

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6961237号
(P6961237)

(45) 発行日 令和3年11月5日 (2021.11.5)

(24) 登録日 令和3年10月15日 (2021.10.15)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K	35/748	(2015.01)	A 6 1 K	35/748
A 6 1 K	36/04	(2006.01)	A 6 1 K	36/04
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P	3/04
A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	3/08	(2006.01)	A 6 1 P	3/08

請求項の数 3 (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-193379 (P2018-193379)
 (22) 出願日 平成30年10月12日 (2018.10.12)
 (65) 公開番号 特開2020-59684 (P2020-59684A)
 (43) 公開日 令和2年4月16日 (2020.4.16)
 審査請求日 令和2年5月18日 (2020.5.18)

(73) 特許権者 593206964
 マイクロアルジェコーポレーション株式会
 社
 岐阜県岐阜市曙町4-15
 (74) 代理人 100105957
 弁理士 恩田 誠
 (74) 代理人 100068755
 弁理士 恩田 博宣
 (72) 発明者 小嶋 文博
 岩手県盛岡市長橋町18-46
 (72) 発明者 竹中 裕行
 岐阜県岐阜市曙町4-15 MAC総合研
 究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脳由来神経栄養因子発現促進用組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

脳由来神経栄養因子の発現を促進する脳由来神経栄養因子発現促進用組成物であって、
ポルフィリディウム・プルプレウム (Porphyridium purpureum)、ノストコプシス・ロ
バツス (Nostochopsis lobatus)、ノストック・コミュニネ (Nostoc commune)、ノスト
ック・フラジリフォルメ (Nostoc flagelliforme) から選ばれる藻体の抽出物を有効成分
 として含有することを特徴とする脳由来神経栄養因子発現促進用組成物。

【請求項2】

前記抽出物は、有機溶媒、又は有機溶媒と水との混合溶媒を抽出溶媒とする抽出物であ
 ることを特徴とする請求項1に記載の脳由来神経栄養因子発現促進用組成物。

【請求項3】

前記藻体は、ポルフィリディウム・プルプレウム (Porphyridium purpureum)、ノスト
ック・コミュニネ (Nostoc commune)、ノストック・フラジリフォルメ (Nostoc flagell
iforme) から選ばれる藻体であることを特徴とする請求項1又は請求項2に記載の脳由来
 神経栄養因子発現促進用組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、脳由来神経栄養因子発現促進用組成物に関する。以下、脳由来神経栄養因子
 発現促進用組成物を脳由来神経栄養因子促進用組成物と記載する。

10

20

【背景技術】

【0002】

非特許文献1に記載されるように、脳由来神経栄養因子（Brain-derived neurotrophic factor）は、神経系前駆細胞の分化と成長、神経突起の伸展促進を司る神経栄養因子である。脳由来神経栄養因子が脳内で増加すると、記憶力の向上、うつ病の予防及び改善、糖・脂質代謝の改善、食欲の抑制、脳卒中による脳傷害及び後遺症の低減、慢性疼痛の抑制、脳卒中後の運動機能の回復促進等の機能又は生存能の増強が生じる。脳由来神経栄養因子の発現を促進する物質としては、例えば、副腎髄質より分泌されるホルモンであるエピネフリンが知られている。

【先行技術文献】

10

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】洛和会病院医学雑誌 Vol. 28 : 7 - 24 , 2017

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、本研究者らによる鋭意研究の結果、特定の藻体に含まれる成分が、脳由来神経栄養因子の発現を促進する作用を発揮することを新たに見出したことに基づいてなされたものである。本発明の目的は、新規な脳由来神経栄養因子促進用組成物を提供することにある。

20

【課題を解決するための手段】

【0005】

上記課題を解決する脳由来神経栄養因子促進用組成物は、脳由来神経栄養因子の発現を促進する脳由来神経栄養因子促進用組成物であって、珪藻綱羽状目、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属、藍藻綱スチゴネマ目ノストコプシス属、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属、トレボウクシア藻綱クロレラ目クロレラ属に属する藻体の抽出物を有効成分として含有する。

【0006】

上記神経成長因子促進用組成物において、前記抽出物は、有機溶媒、又は有機溶媒と水との混合溶媒を抽出溶媒とする抽出物であることが好ましい。

30

上記脳由来神経栄養因子促進用組成物において、前記藻体は、珪藻綱羽状目、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属に属する藻体であることが好ましい。

