(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
2024年10月31日(31.10.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/225320 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 36/15 (2006.01) *A61P 17/14* (2006.01)
A23L 33/105 (2016.01) *A61P 25/24* (2006.01)
A61K 8/9767 (2017.01) *A61Q 7/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2024/016081

(22) 国際出願日： 2024年4月24日(24.04.2024)

(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 2023-075024 2023年4月28日(28.04.2023) JP

(71) 出願人: ＭＥＤ Ｒ＆Ｄ株式会社(**MED R&D CO. LTD**) [JP/JP]; 〒3058572 茨城県つくば市天王台一丁目１番１ 筑波大学ＡＲＥＮＡ内 Ibaraki (JP). 荒川化学工業株式会社(**ARAKAWA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.**) [JP/JP]; 〒5410046 大阪府大阪市中央区平野町１丁目３番７号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 礒田 博子(**ISODA Hiroko**); 〒3058577 茨城県つくば市天王台一丁目１番１ 国立大学法人筑波大学内 Ibaraki (JP). 小川 岩橋 寿子(**OGAWA IWAHASHI Hisako**); 〒3002611 茨城県つくば市大久保５番地 荒川化学工業株式会社 筑波研究所内 Ibaraki (JP). 藤岡 大輔(**FUJIOKA Daisuke**); 〒3002611 茨城県つくば市大久保５番地 荒川化学工業株式会社 筑波研究所内 Ibaraki (JP). ▲高▼橋 浩司(**TAKAHASHI Koji**); 〒3002611 茨城県つくば市大久保５番地 荒川化学工業株式会社 筑波研究所内 Ibaraki (JP).

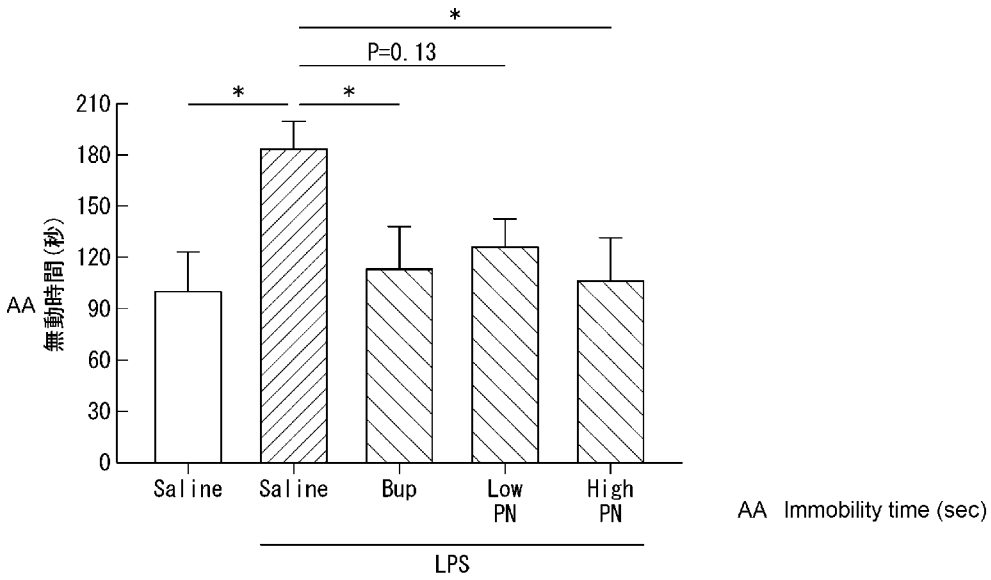
(74) 代理人: 田 ▲ 崎 ▼ 聡, 外 (**TAZAKI Akira** et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目９番２号 Tokyo (JP).

(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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,

(54) **Title:** VITALITY IMPROVING AGENT, COMPOSITION FOR IMPROVING VITALITY, AND FOOD COMPOSITION FOR IMPROVING VITALITY

(54) 発明の名称： 活力向上剤、活力向上用組成物、及び活力向上用食品組成物

［図6］



(57) **Abstract:** Provided are: a vitality improving agent that contains a pine needle extract as an active ingredient; a composition for improving vitality that contains the vitality improving agent and a pharmaceutically acceptable carrier; and a food composition for improving vitality that contains the vitality improving agent.

(57) 要約：松葉抽出物を有効成分とする、活力向上剤；前記活力向上剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、活力向上用組成物；並びに、前記活力向上剤を含む、活力向上用食品組成物。

［続葉有］

WO 2024/225320 A1

EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一　国際調査報告(条約第21条(3))

明　細　書

発明の名称 ：

活力向上剤、活力向上用組成物、及び活力向上用食品組成物

技術分野

[0001] 本発明は、活力向上剤、活力向上用組成物、及び活力向上用食品組成物に関する。本願は、２０２３年４月２８日に、日本に出願された特願２０２３－０７５０２４号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 加齢に伴い、様々な活力が低下する。例えば、加齢に伴い、頭部の脱毛、神経機能調節機能の低下、認知機能の低下が生じる。また、加齢に伴い、うつ症状も生じるといわれている。

[0003] 頭部の脱毛は、加齢等の様々な原因によって生じる症状である。脱毛自体は危険な症状ではないものの、頭部の脱毛が外見に与える重要性を考慮すると、個人の生活の質に大きな影響を与え得る。このため、脱毛に対する種々の治療方法が研究されている。

[0004] 現在利用可能な脱毛症の治療方法として、合成化学成分を用いた方法が主に知られている。例えば、アメリカ食品医薬品局（ＦＤＡ）により、脱毛症の治療剤として、「ミノキシジル」及び「フィナステリド」が承認されている（例えば、特許文献１、２を参照）。

[0005] また、現代は、ストレス社会とも言われており、日常的にストレスフルな生活を強いられる結果、うつ病等の精神疾患の患者数が増加し、それが大きな社会問題となっている。これらの精神疾患により、医療費の増大はもとより、経済的損失や自殺による社会的損失等、社会に与える影響は計り知れない。

[0006] 現在、ブプロピオン、ミルナシプラン、イミプラミン等の様々な抗うつ剤が開発されており、うつ病等の精神疾患者に対して処方されている（例えば、特許文献３を参照）。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：米国特許第４１３９６１９号明細書

特許文献2：米国特許出願公開第２００２／００４２４２５号明細書

特許文献3：米国特許出願公開第２００４／１２１０１０号明細書

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] しかしながら、ミノキシジル等の既存の脱毛症の治療剤の投与により、多くの重篤な副作用（インポテンス、めまい、意図しない髪の成長、脱力感、頭痛、皮膚発疹等）が生じてしまう場合がある。このため、副作用が少なく、安全であることが期待される、天然物由来の発毛剤が求められている。

[0009] また、既存の抗うつ剤の多くは人工的に合成された低分子化合物であり、吐き気、食欲不振、眠気、低血圧等の副作用が問題となっている。また、過剰摂取した場合には重度の毒性を引き起こす場合が少なくないという問題を有している。このため、副作用が少なく、安全であることが期待される、天然物由来の抗うつ剤が求められている。

[0010] このように、脱毛やうつ等に代表される、加齢等に伴う活力の低下を安全に改善する技術が求められている。そこで、本発明は、天然物由来の活力向上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

[0011] 本発明は以下の態様を含む。

［１］松葉抽出物を有効成分とする、活力向上剤。

［２］前記松葉抽出物が、水又は水とアルコールの混合液を抽出溶媒とした抽出物である、［１］に記載の活力向上剤。

［３］前記松葉抽出物が、５００～９，５００質量ｐｐｍのＤ－ピニトール及び３０～８，５００質量ｐｐｍのシキミ酸を含有する、［１］又は［２］に記載の活力向上剤。

［４］前記松葉抽出物が、実質的に樹脂酸を含有しない、［１］～［３］のいずれかに記載の活力向上剤。

［５］［１］～［４］のいずれかに記載の活力向上剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、活力向上用組成物。

［６］［１］～［４］のいずれかに記載の活力向上剤を含む、活力向上用食品組成物。

[0012] 本発明は以下の態様を含むものであるということもできる。

［Ｐ１］松葉抽出物を有効成分とする、発毛剤。

［Ｐ２］前記松葉抽出物が、アルコール又は水とアルコールの混合液を抽出溶媒とした抽出物である、［Ｐ１］に記載の発毛剤。

［Ｐ３］［Ｐ１］又は［Ｐ２］に記載の発毛剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、発毛用組成物。

［Ｐ４］松葉抽出物を有効成分とする、抗うつ剤。

［Ｐ５］前記松葉抽出物が、アルコール又は水とアルコールの混合液を抽出溶媒とした抽出物である、［Ｐ４］に記載の抗うつ剤。

［Ｐ６］［Ｐ４］又は［Ｐ５］に記載の抗うつ剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、うつ病治療用組成物。

発明の効果

[0013] 本発明によれば、天然物由来の活力向上剤を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]図１は、実験例４における細胞生存率の測定結果を示すグラフである。

[図2]図２は、実験例６におけるＣＴＮＮＢ１遺伝子の定量的リアルタイムＰＣＲの結果を示すグラフである。

[図3]図３は、実験例６におけるＡＬＰＬ遺伝子の定量的リアルタイムＰＣＲの結果を示すグラフである。

[図4]図４は、実験例６におけるＦＧＦ１遺伝子の定量的リアルタイムＰＣＲの結果を示すグラフである。

[図5]図５は、実験例８において、細胞増殖を評価した結果を示すグラフであ

る。

[図6]図６は、実験例９における尾懸垂試験の結果を示すグラフである。

[図7]図７は、実験例１０の結果を示すグラフである。

[図8]図８は、実験例１１において、高用量松葉抽出物投与群で発現変動した遺伝子群について、Ｇｅｎｅ　Ｏｎｔｏｌｏｇｙ（ＧＯ）解析を行った結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0015] ［活力向上剤］

一実施形態において、本発明は、松葉抽出物を有効成分とする、活力向上剤を提供する。実施例において後述するように、本実施形態の活力向上剤を投与することにより、ヒト又は非ヒト動物において、加齢に伴う活力低下を改善又は治療することができる。加齢に伴う活力低下としては、脱毛、うつ等が挙げられる。

[0016] 非ヒト動物としては、愛玩動物や家畜等が挙げられる。愛玩動物としては、イヌ、ネコ、ウサギ、ハムスター等が挙げられる。家畜としては、ウマ、ウシ等が挙げられる。

[0017] ［活力向上剤（発毛剤）］

本発明の活力向上剤は、ヒト又は非ヒト動物において、発毛効果を有する。非ヒト動物については、上述したものと同様である。したがって、一実施形態において、本発明は、松葉抽出物を有効成分とする、発毛剤を提供するものであるということができる。実施例において後述するように、発明者らは、松葉抽出物が、発毛促進効果を有することを明らかにした。本実施形態の発毛剤は、脱毛症の治療剤、育毛剤等といいかえることができる。

[0018] 本実施形態の発毛剤において、「有効成分とする」とは、松葉抽出物を、発毛剤としての効果を奏するのに十分な量を含むことを意味する。あるいは、松葉抽出物を主要な活性成分として含むことを意味する。発毛剤としての効果としては、例えば、発毛を促進することが挙げられる。あるいは、発毛剤の非存在下と比較して、発毛剤の存在下において、毛乳頭細胞における発

毛関連遺伝子の発現レベルを上昇させることが挙げられる。発毛関連遺伝子としては、例えば、ＣＴＮＮＢ１遺伝子（β－カテニン）、ＡＬＰＬ遺伝子（アルカリ性ホスファターゼ）、ＦＧＦ１遺伝子（Ｆｉｂｌｏｂｒａｓｔ ｇｒｏｗｔｈ ｆａｃｔｏｒ １）等が挙げられる。実施例において後述するように、本実施形態の発毛剤は、毛乳頭細胞における発毛関連遺伝子の発現レベルを有意に上昇させることができる。したがって、本実施形態の発毛剤は、ＣＴＮＮＢ１遺伝子、ＡＬＰＬ遺伝子又はＦＧＦ１遺伝子の発現促進剤であるということもできる。

