

原著報文

オリーブ葉エキス含有食品の抗酸化性、血糖値低減 および AGEs 生成抑制効果

佐々木 裕*、奥田 茜**、セラノー・グスターボ***、
山下 武司***、増田 修一**、木苗 直秀**

近年、食品には栄養素としての一次機能、嗜好品としての二次機能とともに、生体調節機能作用としての三次機能が注目されている。食品には多くの有効成分が含まれており、糖尿病をはじめとする生活習慣病に対し、予防的な作用を示すものがある。それらの食品を日常的に摂取している地域では、他の地域に比べて生活習慣病の罹患率が低いことが報告されている。最近、糖尿病発症に対して抑制的な効果を示す食品素材としてオリーブ葉とニガウリが注目されている。しかし、それらの有効成分や糖尿病抑制メカニズムについては十分に明らかにされていない。本試験ではこれらの食品素材に α -リボ酸を加え、さらに強い抗糖尿病効果を示す食品（オリーブ葉エキス含有食品）を作製し、商品化することを目的とした。

オリーブ葉エキス含有食品の抗酸化活性およびラジカル捕捉活性をそれぞれ AAPH ((2,2'-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride)) 法と DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 法で検定したところ、いずれも濃度依存的に強い活性を示した。また、オリーブ葉エキス含有食品は *in vitro* メイラード反応系において、Advanced glycation endproducts (AGEs) の一種である Carboxymethyl lysine (CML) の生成に対し、強い抑制効果を示した。次いで 2 型糖尿病モデルラット (GK ラット) にオリーブ葉エキス含有食品を 20 mg/kg BW/day で 10 週間、経口投与したところ、血糖値とともに血漿中の CML 値が減少した。さらに、糖負荷試験を行ったところ、オリーブ葉エキス含有食品は強い耐糖能を示した。以上の結果より、オリーブ葉エキス含有食品は糖尿病の誘発および進行に対して阻害効果を示し、さらに糖尿病の治療に対して有効であることが明らかになった。

キーワード：AGEs (advanced glycation end-products)、抗酸化活性、ラジカル捕捉活性、オリーブ葉、ニガウリ、 α -リボ酸

Anti-diabetic activity, decreasing effect on blood sugar level and inhibitory effect
on AGEs formation of a dietary supplement contained olive leaf extract

Yutaka Sasaki*, Akane Okuda**, Serrano Gustavo***,
Takeshi Yamashita***, Shuichi Masuda**, and Naohide Kinae**

We investigated anti-diabetic activity of a special food, which contained olive (*Olea europaea*) leaf extract, bitter melon

*株式会社アムスライフサイエンス 〒422-8027 静岡県静岡市駿河区豊田3-6-36

**静岡県立大学食品栄養科学部食品衛生学研究室 〒422-8526 静岡県静岡市駿河区谷田52-1

***株式会社日本予防医学研究所 〒422-8027 静岡県静岡市駿河区豊田3-6-36

(*Momordica charantia*) extract and α -lipoic acid using *in vitro* and *in vivo* assays. This food showed dose-dependently radical scavenging and antioxidative activities using AAPH and DPPH methods, and also exhibited the inhibitory effect on AGEs formation in Maillard reaction systems *in vitro*. The food significantly suppressed AGEs formation than other two components *in vitro*.

Diabetic rats (Goto-Kakizaki (GK) -rats) were orally administered the food at the amount of 20 mg/kg body weight everyday. By treatment with the food for 8 weeks, glucose tolerance of rat was significantly improved compared with non-treated group. Blood glucose levels and CML concentration in plasma were significantly reduced by treatment with the food for 10 weeks. These results showed that the food may show inhibitory effects on the induction and process of diabetes and is useful for the treatment of diabetes.

Key words : AGEs (advanced glycation end-products), antioxidative activity, radical scavenging activity, olive leaf, bitter melon, α -lipoic acid

Journal of Nutritional Food, 10 (1), 13-20, 2007

1. はじめに

現在、我が国における糖尿病患者数は増加傾向にあり、平成14年の調査によると予備軍を含めて1620万人に達しており、大きな社会問題となっている¹⁾。糖尿病が発症した場合、さまざまな生体機能に悪影響を及ぼすことが知られている。糖尿病の発症は自覚することが難しいため、放置した状態では網膜症・腎症・神経障害などの合併症が引き起こされ、さらに末期になると失明または透析治療が必要となる。また脳卒中、虚血性心疾患などの心血管疾患との関連も指摘されている²⁾。これら糖尿病合併症は患者のQOL (quality of life) を著しく低下させるだけでなく、高額な医療費等、社会にとって大きな経済的な負担となっていると考えられる。しかし現在、糖尿病に対する根本的な治療方法はなく、糖尿病発症前からの継続的な対処が重要である。