【発明の効果】

【0007】

本発明によれば、新規な脳由来神経栄養因子促進用組成物が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1】藻体の種類とBDNF（脳由来神経栄養因子）産生量との関係を示すグラフ。

【発明を実施するための形態】

40

【0009】

以下、本発明の脳由来神経栄養因子促進用組成物について説明する。以下では、脳由来神経栄養因子を「BDNF」と記載するとともに、脳由来神経栄養因子促進用組成物を「BDNF促進用組成物」と記載する。

【0010】

BDNF促進用組成物は、珪藻綱羽状目、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属、藍藻綱スチゴネマ目ノストコプシス属、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属、トレボウクシア藻綱クロレラ目クロレラ属に属する藻体（以下、特定藻体と記載する。）の抽出物、又は特定藻体のジメチルスルホキシド可溶性成分を有効成分として含有する。

【0011】

50

特定藻体のなかでも、珪藻綱羽状目、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属に属する藻体を用いることが好ましい。

珪藻綱羽状目に属する藻体としては、例えば、ニッチア科ニッチア属のニッチア・フィリフォルミス (*Nitzschia filiformis*)、ニッチア・フルツルム (*Nitzschia frustulum*)、ニッチア・リビデンシス (*Nitzschia levidensis*)、ニッチア・スケルペリフォルミス (*Nitzschia scalpeliformis*)、ニッチア・マルチアナ (*Nitzschia martiana*)、ニッチア・パンゲンス (*Nitzschia pungens*)、ニッチア・テヌイアルキュアタ (*Nitzschia tenuiarcuata*)、プセウドニッチア属のプセウドニッチア・マルチストリアタ (*Pseudo-nitzschia multistriata*)、フェオダクチラム属のフェオダクチラム・トリコヌタム (*Phaeodutylum triconutum*) が挙げられる。

10

【 0 0 1 2 】

原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属に属する藻体としては、例えば、ポルフィリディウム・プルプレウム (*Porphyridium purpureum*)、ポルフィリディウム・エルギネウム (*Porphyridium aerugineum*)、ポルフィリディウム・ソルディダム (*Porphyridium sordidum*) が挙げられる。

【 0 0 1 3 】

藍藻綱スチゴネマ目ノストコブシス属に属する藻体としては、例えば、ノストコブシス・ロバツス (*Nostochopsis lobatus*)、ノストコブシス・ウィチマンニ (*Nostochopsis wichmannii*) が挙げられる。

【 0 0 1 4 】

20

藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属に属する藻体としては、例えば、ノストック・コミュニネ (*Nostoc commune*)、ノストック・フラジリフォルメ (*Nostoc flagelliforme*)、ノストック・スファエリコム (*Nostoc sphaericum*)、ノストック・ヴェルコスム (*Nostoc verrucosum*)、ノストック・リンキア (*Nostoc linckia*)、ノストック・ムスコラム (*Nostoc muscorum*)、ノストック・パンクチフォルメ (*Nostoc punctiforme*) が挙げられる。

【 0 0 1 5 】

トレボウクシア藻綱クロレラ目クロレラ属に属する藻体としては、例えば、クロレラ・ピレノイドサ (*Chlorella pyrenoidosa*)、クロレラ・ソロキニアナ (*Chlorella sorokiniana*)、クロレラ・ロボフォラ (*Chlorella lobophora*) が挙げられる。

30

【 0 0 1 6 】

特定藻体は、天然に自生する藻体であってもよいし、人工的に培養した藻体であってもよい。なお、安定供給が可能である点や品質保持が容易である点から、人工的に培養した藻体を用いることが工業的に好適である。

【 0 0 1 7 】

B D N F 促進用組成物における特定藻体の配合形態は、特に限定されるものではなく、例えば、採取したままの状態、採取後に破碎処理した状態、採取後に乾燥処理した状態、採取後に破碎処理及び乾燥処理した状態のいずれの状態であってもよい。また、特定藻体は、抽出物の状態で配合されていてもよい。

