

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02017/104706

発行日 平成30年10月4日 (2018.10.4)

(43) 国際公開日 平成29年6月22日 (2017.6.22)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 36/17 (2006.01)	A 6 1 K 36/17	4 C 0 8 8
A 6 1 K 36/484 (2006.01)	A 6 1 K 36/484	
A 6 1 K 36/9068 (2006.01)	A 6 1 K 36/9068	
A 6 1 K 36/70 (2006.01)	A 6 1 K 36/70	
A 6 1 K 36/488 (2006.01)	A 6 1 K 36/488	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁) 最終頁に続く

出願番号 特願2017-556098 (P2017-556098)	(71) 出願人 305060567 国立大学法人富山大学 富山県富山市五福3190
(21) 国際出願番号 PCT/JP2016/087237	
(22) 国際出願日 平成28年12月14日 (2016.12.14)	
(31) 優先権主張番号 特願2015-247942 (P2015-247942)	(74) 代理人 100114074 弁理士 大谷 嘉一
(32) 優先日 平成27年12月18日 (2015.12.18)	
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(72) 発明者 津田 正明 富山県富山市杉谷2630 富山大学杉谷 キャンパス内
	(72) 発明者 福地 守 富山県富山市杉谷2630 富山大学杉谷 キャンパス内
	(72) 発明者 森 寿 富山県富山市杉谷2630 富山大学杉谷 キャンパス内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脳由来神経栄養因子の発現誘導剤及び組成物

(57) 【要約】

【課題】 BDNF 遺伝子発現誘導能活性を有する生薬またはエキスを有効成分とする医薬又は組成物の提供を目的とする。

【解決手段】 甘草、縮砂、何首烏、黄耆、葛根、山椒、赤芍、大黄、釣藤鈎、苦参、炮附子、麻黄、防己、良姜およびそれらのエキスは、BDNF遺伝子発現誘導活性を有し、それらを単独、混合、他の生薬を配合した漢方方剤は、うつ病やアルツハイマー病などの精神疾患や神経変性疾患による脳機能低下の改善に有用である。

【選択図】 図2

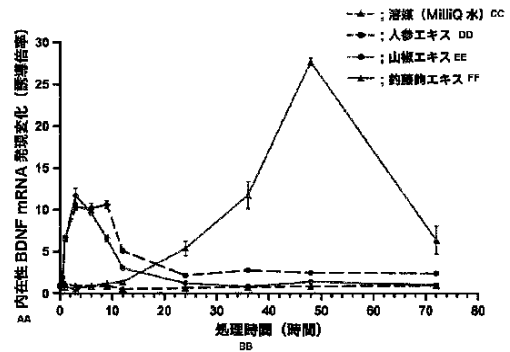


FIG. 2:
AA Change in endogenous BDNF mRNA expression (induction scale factor)
BB Treatment time (hours)
CC Solvent (MilliQ water)
DD Ginseng extract
EE Japanese pepper extract
FF Uncaria hook extract

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

甘草、縮砂、何首烏、黄耆、葛根、山椒、赤芍、大黄、釣藤鉤、苦参、炮附子、麻黄、防己、良姜又はそれらのエキスから選ばれる一つ以上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の発現誘導剤。

【請求項 2】

何首烏、山椒、赤芍、釣藤鉤、良姜、大黄、麻黄又はそれらのエキスから選ばれる一つ以上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の発現誘導剤。

【請求項 3】

有効成分として人参又はそのエキスが追加された請求項 1 又は 2 記載の脳由来神経栄養因子の発現誘導剤。 10

【請求項 4】

甘草、縮砂、何首烏、黄耆、葛根、山椒、赤芍、大黄、釣藤鉤、苦参、炮附子、麻黄、防己、良姜又はそれらのエキスから選ばれる一つ以上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の発現を誘導する組成物。

【請求項 5】

何首烏、山椒、赤芍、釣藤鉤、良姜、大黄、麻黄又はそれらのエキスから選ばれる一つ以上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の発現を誘導する組成物。

【請求項 6】

有効成分として人参又はそのエキスが追加された請求項 4 又は 5 記載の脳由来神経栄養因子の発現を誘導する組成物。 20

【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の発現を誘導する活性を有する生薬に関するものである。

【背景技術】

【0002】

我が国では、高齢化社会の影響により認知症などの神経系の疾患急増が問題視されている。 30

このような疾患による脳機能の低下は、患者本人の生活の質の重大な低下を招き、また介護に関わる家族の負担も増えるため、これら疾患の治療薬開発だけでなく、予防の観点からの研究開発は、精神衛生や社会福祉を考える上で非常に重要な取り組みである。

特に予防においては、日常的な服用が可能な薬剤の開発が求められる。

そこで注目されるのが、生薬に代表される伝統医薬品である。

これら伝統医薬品は、長年の使用実績から安全性の面で克服すべきハードルが低い一方、科学的根拠に乏しいものも少なくなく、特に中枢神経系への効果については未解明な部分が多い。

また、数多く存在する生薬の中から、脳機能低下の予防効果を有するものを検索することは、時間・労力・コストの面で非常に困難であるものの、例えば、生薬の人参、乾姜及び山椒の漢方方剤である大建中湯のマウスにおける記憶・学習増強効果（非特許文献 1）、杏仁、麻黄、桂枝、人参、当归、センキュウ、乾姜、甘草及び石膏からなる神経栄養因子合成促進剤（特許文献 1）、薬用ニンジンのアルコール抽出物中の神経細胞賦活物質（特許文献 2）などが報告されている。 40

