

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-199895
(P2001-199895A)

(43) 公開日 平成13年7月24日 (2001.7.24)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームト* (参考)
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	C 4 B 0 1 4 W 4 B 0 1 8
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B 4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00		A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 8
A 6 1 P 25/34		A 6 1 P 25/34	

審査請求 有 請求項の数 7 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-12911(P2000-12911)

(22) 出願日 平成12年1月21日 (2000.1.21)

(71) 出願人 000162412
協同乳業株式会社
東京都中央区日本橋小網町17番2号

(72) 発明者 谷 久典
東京都あきる野市秋川6-14-7

(72) 発明者 服部 隆史
東京都青梅市今寺430-9

(72) 発明者 根木 智子
東京都武蔵野市境南町2-6-3-208

(72) 発明者 大石 一二三
東京都立川市西砂町3-15-24

(74) 代理人 100089705
弁理士 社本 一夫 (外5名)
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 節煙促進剤

(57) 【要約】

【課題】 本発明は、喫煙を控えるための新たな方法を見出すこと、植物抽出物の薬理作用をさらに詳しく解明し、植物抽出物が喫煙のために実際に用いるものであるか否かを検討し、そして植物抽出物を用いた喫煙抑制方法を確立することを課題とする。

【手段】 オトギリソウ、セントジョーンズワート、フユボダイジュ又はカバからなる群より選択される1種以上の植物から得られるモノアミンオキシダーゼ阻害物質を含む節煙促進剤により、常習的な喫煙者が一日当たりの平均喫煙量を約50%まで減じること、喫煙者が禁煙すべき場所で喫煙を控えること、喫煙者が会議の際に喫煙を控えること、又は一日に平均約10本喫煙する者が喫煙しなくなることを促進する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 植物由来のモノアミンオキシダーゼ阻害物質を含む、節煙促進剤。

【請求項2】 植物が、オトギリソウ、セントジョーンズワート、フユボダイジュ及びカバからなる群より選択される1種以上である、請求項1記載の節煙促進剤。

【請求項3】 植物が、オトギリソウ、セントジョーンズワート、フユボダイジュ及びカバからなる群より選択される2種以上である、請求項2記載の節煙促進剤。

【請求項4】 植物が、オトギリソウと、セントジョーンズワート、フユボダイジュ及びカバからなる群より選択される1種以上とである、請求項3記載の節煙促進剤。

【請求項5】 モノアミンオキシダーゼ阻害物質を一日3.25~6,500,000unitで投与するための、請求項1~4のいずれか1項記載の節煙促進剤。

【請求項6】 食品又は医薬組成物の形態である、請求項1~5のいずれか1項記載の節煙促進剤。

【請求項7】 モノアミンオキシダーゼ阻害物質が、分子量250~2,500であり、かつマウス脳由来モノアミンオキシダーゼを非競争的に阻害しうるものである、請求項1~6のいずれか1項記載の節煙促進剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、種々の植物から得られるモノアミンオキシダーゼ阻害物質を含む、節煙を促進させるための剤に関する。この節煙促進剤は、食品、医薬組成物その他種々の形態とすることができる。

【0002】

【従来の技術】喫煙者は世界中に約10億人いると推定されており、毎年300万人がタバコ関連の疾患で死亡していると推計されている(Fowler JS., Brain monoamine oxidase A inhibition in cigarette smokers. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93, 14065-14069, 1996)。タバコの危険性に関する認知度が上昇すると共に禁煙を試みる喫煙者が増加しているが、完全に禁煙するのは困難であるといわれる。これは当初、喫煙者はニコチン依存性に陥っているからであると考えられていた。

【0003】最近、タバコの煙にはニコチンの他に、抗鬱作用のあるモノアミンオキシダーゼA阻害物質が含まれていることが知られ(Mendez-Alvarez E., Inhibition of brain monoamine oxidase by adducts of 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline with components of cigarette smoke. Life Sci., 60, 1719-1722, 1997)、禁煙補助医薬品であるニコチンパッチやニコチン含有ガムではあまり改善されなかった気分の低下(鬱的傾向)の理由が解明され始めた。事実、タバコの煙や喫煙者の唾液によりモノアミンオキシダーゼA及び