[0019] 松葉抽出物の材料として使用する松葉は、マツ科マツ属に属する植物（マツ）の葉であればよい。マツの種類は特に限定されず、例えば、アカマツ（Ｐｉｎｕｓ ｄｅｎｓｉｆｌｏｒａ）、Ｐ．ｄｅｎｓａｔａ、Ｐ．ｆｒａｇｉｌｉｓｓｉｍａ、ボスニアマツ（Ｐ．ｈｅｌｄｒｅｉｃｈｉｉ）、Ｐ．ｈｅｎｒｙｉ、Ｐ．ｈｗａｎｇｓｈａｎｅｎｓｉｓ、思茅松（Ｐ．ｋｅｓｉｙａ）、リュウキュウアカマツ（Ｐ．ｌｕｃｈｕｅｎｓｉｓ Ｍａｙｒ）、馬尾松（Ｐ．ｍａｓｓｏｎｉａｎａ）、モンタナマツ（Ｐ．ｍｕｇｏ）、ヨーロッパクロマツ（Ｐ．ｎｉｇｒａ）、レジノサマツ（Ｐ．ｒｅｓｉｎｏｓａ）、セイヨウアカマツ（Ｐ．ｓｙｌｖｅｓｔｒｉｓ）、チュウゴクアカマツ（Ｐ．ｔａｂｕｌｉｆｏｒｍｉｓ）、ニイタカアカマツ（Ｐ．ｔａｉｗａｎｅｎｓｉｓ）、クロマツ（Ｐ．ｔｈｕｎｂｅｒｇｉｉ）、Ｐ．ｔｒｏｐｉｃａｌｉｓ、Ｐ．ｙｕｎｎａｎｅｎｓｉｓ、イタリアカサマツ（Ｐ．ｐｉｎｅａ）、Ｐ．ｂｒｕｔｉａ、Ｐ．ｃａｎａｒｉｅｎｓｉｓ、アレッポマツ（Ｐ．ｈａｌｅｐｅｎｓｉｓ）、Ｐ．ｌａｔｔｅｒｉ、メルクシマツ（Ｐ．ｍｅｒｋｕｓｉｉ）、フランスカイガンショウ（Ｐ．ｐｉｎａｓｔｅｒ Ａｉｔ．）、ヒマラヤマツ（Ｐ．ｒｏｘｂｕｒｇｈｉｉ）、Ｐ．ｌｅｉｏｐｈｙｌｌａ、Ｐ．ｌｕｍｈｏｌｔｚｉｉ、カリビアマツ（Ｐ．ｃａｒｉｂａｅａ）、Ｐ．ｃｕｂｅｎｓｉｓ、エキナタマツ（Ｐ．ｅｃｈｉｎａｔａ）、スラッシュマツ（Ｐ．ｅｌｌｉｏｔｔｉｉ）、モミハダマツ（Ｐ．ｇｌａｂｒａ）、Ｐ．ｏｃｃｉｄｅｎｔａｌｉｓ、大王松（Ｐ．ｐａｌｕｓｔｒｉｓ）、Ｐ

．ｐｕｎｇｅｎｓ、リギダマツ（Ｐ．ｒｉｇｉｄａ　Ｍｉｌｌ．）、ヌママツ（Ｐ．ｓｅｒｏｔｉｎａ）、テーダマツ（Ｐ．ｔａｅｄａ）、バンクスマツ（Ｐ．ｂａｎｋｓｉａｎａ）、スナチマツ（Ｐ．ｃｌａｕｓａ）、コントルタマツ（Ｐ．ｃｏｎｔｏｒｔａ）、バージニアマツ（Ｐ．ｖｉｒｇｉｎｉａｎａ）、Ｐ．ａｔｔｅｎｕａｔａ、Ｐ．ｆｏｉｓｙｉ、Ｐ．ｇｒｅｇｇｉｉ、Ｐ．ｈｅｒｒｅｒａｅ、Ｐ．ｊａｌｉｓｃａｎａ、Ｐ．ｌａｗｓｏｎｉｉ、ビショップマツ（Ｐ．ｍｕｒｉｃａｔａ）、Ｐ．ｏｏｃａｒｐａ、Ｐ．ｐａｔｕｌａ、Ｐ．ｐｒａｅｔｅｒｍｉｓｓａ、Ｐ．ｐｒｉｎｇｌｅｉ、ラジアータマツ（Ｐ．ｒａｄｉａｔａ　Ｄ．Ｄｏｎ）、Ｐ．ｔｅｃｕｎｕｍａｎｉｉ、Ｐ．ｔｅｏｃｏｔｅ、Ｐ．ａｐｕｌｃｅｎｓｉｓ、Ｐ．ａｒｉｚｏｎｉｃａ、Ｐ．ｃｏｏｐｅｒｉ、オオミマツ（Ｐ．ｃｏｕｌｔｅｒｉ）、Ｐ．ｄｅｖｏｎｉａｎａ、Ｐ．ｄｕｒａｎｇｅｎｓｉｓ、Ｐ．ｅｎｇｅｌｍａｎｎｉｉ、Ｐ．ｈａｒｔｗｅｇｉｉ、ジェフリーマツ（Ｐ．ｊｅｆｆｒｅｙｉ）、Ｐ．ｊｏｈｎｄａｙｅｎｓｉｓ、Ｐ．ｍａｘｉｍｉｎｏｉ、Ｐ．ｍｏｎｔｅｚｕｍａｅ、ポンデローサマツ（Ｐ．Ｐｏｎｄｅｒｏｓａ）、Ｐ．ｐｓｅｕｄｏｓｔｒｏｂｕｓ、Ｐ．ｓａｂｉｎｉａｎａ、Ｐ．ｔｏｒｒｅｙａｎａ、ヤクタネゴヨウ（Ｐ．ａｍａｍｉａｎａ）、タカネゴヨウ（Ｐ．ａｒｍａｎｄｉｉ）、Ｐ．ａｙａｃａｈｕｉｔｅ、Ｐ．ｂｈｕｔａｎｉｃａ、Ｐ．ｃｈｉａｐｅｎｓｉｓ、Ｐ．ｄａｂｅｓｈａｎｅｎｓｉｓ、Ｐ．ｄａｌａｔｅｎｓｉｓ、Ｐ．ｆｅｎｚｅｌｉａｎａ、フレキシマツ（Ｐ．ｆｌｅｘｉｌｉｓ）、Ｐ．ｒｅｆｌｅｘａ、サトウマツ（Ｐ．ｌａｍｂｅｒｔｉａｎａ）、タイワンゴヨウマツ（Ｐ．ｍｏｒｒｉｓｏｎｉｃｏｌａ）、アメリカミヤマゴヨウ（Ｐ．ｍｏｎｔｉｃｏｌａ）、ゴヨウマツ（Ｐ．ｐａｒｖｉｆｌｏｒａ）、Ｐ．ｐｅｕｃｅ、ハイマツ（Ｐ．ｐｕｍｉｌａ）、Ｐ．ｓｔｒｏｂｉｆｏｒｍｉｓ、ストローブマツ（Ｐ．ｓｔｒｏｂｕｓ）、ヒマラヤゴヨウ（Ｐ．ｗａｌｌｉｃｈｉａｎａ）、Ｐ．ｗａｎｇｉｉ、Ｐ．ａｌｂｉｃａｕｌｉｓ、ヨーロッパハイマツ（Ｐ．ｃｅｍｂｒａ）、チョウセンゴヨウ（Ｐ．ｋｏｒａｉｅｎｓｉｓ）、シベリアマツ（Ｐ．ｓｉｂｉｒｉｃａ）、Ｐ

．ｎｅｌｓｏｎｉｉ、Ｐ．ｋｒｅｍｐｆｉｉ、シロマツ（Ｐ．ｂｕｎｇｅａｎａ）、Ｐ．ｇｅｒａｒｄｉａｎａ、Ｐ．ｓｑｕａｍａｔａ、Ｐ．ｍａｘｉｍａｒｔｉｎｅｚｉｉ、Ｐ．ｐｉｎｃｅａｎａ、Ｐ．ｒｚｅｄｏｗｓｋｉｉ、Ｐ．ｃｅｍｂｒｏｉｄｅｓ、Ｐ．ｃｕｌｍｉｎｉｃｏｌａ、Ｐ．ｄｉｓｃｏｌｏｒ、Ｐ．ｅｄｕｌｉｓ、Ｐ．ｊｏｈａｎｎｉｓ、アメリカヒトツバマツ（Ｐ．ｍｏｎｏｐｈｙｌｌａ）、Ｐ．ｏｒｉｚａｂｅｎｓｉｓ、Ｐ．ｑｕａｄｒｉｆｏｌｉａ、Ｐ．ｒｅｍｏｔａ、イガゴヨウ（Ｐ．ａｒｉｓｔａｔａ）、Ｐ．ｂａｌｆｏｕｒｉａｎａ、ブリスルコーンパイン（Ｐｉｎｕｓ ｌｏｎｇａｅｖａ）等が挙げられる。

[0020] 松葉は、生のまま抽出操作に供してもよいし、乾燥させた後に抽出操作に供してもよい。また、破砕又は粉砕した後に抽出操作に供してもよい。

[0021] 抽出溶媒としては、例えば、水、アルコール、又は水とアルコールの混合物が挙げられる。アルコールとしては、特に限定されず、例えば、エタノール、メタノール、プロパノール、ブタノール、１，３－ブタンジオール等の炭素数１～４の低級アルコールが挙げられる。アルコールは、１種を単独で用いてもよく、二種以上を組み合わせて用いてもよい。

[0022] アルコールに水を混合して抽出溶媒としてもよい。本実施形態の発毛剤において、抽出溶媒は、水又は水とアルコールの混合液であることが好ましい。水とアルコールの混合液におけるアルコールの濃度は、１０～９８体積％であってよく、例えば２０～９８体積％であってよく、例えば４０～９８体積％であってよく、例えば６０～９８体積％であってよく、例えば約７０体積％であってよい。

[0023] 抽出溶媒としては、水であることが特に好ましい。実施例において後述するように、抽出溶媒として水を使用した場合には、松葉抽出物は細胞毒性が低い傾向にある。

[0024] 松葉の抽出方法としては、一般に用いられる方法が採用できる。例えば、上述した抽出溶媒中に松葉を浸漬し、抽出する方法が挙げられる。抽出溶媒が水とアルコールの混合液である場合、抽出温度は、例えば１～５０℃であ

ってもよく、１０～３０℃であってもよく、１５～２５℃の室温であってもよい。この場合、抽出時間は、数時間～数週間が挙げられ、例えば１～１０日間であってもよく、例えば３～１０日間であってもよく、例えば５～１０日間であってもよく、例えば約７日間であってもよい。また、抽出中に抽出溶媒を撹拌してもよい。

[0025] 抽出溶媒が水である場合、抽出温度は、６０℃以上であってもよく、７０℃以上であってもよく、８０℃以上であってもよく、９０℃以上であってもよく、１００℃であってもよい。また、抽出時に加圧してもよい。加圧する場合、抽出温度は１００℃を超えてもよい。例えば、抽出温度は１００℃以上であってもよく、１０５℃以上であってもよく、１１０℃以上であってもよい。この場合、抽出時間は、２４時間以下であってもよく、１２時間以下であってもよく、６時間以下であってもよく、３時間以下であってもよく、１時間以下であってもよく、約３０分間であってもよい。また、抽出中に抽出溶媒を撹拌してもよい。本明細書において、「約」は±１０％を含むことを意味する。したがって、約７日間は、６．３～７．７日間であってもよい。また、約３０分間は２７～３３分間であってもよい。

