

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4633897号
(P4633897)

(45) 発行日 平成23年2月16日(2011.2.16)

(24) 登録日 平成22年11月26日(2010.11.26)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 31/352	(2006.01) A 61 K 31/352
A 23 L 1/30	(2006.01) A 23 L 1/30 B
A 61 K 36/75	(2006.01) A 61 K 35/78 K
A 61 P 9/10	(2006.01) A 61 P 9/10
A 61 P 25/00	(2006.01) A 61 P 25/00

請求項の数 2 (全 14 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-248021 (P2000-248021)
 (22) 出願日 平成12年8月17日 (2000.8.17)
 (65) 公開番号 特開2002-60340 (P2002-60340A)
 (43) 公開日 平成14年2月26日 (2002.2.26)
 審査請求日 平成19年6月11日 (2007.6.11)

(73) 特許権者 000214272
 長瀬産業株式会社
 大阪府大阪市西区新町1丁目1番17号
 (74) 代理人 100088155
 弁理士 長谷川 芳樹
 (74) 代理人 100140578
 弁理士 沖田 英樹
 (74) 代理人 100124062
 弁理士 三上 敬史
 (72) 発明者 伊藤 久富
 兵庫県神戸市西区室谷2丁目2番3号 長瀬産業株式会社研究開発センター内
 (72) 発明者 田村 真也
 兵庫県神戸市西区室谷2丁目2番3号 長瀬産業株式会社研究開発センター内
 最終頁に続く

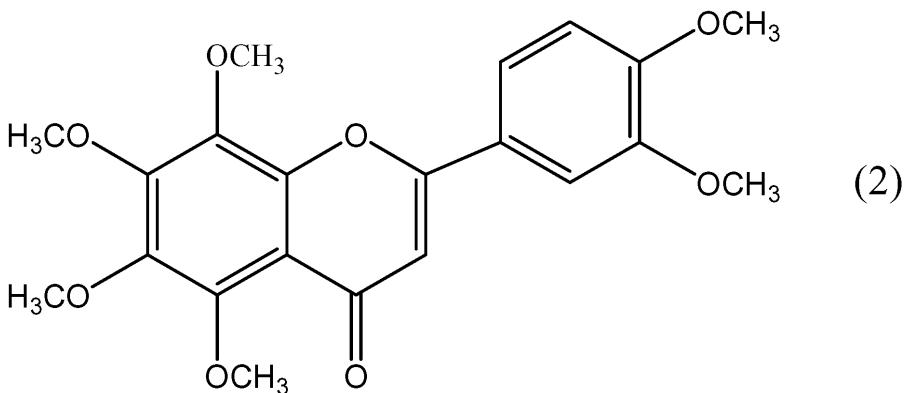
(54) 【発明の名称】神経突起伸長剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記の一般式(2)で表されるノビレチンを含有する、神経突起伸長剤。

【化 1】



10

【請求項 2】

医薬品、医薬部外品または食品の形態に加工されている、請求項1に記載の神経突起伸長剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

20

【発明の属する技術分野】

本発明は神経細胞に対して神経突起伸長作用を有する新規な神経突起伸長剤に関し、より詳細には、神経突起の伸長を促すことにより、アルツハイマー型痴呆症、脳虚血病態などの神経変性疾患の予防および／または改善、治療に有用な神経突起伸長剤に関する。

【0002】**【従来の技術】**

高齢化社会への移行に伴って老年型痴呆症が増加する傾向にある。これは非常に大きな社会問題となってきている。老年型痴呆症の原因となる疾患は数多く知られている。これらは、脳器質性障害による痴呆、脳以外の臓器疾患に付随した痴呆、およびストレスによる身体疾患に起因する痴呆に大別される。特に、その原因の大半を占める脳器質性障害による痴呆は、原因の違いにより脳血管性痴呆症とアルツハイマー型痴呆症とに分類される。10

【0003】

現在、脳血管性痴呆症に対しては、脳血管拡張薬などがある程度の効果を示すことが知られている。しかし、アルツハイマー型痴呆症に対しては、その発症原因が今なお不明であり、未だ発症を含めその進行を阻止するに適切な薬物療法も治療法も知られていない。そのため、脳器質性障害による痴呆、特にアルツハイマー型痴呆症に対して有用な医薬の開発が所望されている。

