

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02010/061574

発行日 平成24年4月26日 (2012. 4. 26)

(43) 国際公開日 平成22年6月3日 (2010. 6. 3)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/7024 (2006. 01)	A 6 1 K 31/7024	4 C 0 5 7
A 6 1 K 31/202 (2006. 01)	A 6 1 K 31/202	4 C 0 8 6
A 6 1 P 25/20 (2006. 01)	A 6 1 P 25/20	4 C 0 8 8
A 6 1 K 36/18 (2006. 01)	A 6 1 K 35/78 C	4 C 2 0 6
C O 7 H 13/06 (2006. 01)	C O 7 H 13/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)

出願番号 特願2010-540359 (P2010-540359)  
 (21) 国際出願番号 PCT/JP2009/006316  
 (22) 国際出願日 平成21年11月24日 (2009. 11. 24)  
 (31) 優先権主張番号 特願2008-299598 (P2008-299598)  
 (32) 優先日 平成20年11月25日 (2008. 11. 25)  
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(71) 出願人 390000745  
 財団法人大阪バイオサイエンス研究所  
 大阪府吹田市古江台6丁目2番4号  
 (74) 代理人 100110973  
 弁理士 長谷川 洋  
 (72) 発明者 裏出 良博  
 京都府京都市左京区下鴨松原町43 グラ  
 ン・シティオ下鴨四季彩館503  
 (72) 発明者 黄 志力  
 大阪府吹田市古江台6-2-4 財団法人  
 大阪バイオサイエンス研究所内  
 (72) 発明者 有竹 浩介  
 兵庫県川西市清和台西3-1-25

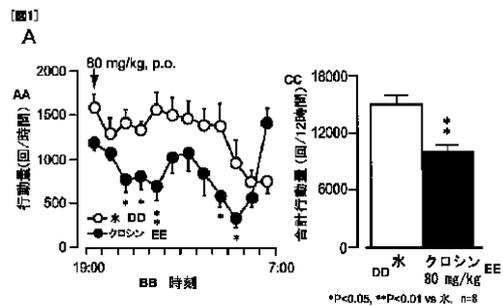
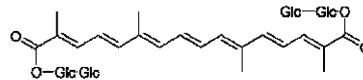
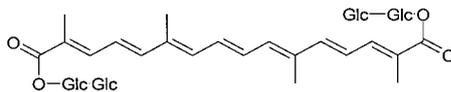
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 睡眠改善剤および鎮静剤ならびにそれらの使用

(57) 【要約】

【課題】 新規な睡眠改善剤および鎮静剤を提供すること

【解決手段】 上記課題は、以下の化学式で表されるクロ  
 シンを有効成分として含む睡眠改善剤および鎮静剤を提  
 供することにより解決される。



AA AMOUNT OF MOTOR ACTIVITY (frequency/hour)  
 BB CLOCK TIME  
 CC TOTAL AMOUNT OF MOTOR ACTIVITY (frequency/12 hours)  
 DD WATER  
 EE CROCIN

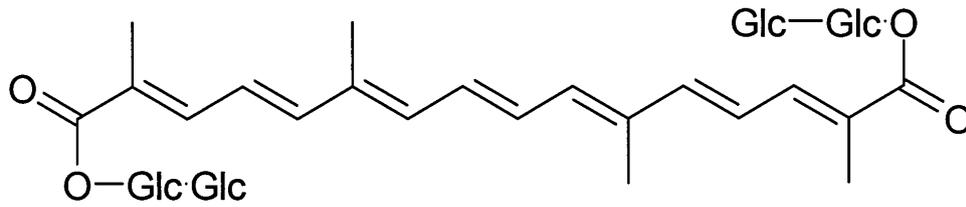
## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

以下の化学式 I :

( I )

## 【化 1】



10

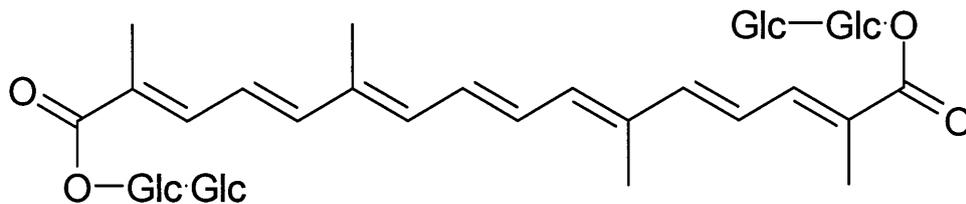
で表されるクロシンを有効成分として含む睡眠改善剤。

## 【請求項 2】

以下の化学式 I :

( I )

## 【化 2】



20

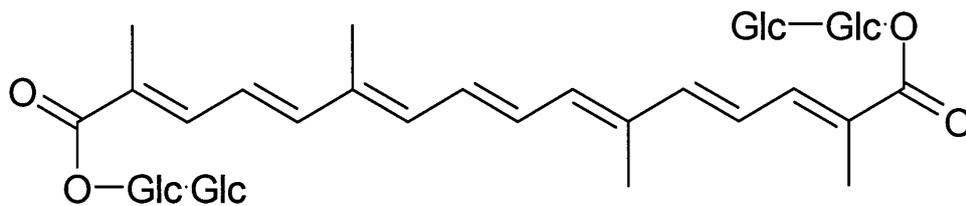
で表されるクロシンの睡眠効率を改善するための使用。

## 【請求項 3】

以下の化学式 I :

( I )

## 【化 3】



30

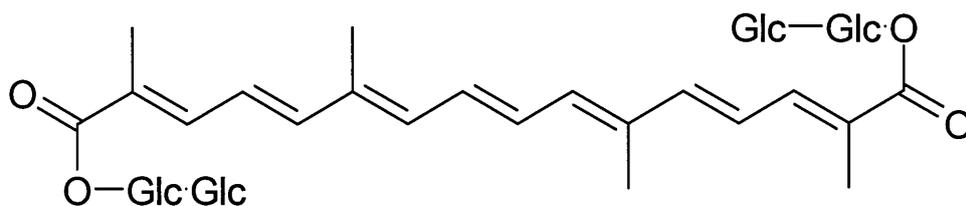
で表されるクロシンを有効成分として含む鎮静剤。

## 【請求項 4】

以下の化学式 I :

( I )

