

(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  
2010 年 9 月 30 日(30.09.2010)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2010/110223 A1

- (51) 国際特許分類:  
C08B 37/00 (2006.01) A61K 31/737 (2006.01)  
A23L 1/30 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/054870
- (22) 国際出願日: 2010 年 3 月 19 日(19.03.2010)
- (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 2009-069804 2009 年 3 月 23 日(23.03.2009) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人鳥取大学(NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION TOTTORI UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6808550 鳥取県鳥取市湖山町南 4 丁目 1 0 1 番地 Tottori (JP). 株式会社海産物のきむらや(MARINE PRODUCTS KIMURAYA CO., LTD.) [JP/JP]; 〒6840072 鳥取県境港市渡町 3 3 0 7 番地 Tottori (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 岡本 芳晴(OKAMOTO, Yoshiharu) [JP/JP]; 〒6808550 鳥取県鳥取市湖山町南 4 丁目 1 0 1 番地 国立大学法人鳥取大学内 Tottori (JP). 南 三郎(MINAMI, Saburo) [JP/JP]; 〒6808550 鳥取県鳥取市湖山町南 4 丁目 1 0 1 番地 国立大学法人鳥取大学内 Tottori (JP). 柄 武志(TSUKA, Takeshi) [JP/JP]; 〒6808550 鳥取県鳥取市湖山町南 4 丁目 1 0 1 番地 国立大学法人鳥取大学内 Tottori (JP). 三木

康成(MIKI, Yasunari) [JP/JP]; 〒6840072 鳥取県境港市渡町 3 3 0 7 番地 株式会社海産物のきむらや内 Tottori (JP).

- (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).
- (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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, 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, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, 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 (条約第 21 条(3))

(54) Title: FUCOIDAN HAVING ANTITUMOR ACTIVITY

(54) 発明の名称: 抗腫瘍作用を有するフコイダン

(57) Abstract: Disclosed is a medium-molecular weight fucoidan which can be used in treating and/or preventing proliferative diseases, in particular, cancer. Specifically disclosed are a medium-molecular weight fucoidan, a method for producing the same, a medicinal composition containing the same, and use of the medium-molecular weight fucoidan in producing a drug for treating and/or preventing proliferative diseases, in particular, cancer. The aforesaid medium-molecular weight fucoidan has an average molecular weight of about 6,000 to about 2,000,000, preferably an average molecular weight of about 40,000 to about 330,000, more preferably an average molecular weight of about 40,000 to about 244,000, and still more preferably an average molecular weight of about 80,000 to about 200,000.

(57) 要約: 本発明は、増殖性疾患、とりわけがんの処置および／または予防に用いることができる中分子フコイダンに関する。詳細には、中分子フコイダン、その製造方法、それを含む医薬組成物、および増殖性疾患、とりわけがんの処置および／または予防用医薬の製造における中分子フコイダンの使用に関する。本発明の中分子フコイダンは、平均分子量約 6,000～約 2,000,000、好ましくは平均分子量約 40,000～約 330,000、より好ましくは平均分子量約 40,000～約 244,000、さらに好ましくは平均分子量約 80,000～約 200,000 を有する。

WO 2010/110223 A1

## 明 細 書

**発明の名称：** 抗腫瘍作用を有するフコイダン

### 技術分野

[0001] 本発明は、増殖性疾患、とりわけがんの処置および／または予防に用いることができるフコイダンに関する。さらに詳細には、本発明は、中分子量フコイダン、その製造方法、それを含む医薬組成物、ならびに増殖性疾患、とりわけがんの処置および／または予防用医薬の製造における中分子量フコイダンの使用に関する。

### 背景技術

[0002] 天然物であるフコイダンは、硫酸化フコース含有多糖類であり、天然に生育するオキナワモズク、モズク、ワカメ、メカブ（ワカメの胞子葉）、昆布などの海藻褐藻類などから抽出することができる。これは、がん細胞の死滅、免疫系の調節、組織再生の促進など、広範囲の生物活性を有することが明らかになっている。また、フコイダンは肌を引き締める作用を有しており、保湿作用を有することから、化粧品にも利用されている。このように、フコイダンは、健康食品、機能性食品、サプリメント、化粧品および医薬品などの原料あるいは成分として需要が増大している。

[0003] 特にフコイダンの抗腫瘍効果について多方面からの研究がなされており、例えば特許文献1（特開2007-051081号公報）はアセチルフコイダンまたは硫酸化アセチルフコイダンが抗腫瘍剤としてとりわけ有用であることを開示している。しかし、フコイダンには多様な分子量のものが含まれており（例えば特許文献2参照）、例えば分子量数百～数百万の範囲のものが知られている。一般には、生体に吸収され易いという理由から低分子量フコイダンが使用されているが、どのような分子量のフコイダンが抗腫瘍効果を有するのかについて、系統だった研究結果は報告されていない。