【0003】

【特許文献 1】日本国特開平 7 - 2 5 7 7 7 号公報

【特許文献 2】日本国特開平 6 - 3 1 6 5 2 7 号公報

【非特許文献 1】J Nat Med(2006) 60:64-67

【発明の開示】 50

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor、以下、BDNFと称する) は、119個のアミノ酸からなるポリペプチドの二量体として存在し、神経栄養因子ファミリーに属するタンパク質の1つであり、その生理作用は、脳・神経系において、神経細胞の生存や神経ネットワーク形成、さらには記憶の固定化などの高次脳機能発現といった多岐にわたる。

また、様々な神経変性疾患や精神疾患においてBDNF発現量の減少が認められており、BDNFの発現を誘導する薬物、あるいはそれを含む組成物は、神経変性疾患や精神疾患により低下した脳機能を改善することが期待されている。

一方、長年の使用実績から安全性が確保されており、日本薬局方にも収載されている生薬のエキスにBDNF遺伝子発現誘導活性を持つものがどの程度存在するかが未知数である。

【課題を解決するための手段】

【0005】

上記した状況下、発明者らは、BDNF遺伝子発現変化をホタルの発光酵素ルシフェラーゼによる発光の強弱により計測可能な遺伝子改変マウス由来の大脳皮質神経細胞初代培養系を用いる測定系を開発し、この測定系により、神経細胞に作用してBDNF遺伝子発現を誘導する生薬エキスを簡便・迅速にスクリーニングすることに成功し、本発明を完成させるに至った。

【0006】

本発明に使用される生薬は、甘草、縮砂、何首烏、黄耆、葛根、山椒、赤芍、大黄、釣藤鉤、苦参、炮附子、麻黄、防己及び良姜であり、個々の生薬については以下のとおりである。

【0007】

甘草 (カンゾウ) : マメ科カンゾウ属ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) 又はスペインカンゾウ (*Glycyrrhiza glabra* Linne) の根及びストロン、ときには周皮を除いたもの (皮去りカンゾウ) である。

【0008】

縮砂 (シュクシャ) : ショウガ科アモムム属アモムム・キサソティオデス (*Amomum xanthioides*) の種子の塊である。

【0009】

何首烏 (カシュウ) : タデ科タデ属ツルドクダミ (*Polygonum multiflorum*) の塊根である。

【0010】

黄耆 (オウギ) : マメ科ゲンゲ属キバナオウギ (*Astragalus membranaceus*) 又はナイモウオウギ (*Astragalus mongholicus*) の根である。

【0011】

葛根 (カクコン) : マメ科クズ属クズ (*Pueraria lobata* Ohwi) の周皮を除いた根である。

【0012】

山椒 (サンショウ) : ミカン科サンショウ属サンショウ (*Zanthoxylum piperitum*) の成熟果実の果皮で、種子をできるだけ取り除いたものである。

【0013】

赤芍 (セキシャク) : ボタン科ボタン属シャクヤク (*Paeonia lactiflora*) の根であって、外皮をつけたままのものである。

【0014】

大黄 (ダイオウ) : タデ科ダイオウ属ダイオウ (*Rheum palmatum*)、タンゲートダイオウ (*Rheum tanguticum*)、ヤクヨウダイオウ (*Rheum officinale*)、チョウセンダイオウ (*Rheum coreanum*) 又はそれらの種間雑種の根茎である。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 5 】

釣藤鉤（チョウトウコウ）：アカネ科カギカズラ属カギカズラ（*Uncaria rhynchophylla*）、トウカギカズラ（*Uncaria sinensis* Haviland）又は*Uncaria macrophylla* Wallichの茎枝の一部をつけた棘である。

【 0 0 1 6 】

苦参（クジン）：マメ科クララ属クララ（*Sophora flavescens*）の根である。

【 0 0 1 7 】

炮附子（ホウブシ）：キンボウゲ科トリカブト属ハナトリカブト（*Aconitum carmichaelii*）又はオクトリカブト（*Aconitum japonicum*）の塊根をニガリ液に数日浸し、加熱処理したものである。

10

【 0 0 1 8 】

麻黄（マオウ）：マオウ科マオウ属シナマオウ（*Ephedra sinica*）、アイマオウ（*Ephedra intermedia*）又はキダチマオウ（*Ephedra equisetina*）の地上茎である。

【 0 0 1 9 】

防已（ポウイ）：ツツラフジ科ツツラフジ属オオツツラフジ（*Sinomenium acutum*）のつる性の茎及び根茎である。

【 0 0 2 0 】

良姜（リョウキョウ）：ショウガ科ハナミョウガ属リョウキョウ（*Alpinia officinarum*）の根茎である。

20

【 0 0 2 1 】

本発明には、上記した生薬の抽出物（以下、「エキス」称する）を用いることもできる。

エキスの製造方法としては、生薬を、例えば、水（温水、熱湯など）によって抽出するか、又は有機溶媒を用いて抽出する。

有機溶媒としては、例えば、メタノール、エタノールなどのアルコール類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、ブチレングリコールなどのグリコール類、アセトニトリルなどを用いることができ、これらの有機溶媒を単独、又は適宜組み合わせ、一定の比率で混合して用いることができる。

好ましくは、メタノール、エタノール、水、ブチレングリコール、含水アルコール又はアセトニトリル - 水混合溶媒などが好ましい。

30

【 0 0 2 2 】

水抽出又は有機溶媒抽出の方法としては、通常生薬抽出に用いられる方法を用いることができ、例えば、生薬 1 重量部に対し、水及び / 又は有機溶媒 5 ~ 300 重量部を用いて、攪拌しながら、その沸点以下の温度で加熱還流することが望ましい。