【 0 0 1 8 】

40

特定藻体から上記抽出物を抽出するための抽出溶媒としては、例えば、有機溶媒、及び有機溶媒と水との混合溶媒を用いることができる。上記有機溶媒としては、例えば、炭素数が 1 ~ 5 の低級アルコール、酢酸メチル、酢酸エチル、ヘキサン、シクロヘキサン、ジメチルスルホキシド、アセトニトリル、アセトン、グリセリン、プロピレングリコール、ジメチルエーテル、ジエチルエーテル、ジクロロメタンが挙げられる。低級アルコールとしては、例えば、メタノール、エタノール、1 - プロパノール、2 - プロパノール (イソプロパノール)、1 - ブタノール、2 - ブタノールが挙げられる。

【 0 0 1 9 】

また、有機溶媒としては、単独種を用いてもよいし、複数種を混合した混合溶媒を用いてもよい。抽出溶媒として水と有機溶媒の混合溶媒を用いる場合には、混合溶媒中にお

50

る有機溶媒の含有量は、好ましくは50体積%以上、より好ましくは80体積%以上である。また、抽出溶媒中に、添加剤、例えば、有機塩、無機塩、緩衝剤、及び乳化剤等が溶解されていてもよい。

【0020】

特定藻体から抽出物を抽出する抽出方法としては、公知の抽出方法、例えば冷却抽出、常温抽出、及び加熱抽出のいずれの方法を用いてもよい。また、抽出温度は溶媒の種類、抽出効率、成分の劣化等に応じ適宜設定することができる。

【0021】

抽出操作としては、抽出溶媒中に原料である特定藻体を所定時間浸漬させることにより行われる。その際、抽出溶媒中における特定藻体の濃度は、抽出溶媒の種類、抽出効率、抽出後の濃縮処理の効率等に応じ適宜設定することができる。こうした抽出操作において、抽出効率を高めるべく、必要に応じて攪拌処理、加圧処理、及び超音波処理等の処理をさらに行ってもよい。

【0022】

また、抽出操作は同一の特定藻体に対して一回のみ行ってもよいし、複数回繰り返して行ってもよい。そして、抽出操作の後に固液分離操作が行われることで、抽出液（抽出物）と特定藻体の残渣とを分離する。固液分離操作の方法としては、例えばろ過や遠心分離等の公知の分離法を用いることができる。また、得られた抽出液（抽出物）は、必要に応じて濃縮又は乾燥処理を行ってもよい。

【0023】

次に、BDNF促進用組成物の作用について説明する。

BDNF促進用組成物に含有される特定藻体の抽出物、又は特定藻体のジメチルスルホキシド可溶性成分は、生体内におけるBDNFの発現を促進する作用を有する。

【0024】

ここで、BDNFは、神経系前駆細胞の分化と成長、神経突起の伸展促進を司る神経栄養因子である。BDNFが脳内で増加すると、うつ病の予防及び改善、糖・脂質代謝の改善、食欲の抑制、脳卒中による脳傷害及び後遺症の低減、慢性疼痛の抑制、脳卒中後の運動機能の回復促進等の機能又は生存能の増強が生じる。

【0025】

したがって、BDNF促進用組成物は、BDNFの発現を促進させる用途、例えば、うつ病の予防及び改善、糖・脂質代謝の改善、食欲の抑制、脳卒中による脳傷害及び後遺症の低減、慢性疼痛の抑制、脳卒中後の運動機能の回復促進を目的とした用途に適用できる。そして、BDNF促進用組成物は、飲食品、医薬品、医薬部外品、実験用・研究用試薬として適用できる。

【0026】

飲食品としては、例えば、各種飲料類（果汁又は野菜汁入り飲料、清涼飲料、ミネラル飲料、スポーツドリンク、茶類飲料、コーヒー、炭酸飲料、牛乳やヨーグルト等の乳製品等）、ゼリー状食品（ゼリー、寒天、ゼリー状飲料等）、カプセル（ソフトカプセル、ハードカプセル）、各種菓子類が挙げられる。飲食品には、ペクチンやカラギーナンなどのゲル化剤、グルコース、ショ糖、果糖、乳糖、ステビア、アスパルテーム、糖アルコール等の糖類・甘味料、香料等の食品添加剤、植物性油脂及び動物性油脂等の油脂等を適宜含有させることができる。また、飲食品の用途としては、特に限定されず、いわゆる一般食品、健康食品、機能性食品、栄養機能食品、栄養補助食品、サプリメント、特定保健用食品、機能性表示食品、病者用食品として適用することができる。