特許文献1：特開第2007-051081号公報

特許文献2：国際公開第WO2006/093175号公報

## 発明の開示

### 発明が解決しようとする課題

- [0004] 本発明は、優れた抗腫瘍効果を有するフコイダン、特に中分子量フコイダンを提供することを課題とする。

### 課題を解決するための手段

- [0005] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた。そして、分子量が異なるフコイダンを用いて系統的に抗腫瘍効果の検討を行うことにより、特定の分子量を有するフコイダンの抗腫瘍効果が特に優れていることを見出した。さらに本発明者らは、中分子量フコイダンがとりわけ優れた抗腫瘍効果を有することを見出した。さらにまた、本発明者らは、当該中分子量フコイダンが、天然物としての原料フコイダンを水熱条件下で処理することにより効率よく取得できることを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいて本発明を完成するに至った。
- [0006] すなわち本発明に係る中分子量フコイダンは、平均分子量約 6, 000 ~ 約 2, 000, 000、好ましくは平均分子量約 40, 000 ~ 約 330, 000、より好ましくは平均分子量約 40, 000 ~ 約 244, 000、さらに好ましくは平均分子量約 80, 000 ~ 約 200, 000、とりわけ好ましくは平均分子量約 130, 000 ~ 約 138, 000 のフコイダンを意味する。
- [0007] 好ましい態様において、本発明のフコイダンは、原料から粗フコイダンを抽出した後、水熱処理によってこれを中分子量化し、所望の分子量のフコイダンを精製することにより製造する。したがって本発明は、増殖性疾患の処置および／または予防に有用な、水熱処理によって製造した上記平均分子量範囲を有する中分子量フコイダンを提供する。
- [0008] また別の態様において本発明は、水熱処理による中分子量フコイダンの製造方法を提供する。
- [0009] また別の態様において本発明は、本発明の中分子量フコイダンを有効成分として含むことを特徴とする増殖性疾患の処置および／または予防に有用な

医薬組成物を提供する。

[0010] また別の態様において本発明は、本発明の中分子量フコイダンを含むことを特徴とする増殖性疾患の処置および／または予防に有用な飲食品を提供する。

[0011] また別の態様において本発明は、治療上有効量の本発明の中分子量フコイダンを、それを必要とする対象に投与することを含む、増殖性疾患の処置および／または予防方法を提供する。ここで、対象とはヒトを含む哺乳動物である。

[0012] さらに別の態様において本発明は、増殖性疾患の処置および／または予防用医薬の製造のための本発明の中分子量フコイダンの使用、増殖性疾患の処置および／または予防方法であって、それを必要とする対象に有効量の本発明の中分子量フコイダンを投与することを含む方法、ならびに増殖性疾患の処置および／または予防のための本発明の中分子量フコイダンを提供する。

### 発明の効果

[0013] 本発明によって提供される中分子量フコイダンは、低分子量フコイダン、例えば平均分子量約6,000未満のフコイダンおよび高分子量フコイダン、例えば平均分子量約2,000,000以上のフコイダンと比較して、顕著な抗腫瘍効果を有しており、医薬として有用である。さらに、本発明の中分子量フコイダンは、腫瘍予防効果を期待した健康食品、機能性食品、サプリメント、化粧品などにおける使用に適している。

### 図面の簡単な説明

[0014] [図1] C o l o n 2 6 移植マウスの14日間各分子量のフコイダン投与後の平均腫瘍重量を示す。エラーバーは標準偏差である。Tukey-Kramer試験によって有意検定を行った ( $P < 0.05$ )。

[図2] C o l o n 2 6 移植マウスの14日間各分子量のフコイダン投与による平均腫瘍成長率を示す。エラーバーは標準偏差である。Tukey-Kramer試験によって有意検定を行った。

[図3] 各分子量のフコイダン投与 C o l o n 2 6 移植マウスの生存期間 (d a

y) を示す。

[図4]各分子量のフコイダン投与C o l o n 2 6 移植マウスの生存期間 ( d a y ) を示す。

[図5]各分子量のフコイダン投与C o l o n 2 6 移植マウスの平均生存期間 ( d a y ) を示す。エラーバーは標準偏差である。Bonferroni/Dunn試験によって有意検定を行った ( $P < 0.05$ )。

### 発明を実施するための最良の形態

[0015] したがって第1の態様において本発明は、増殖性疾患の処置および／または予防に有用な中分子量フコイタンを提供する。本発明に係る中分子量フコイタンは、平均分子量約6,000～約2,000,000、好ましくは平均分子量約40,000～約330,000、より好ましくは平均分子量約40,000～約244,000、さらに好ましくは平均分子量約80,000～約200,000、とりわけ好ましくは平均分子量約110,000～平均分子量約138,000のフコイタンを有する。このような特定の範囲の平均分子量、とりわけ好ましくは平均分子量約40,000～約330,000、より好ましくは平均分子量約40,000～約244,000、さらに好ましくは平均分子量約80,000～約200,000、とりわけ好ましくは平均分子量約130,000～約138,000を有する。中分子量フコイタンは、典型的には粗製フコイタンの中分子量化処理によって製造される。本発明における中分子量化処理は、原料材料からのフコイタンの抽出処理と同時に進めてもよいし、抽出処理後に連続して、または抽出後別のバッチ工程として進めてもよい。

[0016] より具体的な本発明の態様において、本発明のフコイタンは平均分子量約80,000、約130,000あるいは約138,000を有する。とりわけ好ましくは本発明のフコイタンは、平均分子量72,000～88,000、124,200～151,800あるいは297,000～363,000を有する。

[0017] 本発明の中分子量フコイタンを製造するために使用される原料フコイタン

は、あらゆる起源の原料フコイダンであってよい。例えば、原料フコイダンの起源として、藻類、例えばガゴメ、マコンブ、トロロコンブ、ワカメ、メカブ（ワカメの孢子葉）、クロメ、アラメ、カジメ、ジャイアントケルプ、レソソニア ニグレセンス、モズク、オキナワモズク、アスコフィラム ノドッサム、エクロニア マキシマ（*Ecklonia maxima*）、ダービリア（*Durvillaea*）等のコンブ目、ながまつも目、ひばまた目等の褐藻類に属する海藻等、および棘皮動物、例えばナマコ、ウニ、ヒトデ等が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、本発明で使用する好ましい原料フコイダンは、オキナワモズク起源のフコイダンである。