抽出工程は、通常は 5 分 ~ 7 日間、好ましくは 10 分 ~ 24 時間実施すればよい。

【 0 0 2 3 】

抽出工程終了後、濾過又は遠心分離などの適当な方法により、水及び / 又は有機溶媒抽出液から、不溶物を分離して粗エキスを得ることができる。

常法による熱水エキス又は有機溶媒エキスの他に、粗エキスを各種有機溶媒又は吸着剤などにより、更に処理した精製エキスも、本発明に用いることができる。

40

これらの粗エキス及び各種の精製処理を終えた精製エキスは、抽出したままの溶液、溶媒を濃縮したもの、溶媒を留去し乾燥したもの、凍結乾燥したもの、さらに乾燥した固形物を粉砕し粉末等にしたものいずれであってもよい。

【 0 0 2 4 】

本発明に使用される甘草、縮砂、何首烏、黄耆、葛根、山椒、赤芍、大黄、釣藤鉤、苦参、炮附子、麻黄、防已、良姜及びそれらのエキスは、各々単独で使用してもよく、組み合わせて処方として使用してもよい。

単独での使用は、何首烏、山椒、赤芍、釣藤鉤または良姜が好ましく、特に山椒が好ましい。

処方には、人参など他の生薬を加えた処方としてもよい。

50

例えば、人参エキスを加えた処方として、後述する試験例4の山椒エキス+人参エキス、防已エキス+人参エキス、釣藤鈎エキス+人参エキスなどが挙げられ、また、大建中湯に用いられる、人参、山椒および乾姜の組み合わせなどが例として挙げられる。

【0025】

上記の単味エキス及びエキスを組み合わせた処方物は、錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤などに製剤化して経口的に投与してもよい。

【0026】

経口剤は、必要に応じて結合剤、滑沢剤、崩壊剤、着色剤、矯味剤などを加え錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤を常法により製造することができる。

また、必要に応じて防腐剤、抗酸化剤、安定化剤などを添加することができる。

10

【0027】

エキス等の投与量は、疾患、症状、年齢、併用される治療的措置などにより異なるが、経口剤としてヒトに投与する場合は、抽出物として0.1~100mg/kgを1日1回~数回に分けて投与すればよい。

【0028】

エキス等を、該エキス等含有した飲食品または飲食品用組成物にすることもできる。

ここで、「飲食品」とは、飲食品全般を意味するが、いわゆる健康食品を含む一般食品の他、厚生労働省の保健機能食品制度に規定された特定保健用食品や栄養機能食品などの保健機能食品をも含むものであり、更にサプリメント、飼料、食品添加物等も本発明の飲食品に包含される。

20

【0029】

エキス等を飲食品または飲食品用組成物に使用するには、そのまま、又は種々の栄養成分とともに加工肉、果汁、牛乳、豆乳などの飲食品の原料に混ぜて飲食品または飲食品用組成物を製造することができる。

また、エキス等を健康食品、栄養補助食品などとして使用する場合、例えば慣用の手段を用いて、錠剤、カプセル、散剤、顆粒、懸濁剤、シロップ剤などの形態に調製することができる。

【0030】

上記の飲食品または飲食品用組成物におけるエキス等の配合量は、添加形態及び投与形態によっても異なり広い範囲から選択できるが、通常、0.01~10重量%配合するのが望ましい。

30

【発明の効果】

【0031】

甘草、縮砂、何首烏、黄耆、葛根、山椒、赤芍、大黄、釣藤鈎、苦参、炮附子、麻黄、防已、良姜及びそれらのエキスは、BDNF遺伝子発現誘導活性を有し、それらを単独、混合、他の生薬を配合した漢方方剤は、軽度認知障害(MCI)や認知症などの疾患による脳機能の低下の改善や予防、うつ病やアルツハイマー病などの精神疾患や神経変性疾患による脳機能の改善に有用である。

【図面の簡単な説明】

【0032】

40

【図1】スクリーニングの概要を示す図である。

【図2】内在性BDNF遺伝子発現誘導活性を示す図である。BDNF mRNA発現量をハウスキーピング遺伝子の1つであるグリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH) mRNA発現量で補正し、生薬エキス添加前(0時間)のBDNF mRNA発現量に対する変化を誘導倍率として示した。

【図3】図2と同様に内在性BDNF遺伝子発現誘導活性を示す図である。

【図4】生薬の組み合わせでの内在性BDNF遺伝子発現誘導活性を示す図である。

【図5】大建中湯エキスでのBDNF遺伝子発現誘導活性を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0033】

50

以下、本発明を試験例で説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

試験例で使用した生薬エキスは、生薬を純水で50分間煎じ、ろ過後、凍結乾燥したエキス粉末をMilliQ水に溶解させたものである(10mg/mL)。

【0034】

試験例1

<BDNF遺伝子発現誘導能活性>

BDNF遺伝子発現誘導活性は、BDNF遺伝子発現変化を発光強度により計測可能な遺伝子改変マウス(BDNF-Lucマウス)を用いて検討した。

胎生16.5日齢のBDNF-Lucマウスの大脳皮質を単離後、酵素処理し、得られた細胞を96ウェル培養プレート上で13日間培養した。

培養後、生薬エキスを終濃度が0.5mg/mLとなるように培養液中に添加し、再び培養を行った。

実験対照群としては、溶媒であるMilliQ水のみを添加した。MilliQ水又は生薬エキスの添加後、6時間、24時間、48時間後にルシフェラーゼ活性測定キット(プロメガ社)を用いて各ウェルの発光を測定した。各時間におけるMilliQ水添加時のルシフェラーゼ活性を基準として、生薬エキスのルシフェラーゼ活性の誘導倍率を算出した。