内モノアミンオキシダーゼA活性が低下していることが知られている。つまり、禁煙中の気分低下は、抗鬱作用のあるモノアミンオキシダーゼA阻害物質がタバコから得られないことにより生じると考えられるようになってきた。

【0004】Berlinらは44名の喫煙者ボランティアに対し、モノアミンオキシダーゼA阻害物質を400mg/day、2ヶ月間と200mg/day、3ヶ月間投与し、禁煙状態を調べた。モノアミンオキシダーゼA阻害物質の投与はプラセボに比して禁煙を促す効果が有意に認められたが、禁煙できるまでに至らなかった。これは喫煙者の大部分がニコチン依存性に陥っているからであると考えられた。従って、ニコチンとモノアミンオキシダーゼA阻害物質を併用すれば、禁煙できるであろうと報告している(Berlin I., A reversible monoamine oxidase A inhibitor(moclobemide) facilitates smoking cessation and abstinence in heavy, dependent smokers. Clinical Pharmacol Ther., 58, 444-452, 1995)。

【0005】一方、ヨーロッパ等で古くから利用されてきたハーブ類にもモノアミンオキシダーゼ阻害活性を示すものが知られている。例えば、フユボダイジュにはモノアミンオキシダーゼ阻害作用があることが明らかにされており、フユボダイジュの花部からの抽出物が健康食品として利用されつつある。またセントジョーンズワートにもモノアミンオキシダーゼ阻害作用があることが知られている。セントジョーンズワート抽出物の有効成分は、ヘベリシン及びその誘導体と考えられている。ヘベリシン(C₃₀H₁₆O₈、分子量504.43)は、1942年にBrockmannらによってセントジョーンズワートから見出された物質である。

【0006】セントジョーンズワートの抽出物はまずアメリカ合衆国にて注目を浴び、最近になってわが国でも抗ストレス・リラックス型食品として利用されつつある。これを禁煙中のストレスを抑えるために用いるとする考えもあった。

【0007】しかしながら、現在まで、モノアミンオキシダーゼ阻害物質についてもハーブ抽出物についても、ニコチンその他の禁煙手段を用いて禁煙する際、いろいろやストレスを防止するために補助的に用いることが検討されてきたに過ぎなかった。単独で用いた場合に、喫煙に対しどのような効果を与えるかについて、具体的に明らかにした報告は存在しない。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、喫煙を控えるための新たな方法を見出すことである。また、植物抽出物の薬理作用をさらに詳しく解明し、植物抽出物が喫煙をひかえるために実際に用いるものであるか否かを検討し、そして植物抽出物を用いた喫煙抑制方法を確立することである。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、種々の植物抽出物のモノアミンオキシダーゼ阻害作用について検討を行った。その結果、オトギリソウ、セントジョーンズワート、フユボダイジュ又はカバからの抽出物にモノアミンオキシダーゼ阻害活性があることを見出した。さらに本発明者らは、喫煙に対しこれらの抽出物がいかなる影響を与えるかについて鋭意検討し、そして本発明を完成した。即ち、本発明は、植物由来のモノアミンオキシダーゼ阻害物質を含む、節煙促進剤を提供する。

【0010】本明細書でいうモノアミンオキシダーゼは、生理活性をもつアミン類の酸化的脱アミノ化を触媒する酵素の総称である。モノアミンオキシダーゼは、皮膚、血管など結合織に存在する結合織モノアミンオキシダーゼ、血液中に存在する血中モノアミンオキシダーゼ、及び脳や血小板に存在するフラビン系酵素であるミトコンドリアモノアミンオキシダーゼを含む。ミトコンドリアモノアミンオキシダーゼは、ノルエピネフィリンやセロトニンを基質とするモノアミンオキシダーゼA、及びドパミンを基質とするモノアミンオキシダーゼBを含む。本発明に係る阻害物質は、これらのモノアミンオキシダーゼのうちモノアミンオキシダーゼA及び/又はモノアミンオキシダーゼBに対する阻害作用を有するものである。