[0018] 本発明において、原料フコイダンは精製品であってもよく、粗精製品または部分精製品であってもよく、蛋白類、脂質類、他の糖類などの夾雑物質を含むものであってもよい。例えば、もずくなどの海藻類をそのまま、あるいはそれらの粗抽出物を原料フコイダンとして使用してもよい。本発明において、原料フコイダンは水溶液の形態であってもよい。また、当該原料フコイダン水溶液は、塩類などの他の物質が含まれているものであってもよい。

[0019] 本発明の中分子量フコイダンは、当該技術分野において既知のあらゆる方法で製造することができる。一般的には、酸性水溶液で藻類等の原料材料を抽出することによって原料フコイダンを製造することができる。さらに、特定の平均分子量を有するフコイダンを製造するためには、水溶液のpH、抽出時間、温度等の抽出条件を適宜定めることができる。例えば、水溶液pHが低いほど、抽出温度が高いほど、そして抽出時間が長いほど、フコイダンの低分子化が促進され、得られるフコイダンの分子量が小さくなり、あるいは水溶液pHが中性（＝7.0）に近いほど、抽出温度が低いほど、そして抽出時間が短いほど、フコイダンの低分子化が進まず、得られるフコイダンの分子量が大きくなる。当業者は、所望の分子量のフコイダンを得るための条件を通常の実験によって、容易に決定することができる。

[0020] 好ましくは、本発明の中分子量フコイダンは、原材料を低温、中性付近のpHで抽出して比較的高分子量の粗原料フコイダンを得た後、中分子量化処

理を行って製造することもできる。中分子量化処理は糖の低分子化に使用することができるあらゆる方法によって行うことができ、例えば酸処理、加水分解、熱分解（例えば80℃～100℃）、酵素分解およびとりわけ水熱処理が含まれるが、これらに限定されない。

[0021] さらに好ましくは、本発明の中分子量フコイダンの製造に、原料フコイダンの水熱処理が利用される。水熱処理は、一般的には亜臨界水（100℃ないし374℃の温度で、0.1MPaないし22MPaの圧力）を用いて行うことが可能であり、例えば好ましくは、特開第2008-266299号公報に記載の方法によって行うことができる（当該文献を出典明示により本明細書の一部とする）。水熱処理は、一般に、pH無調整またはpH約6～12に調節下、原料フコイダン水溶液を約100℃～約180℃で約5分～約20分、約100℃～約160℃で約5分～約20分、約100℃～約140℃で約5分～約60分、密封反応容器中に保持することによって行うことができる。目的とする中分子量フコイダンの分子量によって、上記処理条件は当業者によって容易に調節し、選択され得る。本発明の技術的範囲が理論に縛られることはないが、水熱処理によって硫酸基を維持したまま中分子量フコイダンの分子量を調節することが可能であり、硫酸基が、例えば原料フコイダンの90%以上、好ましくは95%以上、より好ましくは例えば98%以上維持された中分子量フコイダンが優れた抗腫瘍効果を有する。

[0022] また、本発明の中性化フコイダンを精製するため、任意の段階で精製処理を行うことができる。すなわち、原料フコイダンの中分子量化処理の前および／または後に精製処理を行い、特定の平均分子量を有する中分子量フコイダンのみを取得することも可能であり、同時に蛋白類、脂質類、他の糖類などの夾雑物質を除去することができる。精製は、当該技術分野において既知のあらゆる方法によって行うことができ、例えばゲル濾過クロマトグラフィーおよび限外濾過が好ましい。

[0023] 本明細書において用いる用語「平均分子量」は、重量平均分子量（Mw）を意味し、これは、当該技術分野において既知のあらゆる方法で測定すること

ができる。かかる方法には、例えば測定方法には蒸気圧浸透法、（動的および静的）光散乱法、サイズ排除クロマトグラフィー法、電気泳動法等が含まれるが、とりわけサイズ排除クロマトグラフィー法が好ましい。例えば本発明のフコイダンの平均分子量は、示差屈折計を用いたサイズ排除クロマトグラフィー法で測定することができる。具体的な測定条件、例えば装置、カラム、移動相、温度等は、種々の条件、例えば測定対象の分子量、試料濃度等に依存して、当業者が容易に適宜選択することができる。

[0024] 本明細書において用いる用語「約」は、当該用語が付されている数値の±10%の範囲の数値を意味する。例えば約10,000とは、9,000～11,000の範囲を意味する。また、本明細書において数値が範囲によって記載されているとき、当該数値の上限、下限、およびその間の全ての値、ならびにその間の全ての値の範囲を意味していると理解されるべきである。例えば、1～10は、1、10、3、2～5等についても言及しているものと理解することができる。

[0025] 本発明において用いる用語「処置」は、処置する状態、障害または疾患に関連するか、またはそれによって引き起こされる少なくとも1個の症状の消失または軽減が含まれる。ある態様において、処置は増殖性疾患、とりわけがん、例えば膀胱がん、頭部および頸部がん、乳がん、胃がん、卵巣がん、食道がん、結腸がん、直腸がん、脳がん、喉頭がん、リンパ系のがん、生殖尿路がん、扁平上皮がん、皮膚がん、消化器がん、前立腺がん、骨がん、（小細胞性および非小細胞性）肺がん、神経膠腫、および膵臓がんから選択されるがんの消失、縮小、転移の予防、進行の停止もしくは遅延、またはがんによって引き起こされる1個以上の症状の消失または軽減であり得る。