糖尿病が発症して、高血糖値状態が持続した場合、生体内のアミノ酸またはタンパク質の糖化反応 (glycation) が進行する。この還元糖とアミノ酸あるいはタンパク質との反応はアミノカルボニル反応 (メイラード反応) と呼ばれ、主に食品の褐変現象、香気・風味の劣化と深く関与している。メイラード反応は糖尿病患者の生体内においても進行し、代謝回転が遅い組織中でメイラード反応後期生成物 Advanced glycation endproducts (AGEs) が生成し、蓄積する。生体内における AGEs 量は糖尿病患者が健常者よりも

有意に高値を示すことが報告されており、それ故、糖尿病の進行状況を判断する指標としても使用されている。また、AGEs は糖尿病に伴う様々な合併症の直接的あるいは間接的な原因とも考えられている³⁾⁻⁵⁾。

このように、糖尿病は生体内において多くの健康障害を併発することから、糖尿病を予防することは、ヒトが健康的な生活を送る上で極めて有用なものと考えられる。現在、糖尿病の治療に際して、血糖値を制御するために食事療法、運動療法、薬物療法がとられている。最近、我々が摂取している食品の中にも血糖値を制御する作用を示す成分が含まれていることが明らかになり、さらに AGEs の生成を抑制する食品も報告されている。したがって、我々が日常的に摂取している食品の中から抗糖尿病効果を示す成分を探索することは、究めて有効な糖尿病予防手段の開発となると考えられる。

オリーブ葉は2000年以上も前から、地中海地方の国々で広く栽培されており⁶⁾、それらの地域の住民であるベドウィン族はオリーブ葉を噛み、また葉から調製した茶を飲み、さらに煎じ汁を重病患者に用いてきた。現在までにオリーブ葉エキスは心臓病やがんに対して予防効果を示すこと、その有効成分としてポリフェノール類であるオレウロペインおよびその分解物であるヒドロキシチオソール等が同定されており (図1)、これらは抗菌・抗ウイルス作用、尿酸低下作用、抗炎症作用を示すことが明らかになっ

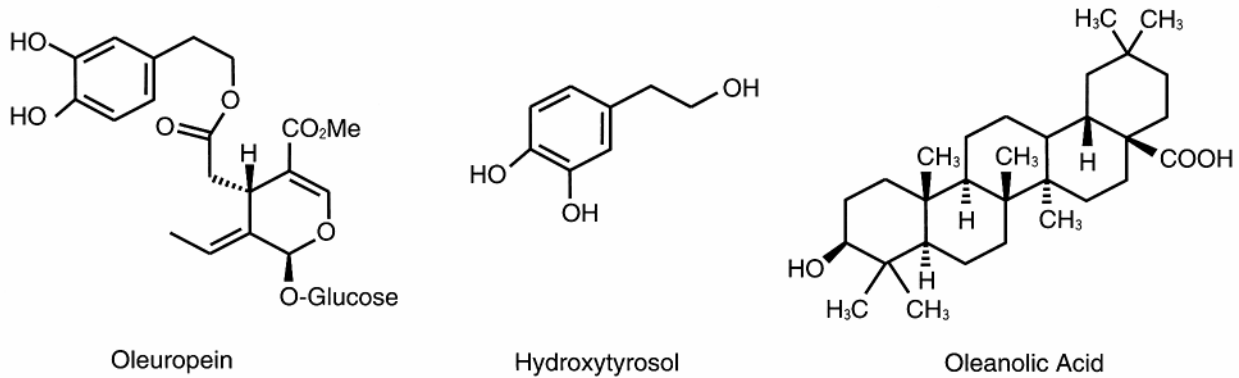


図1 オリーブ葉に存在する代表的な物質

ている⁷⁾。また、ニガウリは熱帯アジア原産であり、インドでは糖尿病、伝染性皮膚病等に対して抑制効果を示す食品として摂取されている⁸⁾。日本では特に九州・沖縄地方で伝統的に食されており、沖縄県では糖尿病、高血圧患者や生活習慣病での死亡率が少なく、ニガウリの摂取による影響も考えられている⁹⁾。 α -リポ酸はチオクト酸と呼ばれ、従来医薬品として使用されてきたが、最近、食品としての使用も可能となった素材である¹⁰⁾。この α -リポ酸はドイツでは糖尿病に伴う末梢神経の傷害に対する治療薬として用いられている¹¹⁾。以上のことより、オリーブ葉エキス、ニガウリ、 α -リポ酸の3種の食品素材を混合した場合、より強い抗糖尿病効果を発現することが期待された。