【0027】

医薬品、医薬部外品として使用する場合は投与方法は特に限定されるものではない。具体的な投与方法としては、例えば、服用（経口摂取）による投与、血管内投与、経腸投与、経皮投与、腹腔内投与が挙げられる。また、医薬品、医薬部外品として使用する場合は剤形は特に限定されるものではない。具体的な剤形としては、例えば、散剤、粉剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、丸剤、坐剤、液剤、注射剤が挙げられる。また、添加剤として、

10

20

30

40

50

例えば、賦形剤、基剤、乳化剤、溶剤、安定剤等を含育してもよい。

【0028】

次に、BDNF促進用組成物の効果について説明する。

(1) BDNF促進用組成物は、特定藻体の抽出物、又は特定藻体のジメチルスルホキシド可溶性成分を有効成分として含有する。

【0029】

上記構成によれば、生体内におけるBDNFの発現を促進する効果が得られる。

(2) 特定藻体は、珪藻綱羽状目、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属に属する藻体であることが好ましい。

【0030】

この場合には、生体内におけるBDNFの発現を促進する効果が更に顕著に得られる。

なお、本実施形態は、以下のように変更して実施することができる。本実施形態及び以下の変更例は、技術的に矛盾しない範囲で互いに組み合わせて実施することができる。

【0031】

・BDNF促進用組成物は、目的とする作用を損なわない範囲において、他の成分を含有していてもよい。

・BDNF促進用組成物の摂取量及び摂取期間は、特に限定されず、摂取者の身体機能の状態、年齢、性別、及びその他の条件を考慮し、適宜、決定される。

【0032】

・BDNF促進用組成物は、ヒトを対象として適用することができるのみならず、家畜等の飼養動物に対する飼料、薬剤等に適用してもよい。

次に、上記実施形態及び変更例から把握できる技術的思想について記載する。

【0033】

(イ) 脳由来神経栄養因子の発現を促進する脳由来神経栄養因子促進用組成物であって、珪藻綱羽状目、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属、藍藻綱スチゴネマ目ノストコプシス属、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属、トレボウクシア藻綱クロレラ目クロレラ属に属する藻体に含まれるジメチルスルホキシド可溶性成分を有効成分として含有することを特徴とする脳由来神経栄養因子促進用組成物。

【0034】

(ロ) 珪藻綱羽状目、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属、藍藻綱スチゴネマ目ノストコプシス属、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属、トレボウクシア藻綱クロレラ目クロレラ属に属する藻体に対して、有機溶媒、又は有機溶媒と水との混合溶媒を用いて抽出処理を行う抽出工程を有する脳由来神経栄養因子促進用組成物の製造方法。

【実施例】

【0035】

(藻体試料液の調製)

表1の藻体欄に示す藻体の乾燥粉体0.0106gにジメチルスルホキシド1000μlを添加し、5分間、バルテックスミキサーで攪拌した後、遠心分離処理(3000rpm、5分間)を行った。処理後の上清を0.22μmのフィルターを用いて濾過滅菌し、これを試験例1～12の藻体試料液とした。

【0036】

(BDNF産生試験)

マウス由来3T3-L1(マウス線維芽細胞JCRB9014)細胞を、0.5%牛血清アルブミン(プロテアーゼフリー)を含んだダルベッコ変法イーグル培地を用いて培養した。24時間後、培地交換を行うとともに試験例の藻体試料液を5μl/mlの濃度となるように培地中に添加し、培養を継続した。24時間後、培地を回収し、遠心分離処理(5200×g、15分間)を行った。処理後の上清を回収した。

【0037】

対照例1として、藻体試料液に代えて、ジメチルスルホキシドを5μl/mlの濃度となるように培地中に添加して同様の処理を行い、上清を回収した。また、対照例2として

10

20

30

40

50

、藻体試料液に代えて、BDNFの発現を促進する物質であるエピネフリンを30 µg / mlの濃度となるように培地中に添加して同様の処理を行い、上清を回収した。

【0038】

得られた上清に含まれるBDNF量(BDNF産生量)を市販の測定キット(プロメガ社製BDNF Emax ImmunoAssay System)を用いて測定した。その結果を表1のBDNF産生量欄及び図1のグラフに示す。そして、各試験例の藻体試料液のBDNF発現を促進する作用について評価した。その結果を表1の評価欄に示す。表1の評価欄では、対照例1よりもBDNF産生量が多く、かつ対照例1のBDNF産生量との間に有意差がある場合(p値が0.05未満)を「○」、それ以外の場合を「×」で示している。