【0011】また、本発明でいう節煙とは、禁煙すること、禁煙するまでには至らないが一日当たりの喫煙量を減じること、禁煙すべき状況において喫煙を控えることをいう。節煙は、例えば常習的な喫煙者が一日当たりの平均喫煙量を約50%まで減じること、喫煙者が禁煙すべき場所で喫煙を控えること、喫煙者が会議等の際に喫煙を控えること、及び一日に平均約10本喫煙する者がほとんど又は全く喫煙しなくなることを含む。また、本明細書でいう節煙促進は、無理なく節煙させることをいい、例えば他のライフスタイルを不都合に変化させることなく節煙させること、喫煙量を控えるための他の手段を併用させることなく節煙させること及び集中力を損なわせることなく節煙させることを含む。

【0012】本発明の節煙促進剤は、植物を原料とする。モノアミンオキシダーゼ阻害作用を有する物質を含む植物であれば、いずれでも本発明のために用いるが、好ましくは、オトギリソウ(学名: *Hypericum erectum*)、セントジョーンズワート(学名: *Hypericum perforatum*、和名: セイヨウオトギリソウ)、フユボダイジュ(学名: *Tilia cordata*)又はカバ(学名: *Piper methysticum*)と同一の属の植物の1種以上を原料とする。より好ましくは、オトギリソウ、セントジョーンズワート、フユボダイジュ又はカバを原料とする。

【0013】原料植物は、1種でもよく、数種の組み合わせでもよい。即ち、本発明はまた、オトギリソウ、セントジョーンズワート、フユボダイジュ及びカバからな

る群より選択される2種以上から得られるモノアミンオキシダーゼ阻害物質を含む、節煙促進剤をも提供する。組み合わせは特に限定されないが、オトギリソウと、セントジョーンズワート、フユボダイジュ及びカバからなる群より選択される1種以上とであることが好ましい。植物数種を合わせたものを本発明の原料として用いてもよいし、それぞれの植物を原料として別個にモノアミンオキシダーゼ阻害物質を調製し、最終的に組み合わせてもよい。

10 【0014】原料からのモノアミンオキシダーゼ阻害物質の調製は、この阻害物質を分解又は不可逆的に変化させることがなければ特に制限されず、当業者によく知られた方法で行うことができる。採取した植物の部分(例えば、葉、根、茎、花、雄蕊、雌蕊)をそのまま抽出工程に供し、モノアミンオキシダーゼ阻害物質を調製することができる。抽出効率を高めるためには、原料植物を細切・粉碎するとよい。抽出溶媒としては、水; 酸、塩基、無機塩若しくは有機塩類の水溶液; アルコール類(例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ブタノール、イソブタノール)エーテル類、アセトン、酢酸エチル若しくはヘキサン等の有機溶媒又はこれらの混合物を用いることができる。好ましい抽出溶媒は、水及びエタノールの混合液並びに重炭酸ナトリウム水溶液である。抽出は加熱下で行うことができる。抽出温度は約5~約300°C、より好ましくは約25~約250°C、さらに好ましくは約50~約200°Cである。抽出は還流下で行うこともできる。抽出装置(例えば、ソックスレー抽出器)を用いてもよい。

20 【0015】こうして得られた抽出物はさらなる精製工程に供することができる。精製は、当業者によく知られた方法によって行うことができる。例えば、クロマトグラフィー、再結晶等の操作により精製される。

30 【0016】原料植物からの抽出物が市販されている場合は、それらを利用するのも簡便である。この場合、市販の抽出物には活性成分以外の添加剤が含まれていることがあるので、市販の抽出物を、上記のような活性成分の抽出工程に供するのがよい。

40 【0017】各工程、又は最終段階で得られた抽出物中のモノアミンオキシダーゼ阻害作用は、公知の方法によって確認することができる。例えば、Amplex™ Red Monoamine Oxidase Assay kit (Molecular Probes社製)を利用して、in vitroで確認することができる。

50 【0018】本発明に係る植物由来の有効成分は、経口投与された場合は血液-脳関門を通過して脳へ移行し、脳内のモノアミンオキシダーゼに阻害的に作用することとなる。得られた抽出物のin vivo(脳中)でのモノアミンオキシダーゼ阻害活性は、例えば、マウス等の実験動物に植物抽出物を投与し、投与後(例えば、1時間、2時間又は3時間経過後)の脳を摘出し、脳ホモジネートの有するモノアミンオキシダーゼ阻害活性を測定する

