

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

第2975997号

(45) 発行日 平成11年(1999)11月10日

(24) 登録日 平成11年(1999) 9月10日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
C 0 7 D 493/18		C 0 7 D 493/18	
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B
			Z
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/00	D
			W

請求項の数 4 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-52396

(22) 出願日 平成10年(1998) 3月4日

(65) 公開番号 特開平11-246562

(43) 公開日 平成11年(1999) 9月14日

審査請求日 平成10年(1998) 3月4日

(73) 特許権者 000001144
工業技術院長
東京都千代田区霞が関1丁目3番1号

(74) 上記1名の指定代理人 工業技術院生命工学工業技術研究所長 (外3名)

(73) 特許権者 595132360
株式会社常磐植物化学研究所
千葉県佐倉市木野子158番地

(74) 上記1名の代理人 弁理士 釜田 淳爾 (外2名)

(72) 発明者 山崎 幸苗
茨城県つくば市東1丁目1番3 工業技術院生命工学工業技術研究所内

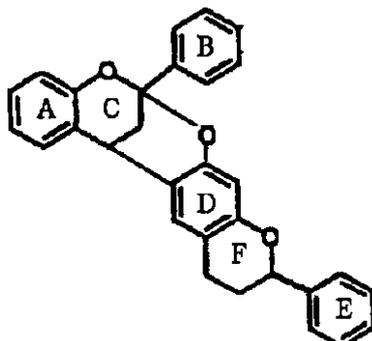
(72) 発明者 田中 秀興
茨城県つくば市東1丁目1番3 工業技術院生命工学工業技術研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プロアントシアニジンAおよびその誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】一般式(1):
【化1】



(1)

(上式において、A環、B環、C環、D環、E環および

2

F環に結合している水素原子は、それぞれ独立に水酸基、置換または無置換のアルキル基、置換または無置換のアルケニル基、置換または無置換のアルキニル基、置換または無置換のアルコキシ基、置換または無置換のアリール基、および置換または無置換のアリールオキシ基からなる群から選択される1以上の置換基で置換されていてもよい)で表される構造を有する化合物を活性成分として含有することを特徴とする、ヒアルロニダーゼの活性阻害、抗アレルギー、抗炎症または活性酸素消去のために使用する医薬組成物。

10

【請求項2】請求項1の一般式(1)で表される構造を有する化合物を含有することを特徴とする抗酸化剤。

【請求項3】請求項1の一般式(1)で表される構造を有する化合物を含有することを特徴とする化粧品。

【請求項4】請求項1の一般式(1)で表される構造を

有する化合物を含有することを特徴とする食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、プロアントシアニジンAおよびその誘導体のヒアルロニダーゼ活性阻害作用、抗アレルギー作用、抗炎症作用、活性酸素消去作用および抗酸化作用を利用した医薬組成物、化粧品および食品に関する。

【0002】

【従来の技術】プロアントシアニジンは、従来から「縮合タンニン」あるいは「非加水分解性タンニン」と呼ばれていた化合物であり、植物中に存在していることが知られている。プロアントシアニジンは、複数のフラボン-3-オール単位が結合した構造を有しており、その結合様式の違いから数種類に分類されている。

【0003】その1つに、複数のフラボン-3-オールが、4位と8位の間の単結合（以下[4-8]結合という）または4位と6位の間の単結合（以下[4-6]結合という）によって結合している化合物がある。特に二量体および三量体は、それぞれプロアントシアニジンBおよびプロアントシアニジンCと呼ばれ、野菜中に広く存在している。このように複数のフラボン-3-オールが互いに1つの結合を介して結合している化合物は、すでに多くの種類が知られており、その構造解析や有用性に関する研究も活発に行われてきた。

【0004】これに対して、複数のフラボン-3-オールが互いに2つの結合（エーテル結合と単結合）を介して結合している化合物については、これまでに単離され構造解析された数は極めて限られている。例えば、二量体であるプロアントシアニジンAを単離した例として、ヤシ科アレカ属の植物(Areca catechu)から単離したプロアントシアニジンA-1(G. Nonaka, et al, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1981, 781)、トチノキ科の西洋トチノキ(Aesculus hippocastanum L.)から単離したプロアントシアニジンA-2(W. Mayer, et al., Tetrahedron Lett., 1966, 429)がある。これらを始めとする既知のプロアントシアニジンAは、いずれも2分子のフラボン-3-オールが、2位と7位の間のエーテル結合（以下[2-0-7]結合という）と[4-8]結合によって結合したものであり、それ以外の結合様式で結合したものは知られていない。これに関して、上記Mayerの論文には、[2-0-7]結合と[4-8]結合以外の結合様式で結合した構造式が記載されているが、後の研究によってMayerが単離した化合物は該構造を有しないことが確認されている(薬学雑誌102巻2号162頁)。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】これらの既知のプロア

10

20

30

40

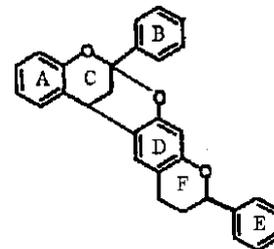
50

ントシアニジンAには、ヒアルロニダーゼ阻害活性や活性酸素消去活性があることが知られている。しかしながら、これらの活性は必ずしも十分ではなく、実用性を考慮するとさらに高活性の化合物を提供する必要がある。そこで、本発明は、高いヒアルロニダーゼ阻害活性、ラジカル消去活性および活性酸素消去活性を有する化合物を含む組成物を提供することを解決すべき課題とした。特に本発明は、これらの機能を有する医薬組成物、化粧品および食品を提供することを課題とした。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らはこれらの課題を解決するために鋭意検討を進めた結果、落花生薄皮から高活性の新規プロアントシアニジンAを単離することに成功し、本発明を提供するに至った。すなわち、本発明は、以下の一般式(1)：

【化4】



(1)

【0007】(上式において、A環、B環、C環、D環、E環およびF環に結合している水素原子は、それぞれ独立に水酸基、置換または無置換のアルキル基、置換または無置換のアルケニル基、置換または無置換のアルキニル基、置換または無置換のアルコキシ基、置換または無置換のアリール基、および置換または無置換のアリールオキシ基からなる群から選択される1以上の置換基で置換されていてもよい)で表される構造を有する化合物を活性成分として含有することを特徴とする、ヒアルロニダーゼの活性阻害、抗アレルギー、抗炎症または活性酸素消去のために使用する医薬組成物を提供する。

【0008】さらに、本発明は、上記化合物を含有することを特徴とする抗酸化剤を提供する。また、上記化合物を含有することを特徴とする化粧品および食品も提供する。

【0009】

【発明を実施するための態様】以下において、本発明の医薬組成物、抗酸化剤、化粧品および食品について詳細に説明する。本発明で使用する化合物は、上記一般式(1)で表されることを特徴とする。すなわち、2つのフラボン骨格が[2-0-7]結合と[4-6]結合によって結合していることを特徴とする。

【0010】一般式(1)におけるB環とC環、C環とD環、E環とF環のそれぞれの立体配置は制限されない。したがって、一方の環が形成する平面に対して他方

の環が上側にあっても下側にあってもよい。また、C環とF環に結合し得る置換基についても、同様に立体配置は制限されない。このため、C環とF環に置換基が結合している場合は、光学活性を有することがある。その場合は、各光学活性体およびラセミ体も本発明の範囲に含まれる。

【0011】一般式(1)において、A環、B環、C環、D環、E環およびF環に結合している水素原子は、それぞれ独立に水酸基、置換または無置換のアルキル基、置換または無置換のアルケニル基、置換または無置換のアルキニル基、置換または無置換のアルコキシ基、置換または無置換のアリール基、および置換または無置換のアリールオキシ基からなる群から選択される1以上の置換基で置換されていてもよい。複数の置換基で置換されている場合は、それぞれの置換基は同一であっても異なってもよい。また、A環とそれに対応するD環、B環とそれに対応するE環、C環とそれに対応するF環は、それぞれ同様に置換されていてもいなくてもよい。

【0012】置換基であるアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基、アリール基およびアリールオキシ基の種類は、立体障害があつて構造上導入しえないものでなければ特に制限されない。アルキル基、アルケニル基、アルキニル基およびアルコキシ基の炭素数は、一般に1~20であり、好ましくは1~10、より好ましくは1~6、さらにより好ましくは1~3である。また、アリール基およびアリールオキシ基の炭素数は、一般に6~30、好ましくは6~20である。

【0013】アルキル基の具体例として、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、*t*-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ヘキシル基、イソヘキシル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基を挙げることができる。アルケニル基の具体例として、エテニル基、1-メチルエテニル基、1-プロペニル基、2-プロペニル基、ブテニル基、ブタジエニル基、ペンテニル基、ヘキセニル基、シクロペンテニル基、シクロヘキセニル基を挙げることができる。アルキニル基の具体例として、エチニル基、1-プロピニル基、2-プロピニル基、ブチニル基、ペンチニル基、ヘキチニル基を挙げることができる。

【0014】アルコキシ基の具体例として、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、イソブトキシ基、*t*-ブトキシ基、ペントキシ基、イソペントキシ基、ヘキソキシ基、シクロペンチルオキシ基、シクロヘキシルオキシ基を挙げることができる。アリール基の具体例として、フェニル基、トリル基、キシリル基、ピフェニリル基、ナフチル基、アントリル基、フェナントリル基を挙げることができる。また、アリールオキシ基の具体例として、フェノキシ基、トリルオキシ基、キシリルオキシ基、ピフェニリルオキ

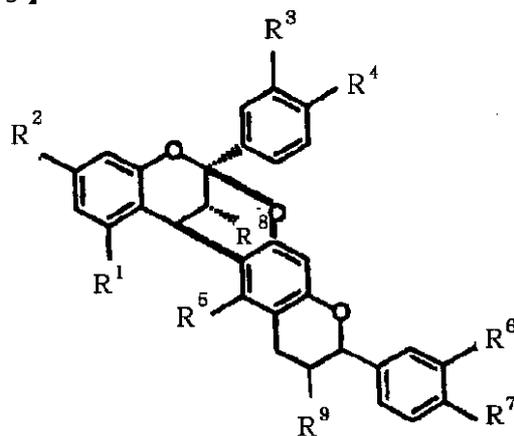
シ基、ナフチルオキシ基、アントリルオキシ基、フェナントリルオキシ基を挙げることができる。これらの具体例は例示であるに過ぎず、これら以外の置換基を用いることもできる。

【0015】これらのアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基、アリール基およびアリールオキシ基は、置換されていてもいなくてもよい。置換されている場合の置換基として、例えば水酸基、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基、アリール基、アリールオキシ基、ハロゲン原子(フッ素原子、塩素原子、臭素原子および沃素原子)、アミノ基、アシル基(例えばアセチル基、プロピオニル基、ベンゾイル基)、カルボキシ基、アルキルオキシカルボニル基(例えばメトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基)、アシルオキシ基(例えばアセトキシ基、ベンゾイルオキシ基)を例示することができるが、これらに限定されるものではない。また、置換基は1つであっても複数であってもよく、複数である場合は互いに同一であっても異なってもよい。

【0016】一般式(1)で表される化合物の中では、A環、B環、D環およびE環に結合している水素原子が、それぞれ独立に水酸基、置換または無置換のアルキル基、置換または無置換のアルケニル基、置換または無置換のアルキニル基、置換または無置換のアルコキシ基、置換または無置換のアリール基、および置換または無置換のアリールオキシ基からなる群から選択される1または2個の置換基で置換されている化合物が好ましい。

【0017】特に、以下の一般式(2)で表される化合物が好ましい。

【化5】



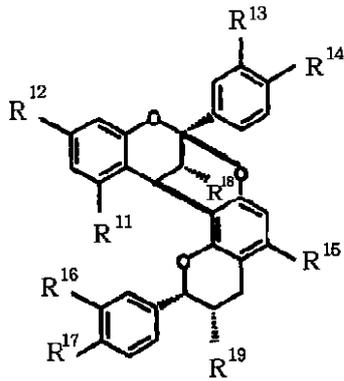
(2)

【0018】一般式(2)において、R¹~R⁹は、それぞれ独立に水素原子、水酸基、置換または無置換のアルキル基、置換または無置換のアルケニル基、置換または無置換のアルキニル基、置換または無置換のアルコキシ基、置換または無置換のアリール基、および置換または

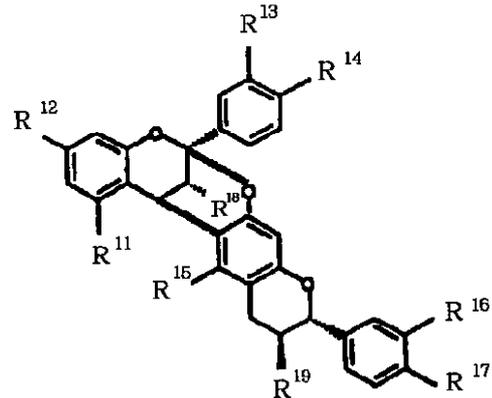
7

無置換のアリールオキシ基からなる群から選択される。 $R^1 \sim R^9$ がとりうる置換基の具体例については、一般式 (1) に関する上記説明を参照することができる。

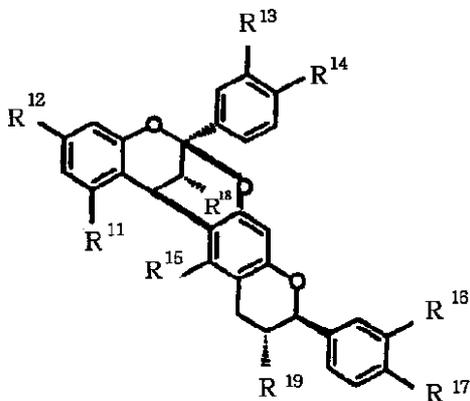
【0019】一般式 (2) で表される化合物の中では、 $R^1 \sim R^9$ がそれぞれ独立に水素原子、水酸基、または置換または無置換のアルコキシ基である化合物が好ましい。また、 $R^1 \sim R^7$ がそれぞれ独立に水酸基または置換または無置換のアルコキシ基であり、 R^8 および R^9 がともに水酸基である化合物がより好ましい。*



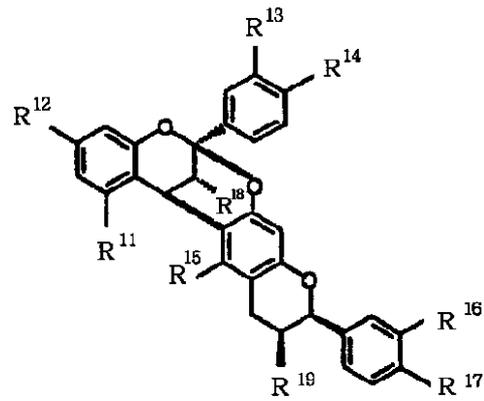
(3)



(4)



(5)



(6)

【0022】一般式 (3) ~ (6) において、 $R^{10} \sim R^{19}$ はそれぞれ独立に水素原子、水酸基、置換または無置換のアルキル基、置換または無置換のアルケニル基、置換または無置換のアルキニル基、置換または無置換のアルコキシ基、置換または無置換のアリール基、および置換または無置換のアリールオキシ基からなる群から選択される。 $R^{10} \sim R^{19}$ がとりうる置換基の具体例については、一般式 (1) に関する上記説明を参照することができる。

【0023】一般式 (3) ~ (6) で表される化合物の中では、 $R^{10} \sim R^{17}$ がそれぞれ独立に水酸基または置換または無置換のアルコキシ基であり、 R^{18} および R^{19} がともに水酸基である化合物が好ましい。また、 $R^{10} \sim R$

* 【0020】さらに、好ましい立体配置の例として、以下の一般式 (3) ~ (6) で表される構造を有する化合物を例示することができる。この中で一般式 (3) で表される化合物は一般式 (1) に包含されるものではないが、該化合物は後述するように高いヒアルロニダーゼ活性およびラジカル消去活性を有する新規化合物である。

【0021】

【化6】

40

R^{17} がすべて水酸基であるか、 $R^{12} \sim R^{17}$ がすべてメトキシ基である化合物がより好ましい。

【0024】これらの化合物の例として、(+)カテキン、(-)カテキン、(+)エピカテキン、(-)エピカテキンなどの二量体を挙げるることができる。これらの二量体を構成する2つの単位は同一であっても異なってもよい。具体的には、実施例に記載される(-)エピカテキン-(4-8; 2-0-7)-(+)エピカテキン[化合物3]、(-)エピカテキン-(4-6; 2-0-7)-(+)カテキン[化合物4]、(-)エピカテキン-(4-6; 2-0-7)-(-)カテキン[化合物5]、(-)エピカテキン-(4-6; 2-0-7)-(+)エピカテキン[化

50

合物 6] およびこれらのメトキシ誘導体を例示することができる。

【 0 0 2 5 】 一般式 (1) の化合物は、いかなる方法で取得したものであっても構わない。したがって、自然界に存在する生物が保有または産生する組成物の中から抽出したものであってもよいし、合成することによって調製したものであってもよい。一般式 (1) の化合物を取得する方法として、落花生薄皮の抽出成分を利用する方法がある。落花生の薄皮は一般に人の食用に供しないため、一部が家畜の飼料として利用されていはいはいるもの、大部分は焼却または廃棄されている。落花生薄皮を利用する上記製造方法によれば、このような廃材同然であった落花生薄皮を有効に利用することができる。このため、上記製造方法によれば安い原料費で有用な化合物を取得することができる。

【 0 0 2 6 】 落花生薄皮に含まれている化合物については、これまでほとんど明らかにされていなかった。また、これまでにプロアントシアニジン A の抽出に成功した植物は、ヤシ科アレカ属の植物 (*Areca catechu*) やトチノキ科の西洋トチノキ (*Aesculus hippocastanum* L.) のように、落花生とは科が異なる植物である。したがって、落花生薄皮にプロアントシアニジン A が含まれていることは、本発明者らによって初めて見出された予期不能な事実である。

【 0 0 2 7 】 上記製造方法で使用する落花生は、ラッカセイ属に属する植物であればその種類は問わない。特に好ましいのは、ラッカセイ属に属するラッカセイ (*A. hypogaea*) である。本発明で使用する落花生の生育地、収穫期および種類などは特に制限されない。また、実の大きさ、果皮中に入っている種子の数、果皮や薄皮の色なども特に制限されない。

【 0 0 2 8 】 落花生から薄皮を取得する方法は、特に制限されない。このため、厚い皮質を帯びた果皮を除去して薄皮付きの種子を取得してから、種子と薄皮を分離することによって取得してもよいし、果皮と薄皮を同時に種子から分離した後に、果皮と薄皮を分離することによって取得してもよい。薄皮付きの種子から薄皮のみを取得する方法には様々なものがあり、例えば空気流を当てて薄皮を飛ばして収集する方法、種々の条件下で薄皮を溶かす方法、人手によって剥く方法などがある。また、水流を当てることによって水とともに薄皮を洗い流す方法や、90 ~ 95 の熱水中に 5 ~ 10 分間浸した後に剥離機で剥く方法もある。これら方法によれば薄皮の除去と水または熱水抽出を同時に行うことができるため効率的である。特に種子を水で湿らせたうえで使用する場合には、この方法は有効である。本発明の薄皮はこれらのいずれの方法によって取得したものであってもよい。

【 0 0 2 9 】 落花生薄皮の抽出方法は特に制限されず、当業者に周知の方法にしたがって行うことができる。抽

出溶媒としては、水または温水、アルコール系溶媒、およびアセトンなどのその他の有機溶媒を用いることができる。アルコール系溶媒としては、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、イソブタノールなどを例示することができる。これらの溶媒は単独で使用してもよいし、組み合わせて使用してもよい。

【 0 0 3 0 】 好ましい抽出溶媒は水または温水であり、特に好ましいのは熱水である。熱水の温度は 40 ~ 100 、より好ましくは 60 ~ 100 、さらに好ましくは 80 ~ 100 、もっとも好ましくは 90 ~ 95 である。抽出は、常温で行っても還流下で行ってもよい。また、ソックスレー抽出器などの抽出装置を使用してもよい。

【 0 0 3 1 】 こうして落花生薄皮から得られた抽出物をさらに精製することによって、目的とする一般式 (1) で表される化合物またはその前駆体を取得することができる。精製は、当業者に既知の方法を単独または組み合わせて用いることによって行うことができる。例えば、合成吸着樹脂、活性炭、イオン交換樹脂、セファデックス、バイオゲルなどのゲル濾過剤、カラムクロマトグラフィ、再結晶などを適宜組み合わせることによって、さらに目的とする化合物の精製効率や純度を上げることができる。精製条件を設定する際には、活性成分の化学的性質を十分に考慮するのが好ましい。例えば、一般式 (1) で表される化合物は、一般にダイアイオン HP 20 に吸着し、水およびエタノールに溶解する性質を有するため、これらの性質を利用してさらに精製を進めることができる。

【 0 0 3 2 】 例えば、落花生薄皮の熱水抽出物をダイアイオン HP 20 が充填されたカラムにチャージし、吸着された成分を溶出することによって精製を行うことができる。吸着された成分は、アセトンやエタノールなどの活性成分を溶解し得る溶媒を用いて溶出させることができる。また、落花生薄皮の熱水抽出物を先にアセトンやエタノールなどの活性成分を溶解し得る溶媒に溶解し、デンプン質などの不溶性成分を濾過した後に、ダイアイオン HP 20 に吸着させて精製することもできる。

【 0 0 3 3 】 精製を行うことによって得られた化合物は、目的とする化合物であればそのまま使用し、さらに誘導体を得たい場合には当業者に既知の反応を行うことによって誘導体を製造する。例えば、一般的な方法にしたがって水酸基の水素をメチル置換することによってメトキシ誘導体を合成することができる。このような本発明の製造方法の具体的手順については、後述の実施例を参考にすることができる。

【 0 0 3 4 】 一般式 (1) で表される化合物は、高いヒアルロニダーゼ阻害活性、ラジカル消去活性および活性酸素消去活性を有している。これらの活性は、[2 - 0 - 7] 結合と [4 - 8] 結合によってフラボン骨格が結

合している公知のプロアントシアニジン A に比べて高いことが確認されている。したがって、一般式 (1) の化合物は、公知のプロアントシアニジン A に代わり得る活性化合物として有用である。また、上記一般式 (3) で表される化合物は、[2-0-7] 結合と [4-8] 結合を有する化合物ではあるが、公知のプロアントシアニジン A-1 や A-2 に比べるとヒアルロニダーゼ阻害活性、ラジカル消去活性および活性酸素消去活性が高い。したがって、一般式 (3) で表される化合物も [2-0-7] 結合と [4-8] 結合を有する化合物としては極めて活性が高く有用である。

【0035】一般式 (1) の化合物が阻害するヒアルロニダーゼは、ヘビ毒や精液等に含まれており、哺乳動物の結合組織に多量に分布するヒアルロン酸を加水分解する酵素である。ヒアルロニダーゼは起炎症作用を有することが確認されており、また、ヒアルロニダーゼの活性を阻害すればアレルギーや炎症を軽減しうることが知られている。このため、一般式 (1) の化合物は、抗アレルギー剤や抗炎症剤の活性成分として使用することができる。また、ヒアルロン酸は乳液やクリームなどの化粧品に保湿剤として含まれていることが多いため、一般式 (1) の化合物は化粧品中のヒアルロン酸の分解を防ぐために使用することもできる。

【0036】また、一般式 (1) の化合物はラジカル消去活性および活性酸素消去活性を有するため、活性酸素消去剤や抗酸化剤として使用することもできる。特に活性酸素は、生体に対して様々な悪影響を及ぼすことが明らかにされていることから、一般式 (1) の化合物は活性酸素に起因する疾患の予防および治療に有用である。例えば、アレルギー性疾患、炎症、平滑筋損傷、肝臓障害、虚血性疾患、リウマチ、痴呆などの予防および治療に使用することができる。また、一般式 (1) の化合物は、皮膚の弾力性保持、しわ形成の防止、脱毛防止などを目的とする化粧品の有効成分として使用することもできる。さらに、一般式 (1) の化合物は、抗酸化剤として食品中に使用することもできる。

【0037】これらの医薬組成物、化粧品および食品には、活性成分として一般式 (1) の化合物を単独で使用してもよいし、2 種以上のものを組み合わせて使用してもよい。また、一般式 (1) の化合物を公知の活性成分と組み合わせて使用してもよい。一般式 (1) の化合物を医薬組成物として使用する場合、その投与形態は特に制限されず、経口的または非経口的に投与することが可能である。例えば、直腸投与、鼻内投与、頬側投与、舌下投与、膈内投与、筋肉内投与、皮下投与、静脈内投与を行なうことが可能である。中でも、本発明の医薬組成物は、経口投与、皮下投与または経皮投与するのが好ましい。

【0038】また、本発明の医薬組成物の剤型も特に制限されず、投与経路等に応じて適宜選択することができ

る。例えば、経口投与に適した製剤として、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、シロップ剤などを挙げることができ、非経口投与に適した製剤として、注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤、経皮吸収剤、経粘膜吸収剤、貼付剤などを挙げることができる。注射剤は、静脈注射、筋肉注射、皮下注射、点滴などのいずれに用いるものであってもよい。本発明の医薬組成物は、特に経口用製剤、注射剤、貼付剤のいずれかであるのが好ましい。

10 【0039】本発明の医薬組成物には、必要に応じて薬理学的および製剤学的に許容しうる添加物を添加することができる。例えば、賦形剤、崩壊剤または崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶解剤または溶解補助剤、等張化剤、pH 調節剤、安定化剤、噴射剤、粘着剤、湿潤剤などを使用することができる。これらの添加剤を適宜組み合わせることで使用することによって、本発明の医薬組成物にさまざまな付加的機能を持たせることができる。例えば、必要に応じて本発明の化合物が徐放されるように設計することができる。また、体内の必要な個所において本発明の化合物が集中的に放出されるように設計することもできる。このような徐放性製剤やドラッグデリバリーシステムは、製剤業界において周知の方法にしたがって設計のうえ製造することができる。

20 【0040】また、本発明の医薬組成物には、有機物または無機物の担体を使用することができる。そのような担体として、乳糖、でんぷん、植物油および動物性脂肪や油脂を例示することができる。本発明の医薬組成物には、本発明の化合物を 0.01 ~ 100 重量% の範囲内で使用することができる。

30 【0041】本発明の医薬組成物の投与量は、治療または予防の目的、患者の性別、体重、年齢、疾患の種類や程度、剤型、投与経路、投与回数などの種々の条件に応じて適宜決定する。例えば、経口投与する場合には、成人に対して本発明の化合物を 0.1 ~ 1000 mg / 日で、一日一回から数回に分けて投与することができる。また、注射剤として投与する場合には、成人に対して本発明の化合物を 0.05 ~ 500 mg / 日で、一日一回から数回に分けて投与することができる。状況に応じて、これらの範囲外の投与量を採用することもできる。

40 【0042】一般式 (1) の化合物を含む化粧品を調製する場合は、例えば、化粧石鹸、シャンプー、洗顔料、リンス、アイクリーム、アイシャドウ、クリーム・乳液、化粧水、香水、おしろい、化粧油、頭髪用化粧品、染毛料、練香水、パウダー、パック、ひげそり用クリーム、ひげそり用ローション、日焼けオイル、日焼け止めオイル、日焼けローション、日焼け止めローション、日焼けクリーム、日焼け止めクリーム、ファンデーション、粉末香水、ほお紅、マスカラ、眉墨、爪クリーム、美爪エナメル、美爪エナメル除去液、洗毛料、浴用化粧

品、口紅、リップクリーム、アイライナー、歯磨き、デオドラント剤、オーデオロン、養毛剤および育毛剤などにすることができる。

【0043】本発明の化粧品には、使用目的に応じて本発明の化合物以外のさまざまな成分をさらに添加しておくことができる。例えば、エモリエント効果改善、使用感改善、使用後のかさつき軽減、可溶性改善、乳化性改善、乳化安定性改善、油剤成分との相溶性改善、使用後のつっぱり感軽減、肌への馴染み改善、皮膚上におけるのびの改善、べたつきの軽減、肌荒れ防止、美肌効果改善、皮膚保護効果改善、角質改善、表皮角化正常化（皮膚のターンオーバー亢進による不全角化予防、表皮肥厚化予防、表皮脂質代謝異常抑制）、老人性乾皮症などの乾皮症軽減、ひび割れや落屑などの皮膚乾燥状態改善、しわ発生抑制、しわ消滅、創傷治療、色素沈着予防および改善、老化防止、ふけやかゆみの軽減、脱毛軽減、頭皮疾患予防および治療、保存性改善、柔軟性改善、弾力性改善、艶付与、メラニン色素産生抑制、日焼け防止などを目的として適当な成分を添加させることができる。

【0044】本発明の化粧品に添加しうる成分として、例えば、油脂成分、リン脂質、UV吸収剤、IR吸収剤、乳化剤、界面活性剤、防腐剤、防黴剤、酸化防止剤、美白剤、ビタミン、アミノ酸、ホルモン、ペプチド、生理活性植物抽出物、蛍光材料、顔料、色素、香料、スクラブ剤、金属イオン封鎖剤、バインダー、増量剤、増粘剤、糖類、栄養成分、pH調節剤、キレート剤、殺菌剤、角質改善剤、角質溶解剤、抗生物質、皮膚透過促進剤、血行促進剤、消炎剤、細胞賦活剤、抗炎症剤、鎮痛剤、皮膚軟化剤、皮膚緩和剤、創傷治療剤、新陳代謝促進剤などを使用目的に応じて適宜配合することができる。

【0045】一般式(1)の化合物を含む食品を調製する場合には、例えば、紅茶、清涼飲料水、ジュース、あめ、澱粉質食品、各種加工食品等にすることができる。一般式(1)の化合物の添加量は、約0.1~99重量%の範囲内に設定することができる。また、必要に応じて、ゲル化剤などの添加剤を加えることもできる。

【0046】

【実施例】以下に実施例および試験例を記載して、本発明をさらに具体的に説明する。以下の実施例に記載される成分、割合、手順等は、本発明の精神から逸脱しない限り適宜変更することができる。したがって、本発明の範囲は以下に記載される具体例に制限されるものではない。

【0047】(実施例1)

本実施例において、落花生から一般式(1)の化合物を調製する方法を具体的に説明する。落花生の薄皮279kgに水1000リットルを加えて90~95℃で2時間加熱後、濾過することによって抽出液を得た。抽出後

の落花生に再度水1000リットルを加えて同様に加熱濾過することによって抽出液を得た。これらの抽出液を混合して、カラム(容積400リットル、ダイアイオンHP20充填)にチャージした。水で洗浄した後に70%アセトン1200リットルで溶出し、得られた抽出液を濃縮した。濃縮物にエタノール20リットルを加えて攪拌し、濾過することによって茶色透明液を得た。この液体を濃縮して乾燥し、茶色粉末190gを得た。

【0048】次に、茶色粉末を40%エタノール/水混合液に溶解し、同溶液で平衡化したトヨパールHW40カラムにチャージした。40%エタノール/水混合液で洗浄した後、(1)40~70%エタノール/水混合液でグラジェント溶出し、(2)70%エタノール/水混合液:70%アセトン/水混合液(体積比80:20)で溶出し、さらに(3)70%エタノール/水混合液:70%アセトン/水混合液(体積比50:50~0:100のグラジェント)で溶出を行って画分1~12を得た。(2)の溶液で溶離した画分8および画分10には、それぞれ強いヒアルロニダーゼ阻害活性が確認された。

【0049】画分8を濃縮後、20%アセトン/水混合液で平衡化したセファデックスLH20カラムにチャージし、同溶液で洗浄した後に30%、40%および50%アセトン/水混合液で溶出した。30%アセトン/水混合液で溶出した活性画分8-Iおよび8-IIを濃縮した後、活性画分8-Iを20%メタノール/水で平衡化したワコーゲルLP60C18カラムにチャージした。20%メタノール溶液で溶出することによって、活性画分を得て濃縮した。この濃縮物をさらに分取用逆相HPLCカラムクロマトグラフィー(メタノール/水/テトラヒドロフラン=20/75/5)により分離し、濃縮して水から再結晶することによって無色針状の化合物1を960mg得た(融点>300(分解)、 $[\eta]_D = 63.87$ ($C = 1.12$ 、アセトン)、 $FAB-MS: m/z 577$ ($[M+1]^+$))。

【0050】上で得られた活性画分8-IIも、活性画分8-Iと同様にワコーゲルLP60C18カラムクロマトグラフィーおよび分取用逆相HPLCカラムクロマトグラフィーによって分離し、2つの活性画分を得た。一方の活性画分を濃縮して、水から再結晶することによって無色針状の化合物2を16mg得た(融点>300(分解)、 $[\eta]_D = 55.63$ ($C = 1.08$ 、アセトン)、 $FAB-MS: m/z 577$ ($[M+1]^+$))。また、もう一方の活性画分を濃縮して、水から再結晶することによって白色粉末状の化合物3を300mg得た(融点>260(分解)、 $FAB-MS: m/z 577$ ($[M+1]^+$))。

【0051】上で得られた画分10についても、画分8と同様にしてセファデックスLH20カラムクロマトグラフィーを行った。40%アセトン/水混合液で活性成

分が溶出したため、この画分を濃縮して画分8と同様にして20%メタノール/水混合液で平衡化したワコーゲルLP60 C18カラムクロマトグラフィーを行った。20%メタノール/水混合液で溶出したところ、活性画分10-Iおよび10-IIが得られた。

【0052】溶出した画分10-Iを濃縮した後、分取用逆相HPLCカラムクロマトグラフィー(メタノール/水/テトラヒドロフラン=20/75/5)により更に分離し、2つの活性画分を得た。一方の活性画分を濃縮して、水から再結晶することによって無色針状の化合物4を340mg得た(融点>270 (分解)、FAB-MS:m/z577([M+1]⁺))。また、もう一方の活性画分を濃縮して、水から再結晶することによって白色非晶質粉末状の化合物5を50mg得た(融点>260 (分解)、FAB-MS:m/z577([M+1]⁺))。

【0053】上で得られた画分10-IIについても、画分10-Iと同様に濃縮した後、分取用逆相HPLCカラムクロマトグラフィーによりさらに精製し、メタノール/水混合液から再結晶することによって白色非晶質粉末状の化合物6を77mg得た(融点>280 (分解)、FAB-MS:m/z577([M+1]⁺))。

【0054】調製した化合物1~6のそれぞれを、メタノール/エーテル混合溶媒中にて過剰量のジアゾメタンと室温で1~4日間反応させた。その後、溶媒を留去して、ワコーゲルC-300カラムにチャージして、ベンゼン/アセトン混合液(体積比87:13)で溶出させて濃縮した。化合物1(60mg)を出発物質として上記方法により3日間反応させて得られた濃縮物を、酢酸エチル/ヘキサン混合液から再結晶することによって粉末結晶の化合物1aを32mg得た(融点149~150.6、FAB-MS:m/z675([M+1]⁺))。化合物2(13mg)を出発物質として上記方

法により3日間反応させて得られた濃縮物を、酢酸エチル/ヘキサン混合液から再結晶することによって粉末結晶の化合物2aを8mg得た(融点191~192.6、FAB-MS:m/z675([M+1]⁺))。

【0055】化合物3(60mg)を出発物質として上記方法により24時間反応させて得られた濃縮物を、酢酸エチル/ヘキサン混合液から再結晶することによって粉末結晶の化合物3aを40mg得た(融点167~168、FAB-MS:m/z661([M+1]⁺))。化合物3(65mg)を出発物質として上記方法により4日間反応させて得られた濃縮物を、酢酸エチルから再結晶することによって無色針状の化合物3bを30mg得た(融点166~167、FAB-MS:m/z675([M+1]⁺))。

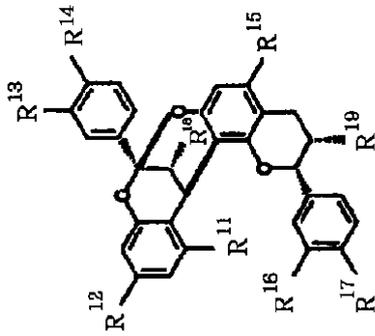
【0056】化合物4(40mg)を出発物質として上記方法により4日間反応させて得られた濃縮物を、酢酸エチル/ヘキサン混合液から再結晶することによって非晶質粉末状の化合物4aを21mg得た(融点137~139、FAB-MS:m/z675([M+1]⁺))。化合物5(30mg)を出発物質として上記方法により4日間反応させて得られた濃縮物を、酢酸エチル/ヘキサン混合液から再結晶することによって非晶質粉末状の化合物5aを17mg得た(融点151~153、FAB-MS:m/z675([M+1]⁺))。化合物6(36mg)を出発物質として上記方法により3日間反応させて得られた濃縮物を、酢酸エチル/ヘキサン混合液から再結晶することによって非晶質粉末状の化合物6aを21mg得た(融点143~145、FAB-MS:m/z675([M+1]⁺))。

【0057】化合物の番号とそれに対応する構造を以下にまとめて示す。各化合物それぞれのR¹²~R¹⁷はすべて同じ置換基であり、R¹⁸とR¹⁹も同じ置換基である。

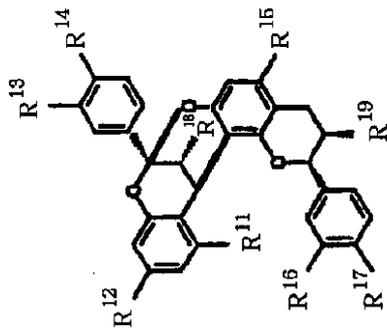
【化7】

(9)

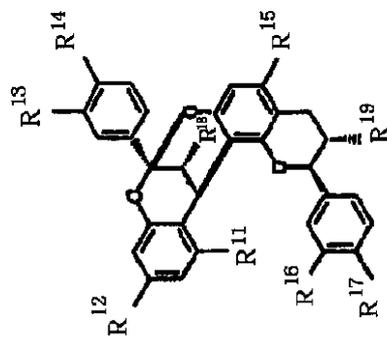
17



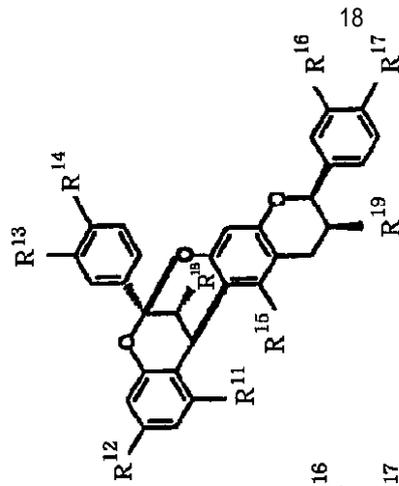
3. 3a, 3b



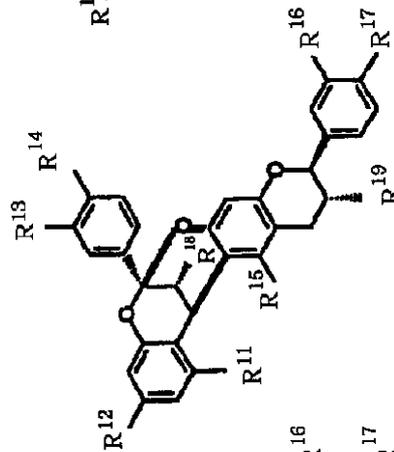
2. 2a



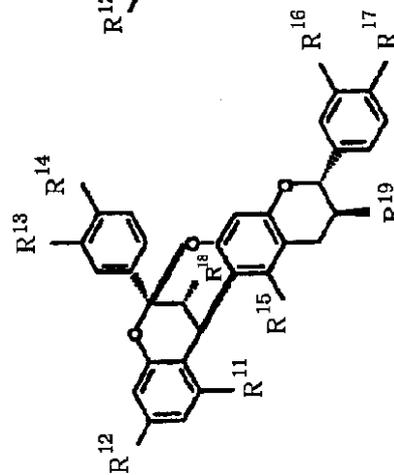
1. 1a



6. 6a



5. 5a



4. 4a

【0058】

【表1】

19 化合物番号	R ¹¹	R ¹² ~R ¹⁷	20 R ¹⁸ およびR ¹⁹
1	OH	OH	OH
1 a	OCH ₃	OCH ₃	OH
2	OH	OH	OH
2 a	OCH ₃	OCH ₃	OH
3 (本発明)	OH	OH	OH
3 a (本発明)	OH	OCH ₃	OH
3 b (本発明)	OCH ₃	OCH ₃	OH
4 (本発明)	OH	OH	OH
4 a (本発明)	OCH ₃	OCH ₃	OH
5 (本発明)	OH	OH	OH
5 a (本発明)	OCH ₃	OCH ₃	OH
6 (本発明)	OH	OH	OH
6 a (本発明)	OCH ₃	OCH ₃	OH

【0059】調製した各化合物の¹H NMR、¹³C NMRおよびCDスペクトラデータを、表2~6に示す。 【表2】

¹H NMRデータ (単位 p p m, CD₃OD、270 MHz)

乗	H	1	2	3	4	5	6
C	3	4.07 d (3.5)	4.05 d (3.4)	4.16 d (3.5)	4.12 d (3.5)	4.10 d (3.5)	4.12 d (3.2)
	4	4.24 d (3.5)	4.39 d (3.4)	4.41 d (3.5)	4.29 d (3.5)	4.28 d (3.5)	4.30 d (3.2)
A	6	5.90 d (2.4)	6.00 d (2.3)	5.89 d (2.4)	6.03 d (2.2)	6.03 d (2.2)	6.01 d (2.3)
	8	6.05 d (2.4)	6.07 d (2.3)	6.07 d (2.4)	6.08 d (2.2)	6.09 d (2.2)	6.07 d (2.3)
B	10	7.13 d (2.4)	7.14 d (2.4)	7.15 d (2.4)	7.17 d (2.4)	7.16 d (2.4)	7.16 d (2.2)
	13	6.79 d (8.4)	6.82 d (8.2)	6.84 d (8.4)	6.82 d (8.4)	6.81 d (8.4)	6.82 d (8.1)
F	14	7.01 dd (8.4, 2.4)	7.07 dd (8.2, 2.4)	7.04 dd (8.4, 2.4)	7.05 dd (8.4, 2.4)	7.06 dd (8.4, 2.4)	7.05 dd (8.1, 2.4)
	2'	4.74 d (7.8)	4.91 br.s	5.02 br.s	4.67 d (6.5)	4.63 d (7.3)	4.80 br.s
	3'	4.16 m	4.23 m	4.23 m	4.05 m	3.99 m	4.16 m
	4'α	2.58 dd (16.5, 8.1)	2.74 dd (17.3, 3.2)	2.87 m	2.81 dd (16.5, 5.4)	2.91 dd (16.7, 5.4)	2.87 m
D	4'β	2.81 dd (16.5, 5.4)	2.95 dd (17.3, 4.6)		2.62 dd (16.5, 8.1)	2.58 dd (16.7, 7.6)	
	6'	6.08 s	6.09 s	6.08 s			
E	8'				6.09 s	6.07 s	6.09 s
	10'	6.91 d (2.0)	7.13 d (2.2)	7.14 d (2.0)	6.80 d (2.2)	6.79 d (2.2)	6.93 d (2.2)
E	13'	6.80 d (7.8)	6.81 d (8.2)	6.81 d (8.2)	6.75 d (8.4)	6.70 d (8.4)	6.73 d (8.3)
	14'	6.80 dd (7.8, 2.0)	6.99 dd (8.2, 2.2)	6.95 dd (8.2, 2.0)	6.68 dd (8.4, 2.2)	6.68 dd (8.4, 2.2)	6.75 dd (8.3, 2.2)

【0060】

【表3】

^1H NMRデータ (単位 ppm, CD₃OD, 270 MHz)

系	H	1a	2a	3a	3b	4a	5a	6a
C	3	4.26 dd (3.5, 5.6)	4.27 dd (3.6, 5.9)	4.38 dd (3.6, 5.6)	4.33 dd (3.6, 5.2)	4.19 dd (3.5, 5.9)	4.23 dd (3.5, 5.4)	4.26 dd (3.6, 5.6)
	4	4.89 d (3.5)	4.95 d (3.6)	4.51 d (3.6)	5.01 d (3.6)	4.91 d (3.5)	4.82 d (3.5)	4.81 d (3.6)
A	3-OH	1.66 d (5.6)	1.74 d (5.9)	1.65 d (5.6)	1.66 d (5.2)	1.67 d (5.9)	1.72 d (5.4)	1.72 d (5.6)
	6	6.04 d (2.0)	6.07 d (2.3)	6.11 d (2.3)	5.99 d (2.2)	6.18 d (2.3)	6.17 d (2.2)	6.16 d (2.1)
B	8	6.30 d (2.0)	6.31 d (2.3)	6.30 d (2.3)	6.28 d (2.2)	6.32 d (2.3)	6.30 d (2.2)	6.29 d (2.1)
	10	7.22 d (2.1)	7.31 d (1.9)	7.26 d (2.4)	7.22 d (2.3)	7.22 d (1.9)	7.22 d (2.0)	7.21 d (1.9)
F	13	6.84 d (8.4)	6.94 d (8.4)	6.99 d (8.4)	6.96 d (8.3)	6.94 d (8.4)	6.94 d (8.4)	6.93 d (8.4)
	14	7.31 dd (8.4, 2.4)	7.35 dd (8.4, 1.9)	7.29 dd (8.4, 2.4)	7.26 dd (8.3, 2.3)	7.30 dd (8.4, 1.9)	7.30 dd (8.4, 1.9)	7.30 dd (8.4, 1.9)
D	2'	5.00 d (7.4)	5.01 br.s	5.12 br.s	4.94 br.s	4.60 d (8.3)	4.71 d (8.2)	5.01 br.s (8.2)
	3'	4.24 m	4.48 m	4.28 m	4.26 m	4.00 m	3.98 m	4.25 m
E	4 α	2.72 dd (17.0, 4.8)	2.95 dd (17.1, 4.6)	3.01 dd (17.0, 1.6)	2.93 dd (17.0, 2.2)	3.18 dd (16.0, 5.2)	3.19 dd (16.0, 5.3)	3.09 dd (16.2, 2.1)
	4 β	2.63 dd (17.0, 6.5)	2.76 dd (17.1, 2.8)	2.86 dd (17.0, 3.9)	2.82 dd (17.0, 3.2)	2.79 dd (16.0, 9.8)	2.71 dd (16.0, 8.9)	3.04 dd (16.2, 3.3)
D	3-OH	1.63 d (5.1)	1.79 d (7.6)	1.72 d (4.6)	1.85 d (5.6)	1.70 d (6.2)	1.74 d (6.6)	1.67 d (5.9)
	6'	6.21s	6.22 s	6.26s	6.20s	6.43 s	6.43 s	6.49 s
E	8'	6.97 d (2.4)	7.16 d (1.9)	7.07 d (2.4)	7.20 d (2.4)	6.95 d (1.9)	6.89 d (1.9)	7.01 d (1.9)
	10'	6.75 d (8.2)	6.96 d (8.4)	6.92 d (8.2)	6.93 d (8.3)	6.91 d (8.4)	6.82 d (8.2)	6.89 d (8.2)
E	13'	7.01 dd (8.2, 2.4)	7.34 dd (8.4, 1.9)	7.19 dd (8.2, 2.4)	7.18 dd (8.3, 2.4)	7.01 dd (8.4, 1.9)	6.94 dd (8.2, 1.9)	6.99 dd (8.2, 1.9)
	14'	3.94 s	3.93 s	3.94 s	3.95 s	3.93 s	3.91 s (x2)	3.92 s (x2)
OMe	OMe	3.93 s	3.92 s (x2)	3.93 s	3.93 s (x3)	3.92 s	3.87 s (x2)	3.87 s
		3.88 s	3.85	3.92 s	3.75 s	3.90 s (x2)	3.86 s	3.88 s
E		3.76 s	3.76	3.91 s	3.73	3.89 s	3.85 s	3.86 s
		3.74 s	3.75	3.77 s	3.14	3.85 s	3.77 s	3.85 s
E		3.64 s	3.48	3.70 s	3.14	3.85 s	3.77 s	3.85 s
		3.32		3.70 s	3.78 s	3.78 s	3.77 s	3.77 s

¹³C NMRデータ (単位 ppm、CD₃OD、67.5 MHz)

炭素	1	2	3	4	5	6
2	100.34	100.21	100.46	100.57	100.61	100.57
3	67.79	68.12	67.78	68.44	68.57	67.65
4	29.23	29.31	29.27	29.74	29.72	29.79
4a	104.06	104.29	104.11	104.22	104.23	104.27
5	156.76 ^a	157.05 ^a	156.72 ^a	155.14 ^a	155.37 ^a	155.28 ^a
6	98.22	98.34	98.02	96.70	97.01	96.92
7	158.14	158.16	158.12	158.11	158.23	158.20
8	96.78	96.67	96.53	96.65	96.55	96.65
8a	154.24 ^b	154.31 ^b	154.17 ^b	154.39 ^b	154.44 ^b	154.41 ^b
9	132.30 ^d	132.50 ^d	132.34 ^d	132.23 ^d	132.25 ^d	132.13 ^d
10	115.77	115.66	115.75	115.84	115.95	115.84
11	146.79 ^c	146.34 ^c	146.23 ^c	146.84 ^c	146.86 ^c	145.85 ^c
12	146.79 ^c	146.80 ^c	146.23 ^c	146.27 ^c	146.25 ^c	146.86 ^c
13	116.36	116.08	116.26	115.68	115.68	115.70
14	119.87	120.41	119.90	119.99	120.01	120.01
2'	84.49	81.81	80.87	82.51	82.83	79.96
3'	68.12	67.02	67.18	67.64	67.67	67.13
4'	28.96	29.93	29.50	27.88	28.30	29.61
4'a	103.16	102.46	101.95	103.54	103.57	102.78
5'	156.15 ^a	156.65 ^a	156.63 ^a	155.25 ^a	155.37 ^a	155.81 ^a
6'	96.58	96.53	96.60	108.78	108.76	108.85
7'	152.19 ^b	152.34 ^b	152.09 ^b	152.48 ^b	152.48 ^b	152.93 ^b
8'	106.80	107.25	106.97	96.65	96.67	96.92
8'a	151.42 ^b	152.18 ^b	151.31 ^b	151.96 ^b	152.03 ^b	152.01 ^b
9'	130.58 ^d	131.24 ^d	131.44 ^d	132.19 ^d	132.16 ^d	132.27 ^d
10'	115.72	115.70	115.70	114.96	114.98	115.25
11'	145.65 ^c	145.69 ^c	145.69	146.19 ^c	145.71 ^c	145.69 ^c
12'	146.34 ^c	146.03 ^c	146.08	146.67 ^c	146.25 ^c	145.98 ^c
13'	115.77	115.97	115.25	116.18	116.17	115.93
14'	120.73	119.81	119.97	119.60	119.89	119.44

a b c d : 同一カラム内で互いに代わり得る

¹³C NMRデータ (単位 ppm、CD₃OD、67.5 MHz)

炭素	1a	2a	3a	3b	4a	5a	6a
2	99.20	98.94	99.19	99.17	99.03	99.06	99.03
3	67.56	67.47	66.63	67.24	67.54	67.47	67.53
4	25.94	27.63	27.53	27.52	28.19	28.33	28.41
4a	101.81 ^a	101.74 ^a	101.22 ^a	101.25 ^a	103.45 ^a	103.57 ^a	103.43 ^a
5	158.75 ^b	159.00 ^b	155.36 ^b	158.72 ^b	158.43 ^b	158.68 ^b	158.70 ^b
6	92.81	93.22	96.80	92.68	93.11	93.27	93.27
7	160.05 ^b	159.99 ^b	160.05 ^b	159.85 ^b	160.19 ^b	160.10 ^b	160.12
8	93.20	93.47	94.47	93.13	93.40	93.35	93.35
8a	153.52 ^b	152.88 ^b	152.32 ^b	153.11 ^b	154.44 ^b	154.21 ^b	154.12 ^b
9	130.60 ^d	130.83 ^d	130.36 ^d	131.17 ^d	129.84 ^d	130.09 ^d	130.47 ^d
10	110.11	110.18	110.04	110.07	110.06	109.95	109.54
11	148.98 ^c	149.98 ^c	148.91 ^c	148.73 ^c	148.87 ^c	148.85 ^c	148.85 ^c
12	149.75 ^c	149.75 ^c	149.57 ^c	149.18 ^c	149.61 ^c	149.39 ^c	149.14 ^c
13	111.14	110.97	111.48	111.19	110.83	111.21	110.79
14	119.55	119.37	118.45	119.47	119.56	119.53	118.58
2'	81.22	78.24	79.57	78.70	81.85	81.76	78.43
3'	67.45	65.44	66.31	66.59	68.39	68.01	66.23
4'	27.51	28.78	27.71	28.14	29.09	27.92	28.28
4'a	103.73 ^a	103.73 ^a	102.62 ^a	103.89 ^a	107.88	107.83	106.36
5'	157.46 ^b	157.66 ^b	157.94 ^b	157.73 ^b	156.18 ^b	156.22 ^b	156.85 ^b
6'	91.96	92.13	93.15	92.25	112.50	112.61	112.86
7'	151.23 ^b	151.67 ^b	149.88 ^b	151.53 ^b	153.29 ^b	153.09 ^b	153.08 ^b
8'	106.00	106.66	105.55	106.50	99.94	99.98	100.28
8'a	151.23 ^b	151.13 ^b	151.12 ^b	151.01 ^b	151.60 ^b	151.59 ^b	151.62
19'	130.60 ^d	130.33 ^d	129.30 ^d	130.74 ^d	130.38 ^d	130.40 ^d	130.51 ^d
10'	109.91	109.98	109.36	109.39	110.06	109.66	109.99
11'	148.97 ^c	149.74 ^c	149.57 ^c	148.73 ^c	149.46 ^c	149.39 ^c	148.92 ^c
12'	149.75 ^c	149.98 ^c	149.88 ^c	149.70 ^c	149.82 ^c	149.79 ^c	149.77 ^c
13'	110.81	110.83	110.88	110.87	111.30	110.81	111.23
14'	119.17	119.20	119.47	118.38	120.12	119.78	119.55
OMe	56.05	56.06	56.10	56.13	60.86	60.84	60.89
	55.99(x2)	55.99(x3)	56.06	56.04	56.06	55.97	56.08
	55.72	55.41	55.99	55.99	55.99(x3)	55.92(x3)	55.97(x3)
	55.50	55.54	55.95	55.95	55.68	55.83	55.81
	55.42	55.29	55.65	55.61	55.45	55.51	55.43
	55.20		55.34	55.47			
				55.36			

a b c d : 同一カラム内で互いに代わり得る

CDスペクトロデータ

化合物	絶対配置	[θ]	λ/nm	[θ]	λ/nm	[θ]	λ/nm	[θ]	λ/nm	[θ]	λ/nm
7-アミノシジニンA-1	2S,3R,4R,2'R,3'S	-2800	287	-16700	271	+45500s	237	+73300	221	-123400	205
(+) カテキン	2R,3S	-2800	282	-1700s	275	-7300	227	-15500	205	+70900	197
(-) エピカテキン	2R,3R	-2300	281	-2100	275	+5200	239	-45500	205	+29300	197
1	2S,3R,4R,2'R,3'S	-1800	287	-22000	272	+47000s	236	+73000	222	-113000	208
2	2S,3R,4R,2'R,3'R	-2500	287	-17800	271	+46000s	237	+67000	223	-106000	207
3	2S,3R,4R,2'S,3'S	+14200	287	-12500	271	+43000	237	+238000	221	-202000	207
4	2S,3R,4R,2'R,3'S	-3300	284	-11000	273	+48000	247	+29000	220	-150000	208
5	2S,3R,4R,2'S,3'R	+9800	283	-8900	273	+62000	247	+58000	220	+90000	208
6	2S,3R,4R,2'S,3'S	+8400	285	-12000	273	+68000	248	+66000	220	+224000	208

【0064】(実施例2)

実施例1で調製した化合物3、3a、3b、4、4a、5、5a、6または6a、塩化ナトリウムおよびベンジルアルコールを以下の表に示す量で蒸留水に溶解した。

この溶液をフィルター(孔径0.2 μm)を通して濾過することによって、注射剤を製造した。

【0065】

【表7】

成 分	重量部
調製化合物	2
塩化ナトリウム	9
ベンジルアルコール	9
蒸留水	1 0 0 0

【0066】(実施例3)

以下の表に示す量の乳糖とステアリン酸マグネシウムを、実施例1で調製した化合物3、3a、3b、4、4a、5、5a、6または6aと混合して、十分に攪拌し*

* た。この混合物をゼラチンカプセルに充填することによってカプセル剤を製造した。

【0067】

【表8】

成 分	重量部
調製化合物	2 8 0
乳糖	3 9
ステアリン酸マグネシウム	1

【0068】(実施例4)

精製水に、ソルビトール、1,3-ブチレングリコール、ポリエチレングリコール、ヒアルロン酸、褪色防止剤および緩衝剤を室温で溶解した。残余の成分をエタノールに溶解し、調製した水溶液に添加して可溶化した。得られた溶液を濾過することによって、透明エッセンス

30 を調製した。調製化合物としては、実施例1で調製した化合物3、3a、3b、4、4a、5、5a、6または6aを使用した。

【0069】

【表9】

成分	重量部
調製化合物	1.0
ソルビトール	8.0
1,3-ブチレングリコール	5.0
ポリエチレングリコール1500	7.0
ヒアルロン酸	0.1
エタノール	7.0
POEオレイルアルコールエーテル	1.0
オリーブ油	0.2
香料	0.1
防腐剤	0.5
褪色防止剤	0.5
緩衝剤	2.0
精製水	67.6

【0070】(実施例5)

市販の紅茶葉を粉碎し、これに実施例1で調製した化合物3、3a、3b、4、4a、5、5a、6または6aを0.5重量%になるように添加してよく混合し、ティーパックに詰めた。このティーパックを熱湯中に入れることによって、調製化合物が紅茶に溶出した機能性紅茶を調製することができた。

【0071】(実施例6)

市販の果肉入りオレンジジュース1kgに、実施例1で

30 調製した化合物3、3a、3b、4、4a、5、5a、6または6aを0.5重量%になるよう添加してよく混合し、調製化合物を含むオレンジジュースを製造した。

【0072】(試験例1)本試験例において、上記実施例で調製した化合物1、2、3、4、5、6およびエピガロカテキンのヒアルロニダーゼ阻害活性を測定して比較した。測定は以下の手順で行なった。下記の表に記載される予備溶液A、B、C、D、E、Fを調製した。

【表10】

35

36

予備溶液	組 成
A	ウシ睾丸由来のヒアルロニダーゼ (シグマ社製) 2.83mg を 0.1M酢酸緩衝剤 (pH4.0) 1ml に溶解した溶液
B	0.1M酢酸緩衝剤 (pH4.0) に溶解した0.3M塩化ナトリウム溶液
C	雄鶏とさか由来のヒアルロン酸カリウム塩 (シグマ社製) 1.83mg を 0.1M酢酸緩衝剤 (pH4.0) 1ml に溶解した溶液
D	0.4N水酸化ナトリウム水溶液
E	0.8Mホウ酸ナトリウム溶液 (Na ₂ B ₄ O ₇)
F	パラージメチルアミノベンズアルデヒド10gに、10N塩酸 12.5ml および酢酸87.5ml を添加して溶解した後、酢酸で10倍に希釈した溶液