生薬エキスのルシフェラーゼ活性の誘導倍率を表1に示す。

【0035】

【表1】

生薬	6時間後	24時間後	48時間後
カンゾウ	0.92	1.54	2.07
シュクシャ	0.79	2.66	3.95
カシュウ	0.77	4.29	17.65
オウギ	1.26	1.35	2.13
カッコン	1.12	1.34	2.33
サンショウ	2.65	18.74	14.41
セキシヤク	0.75	1.78	12.02
ダイオウ	1.04	3.32	5.36
チョウトウコウ	0.81	3.32	21.29
クジン	1.28	1.34	2.48
マオウ	0.99	1.2	5.49
ボウイ	4.55	1.33	10.2
リョウキョウ	0.89	5.71	14.66
ニンジン	3.6	5.46	5.68

【0036】

表1の結果から、ルシフェラーゼ活性の誘導倍率が10倍以上となったものは、カシュウ(何首烏)、サンショウ(山椒)、セキシヤク(赤芍)、チョウトウコウ(釣藤鉤)、ボウイ(防己)、及びリョウキョウ(良姜)であった。

そのうち、カシュウ、サンショウ、チョウトウコウは15倍を超えていた。

最大は、チョウトウコウの21.29倍である。

また、5倍~10倍の値を示したものはダイオウ(大黄)、マオウ(麻黄)及びニンジン(人参)であった。

【0037】

試験例2

<内在性BDNF遺伝子発現誘導活性>

内在性BDNF遺伝子(大脳皮質神経細胞で実際に発現しているBDNF遺伝子)発現誘導活性は、RT-qPCR法によりBDNF mRNA発現量の変化を測定することで

検討した。

胎生17日齢のラットの大脳皮質を単離後、酵素処理し、得られた細胞を6ウェル培養プレート上で13日間培養した。

培養後、各生薬エキスを終濃度が0.5 mg/mLとなるように培養液中に添加し、再び培養を行った。

実験対照群としては、溶媒であるMilliQ水のみを添加した。

各生薬エキスの添加後、0時間、0.5時間、1時間、3時間、6時間、9時間、12時間、24時間、36時間、48時間、72時間後にRNA抽出キット(キアゲン社)を用いて細胞からRNAを抽出し、Superscript II Reverse Transcriptase(インビトロジェン社)を用いて逆転写反応を行った。

逆転写反応後に得られたDNA産物及びSYBR Select Master Mix(アプライドバイオシステムズ社)を用いて、各生薬エキス添加後のBDNF mRNA発現量の変化を解析した。

結果を図2に示す。

図2に示したグラフから、コントロール(溶媒)に比較して人参エキス、サンショウエキス、釣藤鉤エキスのいずれも高い内在性BDNF遺伝子発現誘導活性を示した。

特に釣藤鉤エキスは、高い値を示した。

【0038】

試験例3

何首烏エキス、大黄エキス、麻黄エキス、良姜エキス、防己エキスを使用し、試験例2と同様な方法で、内在性BDNF遺伝子発現誘導活性を検討した。結果を図3に示した。

図3のグラフから、いずれも高い内在性BDNF遺伝子発現誘導活性を示し、特に大黄エキス、麻黄エキス及び良姜エキスが高い値を示した。

【0039】

試験例4

人参エキスに山椒エキス、防己エキス、または釣藤鉤エキスを混合した場合の内在性BDNF遺伝子発現誘導活性は、RT-qPCR法によりBDNF mRNA発現量の変化を測定することで検討した。

胎生17日齢のラットの大脳皮質を単離後、酵素処理し、得られた細胞を6ウェル培養プレート上で13日間培養した。

培養後、各生薬エキスを終濃度が0.5 mg/mLとなるように培養液中に添加し、再び培養を行った。

人参エキスと山椒エキス、および人参エキスと防己エキスの組み合わせの場合は添加3時間後、人参エキスと釣藤鉤エキスの組み合わせの場合は添加24時間後にRNA抽出キット(キアゲン社)を用いて細胞からRNAを抽出し、Superscript II Reverse Transcriptase(インビトロジェン社)を用いて逆転写反応を行った。

逆転写反応後に得られたDNA産物およびSYBR Select Master Mix(アプライドバイオシステムズ社)を用いて、各生薬エキス添加後のBDNF mRNA発現量の変化を解析した。