【0004】

近年は、神経細胞から分泌される神経成長因子（NGF）などの神経栄養因子が神経変性疾患に対して優れた効果を示すことが見出され、注目を集めている。NGFは、神経組織の成長および機能維持にとって重要な因子である。NGFは、末梢神経における知覚および交感神経の、ならびに中枢神経における大細胞性コリン作動性ニューロンの、成熟、分化、および生命維持に不可欠であり、脳損傷時の神経細胞の変性を防ぐという作用を示す。これにより、生体内においてNGFレベルを上昇させることは、アルツハイマー型痴呆症および脳血管性痴呆症のような中枢機能障害、脊髄損傷、末梢神経損傷、糖尿病性神経障害、ならびに筋萎縮変性側索硬化症のような抹消機能障害の治療に有用であると考えられている。20

【0005】

しかし、NGFは、モノマーでは13000またはダイマーでは26000もの分子量を有するタンパク質であり、血液脳関門を通過することができない。そのため、例えば、中枢機能障害の治療を目的とした場合には、脳室内投与が必要となる。さらに、NGFの大規模調製も困難である。このようにNGF自体の使用には多くの問題がある。結果として、一般に、NGF自体を臨床で用いることは非常に困難である。30

【0006】

また、Y.Furukawaらはカテコールアミン（エピネフリン、ノルエピネフリン）をNGF合成促進剤として使用することを開示している（FEBS Lett., Vol. 208, 258 (1986)）。一方、テアニン（特開平7-173059号公報）、エイコサペンタエン酸（EPA）、ドコサエキサエン酸（DHA）（特開平8-143454号公報）がNGF合成促進剤として働くことも開示されている。40

【0007】

しかし、エピネフリン、ノルエピネフリンはホルモン物質であるため、投与によって生体内におけるホルモンの量的バランスを崩すという問題がある。また、NGF合成促進剤には上記のホルモンまたはその他の化合物によって無理矢理にNGFを遊離させるため、ただでさえ、異常をきたしている脳細胞が疲弊するという欠点も考えられる。

【0008】

したがって、老年型痴呆症の予防および／または改善、治療のため、NGF様活性を示す低分子物質が有効であると考えられる。

【0009】

一方、特開2000-80035号公報は、ポリアルコキシフラボノイドがマトリックスメタロプロテアーゼ阻害作用を有していることを記載するのみである。また、特開平6-50

31627号公報は、薬用ニンジンのアルコール抽出物が神経細胞賦活作用を有していることを記載しているが、その賦活作用を奏する物質までは具体的に特定していない。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、上記問題の解決を課題とするものであり、その目的とするところは、副作用を伴うことなく、神経細胞に対して神経突起伸長作用を有する新規な神経突起伸長剤を提供することにある。

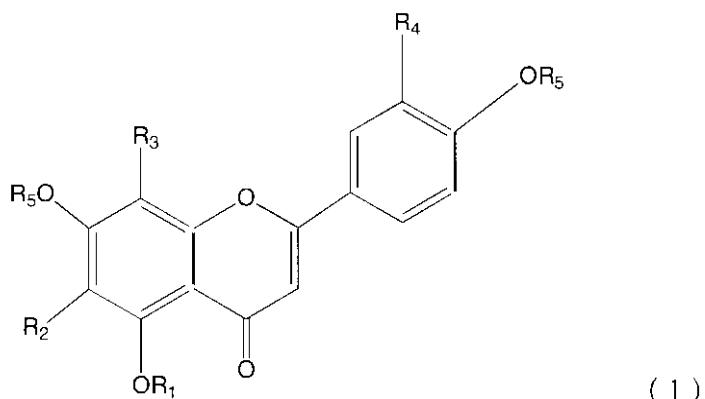
【0011】

【課題を解決するための手段】

本発明は、下記の一般式(1)で表されるポリアルコキシフラボノイド：

【0012】

【化3】



【0013】

ここで、式中、R₁は、HまたはC₁～C₆の低級アルキル基であり、R₂、R₃およびR₄は、各々独立してHまたはC₁～C₆のアルコキシ基であり、そしてR₅は、C₁～C₆の低級アルキル基である；を含有する、神経突起伸長剤である。このことにより上記課題が解決される。