[0026] 本発明の中分子量フコイタンを用い得る対象は、細胞の過増殖に関連した疾患、障害または状態を有し得るまたは罹患し得る哺乳動物を意図する。対象の例には、例えばヒト、チンパンジー、イヌ、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、サル、ネコ、マウス、ウサギ、ラットおよびトランスジェニック非ヒト動物が含まれる。ある態様において、対象はヒトおよび哺乳類である家



畜動物、例えばがんを有する、有する危険がある、または潜在的に有し得るヒトおよび哺乳類である家畜動物である。

[0027] 本発明の中分子量フコイダンによる抗腫瘍活性を、当該技術分野で利用可能な多くのアッセイを用いて測定することができる。かかるアッセイの例は、下記実施例に記載されている。

[0028] 本発明で用いる用語「医薬組成物」は、哺乳類、例えばヒトに投与するのに適した製剤を含む。本発明の化合物を医薬として哺乳類、例えばヒトに投与するとき、それらはそれ自体として、または例えば、0.1から99.5%（より好ましくは、0.5から90%）の有効成分を、薬学的に許容される担体と組合せて含む医薬組成物として投与することができる。

[0029] 一般に、本発明の化合物は、有効量、特に治療上有効量で、当該技術分野において既知の何れかの通常の許容される形態で、単剤または1種以上の治療剤との組合せにおいて投与される。治療上有効量は、疾患の重症度、対象の年齢および相対的な健康、使用する化合物の能力および他の要因に依存して広範に変化し得る。一般に、全身的な1日用量は粉末重量で約1.5mg/kg体重～約15,000mg/kg体重で満足のいく結果が得られる。大型哺乳類、例えばヒトにおける指示1日用量は粉末重量で約100mg～約10,000mgの範囲であり、簡便には、例えば1日4回までの分割用量または徐放形態で投与する。経口投与に好適な単位投与形態は、約25mg～約2,500mgの有効成分を含む。

[0030] 本発明で用いる用語「薬学的に許容される担体」は当業者に理解され、そして哺乳類に本発明の化合物を投与するのに適した薬学的に許容される物質、組成物またはビークルを含む。担体には、対象薬剤をある臓器または体の一部から他の臓器または体の一部に輸送または移動させる液体または固体増量剤、希釈剤、賦形剤、溶媒またはカプセル材が含まれる。各担体は製剤の他の成分と適合性であり、そして患者に傷害性ではないという意味において、「許容され」なければならない。薬学的に許容される担体として使用可能な物質には例えば、これらに限定されないが、糖、例えばラクトース、グル

コースおよびショ糖；デンプン、例えばコーンスターチおよびポテトスターチ；セルロースおよびその誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロース；粉末トラガカント；麦芽；ゼラチン；タルク；賦形剤、例えばココアバターおよび座薬ワックス；油、例えばピーナッツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油および大豆油；グリコール、例えばプロピレングリコール；ポリオール、例えばグリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコール；エステル、例えばオレイン酸エチルおよびラウリン酸エチル；寒天；水；エチルアルコールが含まれる。

[0031] 本発明の医薬組成物は、本発明の中分子量フコイダンおよび薬学的に許容される担体に加えて、添加剤、例えば湿潤剤、乳化剤、滑沢剤、着色剤、放出剤、コーティング剤、甘味剤、風味芳香剤、保存剤および抗酸化剤も含んでいてよい。かかる添加剤それ自体、およびそれらの使用については、当業者に周知である。

[0032] 本発明の組成物は、経口、経鼻、局所、頬側、舌下、直腸、経膈および／または非経腸投与に適したものを含む。組成物は簡便には、単位投与形態で存在してよく、そして医薬の分野で周知のあらゆる方法で製造することができる。担体物質と組み合わせて単位投与形態とすることができる有効成分の量は、一般的に、治療効果を生み出す化合物の量である。一般的にこの量は、組成物の総重量に対して約１％から約９０％の有効成分、好ましくは約５％から約７０％、最も好ましくは約１０％から約３０％の範囲である。

[0033] これらの組成物の製造方法は、本発明の中分子量フコイダンを担体、および所望により１種以上の添加剤と混合する工程を含む。一般に、本発明の組成物は、中分子量フコイダンと液体担体、または微粉化固体担体、またはその両者と均一かつ密接に混合し、所望により調製混合物を成形することによって製造される。

[0034] 経口投与に適した本発明の組成物は、各々所定の量の本発明の中分子量フコイダンを有効成分として含む、カプセル剤、カセット、ピル、錠剤、トロ

ーチ（風味基剤、通常ショ糖およびアカシアもしくはトラガカントを用いる）、粉末、顆粒、または水性もしくは非水性液体溶液もしくは懸濁液として、または水中油型もしくは油中水型エマルジョンとして、またはエリキシル剤もしくはシロップとして、またはトローチ（不活性基剤、例えばゼラチンおよびグリセリン、およびアカシアもしくはトラガカントを用いる）として製造することができる。

[0035] 非経腸投与に適した本発明の組成物は、各々所定の量の本発明の中分子量フコイタンを有効成分として含む、注射または輸液、例えば静脈内、筋肉内または皮下注射もしくは輸液用に、またはボーラス投与および／または持続注入での投与のために、製剤することができる。本発明の非経腸投与用医薬組成物には、所望により他の製剤化剤、例えば懸濁剤、安定化剤および／または分散剤を含む、油性または水性ビークル中懸濁液、溶液またはエマルジョンを用いることができる。あるいは、本発明の組成物は使用の直前に滅菌水のような注射用水に溶解または懸濁するための滅菌凍結乾燥粉末製剤であってもよい。

[0036] 本発明の他の局面において、本発明の医薬組成物は、有効成分として、本発明のフコイタンに加えて、抗炎症剤、抗細胞増殖剤、化学療法剤、免疫抑制剤、抗がん剤または細胞毒性剤を含んでいてもよい。