そこで本試験では、オリーブ葉抽出物を主成分とし、さらにニガウリエキスおよび α -リポ酸を含有した食品「糖下」に注目して、その抗糖尿病効果を *in vitro* および *in vivo* で検討し、新たな機能性食品としての開発を目指すことにした。

2. 方法

1) 試料

オリーブ葉エキス含有食品として用いた試料は、株式会社エーエフシー（静岡市）より販売されている「糖下」（以下、試料と称する）であり、その主要成分は試料1粒当たり、オリーブ葉エキス粉末 100 mg、 α -リポ酸 33.34 mg、ニガウリエキス末 70 mg を含んでいる。オリーブ葉エキス粉末にはオレウロ

ペインが約 35 % 含有されている。また試料中には、ビタミン C、ビタミン B 群、クロム含有酵母、亜鉛含有酵母が含まれている。

2) 測定方法

(1) DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 法を用いた試料のラジカル捕捉活性の検討

試料水溶液 0.1 ml に 0.1 M 酢酸緩衝液 2.4 ml を加えて 2.5 ml とし、次いで 0.016 % DPPH/エタノール溶液 1.5 ml を加え攪拌した。10 分間静置後、キシレン 5 ml を加え、遠心分離 (3000 rpm, 10 min) し、キシレン層を分取して UV 分光光度計 (日立 U-3210) を用いて 510 nm における吸光度を測定した。

(2) AAPH (2,2'-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride) 法による試料の抗酸化性の検討

25 mM リノール酸メチル溶液 0.9 ml に試料水溶液 80 μ l と超純水 40 μ l を加えた。または陽性対照としてはアスコルビン酸を用いた。次いで 0.25 M AAPH 溶液 20 μ l を加えて攪拌し、37 $^{\circ}$ C で 16 時間インキュベートした。反応液 200 μ l を採取し、4 % BHT エタノール溶液 50 μ l を加えて反応を停止させ、1 M 酢酸緩衝液 1.5 ml、0.67 % TBA 水溶液 1.5 ml を加えて混合した。沸騰水浴上で 1 時間加温後、冷却し、n-ブタノール：メタノール (9 : 1) 混液 5 ml で抽出した。遠心分離 (3000 rpm, 10 分間) 後、UV 分光光度計 (日立 U-3210) を用いて上清 2 ml の 532 nm における吸光度を測定した。

(3) 試料の *in vitro* メイラード反応系における AGEs 生成に対する抑制効果の検討

50 mM D-リボース溶液 600 μ l、試料水溶液 100 μ l および 10 mg/ml ヒト血清アルブミン(HSA)溶液 100 μ l を混合した後、37 $^{\circ}$ C で 24 時間インキュベートした。反応液を透析膜 (Dialysis Membrane, Size 8, Wako) を用いてリン酸緩衝液 (PBS) 中、4 $^{\circ}$ C で 2 日間透析した。試料を 10 μ g/ml protein となるように coating buffer (0.05 M 炭酸緩衝液、pH 9.7) で希釈し、96 穴イムノプレートに各 100 μ l 入れ、室温で 1 時間静置した。washing buffer (0.05 % Tween 20 含有 PBS、pH 7.4) で 3 回洗浄した後、blocking buffer (0.5%ゼラチン含有 coating buffer、pH 9.7) 200 μ l を入れて室温で 1 時間静置した。次いで washing buffer で 3 回洗浄した後、一次抗体 (マウスモノクローナル抗 AGE 抗体 6 D 12 (熊本大学、永井先生より供与)) 100 μ l を加え、室温で 1 時間静置後、washing buffer で 3 回洗浄し、二次抗体 (Horse radish peroxidase-抗マウス IgG ヤギ抗体：生化学工業) 100 μ l を入れ、室温で 1 時間静置した。washing buffer で 4 回洗浄後、1,2-フェニレンジアミンを加え、3.5 分後に stop solution (1N 硫酸) 100 μ l を入れて、反応を停止した。生成した CML 量を吸光度 (492 nm) を指標に、ELISA リーダーで測定した。

(4) 2 型糖尿病モデルラット (GK ラット) における試料の耐糖能

GK ラット (10 週齢、雄、日本 SLC、1 群 5 匹) に体重 1 kg あたり 20 mg となるように試料を毎日 8 週間、ゾンデを用いて強制的に経口投与した。耐糖試験時前に 20 時間絶食させた後、グルコース水溶液を 2 g/kg 体重となるよう経口投与した。投与 30 分、90 分、180 分後に尾静脈より採血し、フリースタイルキッセイ (キッセイ) を用いて血糖値を測定した。