ことにより確認することができる。

【0019】得られた抽出物は、モノアミノキシダーゼ阻害作用を發揮しうるものであれば、そのまま節煙促進剤として使用することができる。また、必要に応じ当業者によく知られた反応を行うことによつて、抽出物中の化合物から誘導体を製造し、モノアミノキシダーゼ阻害作用を發揮しうるものとする事ができる。

【0020】本発明の節煙促進剤は、モノアミノキシダーゼ阻害物質を含有するものであるから、摂取すればモノアミノキシダーゼ阻害物質が供給される。本発明の剤を摂取することにより喫煙によりモノアミノキシダーゼ阻害物質を得る必要がなくなるから、無理なく節煙することができると考えられる。

【0021】本発明の節煙促進剤に含まれるモノアミノキシダーゼ阻害物質は、ヒペリシン以外の化合物でありうる。なぜなら、本発明者らの検討によると、市販のヒペリシン (Alexis Corp.社製)にはマウス脳由来モノアミノキシダーゼ阻害活性が認められず、またオトギリソウ抽出物をさらに分画して各々の画分について検討したところ、高いマウス脳由来モノアミノキシダーゼ阻害活性を有するけれどもヒペリシンを含まないと推定される画分が存在したからである(実施例11参照)。従つて、本発明は、植物由来の、ヒペリシンとは異なるモノアミノキシダーゼ阻害物質、及びそのような物質を含む節煙促進剤をも提供しうる。このヒペリシンとは異なる物質は、例えば、ゲルろ過法で測定した分子量が約100~約5,000(好ましくは約250~約2,500)であり、かつマウス脳由来モノアミノキシダーゼを非競争的に阻害しうる物質である。なお、非競争阻害(non-competitive inhibition)とは、酵素の基質結合部位とは異なる部位に阻害剤が結合して、酵素-阻害剤複合体(EI)及び/又は酵素-阻害剤-基質複合体(ESI)が形成され、酵素反応生成物(P)ができなくなることによる阻害をいう。

【0022】
【好ましい実施の形態】本発明の節煙促進剤は、医薬組成物、食品の形態とすることができる。本明細書でいう「食品」には、菓子(例えば、チューインガム、キャンディーゼリー、ビスケット、チョコレート、アイスクリーム、ヨーグルト、米菓)、健康食品(例えば、カプセル、タブレット、粉末)、飲料(例えば、清涼飲料、乳飲料、野菜・果汁飲料、茶)及びドリンク剤が含まれる。本発明の節煙促進剤を種々の食品の形態とする場合、意図した効果を發揮することができ、かつ安全に摂取することができるれば、食品の形態は特に制限されない。チューインガム、キャンディーの形態とすることは、携帯するのに都合がよく、必要なときに直ちに摂取することができる等の観点から特に好ましい。

【0023】食品の形態である本発明の節煙促進剤は、当業者によく知られた工程により製造することができ

る。製造工程は、モノアミノキシダーゼ阻害物質を分解又は不可逆的に変化させることがなければ特に制限されない。例えば、チューインガムを製造するためには、一般には、加熱したガムベースに糖類、香料等を加えてよく混合し、混合物をシート状に成型し、そしてシートを裁断する工程を経るが、本発明に係る植物抽出物をガムベースに混合させたり、裁断されたものに植物抽出物粉末を吸着させることにより、チューインガムの形態である本発明の節煙促進剤を製造することができる。

【0024】食品への配合量は、一回の摂取当たり(食品1個、又は複数個当たり)粗製の植物抽出物(例えば、本明細書実施例1~5に記載された方法で得られたもの)量では、約0.05~約100,000mq、好ましくは約0.5~約10,000mq、より好ましくは約5~約1,000mq摂取することができる量とする。モノアミノキシダーゼ阻害活性では、一回の摂取当たり約3.25~約6,500,000unit、好ましくは約32.5~約650,000unit、より好ましくは約325~約65,000unitで摂取することができる量とする。なお、本明細書ではモノアミノキシダーゼ阻害活性単位を次のように定義する。即ち、実施例6に記載した方法でモノアミノキシダーゼ作用による蛍光強度(Ex/Em(560nm/590nm))を測定した場合に、その蛍光強度の上昇を1分間に10抑制する力価を1単位(unit)とする。