結果を図4に示した。

図4に示したグラフから、各生薬単独よりも人参エキスと組み合せた方が高い誘導活性を示すことが明らかになった。

【0040】

試験例5

<大建中湯エキスのBDNF遺伝子発現誘導能活性>

BDNF遺伝子発現誘導活性は、BDNF遺伝子発現変化を発光強度により計測可能な遺伝子改変マウス(BDNF-Lucマウス)を用いて検討した。

胎生16.5日齢のBDNF-Lucマウスの大脳皮質を単離後、酵素処理し、得られた細胞を96ウェル培養プレート上で13日間培養した。

10

20

30

40

50

培養後、大建中湯エキスを終濃度が 0.5 mg / mL となるように培養液中に添加し、再び培養を行った。

大建中湯エキスの添加後、6 時間、24 時間後にルシフェラーゼ活性測定キット（プロメガ社）を用いて各ウェルの発光を測定した。

結果を図 5 に示した。

図 5 に示したグラフから、大建中湯即ち人参、山椒、及び乾姜の組み合わせにおいても高い活性を示すことが明らかになった。

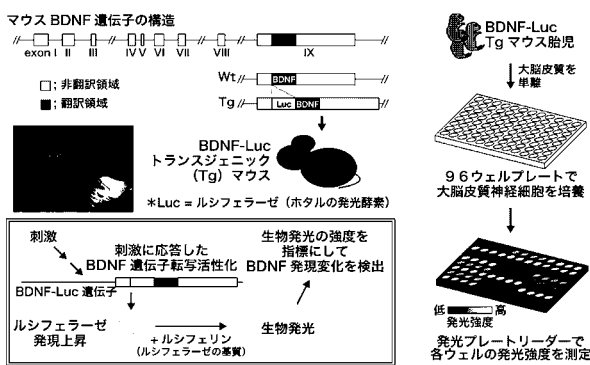
【産業上の利用可能性】

【0041】

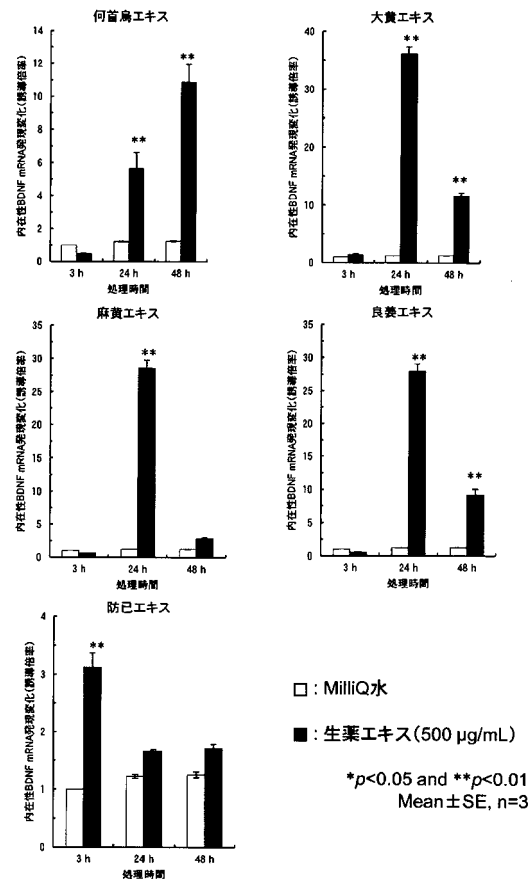
甘草、縮砂、何首烏、黄耆、葛根、山椒、赤芍、大黄、釣藤鉤、苦参、炮附子、麻黄、防已、良姜及びそれらのエキスは、BDNF遺伝子発現誘導活性を有し、それらを単独、混合、他の生薬を配合した漢方方剤は、認知症などの疾患による脳機能の低下の改善や予防、うつ病やアルツハイマー病などの精神疾患や神経変性疾患による脳機能の低下の改善に有用である。

また、甘草、縮砂、何首烏、黄耆、葛根、山椒、赤芍、大黄、釣藤鉤、苦参、炮附子、麻黄、防已及び/又は良姜のエキスは、単独、混合又は他の生薬を配合して、認知症などの疾患による脳機能の低下の改善や予防、うつ病やアルツハイマー病などの精神疾患や神経変性疾患による脳機能の低下を改善する食品又は飲料とすることができる。