[0026] 抽出溶媒が水である場合、抽出温度は、６０℃以上であることが好ましい。また、この場合、抽出時間は、２４時間以下であることが好ましい。

[0027] 得られた松葉抽出物は、必要に応じてろ過又は遠心分離によって固形物を除去した後、そのまま用いてもよいし、溶媒を留去して軟エキスとして用いてもよいし、減圧乾燥や凍結乾燥等により乾燥してエキス乾燥物として使用してもよい。

[0028] 松葉抽出物は、５００質量ｐｐｍ以上のＤ－ピニトールを含有することが好ましく、７００質量ｐｐｍ以上のＤ－ピニトールを含有することがより好ましく、１，０００質量ｐｐｍ以上のＤ－ピニトールを含有することがさらに好ましく、２，０００質量ｐｐｍ以上のＤ－ピニトールを含有することが特に好ましく、９，５００質量ｐｐｍ以下のＤ－ピニトールを含有することが好ましく、５，０００質量ｐｐｍ以下のＤ－ピニトールを含有することが

より好ましい。また、松葉抽出物は、３０質量ｐｐｍ以上のシキミ酸を含有することが好ましく、１００質量ｐｐｍ以上のシキミ酸を含有することがより好ましく、１，０００質量ｐｐｍ以上のシキミ酸を含有することがさらに好ましく、２，０００質量ｐｐｍ以上のシキミ酸を含有することが特に好ましく、８，５００質量ｐｐｍ以下のシキミ酸を含有することが好ましい。さらに、松葉抽出物は、５００～９，５００質量ｐｐｍのＤ－ピニトール及び３０～８，５００質量ｐｐｍのシキミ酸を含有することが好ましく、２，０００～９，５００質量ｐｐｍのＤ－ピニトール及び２，０００～８，５００質量ｐｐｍのシキミ酸を含有することがより好ましい。これらの成分を上記の含有量で含む条件で抽出された松葉抽出物は、発毛関連遺伝子の発現増強効果が高い傾向にある。なお、本実施形態のＤ－ピニトール及びシキミ酸の含有量は、実施例において後述するように、松葉抽出物の不揮発分を３質量％とした場合の換算値である。

[0029] 松葉抽出物は、実質的に樹脂酸を含有しないことが好ましい。樹脂酸とは、ロジンの主成分であり、アビエチン酸、デヒドロアビエチン酸、パラストリン酸、ピマル酸、コムン酸等の各種異性体を主成分とする混合物を意味する。前記樹脂酸には、水素添加樹脂酸等の樹脂酸誘導体も含まれる。実施例において後述するように、樹脂酸の含有量が高い松葉抽出物は細胞毒性が高い傾向にある。

[0030] ここで、「実質的に樹脂酸を含有しない」とは、細胞毒性が問題にならない程度の樹脂酸が松葉抽出物に含まれることを許容する意味である。樹脂酸の合計が約２００質量ｐｐｍ以下であれば、実質的に樹脂酸を含有しないということができる。

[0031] 本実施形態の活力向上剤は、薬学的に許容可能な担体を含む、活力向上用組成物として製剤化されていることが好ましい。活力向上用組成物は医薬組成物であってもよい。活力向上剤の発毛効果に着目した場合、本実施形態の活力向上用組成物は、発毛用組成物、育毛用組成物といいかえることができる。一態様において、発毛用組成物は、松葉抽出物及び薬学的に許容可能な

担体を含む。

[0032] 薬学的に許容される担体としては、特に制限されず、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、乳化剤、増粘剤、湿潤剤、注射剤用溶剤等が挙げられる。また、発毛用組成物は添加剤を更に含んでいてもよい。

[0033] 添加剤としては、特に制限されず、例えば、防腐剤、ｐＨ調整剤、安定剤紫外線吸収剤、酸化防止剤、着色剤、香料等が挙げられる。

[0034] 薬学的に許容される担体及び添加剤としては、例えば、第十八改正日本薬局方等に記載されている一般的な原料を使用することができる。

[0035] 発毛用組成物の剤型としては、例えば、錠剤、被覆錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤、乳剤等の経口的に投与する剤型、あるいは、注射剤、坐剤、皮膚外用剤等の非経口的に投与する剤型等が挙げられる。

[0036] 皮膚外用剤としては、例えば、クリーム、ローション、化粧水、乳液、ファンデーション、パック剤、フォーム剤、硬膏剤、軟膏剤、パップ剤、エアゾール剤等の剤型が挙げられる。

[0037] 発毛用組成物は、脱毛症の治療薬であってもよいし、化粧料であってもよいし、サプリメント等の食品であってもよい。

[0038] 発毛用組成物中の発毛剤（松葉抽出物）の含有量は、発毛剤の固形分（乾燥質量）換算で、例えば、０．０１～５０質量％、０．０１～３０質量％、０．０１～１０質量％、０．０１～５質量％、０．０１～１質量％の範囲が挙げられる。

[0039] 発毛剤又は発毛用組成物の投与方法は特に制限されず、投与対象の症状、体重、年齢、性別等に応じて適宜決定すればよい。例えば、錠剤、被覆錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤、乳剤等は経口投与される。また、注射剤は、単独で、又はブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与され、更に必要に応じて、動脈内、筋肉内、皮内、皮下又は腹腔内投与される。坐剤は直腸内投与される。皮膚外用剤は、患部に塗布、貼付又はスプレーされる。

[0040] 発毛剤又は発毛用組成物の投与量は、投与対象の症状、体重、年齢、性別等によって異なり、一概には決定できないが、経口投与の場合には、例えば１日あたり０．０１～５，０００ｍｇ／ｋｇ体重の有効成分（松葉抽出物）を投与すればよい。また、注射剤の場合には、例えば１日あたり０．０１～５００ｍｇの有効成分を投与すればよい。また、坐剤の場合には、例えば１日あたり０．０１～１，０００ｍｇの有効成分を投与すればよい。また、皮膚外用剤の場合には、例えば１日あたり０．０１～５００ｍｇの有効成分を投与すればよい。

[0041] ［活力向上用食品組成物（発毛用食品組成物）］

一実施形態において、本発明は、松葉抽出物を有効成分として含有する、発毛用食品組成物を提供する。本実施形態の食品組成物は、上述した発毛剤を含むものである。本実施形態の食品組成物を摂取することにより、ヒト又は非ヒト動物において、発毛を促進することができる。あるいは、本実施形態の食品組成物を摂取することにより、ヒト又は非ヒト動物において、毛乳頭細胞における発毛関連遺伝子の発現レベルを上昇させることができる。非ヒト動物については、上述したものと同様である。本実施形態の食品組成物は、発毛促進用食品組成物、育毛用食品組成物等といいかえることもできる。

[0042] 本実施形態の食品組成物の好ましい摂取量は、上述した発毛剤又は発毛用組成物と同様であり、例えば１日あたり０．０１～５，０００ｍｇ／ｋｇ体重の有効成分（松葉抽出物）を摂取する量が挙げられる。食品組成物は、１日あたり１回又は２～４回程度に分けて摂取してもよい。

[0043] 本実施形態の食品組成物は、例えば、サプリメントの形態であってもよいし、飲料の形態であってもよいし、固形状、半固形状又はゲル状の食品の形態であってもよいし、任意の調理済み食品の形態等であってもよい。

[0044] サプリメントの形状としては、例えば、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤等の形状が挙げられる。飲料としては、コーヒー、茶、紅茶、スポーツドリンク、果実・野菜飲料、炭酸飲料等が挙げられる。

[0045] 本実施形態の食品組成物は、機能性表示食品であってもよい。機能性表示食品とは、科学的根拠を基に商品パッケージに機能性を表示するものとして、消費者庁に届け出られた食品を意味する。

[0046] ［活力向上剤（抗うつ剤）］

本発明の活力向上剤は、ヒト又は非ヒト動物において、抗うつ効果を有する。非ヒト動物については、上述したものと同様である。したがって、一実施形態において、本発明は、松葉抽出物を有効成分とする、抗うつ剤を提供するものであるということができる。実施例において後述するように、発明者らは、松葉抽出物が神経保護作用を有することを明らかにした。本実施形態の抗うつ剤は、天然物由来であるため、副作用が少なく安全であると考えられる。

[0047] 本実施形態の抗うつ剤において、「有効成分とする」とは、松葉抽出物を、抗うつ剤としての効果を奏するのに十分な量を含むことを意味する。あるいは、松葉抽出物を主要な活性成分として含むことを意味する。抗うつ剤としての効果としては、例えば、神経保護作用を奏することが挙げられる。

[0048] 神経保護作用は、抗うつ作用、抗ストレス作用等といいかえることができる。すなわち、本実施形態の抗うつ剤は、うつ病の治療剤、神経保護剤、抗ストレス剤等といいかえることができる。

[0049] 本実施形態の抗うつ剤において、松葉抽出物については上述したものと同様である。松葉抽出物は、エタノール又は水とエタノールの混合液を抽出溶媒とした抽出物であることが好ましく、水を抽出溶媒とした抽出物であることがより好ましい。

[0050] 本実施形態の活力向上剤は、薬学的に許容可能な担体を含む、活力向上用組成物として製剤化されていることが好ましい。活力向上用組成物は医薬組成物であってもよい。活力向上剤の抗うつ効果に着目した場合、本実施形態の活力向上用組成物は、うつ病治療用組成物といいかえることができる。一態様において、うつ病治療用組成物は、松葉抽出物及び薬学的に許容可能な担体を含む。

[0051] 薬学的に許容される担体としては、発毛用組成物について上述したものと同様のものが挙げられる。また、うつ病治療用組成物は添加剤を更に含んでいてもよく、添加剤についても上述したものと同様である。薬学的に許容される担体及び添加剤としては、例えば、第十八改正日本薬局方等に記載されている一般的な原料を使用することができる。

[0052] うつ病治療用組成物の剤型としては、例えば、錠剤、被覆錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤、乳剤等の経口的に投与する剤型、あるいは、注射剤、坐剤、皮膚外用剤等の非経口的に投与する剤型等が挙げられる。

[0053] 皮膚外用剤としては、例えば、クリーム、ローション、化粧水、乳液、ファンデーション、パック剤、フォーム剤、硬膏剤、軟膏剤、パップ剤、エアゾール剤等の剤型が挙げられる。

[0054] うつ病治療用組成物は、うつ病の治療薬であってもよいし、化粧料であってもよいし、サプリメント等の食品であってもよい。

[0055] うつ病治療用組成物中の抗うつ剤（松葉抽出物）の含有量は、抗うつ剤の固形分（乾燥質量）換算で、例えば、０．０１～５０質量％、０．０１～３０質量％、０．０１～１０質量％、０．０１～５質量％、０．０１～１質量％の範囲が挙げられる。

[0056] 抗うつ剤又はうつ病治療用組成物の投与方法は特に制限されず、投与対象の症状、体重、年齢、性別等に応じて適宜決定すればよい。例えば、錠剤、被覆錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤、乳剤等は経口投与される。また、注射剤は、単独で、又はブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与され、更に必要に応じて、動脈内、筋肉内、皮内、皮下又は腹腔内投与される。坐剤は直腸内投与される。皮膚外用剤は、患部に塗布、貼付又はスプレーされる。

[0057] 抗うつ剤又はうつ病治療用組成物の投与量は、投与対象の症状、体重、年齢、性別等によって異なり、一概には決定できないが、経口投与の場合には、例えば１日あたり０．０１～５，０００ｍｇ／ｋｇ体重の有効成分（松葉

抽出物）を投与すればよい。また、注射剤の場合には、例えば１日あたり０．０１～５００ｍｇの有効成分を投与すればよい。また、坐剤の場合には、例えば１日あたり０．０１～１，０００ｍｇの有効成分を投与すればよい。また、皮膚外用剤の場合には、例えば１日あたり０．０１～５００ｍｇの有効成分を投与すればよい。