## 【化 4】



40

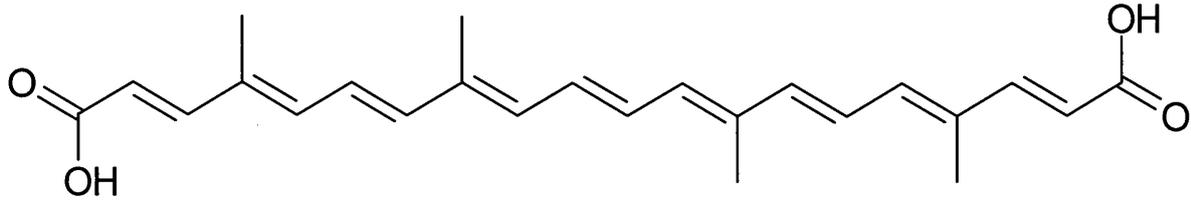
で表されるクロシンの鎮静するための使用。

## 【請求項 5】

以下の化学式 I I :

( I I )

## 【化5】



で表されるノルビキシンを有効成分として含む睡眠改善剤。

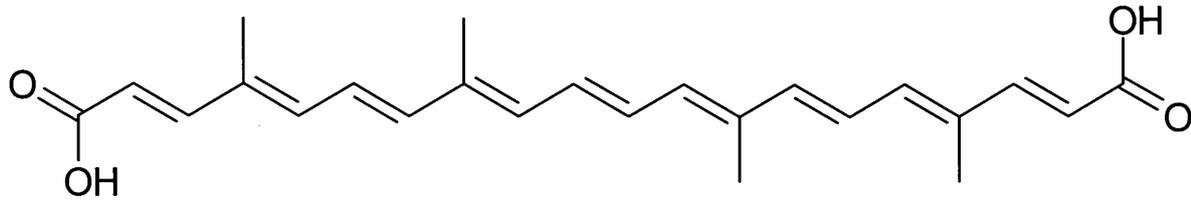
## 【請求項6】

以下の化学式 I I :

10

( I I )

## 【化6】



で表されるノルビキシンの睡眠効率を改善するための使用。

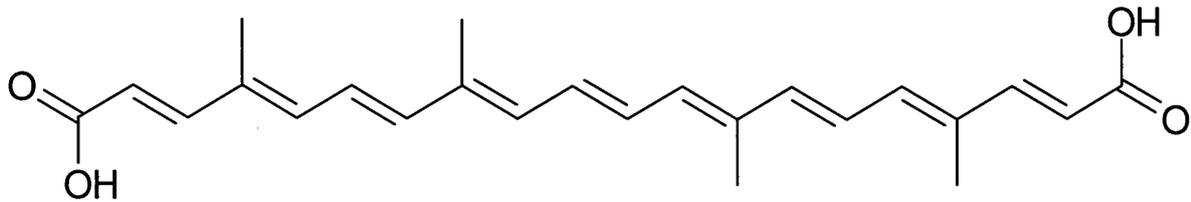
## 【請求項7】

20

以下の化学式 I I :

( I I )

## 【化7】



で表されるノルビキシンを有効成分として含む鎮静剤。

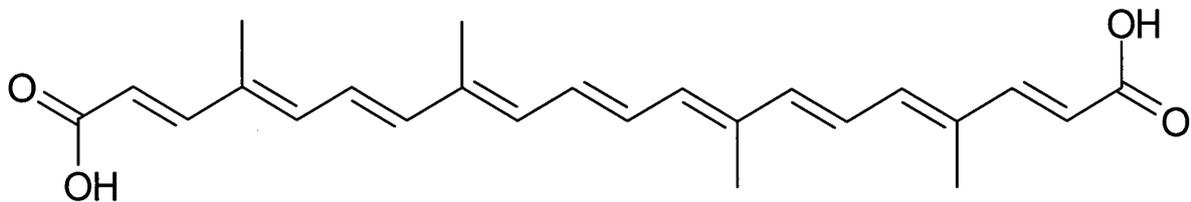
30

## 【請求項8】

以下の化学式 I I :

( I I )

## 【化8】



40

で表されるノルビキシンの鎮静するための使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、新規の睡眠改善剤および鎮静剤ならびにそれらの使用に関し、詳しくは睡眠を改善する睡眠改善剤および鎮静剤に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

現代社会ではストレスや24時間型の生活習慣から不眠に悩む人が増加する傾向にある。厚生労働省で2003年から始まった「健康づくりのための睡眠指針検討会」の報告で

50

は、「不眠で困っている人」の割合は21.4%にのぼり、深刻な問題となっている。従って快適な睡眠を望む人はこれまで以上に増加し、それと平行して不眠を改善する薬の需要は今後益々高まると考えられる。現在使用されている睡眠薬には、主として、ベンゾジアゼピン系、非ベンゾジアゼピン系、抗ヒスタミン系、バルビツール酸塩系等のものが知られている（特許文献1を参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献1】特表2007-510733（段落0007）

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかし、上記の睡眠薬の多くは覚醒後の頭痛、不快感、身体依存などの副作用を伴うため、必ずしも自然な睡眠を得られるとはいえない。従って、より快適な睡眠を得られる治療薬の開発は重要な事項である。

【0005】

本発明は、上記課題を解決するために、新規の睡眠改善剤および鎮静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】

【0006】

20

本発明者らは、上記目的を達成するために有効成分を検討したところ、カロテノイド色素、詳しくはサフランあるいはクチナシ（山梔子）の成分であるクロシン、およびベニノキ科ベニノキの成分であるノルピキシンに鎮静および睡眠効率の改善に効果があることを見出し、かかる知見に基づいて、本発明を完成させたものである。即ち、本発明は、以下の睡眠改善剤および鎮静剤に関する。

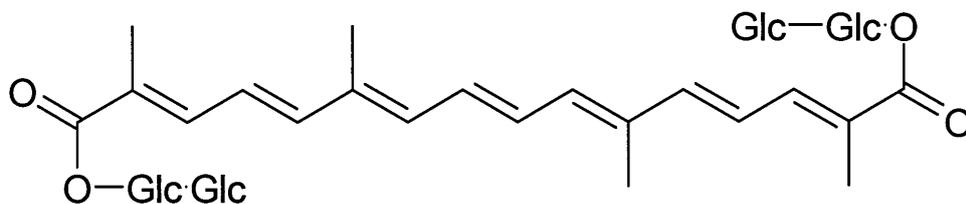
項1．以下の化学式I：

【0007】

(I)