また、試料非摂取群をコントロールとした。

(5) 2 型糖尿病モデルラット (GK ラット) における試料の血糖値および血漿中 AGEs 量低減効果

GK ラット (10 週齢、雄、日本 SLC、1 群 5 匹) に体重 1 kg あたり 20 mg となるように試料を毎日 10 週間、ゾンデを用いて強制的に経口投与した。20 時間絶食後、血液を採取して血糖値と血漿中 CML 量を測定した。血糖値の測定はフリースタイルキッセイ (キッセイ) を用いて行った。また、血液を 3000 rpm で 10 分間遠心分離し、得られた血漿中の CML 量は

in vitro 試験と同様に操作して測定した。

また、試料非摂取群をコントロールとした。

(6) 検定法

各試験結果において、Student *t*-検定法により検定を行った。

3. 実験結果

1) *in vitro* における試料の抗酸化活性と AGEs 生成抑制効果

試料のラジカル捕捉活性を DPPH 法を用いて検定したところ、濃度依存的に活性を示し、濃度 5 mg/ml では 82 % のラジカル捕捉活性を示した (図 2)。次いで試料の抗酸化活性を AAPH 法を用いて調べたところ、抗酸化性においても濃度依存的に強い活性を示し、5 mg/ml の濃度においては 77 % の抗酸化活性を示した (図 3)。

in vitro メイラード反応系における CML 生成に対す

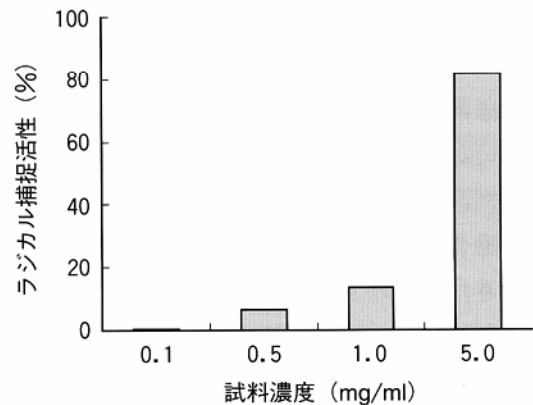


図 2 DPPH 法による試験食品の抗酸化活性

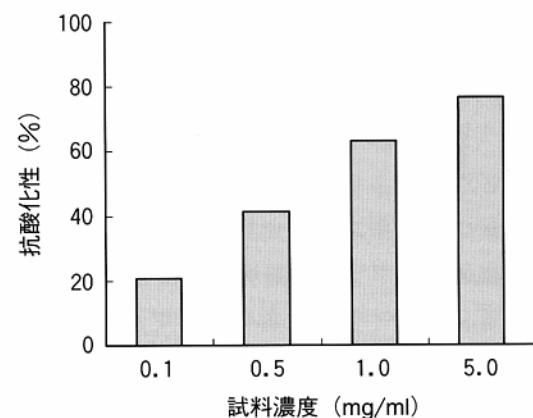
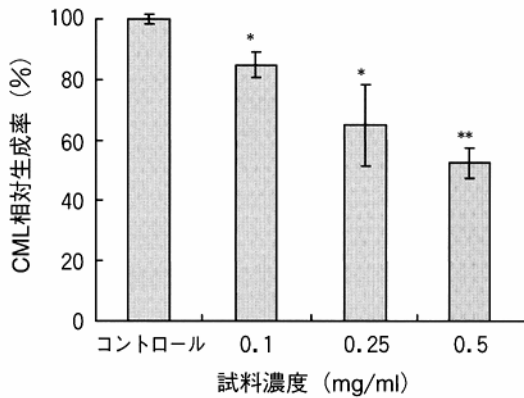


図 3 AAPH 法による試料の抗酸化性



*: $p < 0.05$ (コントロールに対する有意差)
 **: $p < 0.01$ (コントロールに対する有意差)

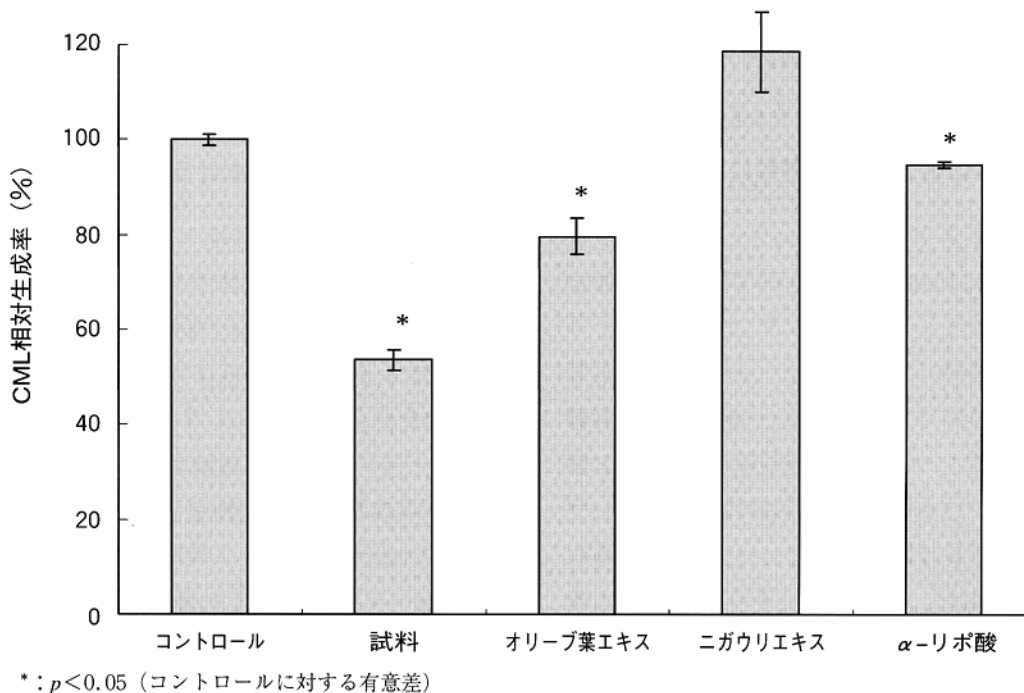
図4 試料による CML 生成抑制能

る試料の抑制効果を図4に示した。試料は CML の生成に対し、濃度依存的に抑制効果を示した。リボースと HSA の反応液中で生成した CML 量を 100% とし、試料および試料中の各成分の添加時の CML 生成率を計算した。0.5 mg/ml の濃度で加えたところ、CML 生成量は 54% に抑制された。試料および主要構成成分の CML 生成抑制能を図5に示した。 α -リポ酸、オリーブ葉エキスが強い CML 生成抑制能を示した。しかし、ニガウリエキスは CML 生成に対し、ほとんど抑制効果を示さなかった。また、試料の CML 生成能は同濃度における各構成成分の生成抑制能と

比較して、より強い活性を示したことから、各構成成分が CML 生成に対して複合的に作用していることが示唆された。

2) GK ラットにおける試料の血糖値低減効果、AGEs 抑制効果および耐糖能

GK ラットに体重 1 kg あたり 20 mg となるように試料を毎日 8 週間、経口投与した後、糖負荷試験を行った。グルコース投与 30 分後の血糖値は、コントロール群では 223.9 ± 29.2 mmol/dl であったが、試料投与群では 174.5 ± 22.0 mmol/dl であり、コントロール群に比べて有意に血糖値の上昇が抑制された (図6)。また、試料を GK ラットに 10 週間経口投与後、血糖値および血漿中の CML 量を測定したところ、コントロール群の血糖値は 156.5 ± 10.4 mmol/dl であったが、試料投与群では 131.6 ± 14.9 mmol/dl と血糖値は有意に減少した (図7)。また、各試験群のラット血漿中の CML 量を測定したところ、コントロール群では 7.55 ± 0.93 μ g/ml であったが、試料投与群は 5.32 ± 1.35 μ g/ml と有意に減少することが確認できた (図8)。また、各試験群の体重については、経口投与10週後において、コントロール群: 319.08 ± 38.62 g、試料投与群: 323.83 ± 12.45 g となり、有意差は認められなかった。



*: $p < 0.05$ (コントロールに対する有意差)

図5 試料および試料構成成分による CML 生成抑制能

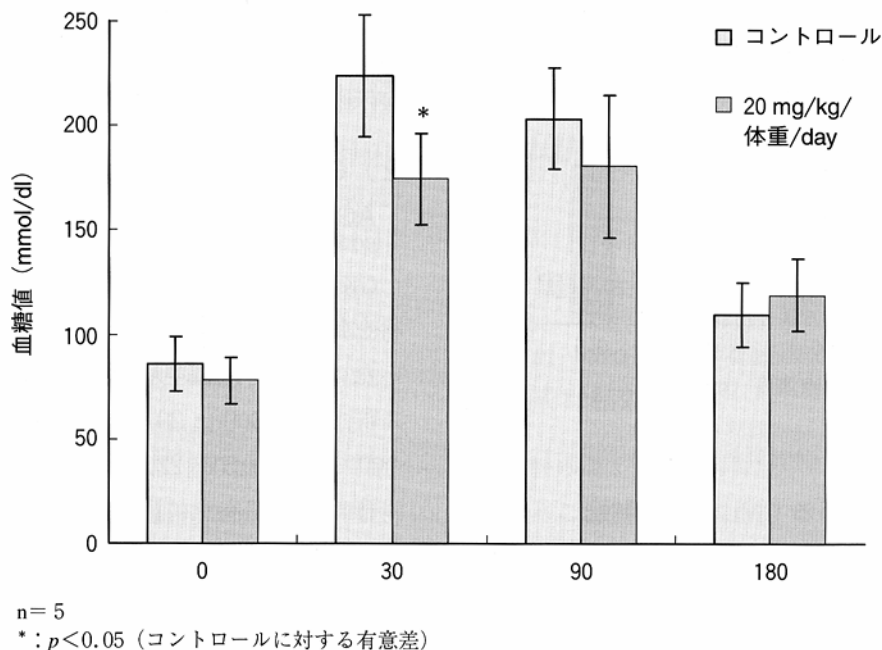


図6 GKラットにおける試料の耐糖能

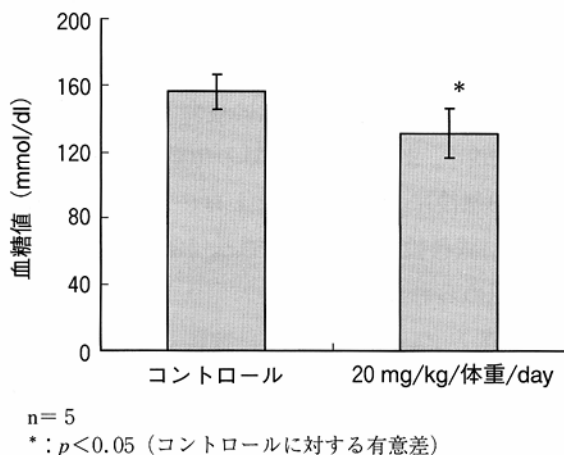


図7 GKラットにおける試料摂取による血糖値の低減効果

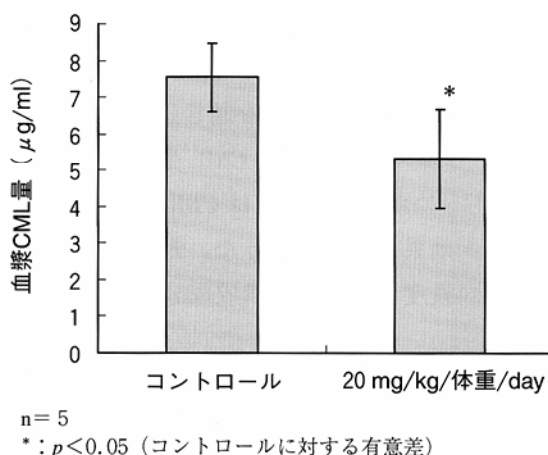


図8 GKラットにおける試料摂取による血漿CMLの低減効果

4. 考察

本試験より、試料であるオリーブ葉エキス含有食品は強い抗酸化性とラジカル捕捉活性を示すことが明らかになった。このことは主成分であるオリーブ葉エキス末中のオレウロペインと α -リポ酸が寄与していると考えられた。これまでにオリーブ葉抽出物の抗酸化活性に関し、いくつかの研究結果が報告されている⁷⁾¹²⁾¹³⁾。Al-Azzawieらは、肥満型モデルウサギにオリーブ葉の主成分であるオレウロペインを撰

取させたところ、酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒド量が低下すること、また生体内のグルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオンリダクターゼ等の抗酸化関連酵素や α -トコフェロール、ビタミンC等の抗酸化物質濃度が上昇したことを報告している¹²⁾。また、 α -リポ酸の抗酸化性に関しては、Kaganらの報告をはじめ多くの研究がされており、これらによると、 α -リポ酸は、ヒドロキシラジカルや過酸化水素、スーパーオキシド等の活性酸素種を消去する。また、 α -リポ酸から生じるジヒドロリポ

酸は、酸化型グルタチオンを還元型に戻したり、ペルオキシラジカルを捕捉することが報告されている^{14)~17)}。したがって、試料の強い抗酸化活性とラジカル捕捉活性は、オリーブ葉抽出物と α -リポ酸が関与しているものと推測した。

試料を2型糖尿病モデルラットであるGKラットに投与し、血糖値の変動を調べたところ、強い血糖値低減効果がみられた。これは試料中に含有しているオリーブ葉抽出物が血糖値低減効果を示したものであると思われた。Gonzalezらはオリーブ葉抽出物を正常ラットおよび肥満ラットに投与したところ、いずれのラットでも血糖値の低下を確認できたと報告している¹⁸⁾。彼らはインスリンとの相乗作用と末梢組織細胞での糖吸収量の増加が作用機序であると推測している。さらにオリーブ葉のインスリン抵抗性改善効果や血糖値降下作用に関する報告も行われている¹²⁾¹⁹⁾²⁰⁾。また、試料に含まれる α -リポ酸は、解糖系においてピルビン酸からアセチルCoAへの代謝酵素およびTCA回路における2-オキソグルタル酸からスクシニルCoAへの代謝酵素の補酵素として働くことが明らかになっている¹¹⁾。さらに、 α -リポ酸は細胞のグルコース取り込みに関与するグルコーストランスポーター4 (GLUT4)の活性化、インスリンへの直接的な作用²¹⁾、またグリコーゲン合成等を促進することが報告されている²²⁾。一方、試料の含有成分であるニガウリも血糖値上昇抑制効果を示すことが報告されており、その作用機序として、グルコースの吸収阻害と肝グリコーゲンとしてのグルコースの取り込み促進が推測されている²³⁾。さらにShibibらは肝臓でのグルコース-6-ホスファターゼとフルクトース-1,6-ビスホスファターゼの活性が低下することも報告している²⁴⁾。したがって、試料の血糖値低減効果は、オリーブ葉エキス、 α -リポ酸、ニガウリエキスが複合的、相乗的に作用したことによるものと考えている。

また、試料は*in vitro*および2型糖尿病ラットを用いた*in vivo*試験において、AGEsの一種であるCMLの生成に対して強い抑制効果を示した。AGEsの生成は酸化ストレスにより促進されると考えられており³⁾⁴⁾、これまでに抗酸化性を示すビタミンEやケルセチン、ルチン、カンフェロール等の植物由来物質がAGEs生成抑制効果を示すことが報告されている³⁾。

試料は強い抗酸化性を示し、また他の含有成分である α -リポ酸は体内の様々な抗酸化物質と相互作用して、他の抗酸化物質を還元することも報告されている²⁵⁾²⁶⁾。したがって、主要構成成分であるオリーブ葉エキス、 α -リポ酸、ニガウリエキスが相乗的に作用して抗酸化性を発揮し、AGEs生成抑制効果を示したものと考えている。

以上の結果より、試料のAGEs生成抑制効果は抗酸化性と血糖値低減効果の両の作用により発揮することが示唆された。

5. 結 論

オリーブは地中海地方で2000年以上に渡り栽培され、その葉を噛む習慣を持つベドウィン族には糖尿病患者が少ないといわれている。また、ニガウリは、インドでは糖尿病、伝染性皮肤病などに効果があるとされており⁸⁾、摂取量の多い沖縄県では糖尿病や高血圧などの患者数が少なく、またそれらを含む生活習慣病による死亡率が少ないことが知られている⁹⁾。欧米では α -リポ酸が糖尿病の合併症予防薬として使用されており、日本でも最近、食品への使用が認められた。一般にこれらの素材を単独で使用したサプリメントは多く見られるが、オリーブ葉エキス、 α -リポ酸、ニガウリエキスの3種類の構成成分を組み合わせたものは市販されていない。本試験では、オリーブ葉エキス、 α -リポ酸およびニガウリエキスを主要成分とする食品に、より強い抗酸化性および血糖値上昇抑制効果があること、またAGEs生成抑制効果を示すことを明らかにした。なお、この食品は、糖尿病予防だけでなく、AGEsにより発症する疾患の予防、さらにアンチエイジングへの応用も期待できると思われる。今後は、より詳細なメカニズムの解明を行い、この食品の新たな機能性を探索する予定である。なお、本試験に用いた試料は現在「メイラード反応を抑制する食品」として特許を出願している²⁷⁾。

*本論文の内容の一部は、2006年3月に行われた「日本薬学会126年会(仙台)」にて発表されています。

引用文献

- 1) 厚生労働省：平成 14 年度糖尿病実態調査報告
- 2) 石田 均、古川尚志、吉元勝彦、片平 宏、丸山雅弘、亀山こころ、小林庸子、滝澤 誠：臨床医科学入門（石田 均、板倉弘重、志村二三夫、田中 清 編）。114—135、光生館、2004。
- 3) Ahmed N: Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **67**, 2—21, 2005.
- 4) Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L: Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*, **44**, 129—146, 2001.
- 5) 竹内正義、岩城実奈：AGEs 研究の最前線（今泉 勉 監、山岸昌一 編）。27—36、メディカルレビュー社、2004。
- 6) Somova LI, Shode FO, Ramnandan P, Nadar A: Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea europaea*, subspecies africana leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, **84**, 299—305, 2003.
- 7) Benavente-Garcia O, Castillo J, Lorente J, Ortuno A, Del Rio JA: Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. *Food Chemistry*, **68**, 457—462, 2000.
- 8) 池上文雄、石原茂正、桑島 博、妹尾修次郎、田中信壽、野原稔弘、馬場きみ江、松田久司、吉川雅之：食品薬学ハンドブック（北川 勲、吉川雅之 編）。168—169、2005。
- 9) 沖縄県環境保健部：沖縄県における成人病死亡の疫学調査。1995。
- 10) 厚生労働省医薬食品部局食品安全部：食安基発第 0601001 号。2004。
- 11) 澤井秀幸：機能性食品素材 α -リポ酸。 *Foods Food Ingredients J. Jpn.*, **210**, 1163—1171, 2005。
- 12) Al-Azzawie HF, Alhamdani MSS: Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life sciences*, **78**, 1371—1377, 2006。
- 13) Andrikopoulos NK, Antonopoulou S, Kaliora AC: Oleuropein Inhibits LDL Oxidation Induced by Cooking Oil Frying By-products and Platelet Aggregation Induced by Platelet-Activating Factor. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, **35**, 479—484, 2002。
- 14) Kagan VE, Shvedova A, Serbinova E, Khan S, Swanson C, Powell R, Packer L: Dihydrolipoic acid—a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem. Pharmacol.*, **44**, 1637—1649, 1992。
- 15) Suzuki Y, Tsuchiya M, Packer L: Thioctic Acid and Dihydrolipoic Acid are Novel Antioxidants which Interact with Reactive Oxygen Species. *Free Rad. Res. Comms.*, **15**, 255—263, 1991。
- 16) Scott BC, Aruoma OI, Evans PJ, O'Neill C, Van Der Vliet A, Cross CE, Tritschler H, Halliwell B: Lipoic and Dihydrolipoic Acids as Antioxidants. A Critical Evaluation. *Free Rad. Res.*, **20**, 119—133, 1994。
- 17) Navari-Izzo F, Quartacci MF, Sgherri C: Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. *Plant. Physiol. Biochem.*, **40**, 463—470, 2002。
- 18) Gozalez M, Zarzuelo A, Gamez MJ, Utrilla MP, Osuna I: Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta. Med.*, **58**, 513—515, 1992。
- 19) 特許文献 1：特開 2003—128571
- 20) 特許文献 2：特開 2005—176770
- 21) Estrada DE, Ewart HS, Tsakiridis T, Volchuk A, Ramlal T, Tritschler H, Klip A: Stimulation of glucose uptake by the natural coenzyme alpha-lipoic acid/thioctic acid: participation of elements of the insulin signaling pathway. *Diabetes*, **45**, 1798—1804, 1996。
- 22) Jacob S, Streeper RS, Fogt DL, Hokama JY, Tritschler HJ, Dietze GJ, Henriksen EJ: The antioxidant alpha-lipoic acid enhances insulin-stimulated glucose metabolism in insulin-resistance rat skeletal muscle. *Diabetes*, **45**, 1024—1029, 1996。
- 23) Jayasooria AP, Sakano M, Yukizaki C, Kawano M, Yamamoto K, Fukuda N: Effect of *Momordica charantia* powder on serum glucose levels and lipid parameters in rats fed with cholesterol-free and cholesterol-enriched diets. *J. Ethnopharmacology*, **72**, 331—336, 2000。
- 24) Shibib BA, Khan LA, Rahman R: Hypoglycemic activity of *Cocinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: depression of hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6-phosphatase and fructose-1,6-bisphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphatase dehydrogenase. *Biochem. J.*, **292**, 267—270, 1993。
- 25) Bast A, Haenen GR: Interplay between lipoic acid glutathione in the protection against microsomal lipid peroxidation. *Biochem. Biophys. Acta.*, **16**, 558—561, 1988。
- 26) Kagan VE, Yalowich JC, Day BW, Goldman R, Gantchev TG, Stoyanovsky DA: Ascorbate is primary reduction of phenoxyl radical of rotopside in the presence of thiols both in cell homogenates and in model systems. *Biochemistry*, **16**, 9651—9660, 1994。
- 27) 特許文献：特願 2006—167363

(2006年9月26日)