[0037] 本発明は、さらなる態様において、本発明の中分子量フコイタンを含有する、腫瘍の治療および／または予防に有用な飲食物を提供する。本発明のかかる飲食物の形態にはあらゆるものが包含され、特に限定されない。また、本発明の飲食物に含まれる本発明の中分子量フコイタンの量も、抗腫瘍効果や飲食物の風味等を考慮して、適宜選択することができる。

[0038] 以下に実施例を示して本発明をさらに詳細かつ具体的に説明するが、実施例は本発明を限定するものではない。

## 実施例 1

[0039] 中分子量フコイタンの製造

オキナワモズク（沖縄県伊平屋村漁業協同組合から購入）を熱水により、

60～90℃、酸性条件下で抽出して粗フコイタンを得た。粗フコイタンの重量平均分子量を、Shodex社製 Asahipak カラムを3本（GS520, GS320, GS220）連結し、示差屈折計を用いたサイズ排除クロマトグラフィー法を用いて測定したところ、約330,000であった。

[0040] 粗フコイタンの5%水溶液を下記表1に記載の条件で水熱処理に付し、対応する重量平均分子量のフコイタン水溶液を調製し、得られた中分子量化フコイタンをそれぞれスプレードライにより粉末化した。

[表1]

表 1

水熱処理条件	フコイタンの平均分子量
140℃、60分	6, 500
140℃、15分	32, 000
140℃、15分	40, 000
140℃、8分	80, 000
140℃、7分	130, 000
140℃、7分	138, 000
120℃、10分	244, 000

## 実施例 2

[0041] 中分子量フコイタンの抗腫瘍効果—腫瘍成長率

BALB/cマウス（4～5週齢、日本クレアから購入）28匹を7群：平均分子量2,000,00フコイタン投与群；平均分子量330,000フコイタン投与群；平均分子量244,000フコイタン投与群；平均分子量138,000フコイタン投与群；平均分子量32,000フコイタン投与群；平均分子量6,500フコイタン投与群；フコイタン無投与対照群に分類し、それぞれ5wt%、各平均分子量のフコイタンを混合した粉末飼料（日本クレアから購入）で28日間維持した。対照群はフコイタンを含まない粉末飼料で維持した。28日後、各1mm角のColon26（財団法人願研究会有明病院から分与）を秤量して0日目腫瘍重量を記録した後、各マウスの背部の皮下に1mm角のColon26を腫瘍組織として移植し、さらに14日間それぞれ5wt%フコイタンを混合したかまたはフコイタンを

含まない粉末飼料で維持した。移植後 14 日目にマウスを屠殺し、腫瘍を採取し、秤量して 14 日目摘出腫瘍重量を記録した。腫瘍の成長率 ( $g/日$ ) を、 $(14 \text{ 日目摘出腫瘍重量} - 0 \text{ 日目腫瘍重量}) / 14$  として求めた。結果を図 1 および 2 に示す。図 2 より、中分子量フコイダン、とりわけ平均分子量 32,000、138,000 および 244,000 のフコイダンを投与した群は対照と比較して腫瘍の成長率が有意に低いことが示される。

### 実施例 3

#### [0042] 中分子量フコイダンの抗腫瘍効果－生存期間

BALB/c マウス (4-5 週齢、日本クレアから購入) 24 匹を 6 群：平均分子量 330,000 フコイダン投与群；平均分子量 130,000 フコイダン投与群；平均分子量 80,000 フコイダン投与群；平均分子量 40,000 フコイダン投与群；フコイダン無投与対照群に分類し、それぞれ 5 wt % 各平均分子量のフコイダンを混合した粉末飼料 (日本クレアから購入) で 28 日間維持した。対照群はフコイダンを含まない粉末飼料で維持した。28 日後、各マウスの背部の皮下に 1 mm 角の Colon 26 (財団法人願研究会有明病院から分与) を腫瘍組織として移植した。移植した日を第 0 日として、マウスをそれぞれ 5 wt % フコイダンを混合したかまたはフコイダンを含まない粉末飼料で維持し、マウスが死亡した日までの期間を生存期間とした。結果を図 3 および 4 に示す。図 3～5 より中分子量のフコイダンを投与した群は対照と比較して腫瘍組織移植後の生存期間が有意に改善されていることが示される。