【化9】

30



で表されるクロシンまたはその誘導体を有効成分として含む睡眠改善剤。

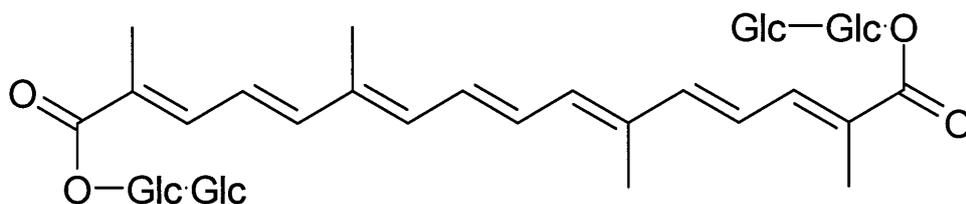
項2．以下の化学式I：

【0008】

(I)

【化10】

40



で表されるクロシンの睡眠効率を改善するための使用。

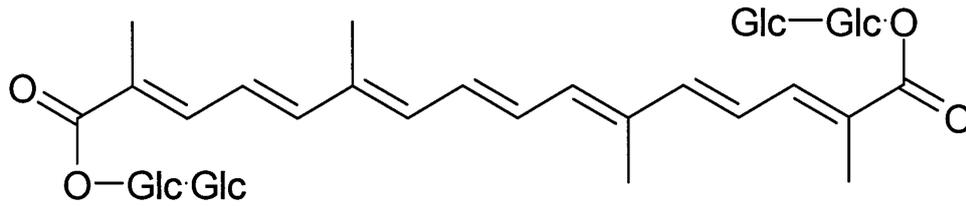
項3．以下の化学式I：

【0009】

(I)

50

【化 1 1】



で表されるクロシンを有効成分として含む鎮静剤。

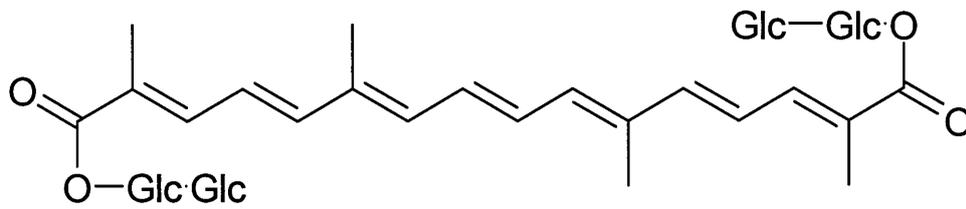
項 4 . 以下の化学式 I :

【 0 0 1 0】

10

( I )

【化 1 2】



で表されるクロシンの鎮静するための使用。

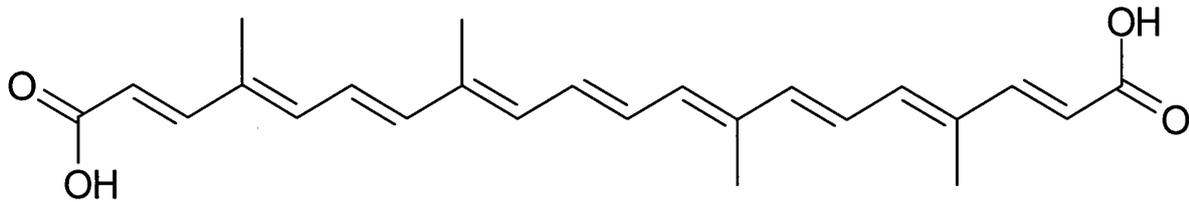
項 5 . 以下の化学式 I I :

20

【 0 0 1 1】

( I I )

【化 1 3】



で表されるノルピキシンまたはその誘導体を有効成分として含む睡眠改善剤。

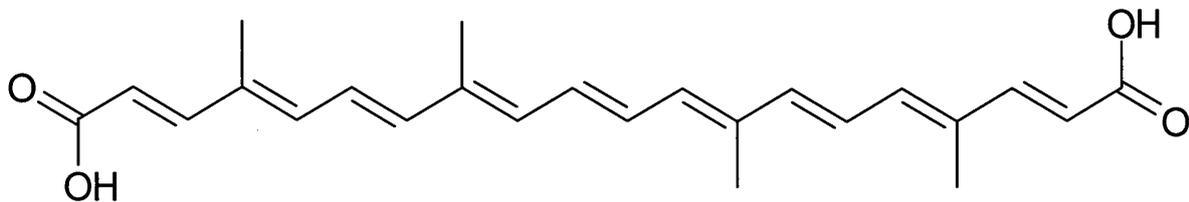
30

項 6 . 以下の化学式 I I :

【 0 0 1 2】

( I I )

【化 1 4】



40

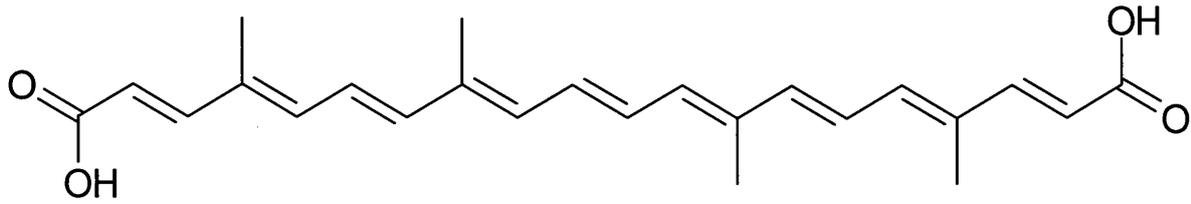
で表されるノルピキシンの睡眠効率を改善するための使用。

項 7 . 以下の化学式 I I :

【 0 0 1 3】

( I I )

## 【化 1 5】



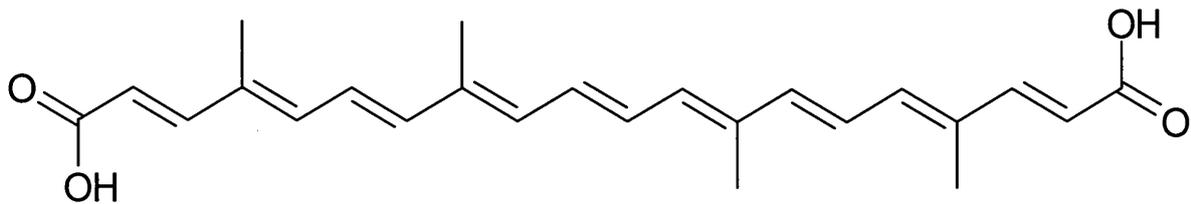
で表されるノルピキシンを有効成分として含む鎮静剤。

項 8 . 以下の化学式 I I :