[0058] ［活力向上用食品組成物（うつ病改善用食品組成物）］

一実施形態において、本発明は、松葉抽出物を有効成分として含有する、うつ病改善用食品組成物を提供する。本実施形態の食品組成物は、上述した抗うつ剤を含むものである。本実施形態の食品組成物を摂取することにより、ヒト又は非ヒト動物において、神経保護作用を発揮することができる。神経保護作用は、抗うつ作用、抗ストレス作用等といいかえることができる。すなわち、本実施形態の食品組成物は、うつ病改善用食品組成物、神経保護用食品組成物、抗ストレス用食品組成物等といいかえることができる。

[0059] 本実施形態の食品組成物の好ましい摂取量は、上述した発毛剤又は発毛用組成物と同様であり、例えば１日あたり０．０１～５，０００ｍｇ／ｋｇ体重の有効成分（松葉抽出物）を摂取する量が挙げられる。食品組成物は、１日あたり１回又は２～４回程度に分けて摂取してもよい。

[0060] 本実施形態の食品組成物は、例えば、サプリメントの形態であってもよいし、飲料の形態であってもよいし、固形状、半固形状又はゲル状の食品の形態であってもよいし、任意の調理済み食品の形態等であってもよい。

[0061] サプリメントの形状としては、例えば、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤等の形状が挙げられる。飲料としては、コーヒー、茶、紅茶、スポーツドリンク、果実・野菜飲料、炭酸飲料等が挙げられる。

[0062] 本実施形態の食品組成物は、機能性表示食品であってもよい。機能性表示食品とは、科学的根拠を基に商品パッケージに機能性を表示するものとして、消費者庁に届け出られた食品を意味する。

[0063] ［その他の実施形態］

一実施形態において、本発明は、松葉抽出物の有効量を、治療を必要とす

る患者に投与することを含む、加齢に伴う活力低下の治療方法を提供する。

[0064] 一実施形態において、本発明は、加齢に伴う活力低下の治療に使用するための松葉抽出物を提供する。

[0065] 一実施形態において、本発明は、加齢に伴う活力低下の治療剤を製造するための松葉抽出物の使用を提供する。

[0066] 一実施形態において、本発明は、松葉抽出物の有効量を、治療を必要とする患者に投与することを含む、脱毛症の治療方法を提供する。

[0067] 一実施形態において、本発明は、脱毛症の治療に使用するための松葉抽出物を提供する。

[0068] 一実施形態において、本発明は、脱毛症の治療剤を製造するための松葉抽出物の使用を提供する。

[0069] 一実施形態において、本発明は、松葉抽出物の有効量を、治療を必要とする患者に投与することを含む、うつ病の治療方法を提供する。

[0070] 一実施形態において、本発明は、うつ病の治療に使用するための松葉抽出物を提供する。

[0071] 一実施形態において、本発明は、うつ病の治療剤を製造するための松葉抽出物の使用を提供する。

[0072] これらの各実施形態において、松葉抽出物、投与形態、投与量等については上述したものと同様である。松葉抽出物は、薬学的に許容可能な担体を含む、医薬組成物として製剤化されていることが好ましい。薬学的に許容可能な担体については上述したものと同様である。

実施例

[0073] 次に実施例を示して本発明を更に詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0074] ［実験例１］

（製造例１の松葉抽出物の調製）

アカマツの苗木由来の松葉の乾燥物をミキサーで粉砕した。続いて、松葉粉砕物１００ｍｇ及び７０体積％エタノール水溶液１ｍＬを混合し、暗所、

室温で１週間抽出し、製造例１の松葉抽出物を得た。抽出中、サンプルは毎日ボルテックスにより攪拌した。続いて、１，０００×ｇで１５分間遠心して上清を回収した。続いて、上清をポアサイズ０．２２μｍのフィルターを通して滅菌し、－２０℃で保存した。松葉抽出物は、各実験で用いる細胞の培地で直接希釈して使用した。

[0075] ［実験例２］

（製造例２～７の松葉抽出物の調製）

下記表１に示す松葉を、下記表１に記載の抽出方法でそれぞれ抽出した。続いて、１，０００×ｇで１５分間遠心して上清を回収した。続いて、上清をポアサイズ０．２２μｍのフィルターを通して滅菌し、製造例２～７の松葉抽出物を得た。各松葉抽出物は－２０℃で保存した。

[0076] [表1]

製造例	松葉の由来	抽出方法
2	アカマツ、苗木由来の松葉の乾燥物	105℃の水で30分間抽出
3	アカマツ、成木由来の松葉の乾燥物	105℃の水で30分間抽出
4	アカマツ、成木由来の松葉の乾燥物	105℃の水で30分間抽出
5	アカマツ、苗木由来の松葉の乾燥物	60℃の水で24時間抽出
6	アカマツ、成木由来の松葉の新芽	20℃の50質量%エタノール水溶液で30分間抽出
7	アカマツ、成木由来の松葉の乾燥物	76℃のエタノールで1時間還流

[0077] ［実験例３］

（製造例１～７の松葉抽出物の成分分析）

ガスクロマトグラフィー質量分析（ＧＣ／ＭＳ）及びＨＰＬＣにより、製造例１～７の松葉抽出物に含まれるＤ－ピニトール、シキミ酸及び樹脂酸成分の分析を行った。具体的には、松葉抽出物におけるＤ－ピニトールとシキミ酸はＨＰＬＣにより分析し、松葉抽出物における樹脂酸はＧＣ／ＭＳにより分析した。ＧＣ／ＭＳによる分析では、試料にジアゾメタンを反応させて

メチルエステル化した。また、Ｄ－ピニトール、シキミ酸及び樹脂酸の含有量は、ピロカテコールを用いて検量線を作成し、ピロカテコールの換算量として算出した。

[0078] ＧＣ／ＭＳの測定装置・測定条件は、以下の通りであった。

ＧＣ：Ａｇｉｌｅｎｔ７８９０Ａ（Ａｇｉｌｅｎｔ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ社製）

ＭＳ：Ａｇｉｌｅｎｔ５９７７Ａ（Ａｇｉｌｅｎｔ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ社製）

オートサンプラー：ＭＰＳ ｒｏｂｏｔｉｃ ｐｒｏ（ＧＥＲＳＴＥＬ社製）

カラム：ＶＦ－５ｍｓ（０．２５ｍｍ×０．２５μｍ×３０ｍ）

キャリアガス：Ｈｅ

[0079] ＨＰＬＣの測定装置・測定条件は、以下の通りであった。

カラム：Ｉｎｅｒｔ Ｓｕｓｔａｉｎ Ａｍｉｄｅ（３．０×２５０ｍｍｉ．ｄ．、３ｍｍ、ＧＬサイエンス社製）

カラムオーブン温度：４０℃

サンプル希釈溶剤：メタノール

注入量：１μＬ

サンプル濃度：５０質量％

流速：０．５ｍＬ／ｍｉｎ

ＵＶ検出器：２１０ｎｍ

移動相Ａ：アセトニトリル

移動相Ｂ：１００ｍＭギ酸アンモニウム水溶液

移動相組成条件　Ａ：Ｂ＝８０：２０

測定時間：２０ｍｉｎ

[0080] 下記表２及び表３に各松葉抽出物中のＤ－ピニトール、シキミ酸及び樹脂酸の存在量を示す。下記表２及び表３中、各成分の存在量の単位は質量ｐｐｍである。なお、Ｄ－ピニトール及びシキミ酸の含有量は、松葉抽出物の不

揮発分を３質量％とした場合の換算値である。松葉抽出物の不揮発分の測定方法は、下記の通りであった。

[0081] 質量を測定した２０ｍＬスクリュー管（Ａｇ）に、松葉抽出物をＢｇ秤り取り、８０℃の順風乾燥機で４時間乾燥した後、デシケーターの中で容器を放冷した。放冷後のスクリュー管の質量（Ｃｇ）を測定し、下記式により松葉抽出物の不揮発分を算出した。

松葉抽出物の不揮発分（質量％）＝（Ｃ－Ａ）/Ｂ×１００

[0082] 例えば、上記測定方法により松葉抽出物の不揮発分が１．５質量％と算出され、その松葉抽出物にＤ－ピニトールが１，０００ｐｐｍ、シキミ酸が１，０００ｐｐｍ含まれていた場合、不揮発分を３質量％とした場合の換算値は、Ｄ－ピニトールが２，０００ｐｐｍ、シキミ酸が２，０００ｐｐｍと算出される。

[0083] [表2]

製造例	1	2	3	4	5	6
D-ピニトール	2503	3564	4444	2212	3259	9060
シキミ酸	2342	6589	3400	2514	8060	2430

[0084] [表3]

製造例	1	2	3	4	5	6	7
ピマル酸	35	0	0	0	0	109	475
コムン酸	200	0	0	0	0	81	4436
ピマル酸又は コムン酸の異性体	9	0	0	0	0	198	680
パラストリン酸	0	0	0	0	0	268	624
デヒドロ アビエチン酸	55	0	0	0	0	455	573
アビエチン酸	6	0	0	0	0	83	115

[0085] その結果、製造例１～７の松葉抽出物は、不揮発分を３質量％とした時に５００～９，５００ｐｐｍのＤ－ピニトール及び３０～８，５００ｐｐｍのシキミ酸を含有することが示された。また、製造例６、７の松葉抽出物は、樹

脂酸を多く含むことが示された。

[0086] ［実験例４］

（製造例１の松葉抽出物の細胞毒性の検討）

製造例１の松葉抽出物の細胞毒性を検討した。細胞としては、正常なヒトの頭皮毛包の乳頭から分離された間葉系細胞である、ヒト初代毛乳頭細胞（ＨＦＤＰＣ、プロモセル社より購入）を使用した。コラーゲンコートした９６ウェルプレートに、ＨＦＤＰＣを５×１０^{4}個／ウェルで播種し、５％CO_2の加湿雰囲気中、３７℃でインキュベートした。培地として、成長因子（ウシ胎児血清、インスリン、トランスフェリン、トリヨードサイロニン、ウシ下垂体抽出物、シプロテロン溶液）を添加した毛乳頭細胞成長培地を使用した。

[0087] ２４時間後、細胞の培地を、０（対照）、１／６，０００、１／５，０００、１／４，０００、１／３，０００、１／２，０００、１／１，０００、１／５００、１／２５０、１／１００容量の松葉抽出物を添加した培地に交換し、４８時間インキュベートした。

[0088] 続いて、３－（４，５－ジメチルチアゾール－２－イル）－２，５－ジフェニルテトラゾリウムブロミド（ＭＴＴ）を使用して、細胞生存率を測定した。具体的には、ＭＴＴ試薬（５ｍｇ／ｍＬ）を細胞に添加し、８時間インキュベートした後、１０％ドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）を添加し、一晩インキュベートした。その後、マイクロプレートリーダーを使用して、５７０ｎｍの吸光度を測定し、細胞生存率を、未処理細胞の吸光度に対する吸光度の割合（％）として定量化した。

[0089] 図１は、細胞生存率の測定結果を示すグラフである。図１中、「ｎｓ」は有意差がないことを示し、「＊＊＊＊」はＰ＜０．０００１で有意差があることを示す。その結果、松葉抽出物を１／６，０００～１／２５０容量、培地に添加しても細胞毒性を示さないことが明らかとなった。松葉抽出物を１／１００容量、培地に添加すると、細胞生存率が約３０％に低下した。

[0090] ［実験例５］

（製造例３、４、６、７の松葉抽出物の細胞毒性の検討）

実験例４と同様の方法により、製造例３、４、６、７の松葉抽出物の細胞毒性の検討を行った。製造例６の松葉抽出物は、製造例１の松葉抽出物と同様に細胞毒性が若干高かった。また、製造例７の松葉抽出物は細胞毒性が高く、後述の発毛関連遺伝子に与える影響は検討できなかった。