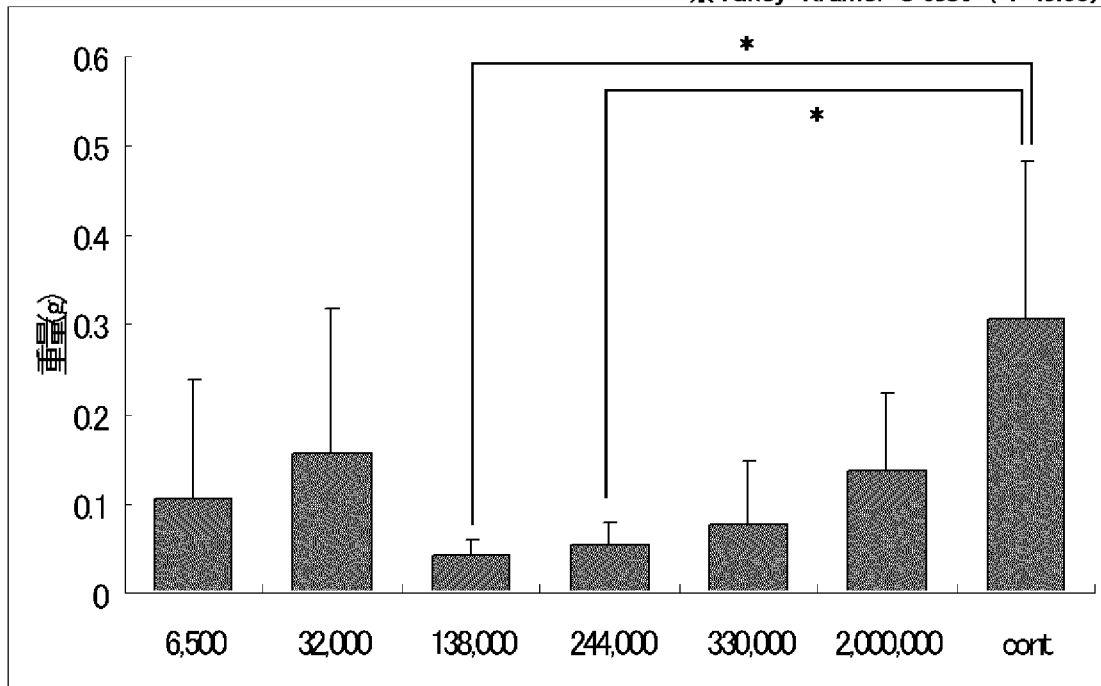
### 請求の範囲

- [請求項1] 平均分子量40,000～330,000の中分子量フコイダン。
- [請求項2] 平均分子量が40,000～244,000である、請求項1の中分子量フコイダン。
- [請求項3] 平均分子量が80,000～200,000である、請求項1の中分子量フコイダン。
- [請求項4] 平均分子量が130,000～138,000である、請求項1の中分子量フコイダン。
- [請求項5] 平均分子量が72,000～88,000である、請求項1の中分子量フコイダン。
- [請求項6] 平均分子量が124,200～151,800である、請求項1の中分子量フコイダン。
- [請求項7] 平均分子量が297,000～363,000である、請求項1の中分子量フコイダン。
- [請求項8] 水熱処理によって製造した、請求項1～7の何れかに記載の中分子量フコイダン。
- [請求項9] 増殖性疾患の処置および／または予防に有用である、請求項1～8の何れかに記載の中分子量フコイダン。
- [請求項10] 請求項1～9の何れかに記載の中分子量フコイダンと薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。
- [請求項11] 増殖性疾患の処置および／または予防に使用する、請求項10の医薬組成物。
- [請求項12] 増殖性疾患ががんである、請求項11の医薬組成物。
- [請求項13] 増殖性疾患の処置および／または予防用医薬の製造のための、請求項1～9の何れかに記載のフコイダンの使用。
- [請求項14] 増殖性疾患の処置および／または予防方法であって、それを必要とする対象に有効量の請求項1～9の何れかに記載の中分子量フコイダンを投与することを含む方法。

[請求項15]           請求項 1 ～ 9 の何れかに記載の中分子量フコイタンを含有する、腫瘍の処置および／または予防に有用な飲食物。

[図1]

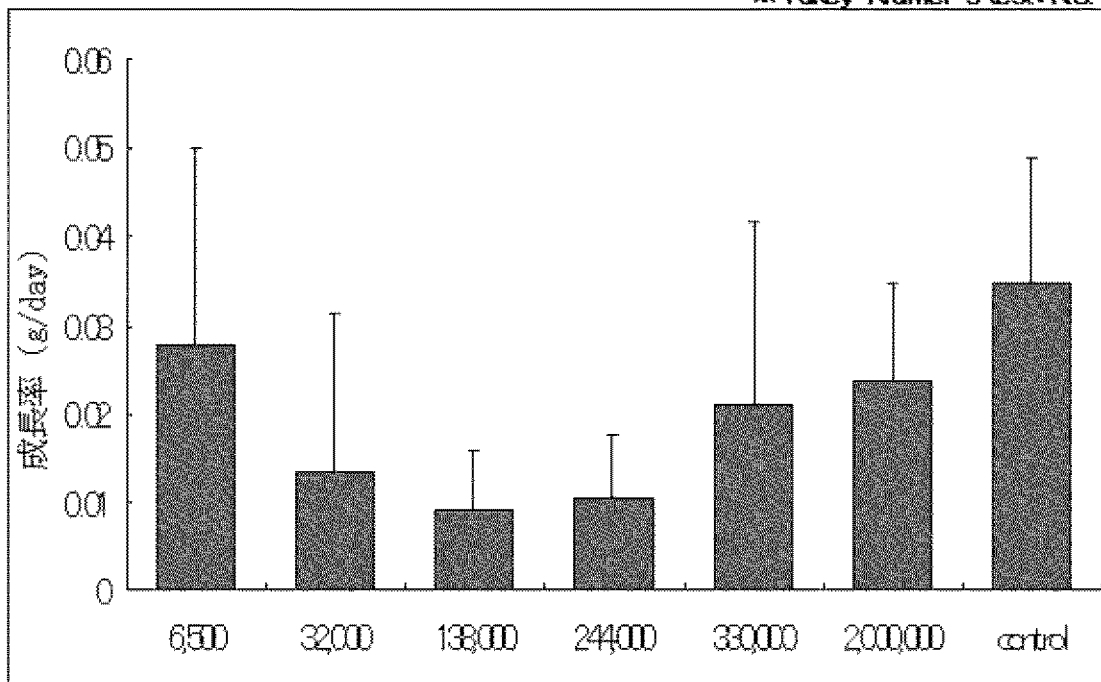
## 摘出腫瘍平均重量

※Tukey-Kramer's test (\* $P<0.05$ )

[図2]