【 0 0 1 4】

( I I )

【化 1 6】



で表されるノルピキシンの鎮静するための使用。

【発明の効果】

【 0 0 1 5】

本発明によれば、カロテノイド色素、詳しくはサフランあるいはクチナシ（山梔子）の成分であるクロシン、あるいはベニノキ科ベニノキの成分であるノルピキシンを摂取することで、睡眠を促進し、自然で快適な睡眠を得ることが出来る。特に本発明の睡眠改善剤は、ノンレム睡眠を有意に延長することができる。また、本発明の睡眠改善剤は、優れた睡眠改善作用に加え、優れた鎮静作用をも有しているため、鎮静剤としても有用である。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 6】

【図 1】図 1 は、クロシン経口投与によるマウスの行動量の変化（ A ; 8 0 m g / k g のクロシンによる行動量減少の経時変化、 B ; クロシン 4 0、 8 0 および 1 6 0 m g / k g 投与時のマウス行動量の変化）を示す。

【図 2】図 2 は、クロシン腹腔内投与によるマウスの睡眠・覚醒量の変化（ A ; 睡眠・覚醒量の経時変化、 B ; 1 2 時間の累積睡眠・覚醒量の変化）を示す。

【図 3】図 3 は、野生型マウスおよびヒスタミン H 1 受容体遺伝子を欠損させたマウスに対して、クロシンおよび生理食塩水をそれぞれ腹腔内投与したときのノンレム睡眠量を比較して示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 7】

「睡眠改善剤」とは、起床時の眠気を改善する、入眠をスムーズにする、中途覚醒を減らす等の作用によって、安眠を誘発して良好な睡眠状態を導くために使用されるものである。また、「鎮静剤」とは、人や動物の精神を鎮静させることにより、リラックスさせ、又は睡眠を改善させるために使用されるものである。

【 0 0 1 8】

本実施の形態の睡眠改善剤および鎮静剤は、下記化学式（ I ）で表されるクロシン、あるいは下記化学式（ I I ）で表されるノルピキシンを有効成分として含むものである。クロシンは、クロセチンが 2 分子のゲンチオピオースと縮合したジエステルであって、その分子式は  $C_{44}H_{64}O_{24}$  である。ノルピキシンは、セスターテルペン（ C 2 4 ）の両サイドにカルボン酸が結合した構造を持つ化合物である。

【 0 0 1 9】

( I )

10

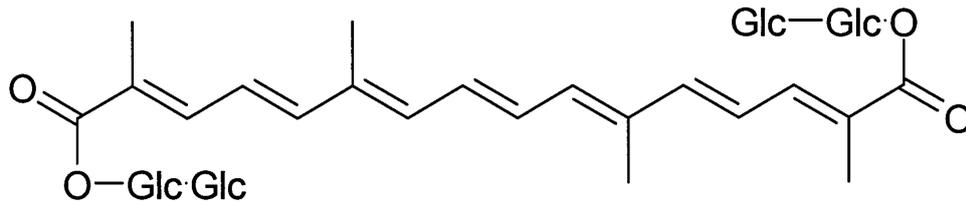
20

30

40

50

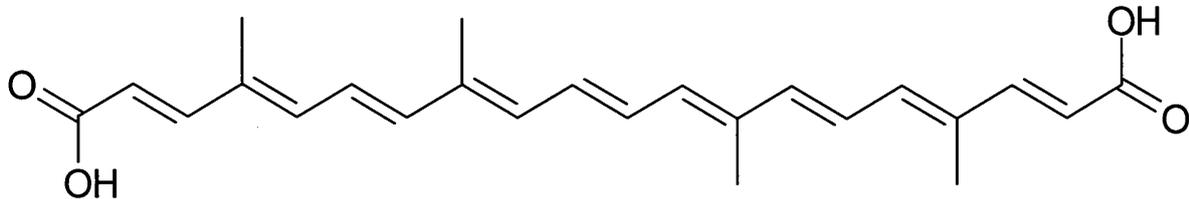
## 【化17】



## 【0020】

(I I)

## 【化18】



## 【0021】

クロシンの製造方法は、特に限定はされないが、例えば、植物、より具体的には大分県竹田市で栽培される薬用あるいは食用植物であるサフラン (*Crocus sativus* L) あるいは中国の四川省、江蘇省、雲南省、河北省等で栽培されるクチナシ (山梔子、*Gardenia jasminoides*) を原料として抽出単離することによって調製することができる。

## 【0022】

サフランからクロシンを単離調製する場合、原料として使用するサフランは、めしべに限定される (植物のサフラン (*Crocus sativus* L) のめしべを集めて乾燥させたものをサフランと称し、めしべ以外の部分はサフランとは呼ばない)。当該クロシンの調製は、上記のめしべを、有機溶媒を含む溶媒で抽出および分画する工程を経て行うことができる。

## 【0023】

例えば、乾燥サフランを細かくし、有機溶媒で室温にて1 - 5日ほど抽出し、その後、これらを濾過して濾液を濃縮し、得られた溶媒抽出物を、各種カラムクロマトグラフィーを組み合わせることで分離することにより、クロシンを得ることができる。ここで、有機溶媒としては、メタノール、エタノール、ブタノール、アセトン、酢酸エチルなどが挙げられる。好ましい有機溶媒は、メタノール、エタノール、ブタノールなどである。さらに、水、および水とこれら有機溶媒との混液などで抽出することも可能である。

## 【0024】

また、カラムクロマトグラフィーとしては、オープンカラムクロマトグラフ、高速液体クロマトグラフ (HPLC)、分取リサイクルHPLCなどが挙げられ、それらに各種カラムクロマトグラフ用の担体、即ち順相シリカゲル、逆相シリカゲル (ODS)、ゲル濾過 (Sephadex)、イオン交換樹脂 (Diaion HP-20) などを組み合わせることができる。好ましいカラムクロマトグラフィーの組み合わせとしては、オープンカラムクロマトグラフにはイオン交換樹脂 (Diaion HP-20)、順相シリカゲル、逆相シリカゲル (ODS)、ゲル濾過 (Sephadex、GS) などであり、分取リサイクルHPLCにはゲル濾過 (Sephadex、GS)、HPLCには逆相シリカゲル (ODS) などが挙げられる。