【0025】食品への植物抽出物の配合例を以下に示す。なお、表中の「%」は重量に基づく。

【0026】

【表1】

原料	配合割合 (%)
粉糖	44
ガムベース	25
ブドウ糖	17
水飴	11
植物抽出物	1.7
香料・その他	1.3

【0027】

【表2】

原料	配合割合 (%)
砂糖	55
水飴	42.5
クエン酸	1.4
香料	0.5
植物抽出物	0.5
着色料	0.1

【0028】

【表3】

30

40

50

原料	配合比
小麦粉	90
粉糖	25
デンプン	10
ショートニング	10
加糖練乳	7
バター	5
膨剤	2
転化剤	7
食塩	0.7
植物抽出物	0.5
香料	適量
水	20~25

【0029】

【表4】

原料	配合比
バターチョコレート	25
粉糖	58
カカオバター	17
植物抽出物	0.5
レシチン	0.3
バニリン	0.07

【0030】

【表5】

原料	配合割合 (%)
果糖ブドウ糖液糖	9.5
グレーフルーツ 1/5濃縮果汁	0.6
砂糖	0.5
植物抽出物	0.5
クエン酸	0.3
香料	0.15
ビタミンC	0.05
水	88.4

【0031】本発明の節煙食品の摂取は、摂取の目的に応じたものとしてすることができる。例えば、禁煙又は一日当たりの喫煙量を減じるためには、一定期間・連続的に（例えば毎日1回・1ヶ月間）摂取することができるし、一時的に喫煙を控えるためには、喫煙を控えなければならないときの前又は喫煙を控えなければならないときに一時的に（例えば、会議の直前に1回）摂取することができる。

【0032】本発明の節煙促進剤を医薬組成物の形態とする場合、投与経路は意図した効果を発揮することができ、かつ安全に投与することができれば特に制限されない。経口的又は非経口的に、全身的又は局所的に投与することができる。例えば、経口投与、舌下投与、鼻内投与、吸入投与、皮下投与、筋肉内投与、静脈内投与することができる。簡便であり、自己投与が容易であるという観点からは、経口投与が好ましい。

【0033】本発明の喫煙促進剤は種々の剤形とすることができる。意図した効果を発揮することができ、かつ安全に投与することができれば剤形は特に制限されず、投与経路等に応じたものとしてすることができる。例えば、経口投与のためには、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、丸剤、液剤、乳剤、懸濁剤、溶液剤、酒精剤、シロップ剤、エキス剤、エリキシル剤とすることができるが、これらに限定されない。また、これらの製剤には薬剂的に許容できる種々の担体を加えることができる。例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、着色剤、甘味剤、矯味剤、溶解補助剤、懸濁化剤、乳化剤、コーティング剤を添加することができるが、これらに限定されない。本発明の喫煙促進剤を持続性、徐放性のものとしてもよい。このような種々の製剤は、当業者にはよく知られた工程により製造することができる。

【0034】本発明の医薬組成物の投与量は、粗製の植物抽出物（例えば、本明細書実施例5に記載された方法（2）で得られたもの）量では、約0.05~約100,000mg/day、好ましくは約0.5~約10,000mg/day、より好ましくは約5~約1,000mg/dayである。モノアミノオキシダーゼ阻害活性では、約3.25~約6,500,000unit/day、好ましくは約32.5~約650,000unit/day、より好ましくは約325~約65,000unit/dayで投与する。もちろん個別的に、投与の目的（一時的に節煙するか、長期的に節煙するか等）、患者の性別、体重、年齢、剤型、投与経路、投与回数、投与経過等に応じて適宜決定することもできる。1日あたりの量を数回に分けて投与することもできる。また、単独で投与してもよく、他の喫煙を控えるための剤と組み合わせて投与することもできる。

【0035】以下、本発明を実施例により更に詳細に説明するが、本発明の範囲は実施例により制限されない。

【0036】

【実施例】実施例1（フコボダイジュ抽出物の製造）
100gのボダイジュエキスパウダーMF（丸善製薬（株）社製）に50%（v/v）。以下、エタノールについての%表示において同じ。）エタノールを加え50℃、30分間抽出を行った後、抽出液をろ別し、乾燥した。100gのフコボダイジュから約47gの乾燥物を黄褐色の固体として得た。