【0039】

【表1】

	藻体	BDNF産生量(pg/ml)	評価
対照例1	なし	12.5	-
対照例2	エピネフリン(30 µg/ml)	44.2	-
試験例1	羽状目珪藻	39.98	○
試験例2	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	12.74	×
試験例3	<i>Pleurochrysis carterae</i>	8.66	×
試験例4	<i>Porphyridium purpureum</i>	35.24	○
試験例5	<i>Desmodesmus</i> sp.	13.2	×
試験例6	<i>Euglena</i> sp.	3.42	×
試験例7	<i>Coelastrum</i> sp.	3.82	×
試験例8	<i>Nostochopsis lobatus</i>	16.12	○
試験例9	<i>Nostoc commune</i>	35.96	○
試験例10	<i>Nostoc flagelliforme</i>	33.9	○
試験例11	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	18.41	○
試験例12	<i>Spirulina platensis</i>	5.59	×

珪藻綱羽状目の藻体(試験例1)、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属の藻体(試験例4)、藍藻綱スチゴネマ目ノストコプシス属の藻体(試験例8)、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属の藻体(試験例9~10)、トレボウクシア藻綱クロレラ目クロレラ属の藻体(試験例11)の藻体試料液は、エピネフリンと同様にBDNFの発現を促進する作用を示した。

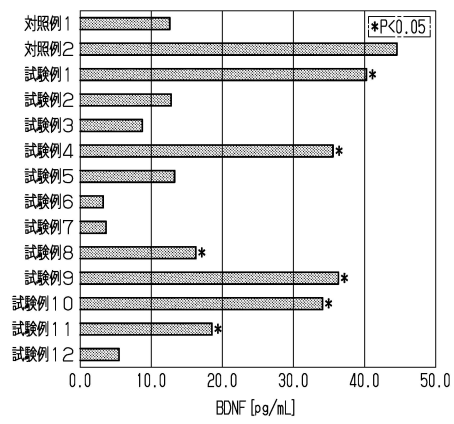
【0040】

特に、珪藻綱羽状目の藻体(試験例1)、原始紅藻綱チノリモ目チノリモ属の藻体(試験例4)、藍藻綱ネンジュモ目ネンジュモ属の藻体(試験例9~10)の藻体試料液は、より顕著にBDNFの発現を促進する作用を示した。

【0041】

一方、緑藻綱オオヒゲマワリ目デュナリエラ属の藻体(試験例2)、ハプト藻綱円石藻目プレウロクリシス属の藻体(試験例3)、緑藻綱ヨコワミドロ目デスマデスムス属の藻体(試験例5)、ミドリムシ藻綱ミドリムシ目ミドリムシ属の藻体(試験例6)、緑藻綱ヨコワミドロ目コエラストルム属の藻体(試験例7)、藍藻綱ユレモ目アルスロスピラ属の藻体(試験例12)の藻体試料液は、BDNFの発現を促進する作用を示さなかった。

【図 1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/24	(2006.01)	A 6 1 P	25/24	
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 2 3 L	33/105	(2016.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 K	36/02	(2006.01)	A 2 3 L	33/105	
A 6 1 K	36/05	(2006.01)	A 6 1 K	36/02	
			A 6 1 K	36/05	

(72)発明者 山口 裕司
岐阜県岐阜市曙町4 - 1 5 MAC総合研究所内

(72)発明者 榊 節子
岐阜県岐阜市曙町4 - 1 5 MAC総合研究所内

審査官 原口 美和

(56)参考文献 特開2001 - 322935 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 5 / 7 4 8
A 6 1 P 4 3 / 0 0
A 6 1 P 2 5 / 0 0
A 6 1 P 2 5 / 2 4
A 6 1 P 3 / 1 0
A 6 1 P 3 / 0 6
A 6 1 P 3 / 0 4
A 6 1 P 2 5 / 0 4
A 6 1 P 2 5 / 0 2
A 6 1 K 3 6 / 0 2
A 6 1 K 3 6 / 0 4
A 6 1 K 3 6 / 0 5
A 2 3 L 3 3 / 1 0 5
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)