## 【0025】

なお、睡眠改善剤および鎮静剤の有効成分として用いられるクロシンには、上記化学式 (I) に包括的に含まれる構造異性体も含まれる。

## 【0026】

ノルピキシンの製造方法も、また特に限定はされないが、例えば、植物、より具体的に

10

20

30

40

50

はベニノキ科ベニノキ (*Bixa orellana* LINNE) を原料として抽出単離することによって調製することができる。

【0027】

ベニノキからノルピキシンを単離調製する場合、ベニノキの種子の被覆物から抽出するのが好ましい。当該ノルピキシンの調製は、上記種子の被覆物を、有機溶媒を含む溶媒で抽出および分画する工程を経て行うことができる。

【0028】

例えば、乾燥したベニノキの種子の被覆物を細かくし、有機溶媒で室温にて1 - 5日ほど抽出し、その後、これらを濾過して濾液を濃縮し、得られた溶媒抽出物を、各種カラムクロマトグラフィーを組み合わせて分離することにより、ノルピキシンを得ることができる。ここで、有機溶媒としては、プロピレングリコール等のポリオール、メタノール、エタノール、ブタノール、ヘキサン、アセトン、酢酸エチルなどが挙げられる。好ましい有機溶媒は、メタノール、エタノール、ブタノール、ヘキサンなどである。さらに、水、および水とこれら有機溶媒との混液などで抽出することも可能である。なお、カラムクロマトグラフィーは、上記クロシンの場合と同様である。

10

【0029】

睡眠改善剤および鎮静剤は、カロテノイド色素、更に詳しくは上記化学式 (I) で表されるクロシン、上記化学式 (II) で表わされるノルピキシンまたはそれらの各誘導体のみから構成されていてもよいが、使用形態に応じて、担体、基材又は添加物等の他の成分を含有していてもよい。睡眠改善剤および鎮静剤において、上記化学式 (I) で表されるクロシン、上記化学式 (II) で表わされるノルピキシンまたはそれらの各誘導体の配合割合としては、該睡眠改善剤および鎮静剤の使用形態、期待される効果の程度、使用者の性別や年齢等によって異なるが、一例として、該睡眠改善剤および鎮静剤の総重量に対して、化学式 (I) で表されるクロシン、化学式 (II) で表わされるノルピキシンまたはそれらの各誘導体が0.01 ~ 100重量%、好ましくは0.1 ~ 10重量%となる割合が挙げられる。

20

【0030】

睡眠改善剤および鎮静剤は、医薬、食品等などとして用いることができる。睡眠改善剤および鎮静剤の投与形態・剤型は、経口投与、非経口投与のいずれでもよく、経口投与剤としては、散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤、チュアブル剤などの固形剤、溶液剤、シロップ剤などの液剤が、また、非経口投与剤としては、注射剤、スプレー剤などが挙げられる。好ましい投与形態は、錠剤およびカプセル剤などによる経口投与である。

30

【0031】

睡眠改善剤および鎮静剤は、公知の製剤化方法、特に経口摂取に適した製剤化技術を使用して製剤化することができる。例えば、睡眠改善剤および鎮静剤を医薬として用いる場合、当該医薬組成物は活性成分として遊離または酸付加塩の形態にある有効な量のクロシン、ノルピキシンまたはそれらの各誘導体を、医薬的に受容しうる担体と均一に混合することにより製造できる。この担体は投与に対して望ましい製剤の形態に応じて、広い範囲の形態を取ることができる。これらの医薬組成物は、経口投与に対して適する単位服用形態にあることが望ましい。経口服用形態にある組成物の調製においては、何らかの有用な薬理的に受容しうる担体を使用できる。例えば、懸濁液及びシロップ剤の如き経口液体調製物は水およびシュクロース、ソルビトール、フルクトース等の糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール等のグリコール類、ゴマ油、オリーブ油、大豆油等の油類、アルキルパラヒドロキシベンゾエート等の防腐剤、ストロベリー・フレーバー、ペパーミント等のフレーバー類を使用して製造できる。

40

【0032】

散剤、丸薬、カプセルおよび錠剤はラクトース、グルコース、シュクロース、マニトール等の賦形剤、デンプン、アルギン酸ソーダ等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル等の表面活性剤、グリセリン等の可塑剤を用いて製造できる。錠

50

剤およびカプセルが、投与が容易であるという理由で最も有用な単位経口投与剤である。錠剤やカプセルを製造する際には、固体の医薬担体が用いられる。睡眠改善剤および鎮静剤を経口投与する場合、その有効投与量は、対象患者の年齢・体重・病態、投与方法などによっても異なるが、通常、有効成分（クロシン、ノルピキシンまたはそれらの各誘導体）を1～10000mg/kg/日程度、好ましくは10～10000mg/kg/日程度となるように投与する。また、その投与時期は通常就寝前の1～6時間であり、より好ましくは2～5時間である。

#### 【実施例】

##### 【0033】

以下に、本発明を具体的に説明するため、本発明の睡眠改善剤および鎮静剤の有効成分の製造例、本発明の睡眠改善および鎮静の効果を明確にするために実施例、並びに本発明の睡眠改善剤および鎮静剤の製剤例を記載する。但し、本発明は、これらの実施例等により何ら限定されるものではない。

10

##### 【0034】

#### 実施例1

##### クロシンの製造方法

生あるいは乾燥サフラン、特にはめしべを細かくし、メタノールを溶媒として室温で一週間抽出した。その後、これらを濾過して濾液を濃縮し、得られた固体（以下「メタノール抽出物」と呼ぶ）を、オープンカラムクロマトグラフにはイオン交換樹脂（Diaion HP-20）、順相シリカゲル、ゲル濾過（Sephadex、GS）を組み合わせ、分取りサイクルHPLCにはゲル濾過（Sephadex、GS）を組み合わせ、分離を行い、クロシンを得た。

20

##### 【0035】

#### 試験例1

##### 1. 方法

##### (i) 動物

行動量測定には、10週齢のICR系雄性マウス（体重40g、日本エスエルシー株式会社）を使用し、脳波測定には、10週齢のC57BL/6系雄性マウス（体重：25～28g、株式会社オリエンタルバイオサービス）を使用した。マウスは、温度22（プラスマイナス2）、湿度55%（プラスマイナス5%）、12時間の明暗周期で放射線滅菌飼料（ラボMRストック）と水を自由に摂取させた。