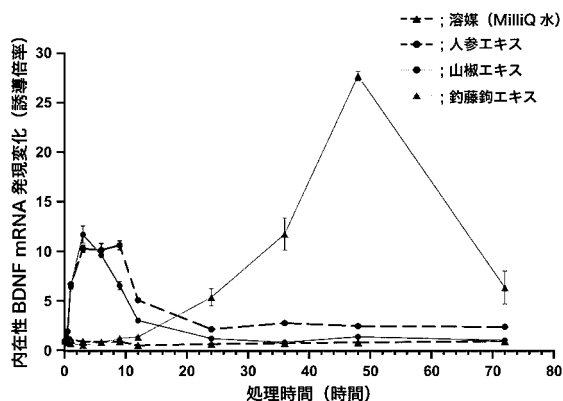
【図 1】



【図 3】

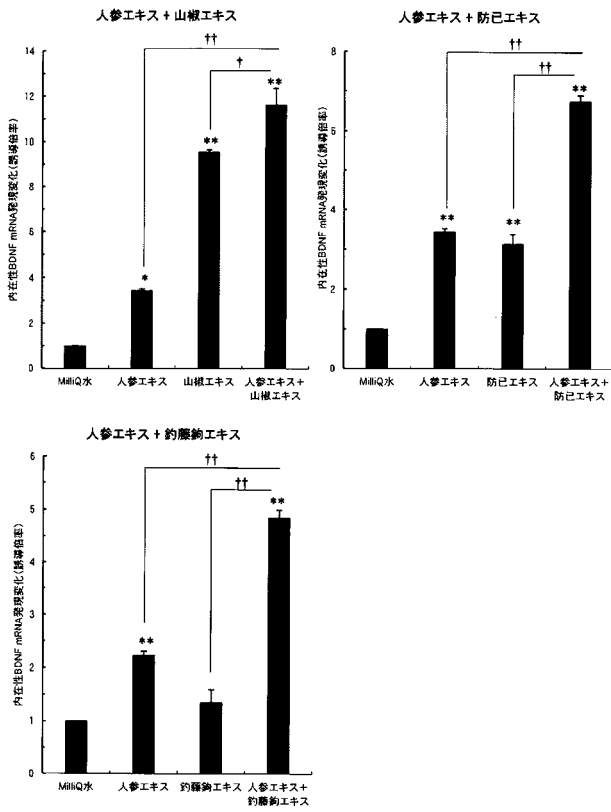


【図 2】



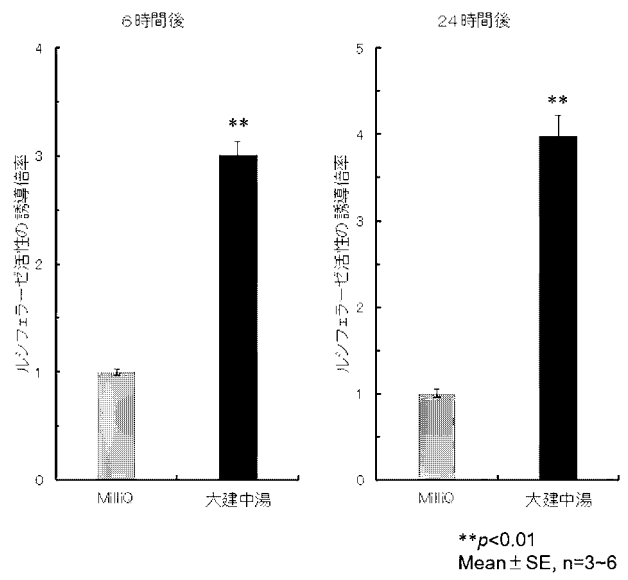
*p<0.05 and **p<0.01 Mean ± SE, n=3

【 図 4 】



*p<0.05 and **p<0.01, †p<0.05 and ††p<0.01
Mean ± SE, n=3

【 図 5 】



**p<0.01
Mean ± SE, n=3-6

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2016/087237
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER See extra sheet.		
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) A61K36/17, A61K36/258, A61K36/481, A61K36/484, A61K36/488, A61K36/489, A61K36/59, A61K36/65, A61K36/704, A61K36/708, A61K36/714, A61K36/74, A61K36/758, A61K36/9062, A61K36/9064, A61P25/28		
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 1996-2017 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/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	JP 2011-504884 A (CHI, YU-FEN,), 17 February 2011 (17.02.2011), paragraph [0010], lines 5 to 15 & US 2010/0310683 A1 page 1, paragraph [0010] & US 2013/0040903 A1 & WO 2009/070915 A1 & EP 2216038 A1 & AU 2007362017 A & KR 10-2010-0106976 A & MX 2010005837 A & BR 20070022183 A	1, 3, 4, 6
X	JP 7-25777 A (Tsumura & Co.), 27 January 1995 (27.01.1995), claim 1; table 1 (Family: none)	1, 3, 4, 6
<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:		"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
"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	"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
"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	"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
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 21 February 2017 (21.02.17)	Date of mailing of the international search report 07 March 2017 (07.03.17)	
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/087237

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	PATIL, Sangita P. et al, Glycyrrhiza uralensis flavonoids inhibit brain microglial cell TNF- α secretion, p-I κ B expression, and increase brain-derived neurotrophic factor (BDNF) secretion, Journal of Traditional Chinese Medical Sciences, 2014, Vol.1, No.1, pp.28-37, ISSN 2095-7548, Abstract, Fig.6	1, 4 3, 6
X Y	Tadayoshi UESATO, "Screening of natural medicines that promote neurites outgrowth by C2C12 cell-cultured medium", Medicine and Biology, 2011, vol.155, no.9, pages 602 to 606, ISSN 0019-1604, fig. 3, no.13	1, 4 3, 6
Y	LIU Juan et al, Ginsenoside Rb1 regulates the expressions of brain-derived neurotrophic factor and caspase-3 and induces neurogenesis in rats with experimental cerebral ischemia, Journal of Ethnopharmacology, 2010, Vol.132, No.2, pp.393-399, ISSN 0378-8741, ABSTRACT, Fig.4	3, 6
Y	KIM Mia et al, Effects of ginsenoside Rb1 on the stress-induced changes of BDNF and HSP70 expression in rat hippocampus, Environmental Toxicology and Pharmacology, 2014, Vol.38, No.1, pp.257-262, ISSN 1382-6689, ABSTRACT, Fig.2	3, 6
Y	KIM, Dong-Hoon et al, Effects of Korea red ginseng total saponin on repeated unpredictable stress-induced changes in proliferation on neural progenitor cells and BDNF mRNA expression in adult rat hippocampus, Journal of Ginseng Research, 2004, Vol.28, No.2, pp.94-103, ISSN 1226-8453, Abstract, Fig.4-6	3, 6
Y	JIANG, Bo et al, Antidepressant-like effects of ginsenoside Rg1 are due to activation of the BDNF signalling pathway and neurogenesis in the hippocampus, British Journal of Pharmacology, 2012, Vol.166, No.6, pp.1872-1887, ISSN 1476-5381, p.1878 right column, Fig.4B	3, 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/087237

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

(International Patent Classification (IPC))

A61K36/17(2006.01)i, A61K36/258(2006.01)i, A61K36/481(2006.01)i,
A61K36/484(2006.01)i, A61K36/488(2006.01)i, A61K36/489(2006.01)i,
A61K36/59(2006.01)i, A61K36/65(2006.01)i, A61K36/704(2006.01)i,
A61K36/708(2006.01)i, A61K36/714(2006.01)i, A61K36/74(2006.01)i,
A61K36/758(2006.01)i, A61K36/9062(2006.01)i, A61K36/9064(2006.01)i,
A61P25/28(2006.01)i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national
classification and IPC)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/087237

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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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:
See extra sheet.