【0014】

好みしい実施形態においては、上記一般式(1)で表されるポarialcoキシフラボノイドはノビレチンまたはタンゲレチンである。

【0015】

本発明はまた、ミカン科植物の抽出物を含有する、神経突起伸長剤である。

【0016】

好みしい実施形態においては、上記ミカン科植物の抽出物は、下記一般式(1)で表されるポarialcoキシフラボノイド：

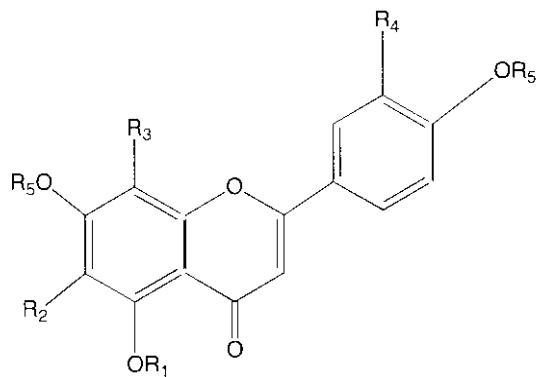
【0017】

【化4】

10

20

30



(1)

10

【0018】

ここで、式中、R₁は、HまたはC₁～C₆の低級アルキル基であり、R₂、R₃およびR₄は、各々独立してHまたはC₁～C₆のアルコキシ基であり、そしてR₅は、C₁～C₆の低級アルキル基である；を含有する。

【0019】

さらに好ましい実施形態においては、上記一般式(1)で表されるポリアルコキシフラボノイドはノビレチンまたはタンゲレチンである。

【0020】

好ましい実施形態においては、上記神経突起伸長剤は、医薬品、医薬部外品または食品の形態に加工されている。

20

【0021】

【発明の実施の形態】

ラット副腎髓質褐色細胞腫由来のPC12細胞は、NGFに応答して神経突起を伸長することが知られている。本発明者らは、この評価系を用いて、NGF様活性を有する物質を種々検討した結果、特定の構造を有するポリアルコキシフラボノイドが優れた神経突起伸長作用を奏することを見出した。

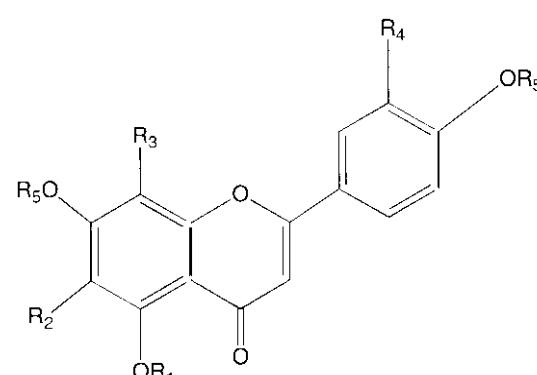
【0022】

すなわち、本発明の神経突起伸長剤は、下記一般式(1)で表されるポarialコキシフラボノイドを含有する：

30

【0023】

【化5】



(1)

40

【0024】

ここで、式中、R₁は、HまたはC₁～C₆の低級アルキル基、好ましくはHまたはC₁～C₃の低級アルキル基であり、R₂、R₃およびR₄は、各々独立してHまたはC₁～C₆のアルコキシ基、好ましくはHまたはC₁～C₃のアルコキシ基であり、そしてR₅は、C₁～C₆の低級アルキル基、好ましくはC₁～C₃の低級アルキル基である。

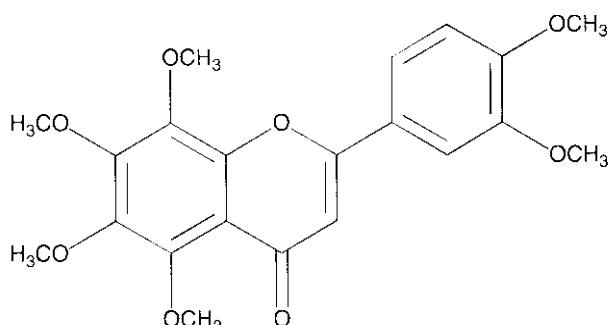
50

【0025】

本発明に用いられる一般式(1)で表されるポリアルコキシフラボノイドは、ミカン科植物に多く含まれていることや物質の安定性の点から、以下で表されるノビレチン(式(2))の化合物およびタンゲレチン(式(3)の化合物)が好ましい。