30

##### 【0036】

##### (ii) 行動量測定と解析

行動量を測定するために、マウスを動物行動量測定用チャンバー内で7日間環境に馴化させた後、水を投与した。投与後すぐにマウスを個別のケージに入れ行動量測定を開始した。測定終了後、再度グループで2日間の飼育後、クロシンを投与し、その後マウスを個別ケージに入れ行動量を測定した。行動量は、クロシンをそれぞれ40mg/kg、80mg/kgおよび160mg/kg投与して測定した。行動量は、動物から放出される赤外線を検出するセンサー（Biotex Japan社）とソフトウェアBiotex 16CH Act Monitor BAI2216（Biotex Japan社）を用いて12時間記録した（Nakamura et al. In vivo monitoring of circadian timing in freely moving mice. Current Biology 2008, 18: 381-385）。行動量は、投与後1時間毎の累積量と12時間の累積量を算出し、対照群と比較した。

40

##### 【0037】

##### 2. 結果

図1Aおよび図1Bに示すように、マウスに40、80、160mg/kgのクロシンを経口投与すると、いずれの投与量の場合にも、水投与に比べて、有意に行動量が減少した。特に、80mg/kg以上を投与した場合には、統計学的有意に行動量が減少した。

50

## 【0038】

## 試験例2

## 1. 方法

## (i) 脳波測定と解析

ソムノペンチル(一般名ペントバルピタール、50mg/kg、腹腔内投与)麻酔下でマウスに脳波・筋電位測定用の電極を埋め込み、施術後は回復用チャンバーにおいて10日間回復させた後、記録用チャンバーへ移しケーブルを接続して3日間馴化させた。脳波・筋電位は、増幅、フィルター(脳波:0.5-30Hz、筋電位:20-200Hz)処理後、128Hzのサンプリング速度でデジタル化し記録した。脳波解析は、ソフトウェアSleepSign(登録商標)(キッセイコムテック社製)を用いて10秒間のデータを1エポックとし、向當らの方法(Kohtoh et al. Sleep and Biological Rhythms 2008, 6: 163-171)により、脳波と筋電位の周波数成分・波形によって各エポックを覚醒、ノンレム睡眠・レム睡眠のいずれかに判定した。具体的には、以下の方法により判定した。まず、周波数分析によりデルタ波(0.65-4.0Hz)成分とシータ波(6.0-10.0Hz)成分を抽出した。次に、これらの成分を含まず、筋電位が観察されるものを覚醒と判定した。また、デルタ波とシータ波が含まれているものを睡眠と判定し、その中でもシータ波を主成分として含むものをレム睡眠それ以外のものをノンレム睡眠と判定した。

10

## 【0039】

## (ii) サンプル投与

行動量を測定するために、クロシン(各40、80、160mg/kg)をマウスに経口投与用ゾンデを用いて10ml/kgの容量で投与した。対照群には水を投与した。投与時間は、暗期開始時の19:00とした。また、脳波測定のために、クロシン(各10、30、100mg/kg)をマウスの腹腔内に20ml/kgの容量で投与した。対照群には生理食塩水を投与した。投与時間は、暗期開始時の20:00とした。

20

## 【0040】

## 2. 結果

図2Aおよび図2Bに示すように、脳波測定においてマウスに各10、30および100mg/kgのクロシンを腹腔内投与すると、いずれの投与量の場合にも、生理食塩水の投与に比べて、有意にノンレム睡眠量がした。特に、30mg/kg以上を投与した場合には、統計学的有意にノンレム睡眠量が増加した。

30

## 【0041】

## 試験例3

クロシンの睡眠改善作用機構を調べるため、マウスへのクロシン投与後の睡眠・覚醒の詳細な解析を行った。

## 【0042】

## 1. 方法

## (i) 動物

解析には、野生型マウスを使用した。

## 【0043】

## (ii) 脳波測定と解析

野生型マウスに、100mg/kgのクロシンを腹腔内投与し、覚醒への移行回数、レム睡眠への移行回数およびノンレム睡眠への移行回数、1回あたりの覚醒・睡眠の持続時間(秒/4時間)を調べた。睡眠・覚醒の解析において、各種睡眠のステージおよび覚醒の判定は、試験例2の脳波測定・解析と同一の方法により行った。クロシン投与との比較のため、クロシンに代えて生理食塩水の投与も行った。

40

## 【0044】

## 2. 結果

表1に、生理食塩水およびクロシンをそれぞれ野生型マウスに投与したときの覚醒・睡眠の各ステージへの移行回数を比較して示す。また、表2に、生理食塩水およびクロシン

50

をそれぞれ野生型マウスに投与したときの1回あたりの覚醒・睡眠の持続時間を比較して示す。

【0045】

【表1】

	覚醒への移行回数	レム睡眠への移行回数	ノンレム睡眠への移行回数
生理食塩水	32.2 ± 9.1	7.0 ± 2.3	31.6 ± 9.0
クロシン(100mg/kg)	66.0 ± 1.5*	6.6 ± 3.3	66.0 ± 1.5*

\*P<0.05 vs 生理食塩水, n=5

【0046】

【表2】

	覚醒	レム睡眠	ノンレム睡眠
生理食塩水	435.2 ± 116.5	65.6 ± 5.9	136.8 ± 16.3
クロシン(100mg/kg)	73.0 ± 11.4*	52.25 ± 4.3	134.6 ± 12.5

\*P<0.05 vs 生理食塩水, n=5

【0047】

表1に示すように、クロシンを投与すると、生理食塩水を投与した場合と比較して、レム睡眠あるいはノンレム睡眠からの覚醒への移行回数と、覚醒からのノンレム睡眠への移行回数がともに有意に増加することがわかった。また、表2に示すように、クロシンを投与すると、生理食塩水を投与した場合と比較して、覚醒の持続時間が有意に減少することがわかった。

【0048】

試験例4

クロシンの睡眠・覚醒調節作用を調べるため、覚醒に關与するヒスタミンH1受容体遺伝子を欠損させたマウスにクロシンを投与して、その効果を調べた。

【0049】

1. 方法

(i) 動物

解析には、ヒスタミンH1受容体遺伝子を欠損させたマウスと、その比較として野生型マウスとを使用した。

【0050】

(ii) 脳波測定と解析

ヒスタミンH1受容体遺伝子を欠損させたマウスおよび野生型マウスに、それぞれ、100mg/kgのクロシンを腹腔内投与し、ノンレム睡眠量を比較した。睡眠・覚醒の解析において、各種睡眠のステージおよび覚醒の判定は、試験例2の脳波測定・解析と同一の方法により行った。クロシン投与との比較のため、クロシンに代えて生理食塩水の投与も行った。