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.:
The parts relating to "*Glycyrrhiza uralensis* or *Glycyrrhiza glabra* Linne"
of claims 1, 3, 4 and 6.

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/087237

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

(Invention 1) In claims 1-6, the inventions wherein "*Glycyrrhiza uralensis* or *Glycyrrhiza glabra* Linne" is used as an active ingredient.

Claims 1 and 4 specify that one or more components selected from plant-derived components described in an alternative form are contained as an active ingredient in "an expression inducer for brain-derived neurotrophic factor" or "a composition inducing the expression of brain-derived neurotrophic factor". A special technical feature is found in the embodiment wherein "*Glycyrrhiza uralensis* or *Glycyrrhiza glabra* Linne" described first among these components is used.

Similar to "*Glycyrrhiza uralensis* or *Glycyrrhiza glabra* Linne" in claims 1 and 4, the embodiments in claims 1 and 4 relating to the components from "*Amomum xanthioides*" to "*Alpinia officinarum*" have a common technical feature of containing these components as an active ingredient in "an expression inducer for brain-derived neurotrophic factor" or "a composition inducing the expression of brain-derived neurotrophic factor". However, documents 1 and 2 disclose that plant-derived components induce the expression of brain-derived neurotrophic factor. Therefore, this technical feature cannot be considered as a special technical feature.

Thus, in the inventions in claims 1-6, the inventions wherein "*Glycyrrhiza uralensis* or *Glycyrrhiza glabra* Linne" is used as an active ingredient is identified as Invention 1.

(Inventions 2-14) In the inventions in claims 1-6, the inventions wherein "*Amomum xanthioides*", "*Polygonum multiflorum*", "*Astragalus membranaceus* or *Astragalus mongholicus*", "*Pueraria lobata* Ohwi", "*Zanthoxylum piperitum*", "*Paeonia lactiflora*", "*Rheum palmatum*, *Rheum tanguticum*, *Rheum officinale* or *Rheum coreanum*", "*Uncaria rhynchophylla*, *Uncaria sinensis* Haviland or *Uncaria macrophylla* Wallich", "*Sophora flavescens*", "*Aconitum carmichaeli* or *Aconitum japonicum*", "*Ephedra sinica*, *Ephedra intermedia* or *Ephedra equisetina*", "*Sinomenium acutum*" and "*Alpinia officinarum*" are used as an active ingredient.

In the inventions in claims 1-6, the inventions wherein "*Amomum xanthioides*", "*Polygonum multiflorum*", "*Astragalus membranaceus* or *Astragalus mongholicus*", "*Pueraria lobata* Ohwi", "*Zanthoxylum piperitum*", "*Paeonia lactiflora*", "*Rheum palmatum*, *Rheum tanguticum*, *Rheum officinale* or *Rheum coreanum*", "*Uncaria rhynchophylla*, *Uncaria sinensis* Haviland or *Uncaria macrophylla* Wallich", "*Sophora flavescens*", "*Aconitum carmichaeli* or *Aconitum japonicum*", "*Ephedra sinica*, *Ephedra intermedia* or *Ephedra equisetina*", "*Sinomenium acutum*" and "*Alpinia officinarum*" are used as an active ingredient are not inventions in the same category that includes all matters specifying the invention wherein "*Glycyrrhiza uralensis* or *Glycyrrhiza glabra* Linne" is used as an active ingredient.

As a result of examining the claim identified as Invention 1, the inventions including these plant-derived components are not inventions that can be examined with additional prior art search and judgment. Meanwhile, there are no other circumstances to consider that it is more efficient to examine these inventions together with the invention identified as Invention 1. Thus, these inventions cannot be identified as Invention 1.

Document 1: JP 2012-102059 A (Ogawa & Co., Ltd.), 31 May 2012 (31.05.2012), claim 4; test example 3; fig. 6

Document 2: JP 2009-221188 A (Gifu Shellac Manufacturing Co., Ltd.), 01 October 2009 (01.10.2009), claim 4; fig. 1

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 6 / 0 8 7 2 3 7	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. 特別ページ参照			
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. A61K36/17, A61K36/258, A61K36/481, A61K36/484, A61K36/488, A61K36/489, A61K36/59, A61K36/65, A61K36/704, A61K36/708, A61K36/714, A61K36/74, A61K36/758, A61K36/9062, A61K36/9064, A61P25/28			
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 1971-2017年 日本国実用新案登録公報 1996-2017年 日本国登録実用新案公報 1994-2017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), CPlus/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	JP 2011-504884 A (チイヨウフン) 2011.02.17, [0010]第5-15行 & US 2010/0310683 A1, p. 1, [0010] & US 2013/0040903 A1 & WO 2009/070915 A1 & EP 2216038 A1 & AU 2007362017 A & KR 10-2010-0106976 A & MX 2010005837 A & BR 20070022183 A	1, 3, 4, 6	
X	JP 7-25777 A (株式会社ツムラ) 1995.01.27, 請求項1, 表1 (ファミリーなし)	1, 3, 4, 6	
<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、一般的な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 21.02.2017		国際調査報告の発送日 07.03.2017	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 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) 鶴見 秀紀	4C 8415
		電話番号 03-3581-1101 内線 3452	