[0091] 下記表４に検討結果を示す。下記表４中、「細胞毒性」は細胞毒性の評価結果を示す。下記表４中、細胞毒性についての評価基準は以下の通りであった。

[0092] （細胞毒性の評価基準）

－：細胞毒性が認められなかった。

±：１／１００容量で細胞生存率を４０％以上低下させた。

＋：１／１０，０００容量で細胞生存率を１０％以上低下させた。

＋＋：１／１０，０００容量で細胞生存率を４０％以上低下させた。

[0093] [表4]

製造例	細胞毒性
製造例1	±
製造例3	－
製造例4	－
製造例6	±
製造例7	++
D-ピニトール	－
シキミ酸	－

[0094] ［実験例６］

（製造例１の松葉抽出物が発毛関連遺伝子に与える影響の検討）

ＨＦＤＰＣの培地に製造例１の松葉抽出物を添加し、定量的リアルタイムＰＣＲにより発毛マーカーの発現を測定した。発毛マーカーとしては、ＣＴＮＮＢ１遺伝子（β－カテニン）、ＡＬＰＬ遺伝子（アルカリ性ホスファターゼ）、ＦＧＦ１遺伝子（Ｆｉｂｌｏｂｒａｓｔ ｇｒｏｗｔｈ ｆａｃｔｏｒ １）を検討した。β－カテニンは、毛周期の成長期（ａｎａｇｅｎ）

を誘導し、ケラチノサイトの増殖を促進することが知られている。ＡＬＰＬは、毛乳頭細胞における代表的な発毛マーカーである。ＦＧＦ１は、毛包の形態形成のマーカーである。

[0095] ＨＦＤＰＣを６ウェルプレートに５×１０^{4}個／ウェルで播種し、３７℃で２４時間インキュベートした。続いて、培地を除去し、１／４，０００、１／２，０００容量の松葉抽出物を含む培地に交換した。また、比較のために、既存の脱毛治療薬であるミノキシジル（０．１μＭ）を培地に添加した細胞も用意した。

[0096] 続いて、４８時間後に、細胞を冷ＰＢＳで洗浄し、ＩＳＯＧＥＮキット（ニッポンジーン）を使用して全ＲＮＡを抽出した。続いて、ＮａｎｏＤｒｏｐ　２０００分光光度計（サーモフィッシャーサイエンティフィック）を使用して全ＲＮＡを定量し、定量的リアルタイムＰＣＲ分析を実施した。

[0097] まず、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ　ＩＩＩ逆転写キット（サーモフィッシャーサイエンティフィック）を使用して、９５℃１０分間、９５℃で１５秒間４０サイクル、６０℃で１分間のサイクリングプロトコールにより、抽出された全ＲＮＡからｃＤＮＡを合成した。

[0098] 続いて、７５００　Ｆａｓｔ　Ｒｅａｌ－Ｔｉｍｅ　ＰＣＲシステム（Ｓｏｆｔｗａｒｅ　１．３．１、サーモフィッシャーサイエンティフィック）、及び、ＣＴＮＮＢ１、ＡＬＰＬ、ＦＧＦ１に特異的なＴａｑＭａｎプローブを使用して、リアルタイムＰＣＲを実行した。内因性対照としてＧＡＰＤＨを使用し、$2^{-\Delta\Delta}$Ｃｔ法を適用して、ＧＡＰＤＨと比較して相対的ｍＲＮＡ量を計算した。

[0099] 図２は、ＣＴＮＮＢ１遺伝子の定量的リアルタイムＰＣＲの結果を示すグラフである。図３はＡＬＰＬ遺伝子の定量的リアルタイムＰＣＲの結果を示すグラフである。図４はＦＧＦ１遺伝子の定量的リアルタイムＰＣＲの結果を示すグラフである。図２～図４中、グラフの値は平均値±標準偏差を示す（ｎ＝３）。また、「ｎｓ」は有意差がないことを示し、「＊」はＰ＜０．０５で有意差があることを示し、「＊＊」はＰ＜０．０１で有意差があるこ

とを示し、「＊＊＊＊」はＰ＜０．０００１で有意差があることを示す。

[0100] その結果、１／４，０００、１／２，０００容量の松葉抽出物を含む培地により、ＨＦＤＰＣにおけるＣＴＮＮＢ１遺伝子及びＦＧＦ１遺伝子の発現量が有意に上昇したことが明らかとなった。また、１／２，０００容量の松葉抽出物を含む培地により、ＨＦＤＰＣにおけるＡＬＰＬ遺伝子の発現量が有意に上昇したことが明らかとなった。また、ＦＧＦ１遺伝子の発現量の上昇効果は、ポジティブコントロールとして使用した発毛医薬品ミノキシジル０．１μＭ処理による効果を上回るものであった。この結果は、松葉抽出物が、発毛促進効果を有することを示す。

[0101] ［実験例７］

（製造例３～６の松葉抽出物の発毛関連遺伝子に与える影響の検討）

実験例６と同様の方法により、製造例３～６の松葉抽出物の発毛関連遺伝子に与える影響の検討を行った。また、Ｄ－ピニトール、シキミ酸についても同様の検討を行った。製造例３～６の松葉抽出物は、１／６，０００容量又は１／１０，０００容量で細胞の培地に添加した。なお、製造例１、６の松葉抽出物については、細胞毒性が認められない濃度で細胞の培地に添加した。Ｄ－ピニトールについては、１μＭ及び１０μＭで細胞の培地に添加した。シキミ酸については、１μＭ及び１０μＭで細胞の培地に添加した。

[0102] 下記表５に検討結果を示す。下記表５中、「ＣＴＮＮＢ１」、「ＡＬＰＬ」、「ＦＧＦ１」は、各発毛関連遺伝子の発現増強効果の評価結果を示す。下記表５中、発毛関連遺伝子に与える影響についての評価基準は以下の通りであった。

[0103] （発毛関連遺伝子に与える影響についての評価基準）

－：発現を抑制した。

±：少なくとも一部の濃度で発現増強効果に有意差が認められなかった。

＋：全ての濃度において、発現増強効果にｐ＜０．０５以上の有意差が認められた。

＋＋：全ての濃度において、発現増強効果にｐ＜０．０１以上の有意差が

認められた。

[0104] [表5]

	ALPL	CTNNB1	FGF1
製造例1	±	+	++
製造例3	+	±	−
製造例4	++	++	+
製造例5	++	++	++
製造例6	++	++	++
D-ピニトール	−	++	++
シキミ酸	±	+	++

[0105] その結果、Ｄ－ピニトール及びシキミ酸は、ＣＴＮＮＢ１及びＦＧＦ１の発現増強効果を示したものの、ＡＬＰＬの遺伝子発現増強効果を示さなかった。これに対し、製造例３～６の松葉抽出物は、ＡＬＰＬの発現増強効果を示した。また、製造例４～６の松葉抽出物は、ＣＴＮＮＢ１、ＡＬＰＬ、ＦＧＦ１の全ての発現増強効果を示した。

[0106] ［実験例８］

（製造例１の松葉抽出物による神経保護作用の検討）

インビトロにおけるうつ病モデルの評価系を用いて、松葉抽出物による神経保護作用（抗うつ作用、抗ストレス作用）を検討した。より具体的には、ヒト神経芽腫細胞株であるＳＨ－ＳＹ５Ｙ細胞を、松葉抽出物の存在下で、神経毒素であるデキサメタゾン処理し、デキサメタゾンに誘導される神経細胞死が抑制されるか否かを検討した。

[0107] ＳＨ－ＳＹ５Ｙ細胞を９６ウェルプレートに２．０×１０^{4}個／ウェルで播種し、３７℃、５％CO_2存在下で２４時間培養した。培地としては、ＤＭＥＭとＨａｍ’ｓ Ｆ－１２ ｎｕｔｒｉｅｎｔ ｍｉｘｔｕｒｅを１：１（ｖ：ｖ）で混合したものに、１５％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）、１％ペニシリン／ストレプトマイシン、１％非必須アミノ酸を添加した培地を用いた。

[0108] ２４時間後、培地を、０（対照）、１／３５，０００、１／３０，０００、１／２５，０００、１／２０，０００、１／１５，０００、１／１０，０

００、１／５０００容量の松葉抽出物を添加した培地に交換し、１時間インキュベートした。また、比較のために、神経保護作用を有することが知られているロズマリン酸（１０μＭ）を培地に添加した細胞も用意した。１時間後、各ウェルに０．５ｍＭのデキサメタゾンを添加し、更に４８時間インキュベートした。

[0109] 続いて、ＭＴＴ試薬（５ｍｇ／ｍＬ）を細胞に添加し、２４時間インキュベートした後、１０％ドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）を添加し、２４時間インキュベートした。その後、マイクロプレートリーダーを使用して、５７０ｎｍの吸光度を測定し、細胞増殖を、未処理細胞の吸光度に対する吸光度の割合（％）として定量化した。

[0110] 図５は、細胞増殖を評価した結果を示すグラフである。図５中、グラフの値は平均値±標準偏差を示す（ｎ＝６）。また、「Ｃｔｒｌ」はデキサメタゾンも松葉抽出物も添加していない対照の結果であることを示し、「Ｄｅｘ」はデキサメタゾンのみを添加した結果であることを示し、「ＲＡ」はロズマリン酸を添加した結果であることを示し、「Ｐｉｎｅ」は松葉抽出物を添加した結果であることを示す。また、「＊」は、デキサメタゾンのみを添加した細胞と比較してＰ＜０．０５で有意差があることを示し、「＊＊」は、デキサメタゾンのみを添加した細胞と比較してＰ＜０．０１で有意差があることを示す。

[0111] その結果、松葉抽出物を培地に添加したＳＨ－ＳＹ５Ｙ細胞において、デキサメタゾンのみを添加したＳＨ－ＳＹ５Ｙ細胞よりも高い細胞増殖が認められた。この結果は、松葉抽出物に、デキサメタゾンに対する有意な神経保護作用があることを示す。この結果は、松葉抽出物が、抗うつ剤、抗ストレス剤として有用であることを示す。

[0112] ［実験例９］

（松葉抽出物がうつ行動に与える影響の検討）

松葉抽出物として、製造例２の松葉抽出物を用いて、マウスを用いた尾懸垂試験により、松葉抽出物がインビボでうつ行動に与える影響を検討した。

尾懸垂試験（Ｔａｉｌ　ｓｕｓｐｅｎｓｉｏｎ　ｔｅｓｔ、ＴＳＴ）とは、逆さ向きに吊されたマウスがもがく時間を測定する試験であり、うつ様行動の指標として用いられている。吊されたマウスは脱出しようと動き回るが、次第に動かない時間（無動時間）が増える。抗うつ薬を投与したマウスでは尾懸垂試験における無動時間が減少することが知られている。無動時間が長くなることはうつ様行動の増加を示し、無動時間の短縮はうつ様行動の減少を示すと解釈されている。

[0113] 下記表６に示す各群のマウスを用意した。下記表６中、「ＬＰＳ」はリポポリサッカライドを示す。また、陽性対照群で投与したブプロピオンは抗うつ剤である。各群のマウスを７日間飼育して馴化させた後、松葉抽出物を７日間毎日経口投与した。その後、ＬＰＳを腹腔内に単回投与することで、脳内で神経炎症を誘導し、うつを発症させた。ＬＰＳを投与した翌日に尾懸垂試験を実施した。尾懸垂試験ではＳＭＡＲＴ３．０ビデオ画像行動解析装置（Ｐａｎｌａｂ社）を用いた。尾懸垂試験の翌日に脳を摘出し、更に海馬を回収して後述する実験に用いた。