【0051】

2. 結果

図3に、野生型マウスおよびヒスタミンH1受容体遺伝子を欠損させたマウスに対して、クロシンおよび生理食塩水をそれぞれ腹腔内投与したときのノンレム睡眠量を比較して示す。

【0052】

図3に示すように、生理食塩水を投与した場合には、野生型マウスとヒスタミンH1受容体遺伝子を欠損させたマウスとの間に、ノンレム睡眠量に有意な差は認められなかった。一方、クロシンを投与した場合には、ヒスタミンH1受容体遺伝子を欠損させたマウスのノンレム睡眠量は、野生型マウスのノンレム睡眠量に比べて、有意に減少した。この結果から、クロシンの睡眠・覚醒調節作用の一部は、ヒスタミンH1受容体を介した作用であると考えられる。

10

20

30

40

50

【0053】

製剤例1：錠剤

常法によって、次の組成により錠剤を調製する。

クロシン	200mg
乳糖	60mg
バレイショデンプン	30mg
ポリビニルアルコール	2mg
ステアリン酸マグネシウム	1mg
タール色素	微量

【0054】

製剤例2：散剤

常法によって、次の組成により散剤を作成する。

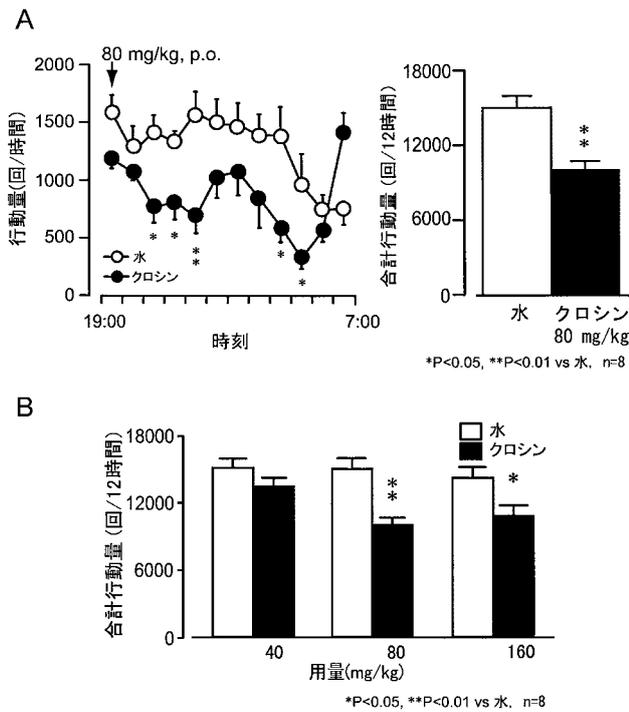
クロシン	200mg
乳糖	275mg

【産業上の利用可能性】

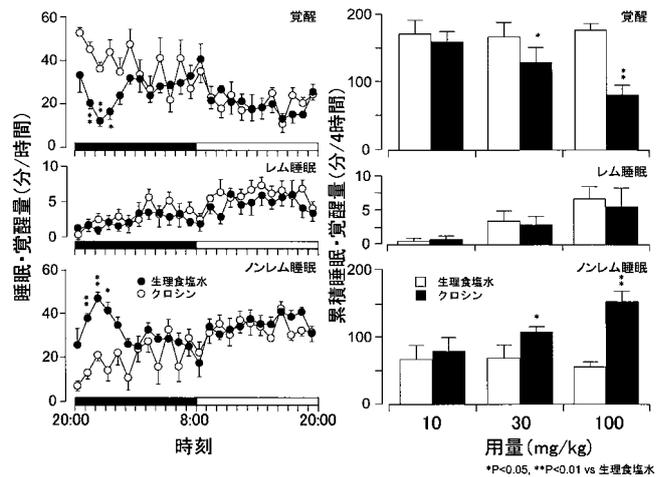
【0055】

本発明は、睡眠改善剤および鎮静剤として用いることができる。

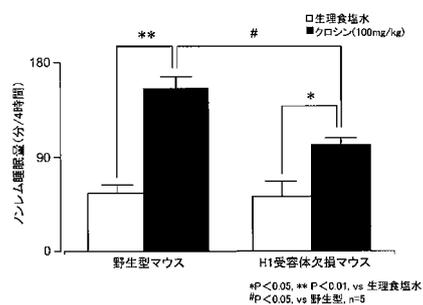
【図1】



【図2】



【図3】



## 【 国際調査報告 】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. PCT/JP2009/006316
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> A61K31/7024(2006.01)i, A61K31/202(2006.01)i, A61K36/18(2006.01)i, A61P25/20(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K31/7024, A61K31/202, A61K36/18, A61P25/20		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2009 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2009 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2009		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	ZHANG, Lu-Yong et al., Effects of crocins extracted from Gardenia jasminoides Ellis on nervous, cardiovascular and respiratory systems, Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao, 2000, Vol. 31, No. 6, pp. 455-457	3 1, 5, 7
Y	JP 2008-273939 A (RIKEN VITAMIN CO.), 13 November 2008 (13.11.2008), claims; paragraph [0011]; examples (Family: none)	1, 3, 5, 7
Y	ASAI Akira et al., Orally Administered Crocetin and Crocins Are Absorbed into Blood Plasma as Crocetin and Its Glucuronide Conjugates in Mice, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005.09.07, Vol. 53, No. 18, pp. 7302-7306	1, 3, 5, 7
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 "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 17 December, 2009 (17.12.09)		Date of mailing of the international search report 28 December, 2009 (28.12.09)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/006316

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LEE In-ah et al., Antihyperlipidemic Effect of Crocin Isolated from the Fructus of Gardenia jasminoides and Its Metabolite Crocetin, Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2005, Vol. 28, No. 11, pp. 2106-2110	1, 3, 5, 7
Y	LEVY L W et al., Bixin and Norbixin in Human Plasma: Determination and Study of the Absorption of a Single Dose of Annatto Food Color., Analyst, 1997.09, Vol. 122, No. 9, pp. 977-980	5, 7
Y	Takahiro AKIBA, "Tokushu Shokuhin no Iro Omo na Shikiso no Shokuhin eno Riyo (Carotenoid-kei Shikiso) Annatto Shikiso", Packaging of foodstuff, 1994.03, vol.25, no.2, pages 57 to 60	5, 7
Y	Kunitoshi YOSHIHIRA, "Tennen Tenkabutsu [104] Korekara no Tennen Tenkabutsu (91)", The Food Industry, 30 May 2005 (30.05.2005), vol.48, no.12, pages 80 to 84	5, 7
Y	SHILPI Jamil Ahmad et al., Preliminary pharmacological screening of Bixa orellana L. leaves., Journal of ethnopharmacology, 2006. 11.24, Vol. 108, No. 2, pp. 264-271	5, 7
Y	US 3066074 A (HARTGERINK Harold G), 27 November 1962 (27.11.1962), claims; column 4, paragraphs from line 31 (Family: none)	5, 7
P, X P, Y	HOSSEINZADEH, Hossein et al., Anxiolytic and hypnotic effect of Crocus sativus aqueous extract and its constituents, crocin and safranin, in mice, Phytotherapy Research, 2009.06, Vol. 23, No. 6, pp. 768-774, Published online 13 January 2009	1, 3 5, 7

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/006316

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: 2, 4, 6, 8  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 2, 4, 6 and 8 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The common part among the inventions of claims 1, 3, 5 and 7 is an agent comprising a tetraterpene as an active ingredient. However, the agent is not novel, as disclosed in Document 1 shown below. Therefore, there is no special technical feature in these inventions.

Document 1: ZHANG, Lu-Yong et al., Effects of crocins extracted from *Gardenia jasminoides* Ellis on nervous, cardiovascular and respiratory systems, *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 2000, vol. 31, no. 6, pp. 455-457

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2009/006316									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/7024(2006.01)i, A61K31/202(2006.01)i, A61K36/18(2006.01)i, A61P25/20(2006.01)i											
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)) Int.Cl. A61K31/7024, A61K31/202, A61K36/18, A61P25/20											
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2009年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2009年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2009年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2009年	日本国実用新案登録公報	1996-2009年	日本国登録実用新案公報	1994-2009年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2009年										
日本国実用新案登録公報	1996-2009年										
日本国登録実用新案公報	1994-2009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) CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)											
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	ZHANG, Lu-Yong et al.,	3									
Y	Effects of crocins extracted from Gardenia jasminoides Ellis on nervous, cardiovascular and respiratory systems, Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao, 2000, Vol. 31, No. 6, pp. 455-457	1, 5, 7									
Y	JP 2008-273939 A (RIKEN VITAMIN CO) 2008.11.13, 請求項、【0011】、実施例 (ファミリーなし)	1, 3, 5, 7									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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 「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矛盾するものではなく、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 17.12.2009		国際調査報告の発送日 28.12.2009									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 岩下 直人	4C 3844								
		電話番号 03-3581-1101 内線	3452								

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2009/006316
C (続き) . 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
Y	ASAI Akira et al., Orally Administered Crocetin and Crocins Are Absorbed into Blood Plasma as Crocetin and Its Glucuronide Conjugates in Mice, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005.09.07, Vol. 53, No. 18, pp. 7302-7306	1, 3, 5, 7
Y	LEE In-ah et al., Antihyperlipidemic Effect of Crocin Isolated from the Fructus of Gardenia jasminoides and Its Metabolite Crocetin, Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2005, Vol. 28, No. 11, pp. 2106-2110	1, 3, 5, 7
Y	LEVY L W et al., Bixin and Norbixin in Human Plasma: Determination and Study of the Absorption of a Single Dose of Annatto Food Color., Analyst, 1997.09, Vol. 122, No. 9, pp. 977-980	5, 7
Y	秋葉隆宏, 特集 食品の色 主な色素の食品への利用(カロチノイド系色素) アナトー色素, 食品の包装, 1994.03, Vol. 25, No. 2, pp. 57-60	5, 7
Y	義平邦利, 天然添加物 [104] これからの天然添加物(91), 食品工業, 2005.05.30, Vol. 48, No. 12, pp. 80-84	5, 7
Y	SHILPI Jamil Ahmad et al., Preliminary pharmacological screening of Bixa orellana L. leaves., Journal of ethnopharmacology, 2006.11.24, Vol. 108, No. 2, pp. 264-271	5, 7
Y	US 3066074 A (HARTGERINK Harold G) 1962.11.27, 請求項、第4欄第31行からの段落 (ファミリーなし)	5, 7
P, X P, Y	HOSSEINZADEH, Hossein et al., Anxiolytic and hypnotic effect of Crocus sativus aqueous extract and its constituents, crocin and safranal, in mice, Phytotherapy Research, 2009.06, Vol. 23, No. 6, pp. 768-774, Published online 13 January 2009	1, 3 5, 7

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2009/006316

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求項 2、4、6、8 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求項2、4、6、8は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2.  請求項 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求項 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるときの国際調査機関は認めた。

請求項1、3、5、7に係る発明の共通部分は、テトラテルペンを有効成分として含む剤であるが、当該剤は、以下の文献1に記載されており、新規性が認められないから、特別な技術的特徴を有しない。

文献1 ZHANG, Lu-Yong et al., Effects of crocins extracted from *Gardenia jasminoides* Ellis on nervous, cardiovascular and respiratory systems, *Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao*, 2000, Vol. 31, No. 6, pp. 455-457

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2007年4月)

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 東 朋子

大阪府箕面市彩都粟生南1-2-1 ラ・パス103号室

(72)発明者 松本 直実

大阪府豊中市服部南町2-6-3

(72)発明者 正木 美佳

大阪府箕面市牧落1-12-5 かやのマンション203号室

(72)発明者 正山 征洋

福岡県春日市天神山7-71

(72)発明者 田中 宏幸

福岡県福岡市東区箱崎2-16-47 安武荘202

(72)発明者 杜 暁鳴

福岡県福岡市東区箱崎1-13-16

Fターム(参考) 4C057 BB03 DD03 HH03

4C086 AA01 AA02 EA03 MA01 MA04 MA09 MA35 MA43 MA52 NA14  
ZA05

4C088 AB14 AB72 AC03 BA08 BA10 BA13 BA32 CA03 CA06 CA11  
CA14 CA17 MA35 MA43 MA52 NA14 ZA05

4C206 AA01 AA02 DA35 MA01 MA04 MA55 MA63 MA72 NA14 ZA05

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。