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 6 / 0 8 7 2 3 7
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
X Y	PATIL, Sangita P. et al, Glycyrrhiza uralensis flavonoids inhibit brain microglial cell TNF- α secretion, p-I κ B expression, and increase brain-derived neurotrophic factor(BDNF) secretion, Journal of Traditional Chinese Medical Sciences, 2014, Vol. 1, No. 1, pp. 28-37, ISSN 2095-7548, Abstract, Fig. 6	1, 4 3, 6
X Y	上里忠良, 神経系細胞の突起形成、伸長の制御に関わる生薬のスクリーニング, 医学と生物学, 2011, Vol. 155, No. 9, pp. 602-606, ISSN 0019-1604, 図 3 N o 1 3	1, 4 3, 6
Y	LIU Juan et al, Ginsenoside Rb1 regulates the expressions of brain-derived neurotrophic factor and caspase-3 and induces neurogenesis in rats with experimental cerebral ischemia, Journal of Ethnopharmacology, 2010, Vol. 132, No. 2, pp. 393-399, ISSN 0378-8741, ABSTRACT, Fig. 4	3, 6
Y	KIM Mia et al, Effects of ginsenoside Rb1 on the stress-induced changes of BDNF and HSP70 expression in rat hippocampus, Environmental Toxicology and Pharmacology, 2014, Vol. 38, No. 1, pp. 257-262, ISSN 1382-6689, ABSTRACT, Fig. 2	3, 6
Y	KIM, Dong-Hoon et al, Effects of Korea red ginseng total saponin on repeated unpredictable stress-induced changes in proliferation on neural progenitor cells and BDNF mRNA expression in adult rat hippocampus, Journal of Ginseng Research, 2004, Vol. 28, No. 2, pp. 94-103, ISSN 1226-8453, Abstract, Fig. 4-6	3, 6
Y	JIANG, Bo et al, Antidepressant -like effects of ginsenoside Rg1 are due to activation of the BDNF signalling pathway and neurogenesis in the hippocampus, British Journal of Pharmacology, 2012, Vol. 166, No. 6, pp. 1872-1887, ISSN 1476-5381, p. 1878 right column, Fig. 4B	3, 6

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 6 / 0 8 7 2 3 7

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 _____ は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。つまり、
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この国際調査機関は認めた。

特別ページ参照

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ので、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ので、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。

請求項 1, 3, 4, 6 の「甘草」に関する部分

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））（2015年1月）

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 6 / 0 8 7 2 3 7

発明の属する分野の分類

A61K36/17(2006.01)i, A61K36/258(2006.01)i, A61K36/481(2006.01)i,
A61K36/484(2006.01)i, A61K36/488(2006.01)i, A61K36/489(2006.01)i,
A61K36/59(2006.01)i, A61K36/65(2006.01)i, A61K36/704(2006.01)i,
A61K36/708(2006.01)i, A61K36/714(2006.01)i, A61K36/74(2006.01)i,
A61K36/758(2006.01)i, A61K36/9062(2006.01)i, A61K36/9064(2006.01)i,
A61P25/28(2006.01)i

(発明1)請求項1～6に係る発明のうち、「甘草」を有効成分とするもの

請求項1、4には、択一的に植物由来成分から選択されたいずれかを「脳由来神経栄養因子の発現誘導剤」、「脳由来神経栄養因子の発現を誘導する組成物」に含有せしめる点が規定されているが、これらの成分のうち、最初に記載された「甘草」を用いる態様につき、特別な技術的特徴が発見された。そして、請求項1、4の「甘草」と、同じく請求項1、4の「縮砂」～「良姜」には、「脳由来神経栄養因子の発現誘導剤」、「脳由来神経栄養因子の発現を誘導する組成物」に有効成分として含有する点で共通の技術的特徴を有するが、植物由来成分が脳由来神経栄養因子の発現を誘導することは、文献1、2に記載されているので、当該技術的特徴は、特別な技術的特徴とはいえない。

したがって、請求項1～6に係る発明のうち、「甘草」を有効成分とするものを、発明1に区分する。

(発明2～14)請求項1～6に係る発明のうち、「縮砂」、「何首烏」、「黄耆」、「葛根」、「山椒」、「赤芍」、「大黄」、「釣藤鉤」、「苦参」、「炮附子」、「麻黄」、「防已」、「良姜」を有効成分とするもの

請求項1～6に係る発明のうち、「縮砂」、「何首烏」、「黄耆」、「葛根」、「山椒」、「赤芍」、「大黄」、「釣藤鉤」、「苦参」、「炮附子」、「麻黄」、「防已」、「良姜」を有効成分とするものは、「甘草」を有効成分として用いる発明の発明特定事項を全て含む同一カテゴリーの発明ではない。そして、これらの植物由来成分を含む発明は、発明1に区分された請求項について調査した結果、実質的に追加的な先行技術調査や判断を行うことが可能である発明ではなく、発明1に区分された請求項とまとめて調査を行うことが効率的であるといえる他の事情もないから、発明1に区分することはできない。

文献1：JP 2012-102059 A(小川香料株式会社)2012.05.31,請求項4,試験例3,図6

文献2：JP 2009-221188 A(株式会社岐阜セラック製造所)2009.10.01,請求項4,図1

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 36/758 (2006.01)	A 6 1 K 36/758	
A 6 1 K 36/65 (2006.01)	A 6 1 K 36/65	
A 6 1 K 36/708 (2006.01)	A 6 1 K 36/708	
A 6 1 K 36/74 (2006.01)	A 6 1 K 36/74	
A 6 1 K 36/714 (2006.01)	A 6 1 K 36/714	
A 6 1 K 36/59 (2006.01)	A 6 1 K 36/59	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ

Fターム(参考) 4C088 AB12 AB13 AB14 AB32 AB43 AB58 AB59 AB60 AB62 AB81
BA08 MA52 NA14 ZA15 ZA16 ZC01

(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。