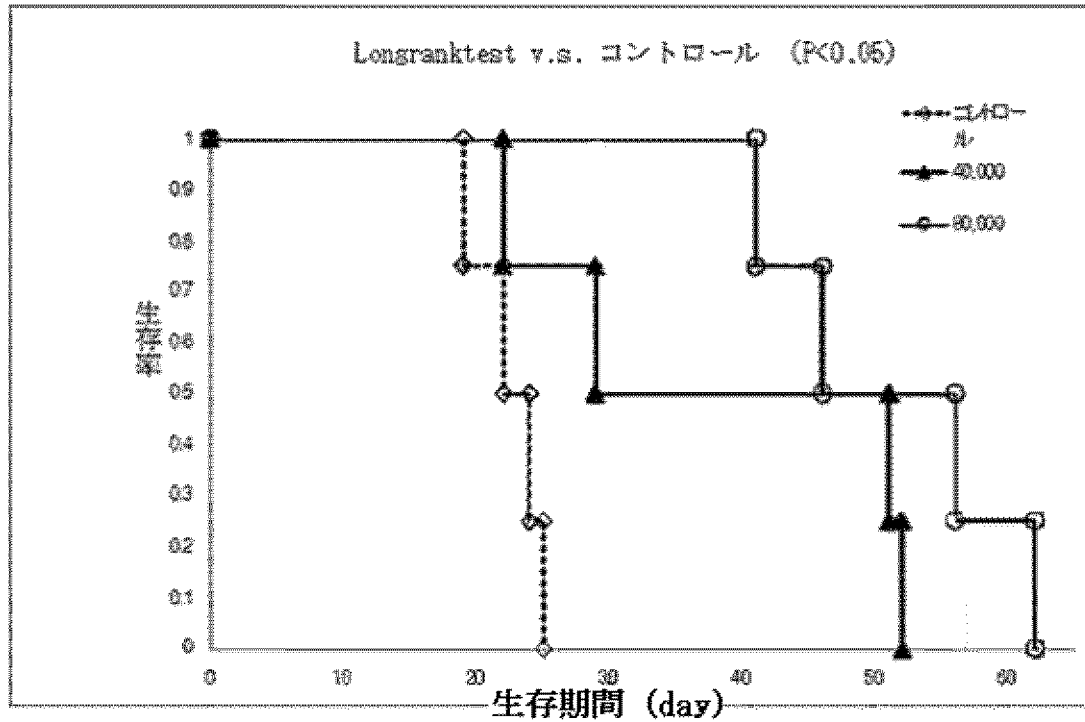
## 平均腫瘍成長率

※Tukey-Kramer's test: NS.

