21 5-7, 19-21
X	WO 2004/93518 A2 (UNIV MISSISSIPPI), 04 November, 2004 (04.11.04), Table 3; Claim 38 & EP 1613206 A2 & US 2005/2962 A1 & AU 2004231997 A1	1-7, 15-21

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

23 January, 2007 (23.01.07)

Date of mailing of the international search report

30 January, 2007 (30.01.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/322571

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2005-538161 A (JOHNSON & JOHNSON CONSUMER, COMPANIES, INC.), 15 December, 2005 (15.12.05), Par. No. [0011] & WO 2004/22028 A1 & EP 1439817 A1 & AU 2003270389 A1 & KR 2005065446 A & BR 2003006306 A	1-7, 15-21
X	JP 2004-352626 A (Asahi Breweries, Ltd.), 16 December, 2004 (16.12.04), (Family: none)	1-4, 15-18
X	JP 2002-518456 A (Curt Hendrix), 25 June, 2002 (25.06.02), & US 6068999 A1 & US 6500450 B1 & EP 1087781 A1 & WO 99/66943 A1 & DE 6930264 D & AU 4832199 A & AT 319464 T	1-4, 15-18
Y	WO 2002/40017 A1 (NATIONAL UNIVERSITY OF SINGAPORE), 23 May, 2002 (23.05.02), & US 2002-58077 A1 & AU 1530002 A	5-7, 19-21
Y	WO 2001/45699 A1 (ADVANCED RES & TECHNOLOGY INST), 28 June, 2001 (28.06.01), & US 2003/125373 A1 & US 2005/143451 A1 & US 6890946 B2 & EP 1242071 A1 & AU 2439201 A1 & AU 780673 B2	5-7, 19-21
Y	JP 2005-35951 A (Akira NAI), 10 February, 2005 (10.02.05), (Family: none)	5-7, 9-21
Y	CALTAGIRONE S, Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential, Int. J. Cancer, 2000, Vol. 87, No. 4, pp. 595-600	5-7, 19-21

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int.Cl. A61K36/28(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P35/04(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(IPC))

Int.Cl. A61K36/28, A23L1/30, A61P35/00, A61P35/04

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), CAplus(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	Wu, Changqing et al, Antiproliferative Activities of Parthenolide and Golden Feverfew Extract Against Three Human Cancer Cell Lines, Journal of Medicinal Food, 2006. Mar., Vol. 9, No. 1, pp. 55-61	1-7, 15-21
Y		5-7, 19-21
X	WO 2004/93518 A2(UNIV MISSISSIPPI) 2004. 11. 04, Table 3, claim 38&EP 1613206 A2&US 2005/2962 A1&AU 2004231997 A1	1-7, 15-21

 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
- の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

23. 01. 2007

国際調査報告の発送日

30. 01. 2007

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

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

4C 8415

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

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
X	JP 2005-538161 A (JOHNSON & JOHNSON CONSUMER, COMPANIES, INC.) 2005.12.15, 【0011】&WO 2004/22028 A1& EP 1439817 A1&AU 2003270389 A1&KR 2005065446 A&BR 2003006306 A	1-7, 15-21
X	JP 2004-352626 A (アサヒビール株式会社) 2004.12.16 (ファミリーなし)	1-4, 15-18
X	JP 2002-518456 A (カート・ヘンドリクス) 2002.06.25&US 6068999 A1&US 6500450 B1&EP 1087781 A1&WO 99/66943 A1& DE 69930264 D&AU 4832199 A&AT 319464 T	1-4, 15-18
Y	WO 2002/40017 A1 (NATIONAL UNIVERSITY OF SINGAPORE) 2002.5.23&US 2002-58077 A1&AU 1530002 A	5-7, 19-21
Y	WO 2001/45699 A1 (ADVANCED RES & TECHNOLOGY INST) 2001.06.28&US 2003/125373 A1&US 2005/143451 A1&US 6890946 B2&EP 1242071 A1&AU 2439201 A1&AU 780673 B2	5-7, 19-21
Y	JP 2005-35951 A (名井陽) 2005.02.10 (ファミリーなし)	5-7, 19-21
Y	CALTAGIRONE S, Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential, Int. J. Cancer, 2000 , Vol. 87, No. 4, pp. 595-600	5-7, 19-21

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（PCT第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 8-14 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 8～14 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PCT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つた。
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つたので、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つたので、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つた。
- 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つたが、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つた。
- 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかつた。