

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4609890号
(P4609890)

(45) 発行日 平成23年1月12日(2011.1.12)

(24) 登録日 平成22年10月22日(2010.10.22)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)	A 6 1 K 31/7048
A 6 1 K 36/00 (2006.01)	A 6 1 K 35/78 B
A 6 1 P 25/24 (2006.01)	A 6 1 P 25/24

請求項の数 2 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2005-290261 (P2005-290261)	(73) 特許権者	595132360 株式会社常磐植物化学研究所 千葉県佐倉市木野子158番地
(22) 出願日	平成17年10月3日(2005.10.3)	(73) 特許権者	304020292 国立大学法人徳島大学 徳島県徳島市新蔵町2丁目24番地
(65) 公開番号	特開2007-99660 (P2007-99660A)	(74) 代理人	100089705 弁理士 社本 一夫
(43) 公開日	平成19年4月19日(2007.4.19)	(74) 代理人	100076691 弁理士 増井 忠式
審査請求日	平成18年10月16日(2006.10.16)	(74) 代理人	100075270 弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137 弁理士 千葉 昭男

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗うつ剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ケルセチン3-O-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドおよびケルセチン3-O-(6-p-クマロイル)-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドを合計で4%以上含むイチヨウ葉抽出物を有効成分とするうつ病の治療剤または予防剤。

【請求項2】

イチヨウ葉抽出物が乾燥イチヨウの葉から得られる請求項1に記載の治療剤または予防剤。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

【0002】

本発明は、新規なイチヨウ葉抽出物、イチヨウ葉抽出物を含む抗うつ作用を有する食品、栄養補助食品、食品添加物、医薬品などの組成物、ならびに前記イチヨウ葉抽出物を用いてうつ病を予防または治療する方法に関する。

【従来の技術】

【0003】

ますます複雑化する現代社会において、うつ病患者の増加が我が国の大きな社会問題と

なっている。うつ病の罹患率は国民の4～5%に達するとの報告もあり、罹患後治療しない場合は自殺に至ることも多い。我が国の年間自殺者数は1998年以降7年連続で3万人を超えた。さらに年代別に見ると、30～40歳台がその3分の1を占めており、働き盛りの年代に自殺者が多い点にもうつ病問題の深刻さが現れているといえる。

【0004】

したがって、うつ病の治療に関する研究は最重要課題の1つである。その治療薬としては、三環系抗うつ薬や選択的セロトニン再取り込み阻害薬などが使用されている。しかしながら、これらのうつ病治療薬を服用している患者には、しばしばせん妄や妄想等の精神病症状、ショック症状、躁転等の副作用があらわれることが問題視されている。

【0005】

近年、イチヨウ葉から抽出された成分であるイチヨウ葉エキスに高い関心が集まっている。イチヨウ葉エキスの効能・効果としては、アルツハイマー症等の痴呆症の治療、末梢動脈閉塞症の治療、脳血管障害や脳循環不全に起因する耳鳴り・めまいといった症状の改善などが多く報告されている。しかしながら、イチヨウ葉エキスが抗うつ効果を有する事を指摘する報文は未だ見出されていない。

【0006】

従来イチヨウ葉成分としては、フラボン類、ピロバライド、ギンコライド類、アルキルフェノール類、プロアントシアニジン類などが報告されている。また、これらの成分の含量により規定されたイチヨウ葉抽出物が報告されている。しかし、イチヨウ葉抽出物中にケルセチン3-O-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドおよびケルセチン3-O-(6-p-クマロイル)-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドを合計で4%以上含むように規格されたイチヨウ葉抽出物はこれまでに報告されていない。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明は、副作用が少なく、比較的長期にわたって服用しても安全性が高い抗鬱剤を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、より安全な抗うつ剤を発見するために鋭意検討した結果、イチヨウ葉よりケルセチン3-O-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドおよびケルセチン3-O-(6-p-クマロイル)-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドを合計で4%以上含む新規なイチヨウ葉抽出物を調製し、この抽出物が抗うつ作用を示すことを見出し本発明を完成するに至った。

【0009】

従って、本発明は、ケルセチン3-O-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドおよびケルセチン3-O-(6-p-クマロイル)-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドを合計で4%以上含むイチヨウ葉抽出物を提供する。

【0010】

本発明はさらに、前記イチヨウ葉抽出物を含有する抗うつ作用を有する組成物を提供する。

組成物は食品、栄養補助食品、食品添加物または医薬品の形でありうる。

本発明はさらに、イチヨウ葉抽出物を用いてうつ病を治療する方法を提供する。

【発明の実施の形態】

【0011】

(1) イチヨウ葉抽出物

本発明の新規イチヨウ葉抽出物は、イチヨウ科イチヨウ属のイチヨウ (*Ginkgo biloba* L.) の葉をアセトンまたはエタノールのような有機溶媒または水およびそれらの混合物で抽出し、樹脂を用いて精製して有効成分であるケルセチン3-O-β-D-グルコシル-(1,2)-β-L-ラムノシドおよびケルセチン3-O-(6-p-クマロイル)-β-D-グルコシル-

10

20

30

40

50

(1,2)- β -L-ラムノシドを合計で4%以上含むように調整することによって得られる。抽出物中の有効成分の含量は好ましくは4-70%で、より好ましくは5%から50%である。なお、ケルセチン3-O- β -D-グルコシル-(1,2)- β -L-ラムノシドおよびケルセチン3-O-(6-p-クマロイル)- β -D-グルコシル-(1,2)- β -L-ラムノシドの化学構造を図1に示す。

【0012】

イチヨウ葉は、新鮮なものでも乾燥したものでもよく、好ましくは有効成分が濃縮され、かつ保存に優れるため、乾燥したものである。さらに粉末状にして使用してもよい。粉末にすることによって、有効成分を効率よく抽出することができる。

イチヨウ葉は、日本産、アメリカ産、中国産、欧州産等いずれの産地のものでもよく特

10

【0013】

本発明のイチヨウ葉抽出物におけるケルセチン3-O- β -D-グルコシル-(1,2)- β -L-ラムノシドおよびケルセチン3-O-(6-p-クマロイル)- β -D-グルコシル-(1,2)- β -L-ラムノシドの含量は、例えば高性能液体クロマトグラフィーで分析し、分光光学的に280nm~340nmの範囲で測定するか、もしくは、LC-MSを用いて分子量610および756で測定することができる。

なお、イチヨウ葉抽出物中のアレルギー物質として知られるギンコール酸の含量はできるだけ少ない方が好ましく、5ppm以下とすることが特に好ましい。

【0014】

(2) 組成物

本発明はさらに、イチヨウ葉抽出物を含む抗うつ作用を有する組成物を提供し、組成物は食品、栄養補助食品、食品添加物または医薬品の形でありうる。

本発明の組成物が医薬用組成物であるときの投与方法は特に限定されるものではないが、経口投与可能な剤形が好ましい。本発明の医薬用組成物は種々の剤形とすることができる。

20

【0015】

例えば、経口投与のためには、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、丸剤、液剤、乳剤、懸濁剤、溶液剤、酒精剤、シロップ剤、エキス剤、エリキシル剤とすることができるが、これらに限定されない。また、製剤には薬剤的に許容できる種々の担体を加えることができる。

30

【0016】

医薬用組成物には例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着香剤、着色剤、甘味剤、矯味剤、溶解補助剤、懸濁化剤、乳化剤、コーティング剤、ビタミンC、抗酸化剤を含むことができるが、これらに限定されない。

【0017】

本発明の医薬用組成物の投与量は、一般的には、イチヨウ葉抽出物に換算して成人1日用量として100mg~2000mg、好ましくは100mg~300mgを使用する。

もちろん個別的に、投与されるヒトの年齢、体重、症状、投与経路、投与期間、治療経過等に応じて変化させることもできる。

40

1日あたりの量を数回に分けて投与することもできる。また、他の抗うつ剤や治療法と組み合わせて投与することもできる。

【0018】

本発明の組成物は、食品又は栄養補助食品の形態とすることもできる。例えば、イチヨウ葉抽出物を原材料に配合することにより、麺類、パン、キャンディー、ゼリー、クッキー、スープ、健康飲料の形態とすることができる。

【0019】

このような食品、栄養補助食品にはイチヨウ葉抽出物の他に、鉄、カルシウム等の無機成分、種々のビタミン類、オリゴ糖、キトサン等の食物繊維、大豆抽出物等のタンパク質、レシチンなどの脂質、ショ糖、乳糖等の糖類を加えることができる。

50

【 0 0 2 0 】

イチヨウ葉エキスが有する抗うつ効果は、抗うつ効果を有する薬剤の代表的なスクリーニング方法であるラット強制水泳試験およびマウス尾懸垂試験により評価した。その結果、いずれの試験においてもイチヨウ葉エキスの投与により、うつ状態の指標である無動時間の有意な低下がみられた。これらの結果より、イチヨウ葉エキスに抗うつ効果があることを確認し、本発明を完成した。