【0026】

【化6】

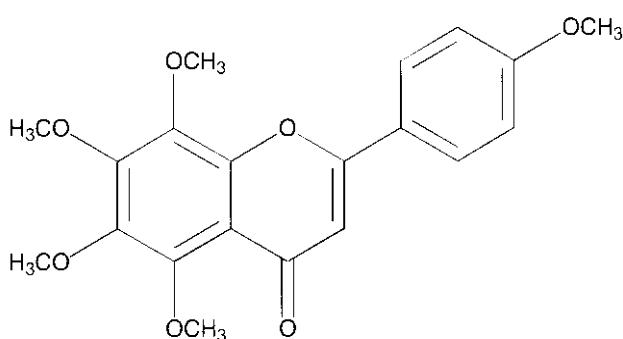


(2)

10

【0027】

【化7】



(3)

20

【0028】

これらノビレチンおよびタンゲレチンはミカン科植物に多く含有されている。また、タンゲレチンは市販されているのでそのものを購入することもできる。

【0029】

本発明においては、一般式(1)で表されるポリアルコキシフラボノイドの含有量は、神経突起伸長剤中に有効成分として含有されるところ、神經突起伸長剤100重量%に対し、0.00001重量%～50重量%、好ましくは0.0001重量%～30重量%である。ポリアルコキシフラボノイドの含有量が0.00001重量%未満であれば、所望の神經突起伸長作用を達成することができない恐れがある。他方、その含有量が50重量%を超えて、この作用がそれ以上向上しない恐れがある。本発明においては、上記ポリアルコキシフラボノイドを複数混合して用いてもよい。

40

【0030】

本発明に用いられる一般式(1)で表されるポリアルコキシフラボノイドは当業者に周知の方法を用いて化学合成することができるが、後述するミカン科植物を用いて容易に抽出することができる。特にメトキシフラボノイドは Jie Chemらの方法 (J. Agric. Food. Chem. 1997, 45, 364-368) に記載されているような方法で植物から抽出・単離してもよい。

【0031】

本発明の神經突起伸長剤はまた、ミカン科植物の抽出物を含有するものであってもよい。

【0032】

50

本発明に用いられるミカン科植物としては、*Citrus* 属のヒラミレモン (*Citrus depressa*)、ウンシュウミカン (*Citrus unshiu*)、オオベニミカン (*Citrus tangerina*)、コベニミカン (*Citrus erythrosa*)、ダイダイ (*Citrus aurantium*)、ナツミカン (*Citrus Natsudaidai*)、ザボン (*Citrus grandis*)、ユズ (*Citrus Junos*)、ポンカン (*Citrus rericulata*)、レモン (*Citrus limon*)、カラタチ (*Citrus trifoliata*)、マルブッシュカン (*Citrus medica L.*) などが挙げられる。これらの中でも特に、ヒラミレモン、ウンシュウミカンおよびダイダイが好ましい。本発明においては、上記ミカン科植物の抽出物を混合して用いてもよい。

10

【0033】

本発明に用いられるミカン科植物の抽出物は、採取後の生の状態または乾燥された状態のいずれの状態から抽出されたものであってもよい。部位としては、成熟したまたは未成熟の、果実、果皮、種子、葉、葉柄、枝、根、花などが挙げられる。特に、果実、果皮が好ましい。

【0034】

ミカン科植物抽出物は、例えば、以下のようにして得ることができる。

【0035】

まず、ミカン科植物の所定部位を抽出溶媒に浸漬する。抽出溶媒の量はミカン科植物が浸る量であればよいが、ミカン科植物の重量に対して2倍量から100倍量が好ましい。使用される抽出溶媒は特に限定されない。使用され得る抽出溶媒の例としては、メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、t-ブタノールのような低級アルコール類、アセトン等のケトン類、および酢酸エチルエステル等のエステル類、エーテル類、クロロホルム、およびジクロロメタンのような有機溶媒ならびに水が挙げられる。これら抽出溶媒は単独または組合せて用いられる。本発明においては、メタノール、エタノール、酢酸エチルまたはこれら溶媒と水との組合せが好ましく、毒性が低いという生体内における安全性を考慮すれば、エタノール、または水とエタノールとの混合溶媒がさらに好ましい。抽出温度などのその他抽出条件は特に限定されず、当業者により適切に設定され得る。

20

【0036】

このように得られたミカン科植物の抽出物は、上記一般式(1)で表されるポリアルコキシフラボノイド、好ましくは式(2)で表されるノビレチンおよびノまたは式(3)で表されるタンゲレチンを含有する。これらは、ミカン科植物の抽出物から、カラムクロマトグラフィーにより分離取得することができる。これにより得られた物質は、¹H-NMR、¹³C-NMRなどの周知の手段によりノビレチンまたはタンゲレチンであると同定され得る。

30

【0037】

また、タンゲレチンは市販されているのでそのものを購入することもできる。

【0038】

一般式(1)で示されるフラボノイドの具体的代表例であるノビレチン、タンゲレチンをミカン科植物の当該化合物を含む抽出物によって代用する場合における当該抽出物の含有量は、上記と同様であるが、好ましくは神経突起伸長剤100重量%に対し、0.00001重量%～30重量%、より好ましくは0.0001重量%～15重量%である。抽出物乃至ノビレチン、タンゲレチンの含有量が0.00001重量%未満では、効果を十分発揮できない。

40

【0039】

本発明の神経突起伸長剤は、医薬品、医薬部外品または食品などに配合することができる。また、本発明の神経突起伸長剤は経口投与または非経口投与のいずれに使用されてもよい。

【0040】

50

医薬品の形態としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、シロップ剤などが挙げられる。これら医薬品は、通常の医薬製造における添加剤を使用して製造することができる。

【0041】

添加剤の具体例としては、ラクトース、デキストリン、スクロース、マンニトール、コンスター、ソルビトール、結晶性セルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられ、これらを単独または適宜組合させて使用することができる。これら医薬品は、日本薬局方の記載に従い、各々の医薬品の形態に適した方法で製造することができる。また、香味料、着色料、甘味料など適宜使用することもできる。これら添加剤の含有量は当業者に適切に選択され得る。

【0042】

医薬部外品の形態としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、ゼリー剤、ドリンク剤などが挙げられる。これら医薬部外品は、通常の医薬部外品製造における添加剤を使用して製造することができる。さらに、これら医薬部外品は、例えばビタミン類などの他の有効成分を含有することもできる。また、甘味料、香味料、着色料、酸化防止剤などの添加剤を単独または適宜組み合わせて使用することもできる。これら医薬部外品は、当業者に周知の方法で製造することができる。

【0043】

食品の形態としては、麺、パスタ、顆粒、錠果、ゼリー、液体（飲料）などが挙げられる。これら食品は、様々な食品材料を適宜使用して製造することができる。食品材料の具体例は、米、小麦、トウモロコシ、ジャガイモ、スイートポテト、大豆粉、海藻粉、水飴、乳糖、グルコース、果糖、スクロース、マンニトールなどであり、これらを単独または適宜組み合わせて使用することができる。必要に応じて水などの使用により所望の形状にすることができる。さらに、香味料、着色料、甘味料、食用油、ビタミン類などを適宜添加することもできる。

【0044】

【実施例】

以下に本発明の実施例を示す。本発明は、これら実施例に何ら限定されるものではない。

【0045】

<実施例1>

セイヒ (*Citrus unshiu* の未熟果皮) の乾燥果皮 500 g を、常法により 90 (V/V) % エタノールで抽出し、濾過後減圧濃縮することにより、残渣 28.2 g を得た。さらに、これを酢酸エチル - 水で分液し、酢酸エチル層を減圧濃縮して、11.6 g のセイヒ抽出物を得た。

【0046】

このセイヒ抽出物をシリカゲルクロマトグラフィー（溶離液；酢酸エチル : n - ヘキサン (1 : 1)）にかけ、HPLC（溶離液：A . 2 % 酢酸水溶液、B . アセトニトリル、流速 1.0 mL / 分、A : B = 85 % : 15 % で 5 分間溶離液を流した後、30 分かけて A : B = 85 % : 15 % A : B = 40 % : 60 % の濃度勾配となるように溶離液を流した。検出：UV 340 nm）により分取を行なった。リテンションタイム 28.5 分と 30.5 分に得られた分画を濃縮乾固した後、ジエチルエーテルで結晶化して、結晶性の物質 (1) および (2) を得た。常法により測定した物質 (1) の融点は 137 ~ 138 であった。また、物質 (1) の ¹³C - NMR および ¹H - NMR の測定結果を表 1 に示す。

【0047】

【表 1】

10

20

30

40

物質(1)のNMRスペクトル	
^{13}C , δ (ppm)	^1H , δ (ppm)
55.6 (OMe)、55.7 (OMe)、61.4 (OMe)、61.5 (OMe)、61.8 (Ome)、61.9 (OMe)、106.8 (CH)、108.9 (CH)、111.1 (CH)、114.3 (C)、119.3 (C)、123.1 (C)、137.7 (C)、143.5 (C)、147.5 (C)、149.0 (C)、150.9 (C)、151.7 (C)、160.7 (C)、175.8 (C=O)	3.77 (s, 3H)、3.83 (s, 3H)、3.84 (s, 3H)、3.87 (s, 3H)、3.96 (s, 3H)、4.01 (s, 3H)、6.85 (s, 1H)、7.15 (d, J=8.6Hz, 1H)、7.53 (d, J=2.1Hz, 1H)、7.64 (dd, J=2.1, 8.6Hz, 1H)

10

【0048】

他方、常法により測定した物質(2)の融点は、156～157であった。また、物資Bの ^{13}C -NMRおよび ^1H -NMRの測定結果を表2に示す。

【0049】

20

【表2】

物質(2)のNMRスペクトル	
^{13}C , δ (ppm)	^1H , δ (ppm)
55.5 (OMe)、61.6 (OMe)、61.8 (OMe)、62.0 (OMe)、62.2 (Ome)、106.7 (CH)、114.5 (CHx2)、114.9 (C)、123.8 (C)、127.7 (CHx2)、138.1 (C)、144.1 (C)、147.7 (C)、148.4 (C)、151.3 (C)、161.2 (C)、162.3 (C)、176.8 (C=O)	3.88 (s, 3H)、3.94 (s, 3H)、4.02 (s, 3H)、4.09 (s, 3H)、6.59 (s, 1H)、7.01 (d, J=8.8Hz, 2H)、7.86 (d, J=8.8Hz, 2H)

30

【0050】

これら物質(1)および(2)の測定値を文献(J. Agric. Food. Chem. 1997, 45, 364-368)に記載の数値と比較して、得られた物質(1)がノビレチンであり、かつ物質(2)がタンゲレチンであることを確認した。

40

【0051】

確認後、このようにして得られた抽出物を試験物質A(神経突起伸長剤)としてそのまま使用した。

【0052】

次いで、ラット副腎髓質褐色細胞腫由来の細胞株PC12細胞を、トランスフェリン5μg/m1、インスリン5μg/m1およびプロゲステロン20nMの割合で含有する無血清D MEM/F12培地(GIBCO社、以後D MEM-TIP培地と省略する。)に、 2.0×10^4 セル/穴(平底24ウェルコラーゲンコートプレート、IWAKI社製)となるように播種し、37、5%のCO₂条件下で一晩培養した。

【0053】

50

その後、上記 P C 1 2 細胞を、培地から除去しそして $10 \mu g / m l$ の上記試験物質 A を含有する D E M E M - T I P 培地に移して、さらに 3 日間培養を行なった。

【 0 0 5 4 】

3 日間の培養後、プレートの各穴について細胞を 200 倍の倍率で顕微鏡観察し、総数 200 以上の細胞のうち、神経突起が伸びている細胞（細胞の直径よりも長い突起を出している細胞）の割合を百分率で算出した。結果を表 3 に示す。

【 0 0 5 5 】

< 実施例 2 >

P C 1 2 細胞を、 $50 \mu g / m l$ の試験物質 A を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。

10

【 0 0 5 6 】

< 実施例 3 >

ヒラミレモン (*Citrus depressa*) の乾燥果皮 500 g を、常法により 90 (V/V) % エタノールで抽出し、濾過後減圧濃縮することにより、19.6 g の残渣を得た。次いで、これを酢酸エチル - 水で分液し、酢酸エチル層を減圧濃縮して、8.5 g のヒラミレモン抽出物を得た。

【 0 0 5 7 】

このヒラミレモン抽出物について、H P L C (溶離液：A . 2 % 酢酸水溶液、B . アセトニトリル、流速 1 mL / 分、A : B = 85 % : 15 % で 5 分間溶離液を流した後、30 分かけて A : B = 85 % : 15 % → A : B = 40 % : 60 % の濃度勾配となるように溶離液を流した。検出：U V 340 nm) にて分析したところ、ノビレチン (リテンションタイム : 28.2 分) およびタンゲレチン (リテンションタイム : 30.5 分) に相当するピークが認められた。

20

【 0 0 5 8 】

試験物質 A の代りに、このヒラミレモン抽出物を試験物質 B としてそのまま使用し、そして P C 1 2 細胞を、 $10 \mu g / m l$ の試験物質 B を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。

【 0 0 5 9 】

30

< 実施例 4 >

P C 1 2 細胞を、 $50 \mu g / m l$ の試験物質 B を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 3 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。

【 0 0 6 0 】

< 実施例 5 >

トウヒ (*Citrus aurantium*) 乾燥果皮 500 g を、常法により 90 (V/V) % エタノールで抽出し、濾過後減圧濃縮することにより、18.5 g の残渣を得た。次いで、これを酢酸エチル - 水で分液し、酢酸エチル層を減圧濃縮して、7.2 g のトウヒ抽出物を得た。

40

【 0 0 6 1 】

このトウヒ抽出物について、H P L C (溶離液：A . 2 % 酢酸水溶液、B . アセトニトリル、流速 1 mL / 分、A : B = 85 % : 15 % で 5 分間溶離液を流した後、30 分かけて A : B = 85 % : 15 % → A : B = 40 % : 60 % の濃度勾配となるように溶離液を流した。検出：U V 340 nm) にて分析したところ、ノビレチン (リテンションタイム : 28.2 分) およびタンゲレチン (リテンションタイム : 30.5 分) に相当するピークが認められた。

【 0 0 6 2 】

試験物質 A の代りに、このトウヒ抽出物を試験物質 C としてそのまま使用し、そして P C 1 2 細胞を、 $10 \mu g / m l$ の試験物質 C を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこ

50

と以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。

【 0 0 6 3 】

< 実施例 6 >

P C 1 2 細胞を、 5 0 μ g / m l の試験物質 C を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 5 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。

【 0 0 6 4 】

< 実施例 7 >

試験物質 A の代りに、実施例 1 で得られたノビレチンを試験物質 D としてそのまま使用し、そして P C 1 2 細胞を、 1 0 μ M の試験物質 D を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。 10

【 0 0 6 5 】

< 実施例 8 >

試験物質 A の代りに、実施例 1 で得られたノビレチンを試験物質 D としてそのまま使用し、そして P C 1 2 細胞を、 5 0 μ M の試験物質 D を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。

【 0 0 6 6 】

< 実施例 9 >

試験物質 A の代りに、実施例 1 で得られたノビレチンを試験物質 D としてそのまま使用し、そして P C 1 2 細胞を、 1 0 0 μ M の試験物質 D を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。 20

【 0 0 6 7 】

< 実施例 1 0 >

試験物質 A の代りに、実施例 1 で得られたタンゲレチンを試験物質 E としてそのまま使用し、そして P C 1 2 細胞を、 1 0 μ M の試験物質 E を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。 30

【 0 0 6 8 】

< 実施例 1 1 >

試験物質 A の代りに、実施例 1 で得られたタンゲレチンを試験物質 E としてそのまま使用し、そして P C 1 2 細胞を、 1 0 0 μ M の試験物質 E を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。

【 0 0 6 9 】

< 比較例 1 >

P C 1 2 細胞を、実施例 1 の試験物質 A を含有しない D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。この場合をコントロールとした。結果を表 3 に示す。 40

【 0 0 7 0 】

< 比較例 2 >

試験物質 A の代りに、神経突起伸長作用を有することが報告されているジブチルサイクリック AMP (N e r o c h e m . I n t . 3 3 , 5 0 3 , 1 9 9 9) を試験物質 F としてそのまま使用し、そして P C 1 2 紡維を、 1 0 0 μ M の試験物質 F を含有する D E M E M - T I P 培地に移したこと以外は、実施例 1 と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表 3 に示す。

【 0 0 7 1 】

50

<比較例3>

試験物質Aの代りに、神経突起伸長作用を有することが報告されているイソブチルメチルキサンチン(J . N e r o b i o l . 1 9 (8) , 6 8 1 , 1 9 8 8)を試験物質Gとしてそのまま使用し、そしてPC12細胞を、100 μMの試験物質Gを含有するDEME-M-TIP培地に移したこと以外は、実施例1と同様にして神経突起が伸びている細胞の割合を算出した。結果を表3に示す。

【0072】

【表3】

	試験物質中の有効成分	培地中の本発明の神経突起伸長剤の濃度	神経突起が伸長した細胞の割合 (%)	コントロール(比較例1)に対する伸長した細胞の割合の相対値 ¹⁾
実施例1	セイヒ抽出物	10 μg/mL	10.2	2.9
実施例2	セイヒ抽出物	50 μg/mL	18.6	5.3
実施例3	ヒラミレモン抽出物	10 μg/mL	7.5	2.1
実施例4	ヒラミレモン抽出物	50 μg/mL	16.8	4.8
実施例5	トウヒ抽出物	10 μg/mL	7.1	2.0
実施例6	トウヒ抽出物	50 μg/mL	15.9	4.5
実施例7	ノビレチン	10 μM	8.7	2.5
実施例8	ノビレチン	50 μM	16.6	4.7
実施例9	ノビレチン	100 μM	42.8	12.2
実施例10	タンゲレチン	10 μM	4.8	1.4
実施例11	タンゲレチン	100 μM	12.2	3.5
比較例1	なし(コントロール)	—	3.5	1.0
比較例2	ジブチルサイクリックAMP	100 μM	11.6	3.3
比較例3	イソブチルメチルキサンチン	100 μM	11.8	3.4

1) 相対値は、「伸長した細胞の割合」をコントロール(比較例1)値で除して表す。

【0073】

表3に示されるように、比較例1のコントロールと比較して、実施例1~11で得られた試験物質A~Gは、いずれも細胞に対して優れた神経突起の伸長作用を有する。また、実施例1~11の結果によれば、細胞に対して添加される試験物質の濃度が高いほど、神経突起伸長作用も大きい。このことから、実施例1~11で得られた試験物質A~Gはいずれも優れた神経突起伸長剤として有用であることがわかる。

【0074】

<実施例12：食品の製造>

実施例1で得た試験物質A(セイヒ抽出物)を用いて、以下の組成を有する食品を調製した。

【0075】

【表4】

10

20

30

40

成分	重量 (kg)	
セイヒ抽出物	2.0	
大豆サポニン	2.0	
黒酢エキス	2.0	
リンゴファイバー	2.0	
レシチン	1.0	
フラクトオリゴ糖	2.0	
果糖	1.0	10
粉末酢	0.1	
シクロデキストリン	1.0	
蜂蜜	1.0	
骨粉	1.0	
デキストリン	4.9	

【0076】

各成分を流動造粒機中で混合した後、水を噴霧して造粒を行ない、入風温度 80 で乾燥した。

20

【0077】

<実施例 13：硬ゼラチンカプセルの製造>

実施例 3 で得られた試験物質 C (ヒラミレモン抽出物) を用いて以下の硬ゼラチンカプセルを調製した。

【0078】

【表 5】

成分	量 (mg / カプセル)	
ヒラミレモン抽出物	250	
デンプン	100	
セルロース	100	
ステアリン酸マグネシウム	10	
合計	460 mg	30

【0079】

<実施例 14：錠剤の製造>

実施例 7 に記載の試験物質 D (ノビレチン) を用いて以下の錠剤を調製した。

【0080】

【表 6】

成分	量 (mg / 錠剤)	
ノビレチン	250	
セルロース	400	
二酸化ケイ素	10	
ステアリン酸	5	
合計	665 mg	40

【0081】

50

【発明の効果】

本発明によれば、細胞に対して、安全性が高くかつ優れた神経突起伸長作用を提供することができる。特に、ポリアルコキシフラボノイドであるノビレチンまたはタンゲレチンを有効成分として含有させることが有用である。本発明の神経突起伸長剤は、医薬品、医薬部外品または食品組成物として使用することができ、アルツハイマー型痴呆症、脳虚血病態などの神経変性疾患の予防および／または治療に有用である。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5
C 0 7 D 311/30 (2006.01)	C 0 7 D 311/30

(72)発明者 宮崎 寿次
兵庫県神戸市西区室谷2丁目2番3号 長瀬産業株式会社研究開発センター内

審査官 岡部 佐知子

(56)参考文献 特表2003-532634 (JP, A)
特開平05-078384 (JP, A)
Planta Medica, 1982年, vol.46, p.162-166
Journal of Neurobiology, 1988年, vol.19, No.8, 681-693

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/352

A23L 1/30

A61K 35/78

A61P 9/10

A61P 25/00

A61P 25/28

A61P 43/00

C07D 311/30

WPI

CAplus(STN)

MEDLINE(STN)

BIOSIS(STN)

EMBASE(STN)