【0037】実施例2（セイヨウトギリソウ抽出物の製造）

100gのセイヨウトギリソウパウダー（丸善製薬（株）社製）に40%エタノールを加え50℃、30分間抽出を行った後、抽出液をろ別し、乾燥した。100gのセイヨウトギリソウから約52gの乾燥物を赤褐色の固体として得た。

【0038】実施例3（セントジョンズワート抽出物の製造）

セントジョンズワート（（株）常磐植物化学研究所社製）に25%エタノール溶液を加え30分間攪拌して抽出し

た後、ろ別した。100gの乾燥セントジョンズワートから約46.5gの乾燥物を赤褐色の固体として得た。

【0039】実施例4（カバ抽出物の製造）

トンガ産カバ（NANO Merchandise Development社製、トンガ）をミルにてさらに粉末化したものをカバ原末とした。これに15%エタノールを加え室温にて1時間攪拌し、不溶物をろ別した後、乾燥物を得た。100gのカバより41.5gの乾燥物を黄褐色の固体として得た。

【0040】実施例5（オトギリソウ抽出物の製造）

方法（1）：1kgのオトギリソウ（内田和漢薬社製）に9.5%、50%、及び15%エタノールを加え40℃、1時間加熱攪拌抽出を行い、抽出液をろ別して得た。1kgの乾燥オトギリソウから約486g、507g、558gの乾燥物をそれぞれ赤褐色の固体として得た。

【0041】方法（2）：1kgの乾燥オトギリソウを3Lの0.5%重炭酸ナトリウム溶液に浸漬し、80℃以上、15～30分間加熱した。16～24時間室温に放置した後、抽出液をろ別して得た。1kgの乾燥オトギリソウから約635gの乾燥物を赤褐色の固体として得た。

【0042】実施例6

実施例1～5に記した方法で調製した各抽出物のモノアミンオキシダーゼ阻害活性を次の2つの方法で測定した。

【0043】（1）モノアミンオキシダーゼ阻害活性測定法（in vitroアッセイ法）：AmplexTM Red Monoamine Oxidase Assay kit（Molecular Probes社製）＊

＊を用い、一部変更して測定した。モノアミンオキシダーゼはマウス脳ホモジネート（50mM potassium phosphate, pH7.4）を酵素液として用いた。70μlのマウス脳ホモジネートに、50mM potassium phosphate, pH7.4を用いて各種植物抽出物が2mg/mlの濃度になるように調製された溶液を30μl加え、室温で30分間プレインキュベートした。これに100μlのAcFmixを加え、30分間室温でインキュベートし、蛍光強度をEx.560nm, Em.590nmで測定した。測定系のブランクには100℃、10分間加熱して失活させたマウス脳ホモジネートを用いた。

【0044】（2）モノアミンオキシダーゼ阻害活性測定法（in vivoバイオアッセイ法）：脱イオン水に溶解した各種植物抽出物をマウス（ICR、5週令、雄）に体重（kg）当たり1mg（阻害活性では、65unit）になるように胃ゾンデで強制経口投与し、3時間までの脳中のモノアミンオキシダーゼ活性を測定した。脳は等量の50mM potassium phosphate（pH7.4）でホモジネートし、この脳ホモジネートを100倍に希釈し、AmplexTM Red Monoamine Oxidase Assay kit（Molecular Probes社製）を用いて、モノアミンオキシダーゼ阻害活性を測定した。

【0045】実施例1～5に記した方法で調製した各種植物抽出物のモノアミンオキシダーゼ阻害活性を表6にまとめて記す。

【0046】

【表6】

表6. 植物抽出物のモノアミンオキシダーゼ阻害率

原料植物名	モノアミンオキシダーゼ阻害率 (%)			
	バイオアッセイ		in vitroアッセイ	
	1時間	2時間	3時間	
ボダイジュ	38.9	39.2	42.6	9.4
西洋オトギリソウ	20.1	21.3	10.0	17.9
セントジョンズワート	24.5	46.7	31.3	15.3
カバ	47.2	42.6	21.0	18.9
カバ（15%エタノール抽出物）	69.9	49.5	41.4	27.8
オトギリソウ（99.5%エタノール抽出物）	4.1	3.7	2.2	6.8
オトギリソウ（60%エタノール抽出物）	28.4	26.5	16.8	10.7
オトギリソウ（15%エタノール抽出物）	31.0	32.9	15.5	8.7
オトギリソウ（0.5%重曹水抽出物）	38.4	33.2	41.1	15.0