[0114] [表6]

	マウス	経口投与	腹腔内投与	n
対照群	ICRマウス、オス、8週齢	生理食塩水	生理食塩水	6
LPS投与群	ICRマウス、オス、8週齢	生理食塩水	0.85mg/kg LPS/生理食塩水	7
陽性対照群	ICRマウス、オス、8週齢	20mg/kg ブプロピオン/生理食塩水	0.85mg/kg LPS/生理食塩水	6
低用量松葉抽出物投与群	ICRマウス、オス、8週齢	5mg/kg 松葉抽出物/生理食塩水	0.85mg/kg LPS/生理食塩水	6
高用量松葉抽出物投与群	ICRマウス、オス、8週齢	50mg/kg 松葉抽出物/生理食塩水	0.85mg/kg LPS/生理食塩水	6

[0115] 下記表７に松葉抽出物経口投与期間中の各群のマウスの体重変化及び総摂食量を示す。その結果、７日間の松葉抽出物の経口投与は、体重及び総摂食量に影響を及ぼさなかった。この結果から、松葉抽出物は重篤な毒性を示さないと考えられた。

[0116] [表7]

	初期体重 (g)	最終体重 (g)	体重増加 (g/7日間)	総摂食量 (g/7日間)
対照群	34.0±0.3	36.5±0.9	2.5±0.4	24.1±1.2
LPS投与群	32.4±0.4	35.5±0.5	3.1±0.3	24.6±1.4
陽性対照群	32.7±0.8	35.6±0.7	2.9±0.4	25.0±1.2
低用量松葉抽出物投与群	32.5±0.5	35.1±0.5	2.6±0.1	23.0±0.3
高用量松葉抽出物投与群	32.4±1.0	35.3±0.8	2.9±0.4	23.3±0.9

[0117] 図６は、尾懸垂試験の結果を示すグラフである。図６中、「Ｓａｌｉｎｅ」は生理食塩水を示し、「Ｂｕｐ」はブプロピオンを示し、「ＬｏｗＰＮ」は低用量松葉抽出物投与群の結果であることを示し、「ＨｉｇｈＰＮ」は高用量松葉抽出物投与群の結果であることを示す。また、「＊」はｐ＜０．０５で有意差があることを示す。

[0118] その結果、高用量松葉抽出物（５０ｍｇ／ｋｇ）の経口投与は、ＬＰＳ誘導性神経炎症による無動時間延長を有意に抑制したことが明らかとなった。一方、低用量松葉抽出物（５ｍｇ／ｋｇ）の経口投与では有意な効果が認められなかった。この結果は、松葉抽出物がうつ行動抑制作用を有することを示す。

[0119] ［実験例１０］

（マウス脳海馬におけるタンパク質発現解析）

実験例９で回収した各群のマウスの海馬をＥＬＩＳＡに供し、成熟ＢＤＮＦ、ドーパミン、ノルアドレナリン、セレトニン、アセチルコリンを定量した。

[0120] 図７は、定量結果を示すグラフである。図７中、「Ｓａｌｉｎｅ」は生理食塩水を示し、「Ｂｕｐ」はブプロピオンを示し、「ＬｏｗＰＮ」は低用量松葉抽出物投与群の結果であることを示し、「ＨｉｇｈＰＮ」は高用量松葉抽出物投与群の結果であることを示す。また、「＊」はｐ＜０．０５で有意

差があることを示し、「＊＊」はｐ＜０．０１で有意差があることを示す。

[0121] その結果、松葉抽出物の経口投与は、ＬＰＳ誘導性神経炎症による成熟ＢＤＮＦの発現低下を有意に抑制したことが明らかとなった。また、高用量松葉抽出物投与群では、ＬＰＳ誘導性神経炎症によるドーパミン及びノルアドレナリンの発現量の低下が有意に抑制されたことが明らかとなった。また、低用量松葉抽出物投与群では、ＬＰＳ誘導性神経炎症によるセロトニンの発現量の低下が有意に抑制されたことが明らかとなった。一方、松葉抽出物の経口投与はアセチルコリンの発現に影響を与えなかったことが示された。

[0122] ［実験例１１］

（マウス脳海馬における網羅的遺伝子発現解析）

実験例９で回収した各群のマウスの海馬をＤＮＡマイクロアレイ解析に供し、高用量松葉抽出物投与群及びＬＰＳ投与群における遺伝子発現を網羅的に解析した。

[0123] 高用量松葉抽出物投与群及びＬＰＳ投与群間での発現比（Ｆｏｌｄ Ｃｈａｎｇｅ）が１．５を超えた遺伝子の数は、発現増加した遺伝子の数が３３０であり、発現減少した遺伝子の数が１９６であった。発現比は下記式により算出した。

発現比＝高用量松葉抽出物投与群での発現量／ＬＰＳ投与群間での発現量

[0124] 図８は、高用量松葉抽出物投与群で発現変動した遺伝子群について、Ｇｅｎｅ Ｏｎｔｏｌｏｇｙ（ＧＯ）解析を行った結果を示す図である。図８中、「ＢＰ」は生物学的プロセスを示し、「ＣＣ」は細胞の構成要素を示し、「ＫＥＧＧ」は代謝経路を中心とした酵素反応やシグナル伝達などについて遺伝子や化合物に関連付けたデータベースである、Ｋｙｏｔｏ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ ｏｆ Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｇｅｎｏｍｅｓ（ＫＥＧＧ）を示す。その結果、代謝や神経に関与する遺伝子群の発現が増加し、炎症に関与する遺伝子群の発現が減少したことが示された。この結果から、松葉抽出物の投与により、神経新生、神経炎症抑制、神経代謝向上の機能が発現する可能性が示された。

産業上の利用可能性

[0125] 本発明によれば、天然物由来の活力向上剤を提供することができる。

請求の範囲

[請求項1] 松葉抽出物を有効成分とする、活力向上剤。

[請求項2] 前記松葉抽出物が、水又は水とアルコールの混合液を抽出溶媒とした抽出物である、請求項１に記載の活力向上剤。

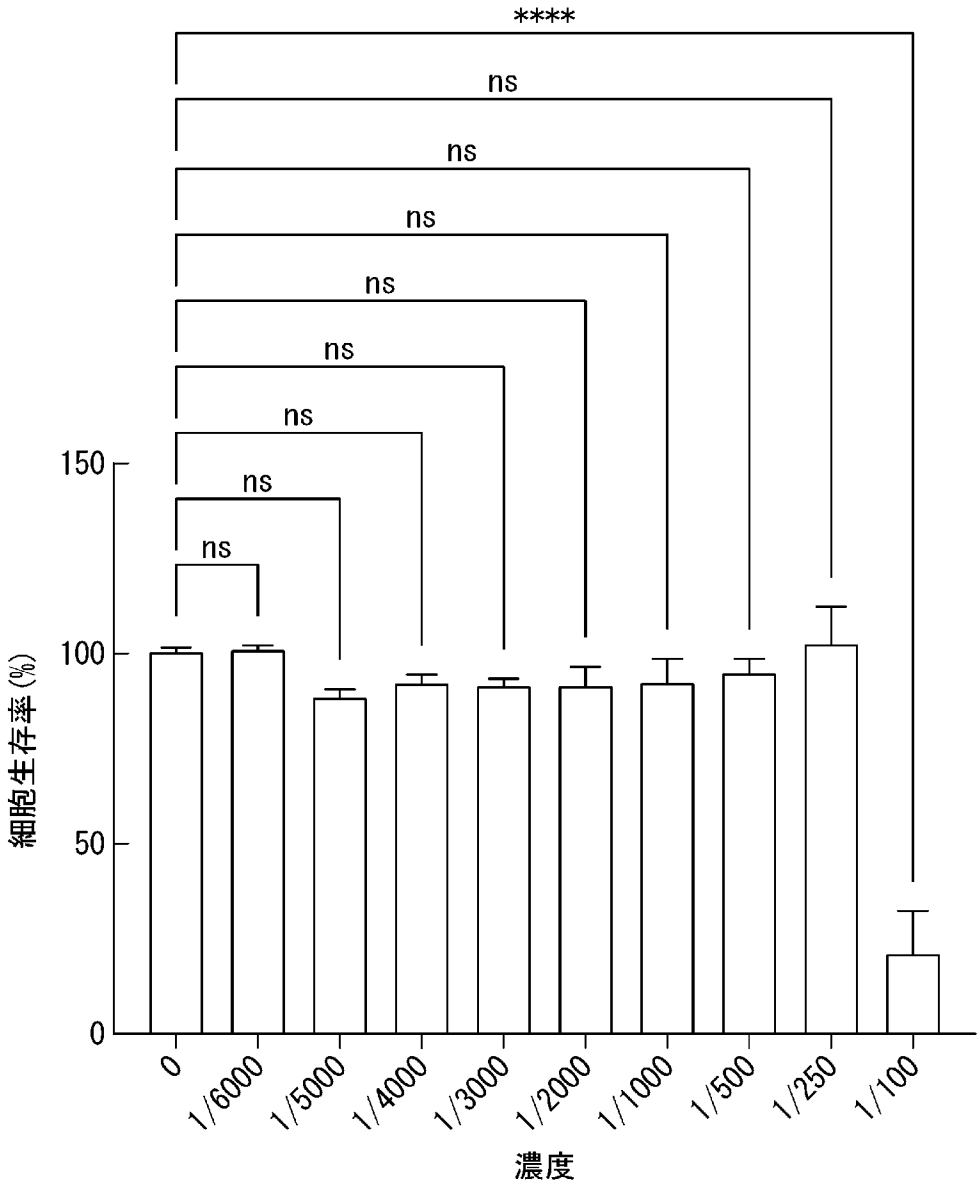
[請求項3] 前記松葉抽出物が、５００～９，５００質量ｐｐｍのＤ－ピニトール及び３０～８，５００質量ｐｐｍのシキミ酸を含有する、請求項１又は２に記載の活力向上剤。

[請求項4] 前記松葉抽出物が、実質的に樹脂酸を含有しない、請求項１又は２に記載の活力向上剤。

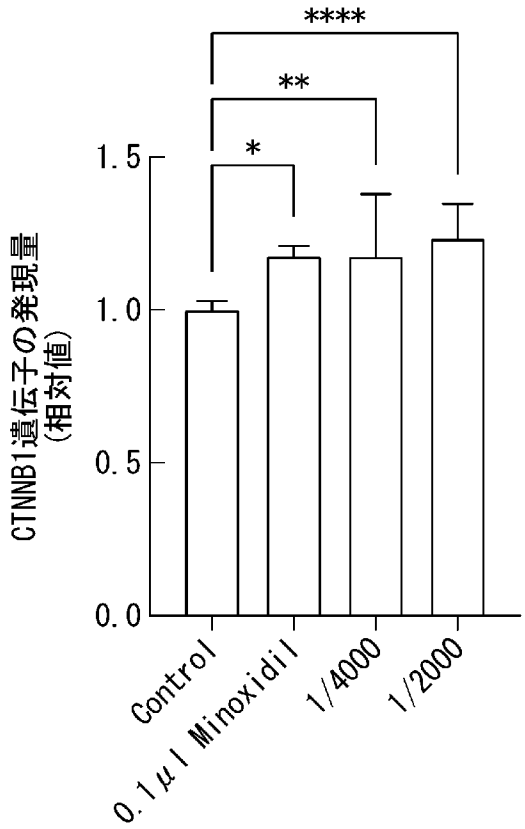
[請求項5] 請求項１又は２に記載の活力向上剤及び薬学的に許容可能な担体を含む、活力向上用組成物。