【 0 0 2 1 】

また、本発明イチヨウ葉抽出物に、高麗ニンジン抽出物、ラフマ抽出物、ツボクサ抽出物、エゾウコギ抽出物、オウギ抽出物、ガラナ抽出物、マカ抽出物、タンポポ抽出物、アーティチョーク抽出物、ゲンチアナ抽出物、シサンドラ抽出物、コエンザイムQ10などを組み合わせることにより、精神的ストレスから陥るうつ症状の改善効果を有する食品、栄養補助食品、医薬品などの組成物が得られる。

10

【 0 0 2 2 】

また、本発明イチヨウ葉抽出物に、ブラックコホシユ抽出物、西洋カボチャ抽出物、大豆抽出物、甘草抽出物、当帰抽出物、西洋ニンジンボク抽出物、ザクロ抽出物、ヤムイモ抽出物、などを組み合わせることにより、更年期障害の症状であるうつ状態の改善効果を有する食品、栄養補助食品、医薬品などの組成物が得られる。

【 0 0 2 3 】

(3) うつ病

うつ病の種類および分類については様々なものが提案されているが、本発明でいううつ病とは、例えば、世界保健機構 (World Health Organization) が発表している「国際疾病分類・第 1 0 版」 (International Classification of Diseases, Injuries and Causes of Death, 10th version; ICD-10) によって「うつ病」関連障害と分類されている疾患、あるいは米国精神医学会 (American Psychiatric Association, APA) が発表している「精神障害の診断と統計分類のための手引き」 (Diagnostic Statistic Manual of Mental Disorders, DSM) の DSM-IV による多軸診断によって評価される「うつ病」をいうものとする。

20

【 0 0 2 4 】

従って、本発明にいう「抗うつ作用を有する」とは、これらのうつ病の何らかの症状を軽減、改善もしくは予防することをいう。

30

「抗うつ作用を有する」効果を示すかどうかは患者本人の改善感、医師の診断による効果などにより判断できる。

【 0 0 2 5 】

[発明の効果]

本発明のイチヨウ葉エキスの抗うつ効果は、従来の抗うつ剤と比較しても、同等もしくは優れている。しかも安全性が高く副作用が現れる可能性が低いいため、その価値は多大である。

【 実施例 】

【 0 0 2 6 】

以下、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は実施例によって限定されるものではない。

40

【 0 0 2 7 】

実施例 1

： イチヨウ葉抽出物の調製

乾燥イチヨウ葉をラボミキサーにより粉碎し、その粉碎物 1 k g に 6 L の 7 5 % エタノールを加え、2 時間加熱環流後、ろ過し抽出液を得た。抽出残渣を再度 6 L の 7 5 % エタノールにて 2 時間加熱環流した後、ろ過し抽出液を得た。1 回目の抽出液と 2 回目の抽出液をあわせ、6 0 度 C にて減圧濃縮し約 1 / 1 0 容量まで濃縮後、水 6 L を加え 1 晩放置冷却後、沈殿物をろ過して除き、ろ液を合成吸着樹脂 XAD-7 1 . 5 L (ロームアンドハース社製) に吸着させた後、水 3 L で水洗し糖質などを除去した。その後、7 5 % エタノー

50

ル 3 L で脱離し有効成分を含む画分を集め、60 度Cにて減圧濃縮し、約 1 / 10 容量まで濃縮した。濃縮物をXAD-7 に吸着し 5 L の 70 % エタノールで注意深く脱離してギンコール酸を含まない分画を得た。溶出液を 60 度Cで約 1 / 10 容量まで減圧濃縮し、一晚減圧乾燥を行い、固形物として 35 g を得た。この固形物中のケルセチン 3 - 0- -D-グルコシル-(1,2)- -L-ラムノシドおよびケルセチン 3 - 0- (6 - p - クマロイル) - -D-グルコシル-(1,2)- -L-ラムノシド含量を、ウォーターズ社製高性能液体クロマトグラフィーマルチソルベント送液システム 600E、およびウォーターズ社製 2487 デュアル UV / VIS 検出器を用いて、分析カラムとして Mightysil RP-18GP 6.0 mm i . d . x 250 mm Cica Reagent)、検出波長 330 nm、移動層メタノール : 1 % 酢酸を含む水 = 40 : 60、流速 1.0 ml / min の条件で標準品を用いて作成した検量線から含量を算出した。結果はケルセチン 3 - 0- -D-グルコシル-(1,2)- -L-ラムノシドは 1.4 % およびケルセチン 3 - 0- (6 - p - クマロイル) - -D-グルコシル-(1,2)- -L-ラムノシドは 4.3 % であった。更に、アレルギー物質として知られるギンコール酸含量は 5 ppm 以下であった。