【0047】In vitroアッセイにおいて各種植物抽出物はモノアミンオキシダーゼを10%～30%阻害した。また、バイオアッセイにおいて各種植物抽出物中のモノアミンオキシダーゼ阻害物質は経口投与にて吸収されており、投与後1時間で既に脳のモノアミンオキシダーゼ活性が抑制されていた。この活性抑制は3時間後でも持続していた。このことから、各種植物抽出物中のモノアミンオキシダーゼ阻害物質は血液脳関門を通過して脳内に達し、脳内モノアミンオキシダーゼ活性を阻害していた。

【0048】実施例7

1) オトギリソウ抽出物（0.5%重曹水抽出物；実施例

5の方法（2）で得られたもの。以下同じ。）とフユボダイジュ抽出物（実施例1）、2) オトギリソウ抽出物（0.5%重曹水抽出物）とセイヨウトトギリソウ抽出物（実施例2）、3) オトギリソウ抽出物（0.5%重曹水抽出物）とセントジョンズワート抽出物（実施例3）、4) オトギリソウ抽出物（0.5%重曹水抽出物）とカバ抽出物（実施例4）の組み合わせで、バイオアッセイ法及びin vitro法を用いてモノアミンオキシダーゼ活性阻害率を測定した。結果を表7に示す。

【0049】

【表7】

表7. 植物抽出物(組み合わせ)のモノアミンオキシダーゼ阻害率

原料植物名	モノアミンオキシダーゼ阻害率 (%)	
	バイオアッセイ	in vitroアッセイ
	1時間	
ポダイジュ + オトギリソウ	40.3	25.9
セイヨクサザキ + オトギリソウ	31.0	29.1
セントジョーンズワート + オトギリソウ	30.2	33.0
カバ + オトギリソウ	66.3	46.7

【0050】In vitro法において上記の組み合わせによるモノアミンオキシダーゼ阻害率は26%~45%であった。また、バイオアッセイにおいてもこれらの組み合わせにより単独のときよりも阻害率が上昇した。

【0051】実施例8 (食品の製造)

砂糖、ガムベース、水飴、ブドウ糖、バラチノース、香料、軟化剤、バラチノースオリゴ糖、クチナシ色素、ウーロン茶抽出物を原材料とする、クールミントガム(商品名)(株)ロッテ社製)に、1枚当たり50mgのオトギリソウ抽出物(実施例5の0.5%重曹水抽出物)を担持させ、喫煙促進用ガムを製造した。モノアミンオキシダーゼ阻害活性では、ガム1枚当たり約3300unitに相当しうる。

【0052】実施例9

ボランティアは喫煙歴10年以上で、1日に20~40本(平均28.0±6.5)のタバコを消費する研究所勤務の男性6名である。消費しているタバコのニコチンとタール含量はそれぞれ1本当たり0.1~1.3mq(平均0.8mq/本)、1~1.5mq(平均0.9.3mq/本)であり、各ボランティアの消費しているタバコの銘柄その他の制限を特に加えていない。タバコの消費量は労働内容や質等の諸条件及びアフターワークの過ごし方等によって変動が激しいことから、実験実施期間を1ヶ月間に設定した。その間の食事や飲酒を含むライフスタイルに一切の制限を加えていない。なお、被験者には摂取するガムが節煙促進的に作用しうることを知らせた。

【0053】実施例8で製造したガムを平日では朝9時と昼食後に摂取させ、休日は午前中と午後の任意の時間にそれぞれ摂取させた。喫煙量と摂取感は各自の申告にて聞き取り調査した。結果を表8に示す。

【0054】

【表8】

表8. 節煙促進用ガムの効果(1)

ボランティア#	摂取前 1※	摂取後 2※
1	20	12
2	23	8
3	25	15
4	30	25
5	30	13
6	40	21

1※ 実験開始前1週間の1日当たりの平均タバコ消費本数

2※ 継続摂取後の1日当たりの平均タバコ消費本数

【0055】オトギリソウ抽出物摂取前の1日当たりの平均タバコ消費本数は28であったが、摂取後のそれは16

本になり、約43%も減少した。その減少率は一様でなく、17~65%までその変動はかなり大きかったが、いずれのボランティアにおいてもタバコ消費量は減少していた。オトギリソウ抽出物を摂取している間の感想については特に普段と変わらなかったが、タバコを美味しいと感じなくなったとのコメントが多かった。