[請求項6] 請求項１又は２に記載の活力向上剤を含む、活力向上用食品組成物。

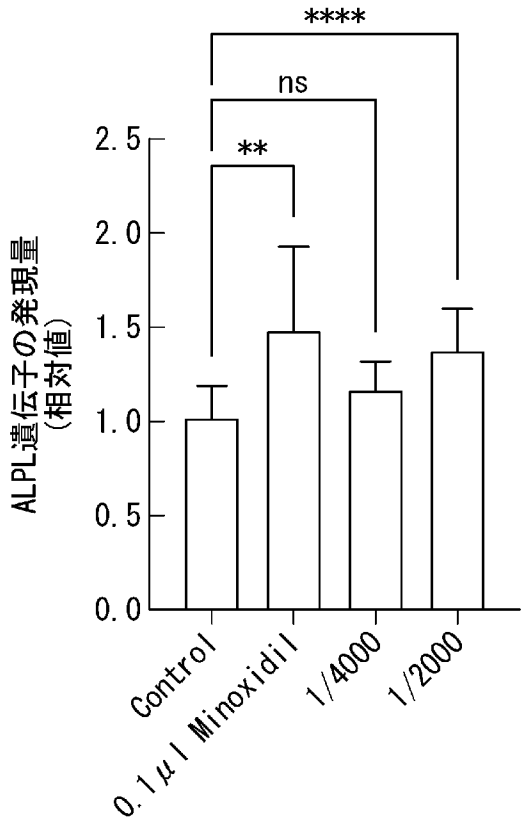
[図1]


****
ns
ns
ns
ns
ns
ns
ns
ns
150
100
50
0
細胞生存率(%)
0
1/6000
1/5000
1/4000
1/3000
1/2000
1/1000
1/500
1/250
1/100
濃度

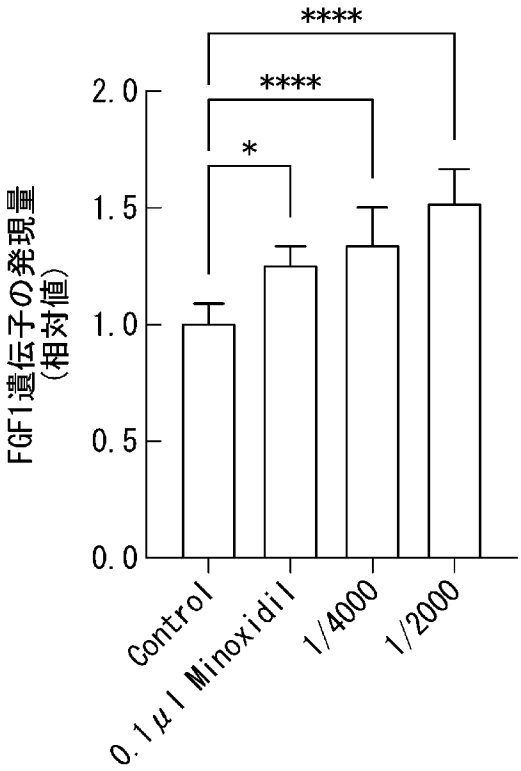
[図2]


****
**
*
1.5
1.0
0.5
0.0
CTNNB1遺伝子の発現量
(相対値)
Control
0.1μl Minoxidil
1/4000
1/2000

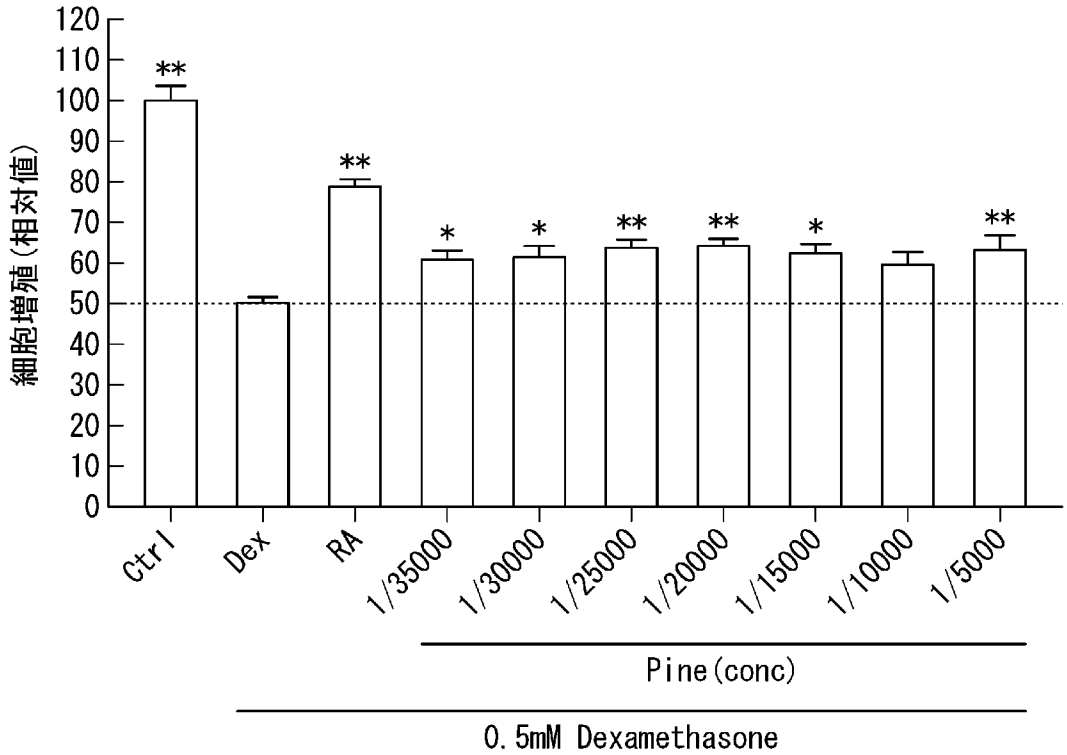
[図3]


****
ns
**
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
ALPL遺伝子の発現量
(相対値)
Control
0.1μl Minoxidil
1/4000
1/2000

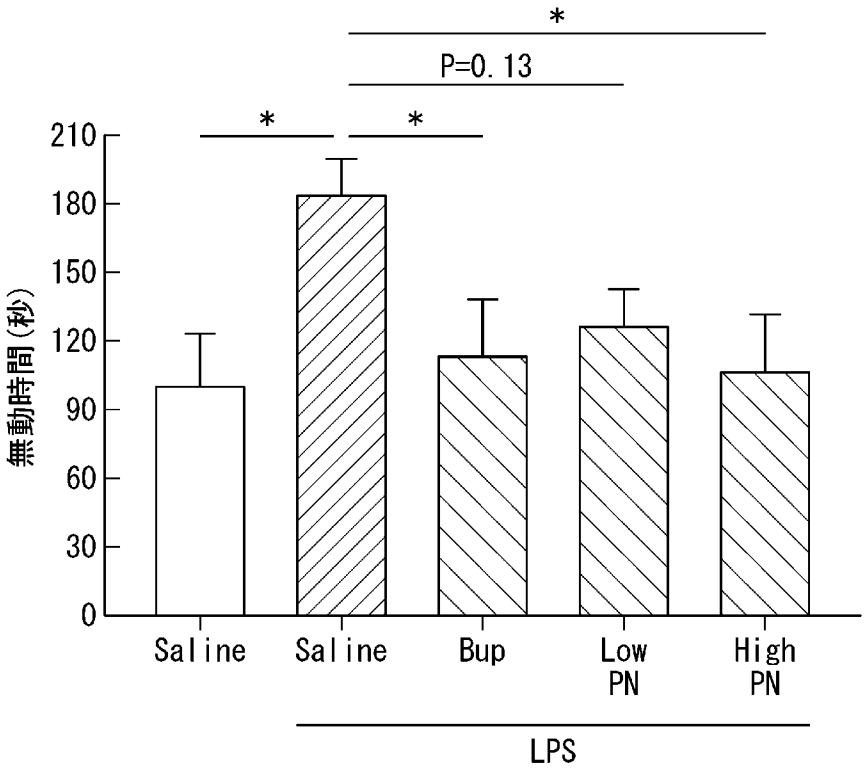
[図4]


****
****
*
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
FGF1遺伝子の発現量
(相対値)
Control
0.1μl Minoxidil
1/4000
1/2000

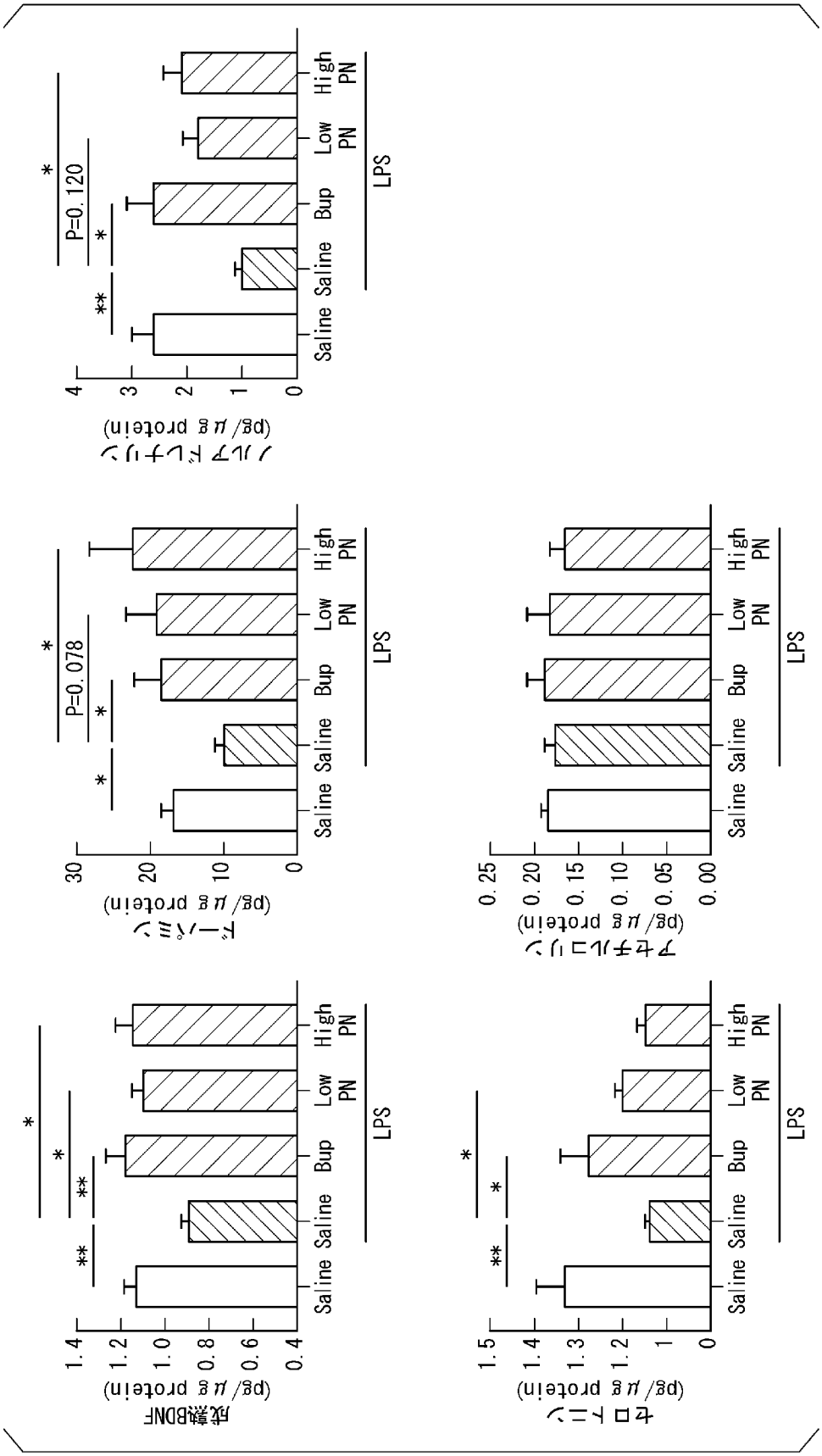
[図5]