10

【 0 0 2 8 】

ここで用いた標準品 ((株) 常磐植物化学研究所製) の物性、すなわち、ケルセチン 3 - 0- -D-グルコシル-(1,2)- -L-ラムノシドの ¹H NMR および ¹³C NMR、およびケルセチン 3 - 0- (6 - p - クマロイル) - -D-グルコシル-(1,2)- -L-ラムノシドの ¹H NMR および ¹³C NMR は以下の通りである (表中、ケルセチン 3 - 0- -D-グルコシル-(1,2)- -L-ラムノシドは、compd.4 (quer-3-rham-2-glc) で表示、またケルセチン 3 - 0- (6 - p - クマロイル) - -D-グルコシル-(1,2)- -L-ラムノシドは、compd. 5 (quer-3-rham-2-glc-6-coum) で表示している) 。

20

【 0 0 2 9 】

た。イチヨウ葉エキスはラットに1、10、50 mg/kg体重/日となるように、またイミプラミンは15 mg/kg体重/日となるように2週間、毎日13:00から15:00の間に経口投与した（1群ラット7匹）。

【0033】

予備強制水泳：強制水泳試験の24時間前に、ラットに15分間の予備水泳をさせた。その後、強制水泳試験の24、5、1時間前に、それぞれイチヨウ葉エキスあるいはイミプラミンを経口投与した。

【0034】

強制水泳試験による抗うつ効果の測定方法：逃避不可能な水槽（内径192 mm×高さ450 mm）に17 cmの高さまで25±1 の水を入れた。その中で強制的にラットに水泳をさせた。ラットは最初、激しい水泳行動を示すが、次第に泳ぐことを諦めて泳がなくなる。水泳開始後5分間内の泳いでいない時間（無働時間）の短縮を指標として、投与した成分の抗うつ効果を評価した。この強制水泳試験は、14:00から16:00までの時間帯に実施された。

【0035】

結果

図2はイチヨウ葉エキスあるいは抗うつ剤（イミプラミン）をラットに2週間連続投与したときの体重変化である。イミプラミン、およびいずれの濃度のイチヨウ葉エキス投与群も、体重の増加傾向には水を投与したコントロール群の体重と比較して差は無かった。

【0036】

図3はイチヨウ葉エキスあるいはイミプラミンをラットに2週間連続投与した後の強制水泳試験の結果である。なお縦軸は無働時間を示し、各群7匹の平均値±標準誤差で表示している。図中の*マークは、水を投与したコントロール群の無働時間に対する有意な差（ $p<0.01$ ）があることを示す。水を投与したコントロール群に対し、15 mg/kg体重/日のイミプラミン投与は無働時間を有意に85%低下させた。つまりイ抗うつ薬であるミプラミンが抗うつ活性を示した。これは本試験が、抗うつ成分のスクリーニング方法として適切であることを示唆している。5 mg/kg体重/日のイチヨウ葉エキス投与は有意な抗うつ効果を示さないが、10 mg/kg体重/日以上投与により抗うつ効果が認められた。また、10 mg/kg体重/日のイチヨウ葉エキスの投与が最大の効果を示した。

【0037】

実施例3：マウスを用いた尾懸垂試験

マウスを用いた尾懸垂試験はSteruらの方法（Steru et al. Psychopharmacology, 85, 369-370, 1985）に従った。

【0038】

試験方法

動物：8週齢の雄のC57BL/6Jマウス（日本SLC社、東京、日本）を使用した。マウスは5群に分け、プラスチックケージ（幅280 mm×深さ440 mm×高さ180 mm）内で自由飲食にて飼育した。飼育室は、湿度50-60%、室温25±1 に保たれており、8:00から20:00まで点灯した。

【0039】

投与方法：イチヨウ葉エキスおよび抗うつ剤（イミプラミン）をそれぞれ蒸留水に溶解した。マウスにイチヨウ葉エキスは5、50、100 mg/kg体重、またイミプラミンは30 mg/kg体重となるように、尾懸垂試験の30分前に腹腔内投与した（1群マウス8匹）。

【0040】

尾懸垂試験による抗うつ効果測定方法：高さ60 cmのスタンドに床から35 cmの高さで固定した木製クリップにより、マウスの尻尾をはさみ、逆さ吊りした。マウスは最初激しく活動するが、次第に動くことを諦める。尾懸垂開始後6分以内の動いていない時間（無働時間）の短縮を指標として、投与した成分の抗うつ効果を評価した。この尾懸垂試験は、11:00から13:00までの時間帯に実施した。