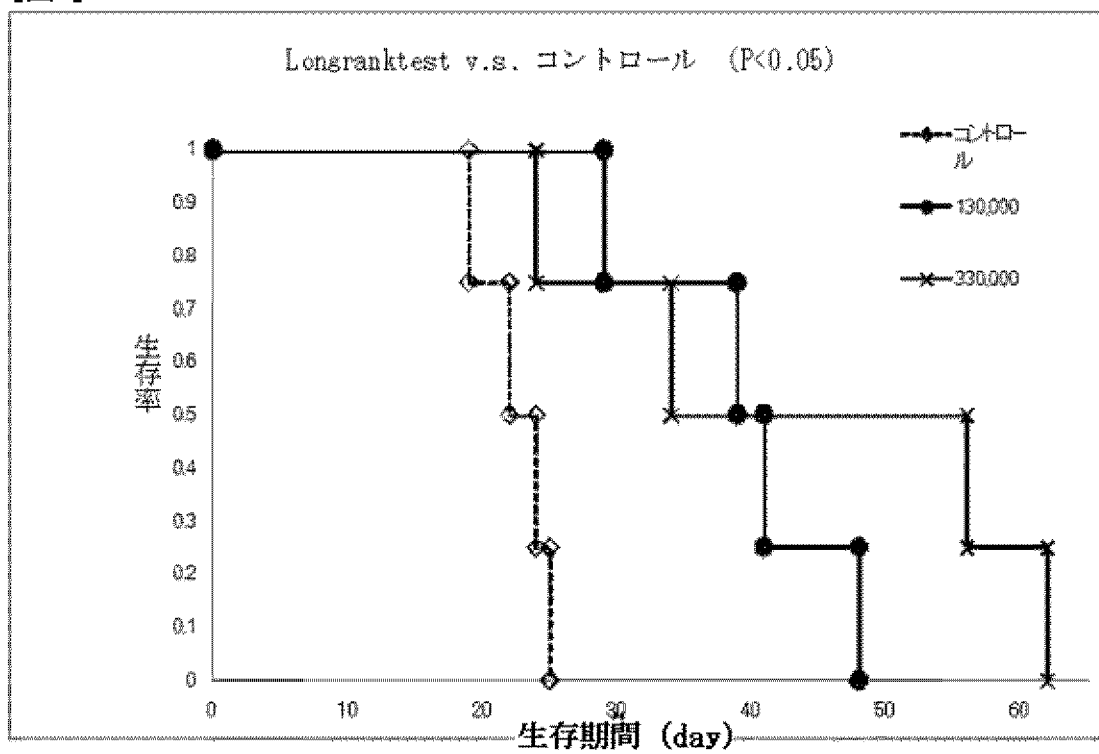




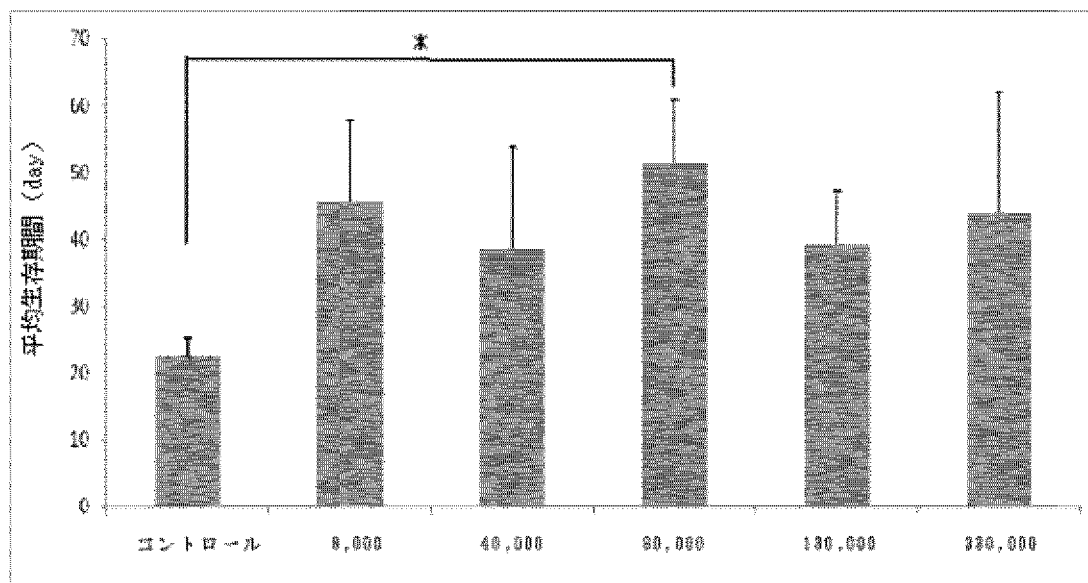
[図3]



[図4]



[図5]



※ Bonferroni/Dunn-test (\* P<0.05)

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/054870

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08B37/00(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K31/737(2006.01)i, A61P35/00(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)

C08B37/00, A23L1/30, A61K31/737, A61P35/00

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	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

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

CAPLUS/REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2008-266299 A (Tottori University), 06 November 2008 (06.11.2008), entire text; particularly, abstract; pages 2 to 3, paragraph [0002]; page 6, paragraph [0020]; pages 6 to 7, example 1, paragraph [0022] to paragraph [0023], table 1; pages 8 to 10, example 3, paragraph [0028] to paragraph [0032], table 4; pages 10 to 11, example 4, paragraph [0034], table 5; pages 11 to 12, example 5, paragraph [0036], table 6; cited in the paragraph [0021] in the specification of the present application (Family: none)	1-13, 15

☒ 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  
09 June, 2010 (09.06.10)

Date of mailing of the international search report  
22 June, 2010 (22.06.10)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/054870

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2000-239301 A (Kabushiki Kaisha Okinawa Hakko Kagaku), 05 September 2000 (05.09.2000), abstract; claims 1, 7; page 1, paragraph [0002]; page 1, paragraph [0007]; pages 5 to 6, paragraph [0042] to paragraph [0048], example 1 (Family: none)	1-13 15
A	JP 2007-051081 A (University of the Ryukyus), 01 March 2007 (01.03.2007), abstract; cited in the specification of the present application as "patent document 1" (Family: none)	1-13,15
A	WO 2006/093175 A1 (Ube Industries, Ltd.), 08 September 2006 (08.09.2006), abstract; cited in the specification of the present application as "patent document 2" & EP 1854813 A1 & US 2009/105190 A1 & CN 101098894 A	1-13,15

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/054870

## 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.: 14  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claim 14 pertains to a method for treatment of the human body or animal body by therapy and thus relates to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out a search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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 additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the 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. C08B37/00(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)i, A61K31/737(2006.01)i, A61P35/00(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. C08B37/00, A23L1/30, A61K31/737, A61P35/00

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 0 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 0 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 0 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）

CAPlus/REGISTRY (STN)

## 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 請求項の番号
X	JP 2008-266299 A（国立大学法人鳥取大学）2008. 11. 06, 文献全体, 特に, 要約, 2～3 頁【0002】, 6 頁【0020】, 6～7 頁【実 施例 1】【0022】～【0023】【表 1】, 8～10 頁【実施例 3】【0028】～ 【0032】【表 4】, 10～11 頁【実施例 4】【0034】【表 5】, 11～12 頁 【実施例 5】【0036】【表 6】, 本願明細書の [0021] で引用, (ファミリーなし)	1-13, 15

☒ 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

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 9 . 0 6 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

2 2 . 0 6 . 2 0 1 0

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 1 0 0 - 8 9 1 5

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）

井上 典之

4 P

9 3 6 0

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 9 2

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 請求項の番号
X Y	JP 2000-239301 A (株式会社沖縄発酵化学) 2000.09.05, 要約, 請求項 1, 請求項 7, 1 頁【0002】, 1 頁【0007】, 5～6 頁【0042】 ～【0048】「実施例 1」, (ファミリーなし)	1-13 15
A	JP 2007-051081 A (国立大学法人琉球大学) 2007.03.01, 要約, 本願明細書中で「特許文献 1」として引用, (ファミリーなし)	1-13, 15
A	WO 2006/093175 A1 (宇部興産株式会社) 2006.09.08, 要約, 本願明細書中で「特許文献 2」として引用, & EP 1854813 A1 & US 2009/105190 A1 & CN 101098894 A	1-13, 15

## 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. ☒ 請求項 1 4 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、  
請求項 1 4 は、治療による人体又は動物の体の処置方法に関するものであり、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 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. ☐ 請求項 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項について作成した。
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項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項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項について作成した。

## 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はあったが、異議申立てはなかった。