【0056】1ヶ月間オトギリソウ抽出物を摂取した後においても、なお節煙促進効果が得られたことは、本実験の節煙促進効果が偽薬効果によって得られたものではないことを示す。

【0057】実施例10

1日に約10本のタバコ又はそれ以下のタバコを消費する男性5名について、実施例9と同様の試験を行った。結果を表9に示す。

【0058】

【表9】

表9. 節煙促進用ガムの効果(2)

ボランティア#	摂取前 3※	摂取後 4※
6	12±3	0
7	9±5	0
8	10±2	0
9	6±7	0
10	11±2	0

3※ 実験開始前2週間の1日当たりの平均タバコ消費本数

4※ 継続摂取の2週間後のタバコ消費本数

【0059】オトギリソウ抽出物を2週間継続して摂取した後は、全員が喫煙しなくなった。実施例11実施例5の方法(2)で得られたオトギリソウ抽出物を、次のように簡単に部分精製した。オトギリソウ抽出物を30%エタノールに溶解し、溶解物と不溶物とに分けた。溶解物を30%エタノールに平衡化したコスモシール75C₁-OPN(ナカライテスク社製)に負荷し、非吸着物を30%エタノールで洗い出し、次いで、50%エタノールで溶出した。50%エタノール溶出物をさらに酢酸エチル可溶物と不溶物とに分画した。

【0060】市販のヒペリシン(Alexis Corp.社製)、及び上述のそれぞれの画分について薄層クロマトグラフィによる展開操作を行い、Rf値を求め、展開後スポットの蛍光色を観察した。展開条件等はMulinacciらの方法(Mulinacci, N. et al., HPLC-DAD and TLC-Densitometry for Quantification of Hypericin Hypericum perforatum L. Extracts, Chromatographia, 49, 197-201, 1999)に準じた。また、それぞれの画分について、マウス法由来モノアミンオキシダー

10

20

30

40

50

ゼ (MAO) 阻害活性を実施例6の(1)の方法に従って測定した。結果を表10に示す。

【0061】

【表10】

表10. オトギリソウ抽出物とヒペリシンの比較

		Rf値	蛍光色	MAO阻害 比活性 (unit/mg)
ヒペリシン		0.69	赤	0
オトギリソウ抽出物	#1	0.03	黄色	90.1
	#2	0.03	黄色	131.0
		0.57	赤	
#3		0.17	黄色	44.1
		0.25	黄色	
		0.52	黄色	
		0.57	赤	
#4		0.57	赤	41.8
		0.69	赤	

#1 30%エタノール不溶画分

#2 ヌスモール75C₁₈-OPN非吸着画分

#3 50%エタノール溶出・酢酸エチル不溶画分

#4 50%エタノール溶出・酢酸エチル可溶画分

(8)

特開2001-199895

14

*【0062】ヒペリシンにはマウス脳由来モノアミノキシダーゼ阻害活性は認められず、マウス脳由来モノアミノキシダーゼの活性を30%促進した。また、高い比活性を有する#1画分及び#2画分はヒペリシンを含有しなかった。

【0063】なお、#2画分について検討したところ、モノアミノキシダーゼを非競争的に阻害することが分かった。また、#2画分について、スーパーデックスペプチドHR10-30カラム (ファルマシア社製) を用いて測定したところ、含まれる物質の分子量は2500以下であった。

*20

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

ターマコード (参考)

C 1 2 N 9/99

C 1 2 N 9/99

// A 2 3 G 3/30

A 2 3 G 3/30

(72)発明者 渡辺 正利

東京都小金井市緑町2-5-36

Fターム(参考) 4B014 GB01 GB06 GB07 GB13 GB18

GG18 GK12 GL03

4B018 LB01 LB07 LB08 MD07 MD48

MD61 ME14

4C084 AA17 MA47 MA52 NA14 ZC202

ZC391

4C088 AB12 AB25 AC03 AC05 AC06

AC11 BA09 BA10 BA23 BA25

BA32 CA05 CA08 CA14 CA19

MA02 MA07 MA47 MA52 NA14

ZC20 ZC39