【0041】

図4は、イチヨウ葉エキスあるいはイミプラミンをマウスに単回腹腔内投与した30分後

10

20

30

40

50

の尾懸垂試験の結果である。なお縦軸は無働時間を示し、各群8匹の平均値 ± 標準誤差で表示している。図中の*マークは、水を投与したコントロール群の無働時間に対する有意な差 ($p < 0.01$) があることを示す。水を投与したコントロール群に対し、30 mg/kg体重のイミプラミン投与により無働時間は有意に65%低下した。つまり抗うつ薬であるイミプラミンには抗うつ効果がある。これは本試験が、抗うつ成分のスクリーニング方法として適切であることを示唆している。50 mg/kg体重以上のイチョウ葉エキス投与により抗うつ効果が見られた。また、50 mg/kg体重の投与が最大の効果を示した。

【図面の簡単な説明】

【0042】

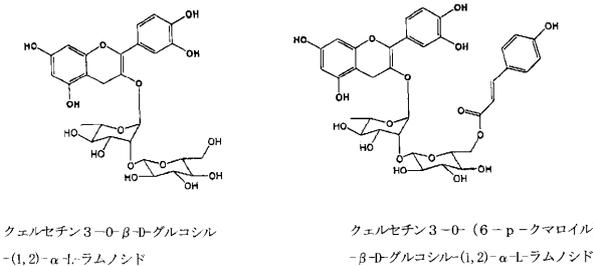
【図1】ケルセチン 3-O-β-D-グルコシル-(1,2)-α-L-ラムノシドおよびケルセチン 3-O-(6-p-クマロイル)-β-D-グルコシル-(1,2)-α-L-ラムノシドの化学構造を示す。

【図2】イチョウ葉エキスあるいは抗うつ剤（イミプラミン）をラットに2週間連続投与したときの体重変化を示すグラフである。

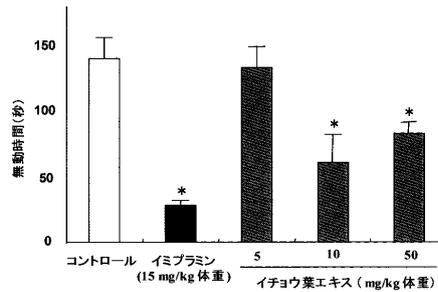
【図3】イチョウ葉エキスあるいはイミプラミンをラットに2週間連続経口投与した後の強制水泳試験の結果を示すグラフである。

【図4】イチョウ葉エキスあるいはイミプラミンをマウスに単回腹腔内投与した30分後の尾懸垂試験の結果を示すグラフである。

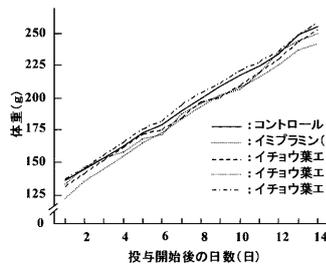
【図1】



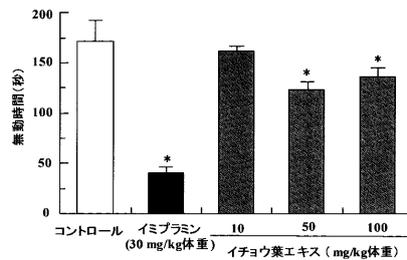
【図3】



【図2】



【図4】



フロントページの続き

- (74)代理人 100096013
弁理士 富田 博行
- (74)代理人 100091638
弁理士 江尻 ひろ子
- (72)発明者 寺尾 純二
徳島県徳島市南矢三町9 - 15 - 709
- (72)発明者 榊原 啓之
徳島県徳島市南庄町5 - 16 - 1 アビィーロードII 103号
- (72)発明者 妹尾 修次郎
千葉県千葉市稲毛区稲毛3 - 8 - 9 - 206

審査官 前田 佳与子

- (56)参考文献 特表平07 - 502522 (JP, A)
特開2004 - 083553 (JP, A)
特開昭60 - 109522 (JP, A)
特開昭62 - 292794 (JP, A)
特開平07 - 138171 (JP, A)
特開2002 - 101850 (JP, A)
特表2005 - 527540 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/33 - 33/44
A61K 36/00 - 9068
A23L 1/27 - 308
CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
JSTPlus(JDreamII)
JMEDPlus(JDreamII)
JST7580(JDreamII)