120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
細胞増殖(相対値)
**
**
*
*
**
**
*
**
Ctrl
Dex
RA
1/35000
1/30000
1/25000
1/20000
1/15000
1/10000
1/5000
Pine(conc)
0.5mM Dexamethasone

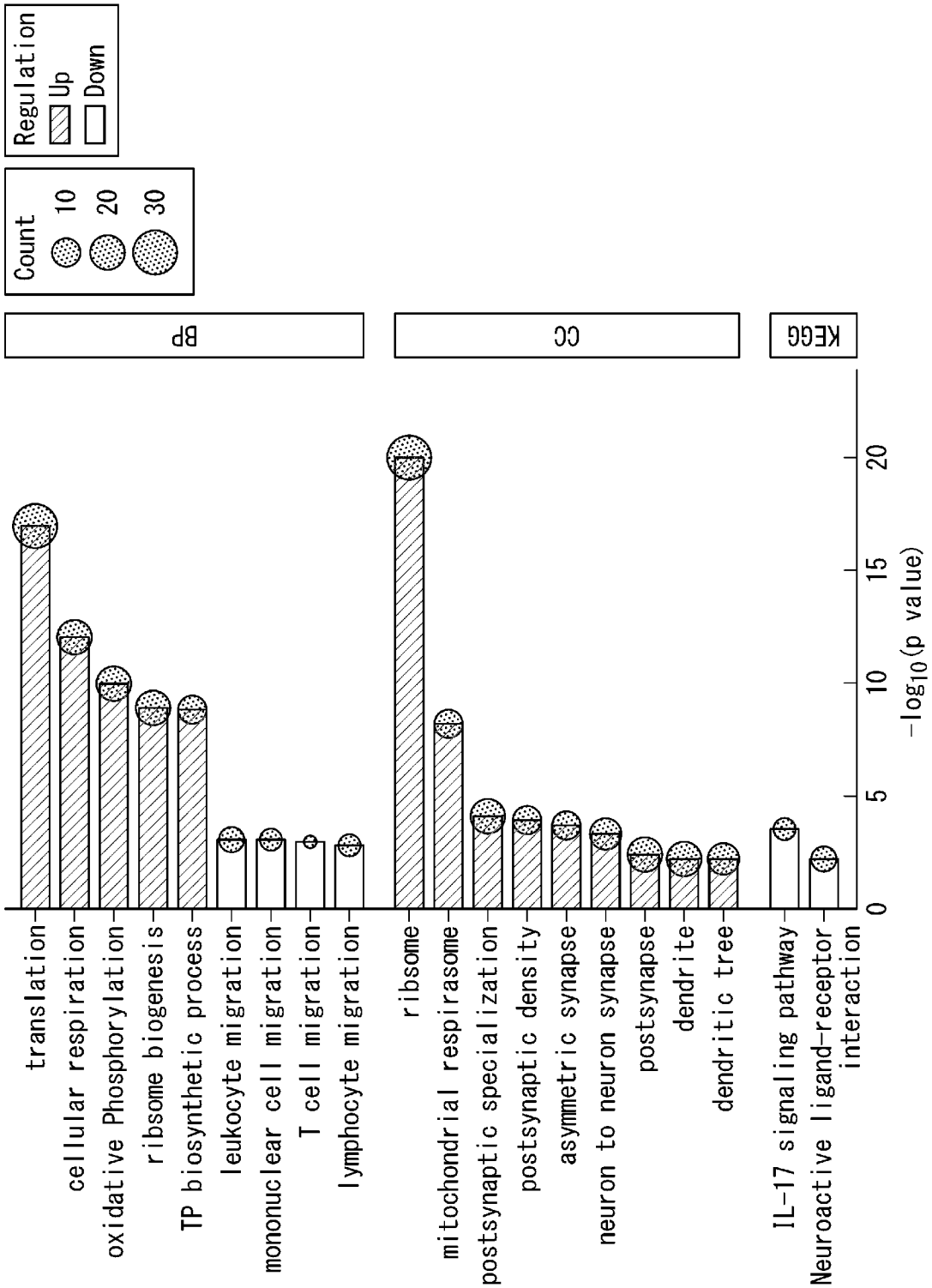
[図6]


*
P=0.13
*
*
210
180
150
120
90
60
30
0
無動時間(秒)
Saline
Saline
Bup
Low PN
High PN
LPS

[図7]


成熟BDNF
(pg/μg protein)
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
**
*
**
*
Saline Saline Bup Low PN High PN
LPS
セロトニン
(pg/μg protein)
1.5
1.4
1.3
1.2
1
0
**
*
*
Saline Saline Bup Low PN High PN
LPS
アセチルコリン
(pg/μg protein)
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
Saline Saline Bup Low PN High PN
LPS
ドーパミン
(pg/μg protein)
30
20
10
0
*
*
P=0.078
*
Saline Saline Bup Low PN High PN
LPS
ノルアドレナリン
(pg/μg protein)
4
3
2
1
0
**
*
P=0.120
*
Saline Saline Bup Low PN High PN
LPS

[図8]


Regulation
Up
Down
Count
10
20
30
BP
CC
KEGG
translation
cellular respiration
oxidative Phosphorylation
ribsome biogenesis
TP biosynthetic process
leukocyte migration
mononuclear cell migration
T cell migration
lymphocyte migration
ribsome
mitochondrial respirasome
postsynaptic specialization
postsynaptic density
asymmetric synapse
neuron to neuron synapse
postsynapse
dendrite
dendritic tree
IL-17 signaling pathway
Neuroactive ligand-receptor interaction
0
5
10
15
20
−log10(p value)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2024/016081

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 36/15(2006.01)i; ***A23L 33/105***(2016.01)i; ***A61K 8/9767***(2017.01)i; ***A61P 17/14***(2006.01)i; ***A61P 25/24***(2006.01)i; ***A61Q 7/00***(2006.01)i
FI: A61K36/15; A23L33/105; A61K8/9767; A61P17/14; A61P25/24; A61Q7/00

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)

A61K36/15; A23L33/105; A61K8/9767; A61P17/14; A61P25/24; A61Q7/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KURIBARA, H et al. An antidepressant effect of Sho-ju-sen, a Japanese herbal medicine, assessed by learned helplessness model in mice. Phytotherapy research. 2004, vol. 18, no. 2, pp. 173-176 abstract, table 3	1-6
X	栗原　久ほか, 生薬製剤「松寿仙」の意欲改善効果, 新薬と臨床, 2002, vol. 51, no. 1, pp. 22-29, (KURIHARA, Hisashi et al. A Tonic Effect of Sho-ju-sen, a Japanese Herbal Medicine. Journal of New Remedies & Clinics.) summary, fig. 1	1-6
X	LEE, JS et al. Pine needle extract prevents hippocampal memory impairment in acute restraint stress mouse model. J. Ethnopharmacol. 2017, vol. 207, pp. 226-236 abstract, 2.1, fig. 2	1-6
X	JP 2011-225506 A (HIGAMI, Yoshiaki) 10 November 2011 (2011-11-10) examples	1-6

☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
26 June 2024	**09 July 2024**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2010-514756 A (KIM, Ji-Hwal) 06 May 2010 (2010-05-06) claims, example 2	1-5
A	claims, example 2	6
X	JP 5-339133 A (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO) 21 December 1993 (1993-12-21) examples	1-5
A	examples	6
A	JP 6-9419 A (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO) 18 January 1994 (1994-01-18) examples	1-6
A	JP 54-59311 A (MIDORIKAWA, Yoshinobu) 12 May 1979 (1979-05-12) examples	1-6
A	JANG, JY et al. Effect of pine needle water extract on cadmium-induced oxidative stress in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2007, vol. 36, no. 4 , pp. 411-418 abstract	1-6
A	JP 2003-155219 A (INOUE, Tadao) 27 May 2003 (2003-05-27) claims, examples	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/016081

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2011-225506 A	10 November 2011	(Family: none)	
JP 2010-514756 A	06 May 2010	US 2010/0104646 A1 claims, example 2 WO 2008/082123 A1 claims, example 2 KR 10-0757237 B1 claims, example 2 CN 101646423 A claims, example 2	
JP 5-339133 A	21 December 1993	US 5494667 A examples EP 573141 A2 examples KR 10-1994-0005260 A examples CN 1082398 A examples	
JP 6-9419 A	18 January 1994	US 5466453 A examples EP 565313 A2 examples KR 10-1993-0021110 A examples CN 1081844 A examples	
JP 54-59311 A	12 May 1979	(Family: none)	
JP 2003-155219 A	27 May 2003	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2024/016081

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 36/15(2006.01)i; A23L 33/105(2016.01)i; A61K 8/9767(2017.01)i; A61P 17/14(2006.01)i; A61P 25/24(2006.01)i; A61Q 7/00(2006.01)i
FI: A61K36/15; A23L33/105; A61K8/9767; A61P17/14; A61P25/24; A61Q7/00

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（ＩＰＣ））

A61K36/15; A23L33/105; A61K8/9767; A61P17/14; A61P25/24; A61Q7/00

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	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２４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）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (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	KURIBARA H et al., An antidepressant effect of Sho-ju-sen, a Japanese herbal medicine, assessed by learned helplessness model in mice, Phytotherapy research, 2004, Vol. 18, No. 2, pp. 173-176 Abstract, Table3	1-6
X	栗原　久ほか, 生薬製剤「松寿仙」の意欲改善効果, 新薬と臨床, 2002, Vol.51, No.1, pp.22-29 要旨、図１	1-6
X	LEE JS et al., Pine needle extract prevents hippocampal memory impairment in acute restraint stress mouse model, J. Ethnopharmacol., 2017, Vol.207, pp.226-236 ABSTRACT, 2.1, Fig.2	1-6
X	JP 2011-225506 A (樋上 義昭) 10.11.2011 (2011-11-10) 実施例	1-6

☑ 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
"D" 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
"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抵触するものではなく、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
"&" 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
26.06.2024	09.07.2024

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）

西村　亜希子 4U 3435

電話番号 03-3581-1101 内線 3439

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 2010-514756 A (キム, ジ フワル) 06.05.2010 (2010-05-06) 特許請求の範囲, 実施例2	1-5
A	特許請求の範囲, 実施例2	6
X	JP 5-339133 A (株式会社林原生物化学研究所) 21.12.1993 (1993-12-21) 実施例	1-5
A	実施例	6
A	JP 6-9419 A (株式会社林原生物化学研究所) 18.01.1994 (1994-01-18) 実施例	1-6
A	JP 54-59311 A (緑川　嘉信) 12.05.1979 (1979-05-12) 実施例	1-6
A	JANG JY et al., Effect of pine needle water extract on cadmium-induced oxidative stress in rats, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 2007, Vol.36, No.4 , pp.411-418 ABSTRACT	1-6
A	JP 2003-155219 A (井上 忠夫) 27.05.2003 (2003-05-27) 特許請求の範囲, 実施例	1-6

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2024/016081

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2011-225506 A	10.11.2011	（ファミリーなし）	
JP 2010-514756 A	06.05.2010	US 2010/0104646 A1 Claims, Example2 WO 2008/082123 A1 Claims, Example2 KR 10-0757237 B1 Claims, Example2 CN 101646423 A Claims, Example2	
JP 5-339133 A	21.12.1993	US 5494667 A Examples EP 573141 A2 Examples KR 10-1994-0005260 A Examples CN 1082398 A Examples	
JP 6-9419 A	18.01.1994	US 5466453 A Examples EP 565313 A2 Examples KR 10-1993-0021110 A Examples CN 1081844 A Examples	
JP 54-59311 A	12.05.1979	（ファミリーなし）	
JP 2003-155219 A	27.05.2003	（ファミリーなし）	