【0073】予備溶液A (0.025ml) を、予備溶液B (0.2ml) と混合して、37 で20分間保温した。これに、1/15Mリン酸緩衝液 (pH7; KH₂PO₄、Na₂HPO₄・12H₂O含有) に溶解した試験化合物溶液0.1ml を添加して、37 で20分間保温した。さらに予備溶液C (0.2ml) を加えて、37 で20分間保温した。その後、予備溶液D (0.1ml) および予備溶液E (0.1ml) を添加して3分間煮沸し、冷却後さらに予備溶液F (3.0ml) を添加した。その後、さらに37 で20分間保温して585nmにおける吸光度を測定した。以下の式にしたがってヒアルロニダーゼ活性阻害率を求めて活性を評価した。

【0074】

【数1】

$$\frac{(C-A) - (B-A)}{(C-A)} \times 100$$

A = ヒアルロニダーゼもサンプルも含まない場合の吸光度

B = サンプルとヒアルロニダーゼをともに含む場合の吸光度

C = サンプルは含まないがヒアルロニダーゼを含む場合の吸光度

【0075】試験化合物の濃度を変えてヒアルロニダーゼ阻害率を測定した結果を図1に示す。図1は、一般式(1)で表される構造を有する化合物3、4、5および6が顕著なヒアルロニダーゼ阻害活性を有していることを示している。また、図1は、[4-6]結合および[2-0-7]結合を有する一般式(1)の化合物が、従来から知られている[4-8]結合および[2-0-7]結合を有するプロアントシアニジンAに比べて、ヒアルロニダーゼ阻害活性が強い傾向にあることも示している。このため、一般式(1)で表される化合物は、ヒアルロニダーゼ阻害剤、抗アレルギー剤および抗炎症剤

の活性成分として有用である。

【0076】(試験例2)本試験例において、上記実施例で調製した化合物1、2、3、4、5、6、エピガロカテキンガレートおよびt-ブチルヒドロキシアニソール(BHA)のフェノキシラジカル消去活性を測定して比較した。測定は、文献(山口ら、213回ACS Meeting, Functional Food symposium, San Francisco, April 13-17(1997))の記載にしたがって以下の手順で行った。1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル(DPPH)のエタノール溶液(0.5mM)に、トリス・塩酸緩衝液(100mM、pH7.4)および試験化合物溶液を添加し、25の暗所にて20分間反応させた。20分間の反応後、エタノールを添加して517nmの吸光度を測定するか、あるいは、C8カラムを用いたHPLCにより分離してDPPHの減少量を直接測定することによって、IC₅₀を求めた。

【0077】各化合物のIC₅₀を以下の表にまとめて示す(単位μM)。

【表11】

試 験 化 合 物	IC ₅₀
化合物1	8.67
化合物2	8.17
化合物3 (本発明)	7.67
化合物4 (本発明)	5.67
化合物5 (本発明)	5.00
化合物6 (本発明)	6.58
エピガロカテキンガレート	6.03
t-ブチルヒドロキシアニソール	3.50

【0078】上表は、一般式(1)で表される構造を有する化合物3、4、5および6が顕著なラジカル消去活性を有していることを示している。また、上表は、[4-6]結合および[2-0-7]結合を有する一般式(1)の化合物が、従来から知られている[4-8]結

合および[2-O-7]結合を有するプロアントシアニジンAに比べて、ラジカル消去活性が強い傾向にあることも示している。このため、一般式(1)で表される化合物は、ラジカル消去剤として有用である。

【0079】(試験例3)本試験例において、上記実施例で調製した化合物1、2、3、4、5、6およびt-ブチルヒドロキシアニソール(BHA)の活性酸素消去活性を測定して比較した。すなわち、キサンチン-キサンチンオキシダーゼ(XOD)系を用いて活性酸素であるスーパーオキシドアニオン(O₂⁻)を発生させ、発生したO₂⁻の生成率を測定してキサンチンオキシダーゼ阻害率で補正することにより以下の手順で活性の比較を行った(Arzneim.-Forsch., Drug Res. 44(1), No. 5, 592-601 (1994))。

【0080】50mM炭酸ナトリウム緩衝液(pH10.8)を2.4ml、3mMEDTA・2Naを0.1ml、0.75mMニトロブルーテトラゾリウム(NBT)を0.1ml混合し、この混合液に各種濃度の試験化合物溶液を0.05ml、0.5U/mlのXOD/PBS(-)溶液を0.05ml添加した。混合物をよく混和させ、25℃で15分間静置した。その後、50mM炭酸ナトリウム緩衝液(pH10.8)に溶解した3mMキサンチン溶液を0.1ml添加し、添加直後の295nmおよび560nmの吸光度を測定した。その後、25℃で15分間反応させて同様に295nmおよび560nmの吸光度を測定した。

【0081】15分間の反応前後における各吸光度の増加量を算出し、それぞれA_{295nm}(%)、A_{560nm}(%)とした。コントロールの各波長の増加量をそれぞれ100%として、各試験化合物の増加率を以下の式により算出した。試験化合物濃度を変えて測定を繰り返し、IC₅₀を求めた。

【数2】

$$100 - \left(\frac{A_{560nm}}{A_{295nm}} \right) \times 100$$

【0082】各化合物のIC₅₀を以下の表にまとめて示す(単位μM)。

【表12】

試験化合物	IC ₅₀
化合物1	5.07
化合物2	3.61
化合物3(本発明)	2.85
化合物4(本発明)	3.48
化合物5(本発明)	4.88
化合物6(本発明)	3.58
t-ブチルヒドロキシアニソール	83.6

【0083】上表は、一般式(1)で表される構造を有する化合物3、4、5および6が高いラジカル消去活性を有していることを示している。また、上表は、[4-6]結合および[2-O-7]結合を有する一般式(1)の化合物が、従来から知られている[4-8]結合および[2-O-7]結合を有するプロアントシアニジンAに比べて、活性酸素消去活性が強い傾向にあることも示している。このため、一般式(1)で表される化合物は活性酸素消去剤として有用である。

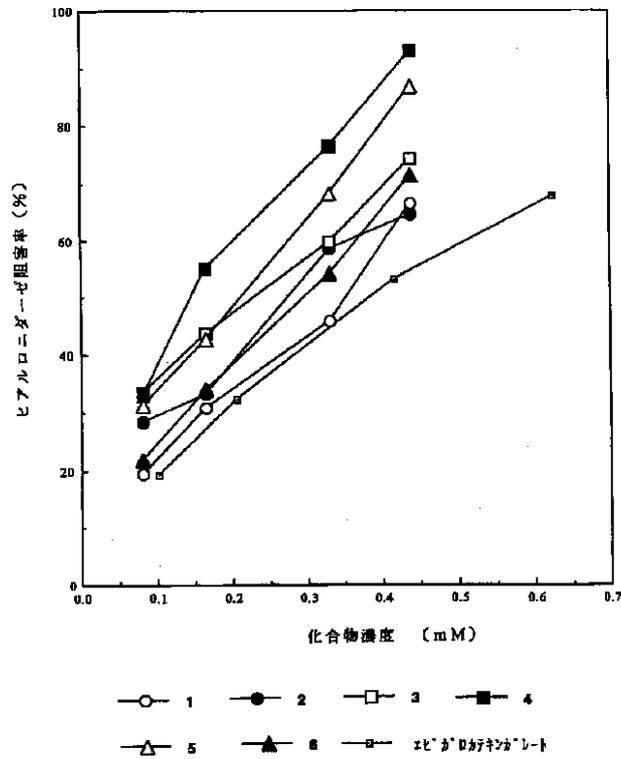
【0084】

【発明の効果】本発明で使用する一般式(1)で表される構造を有するプロアントシアニジンAおよびその誘導体は、顕著なヒアルロニダーゼ阻害活性およびラジカル消去活性を有しており、ヒアルロニダーゼ阻害剤、抗アレルギー剤、抗炎症剤、ラジカル消去剤、抗酸化剤および活性酸素消去剤の活性成分として有用である。したがって、一般式(1)の化合物を含む本発明の医薬組成物、抗酸化剤、化粧品および食品は、有効に利用することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】試験化合物の濃度とヒアルロニダーゼ阻害率の関係を示す図である(試験例1)。

【図1】



フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K 7/48		A 6 1 K 7/48	
	31/35		31/35
// A 6 1 K 31/00	6 2 6	31/00	6 2 6
	6 3 7		6 3 7 E
	6 4 3		6 4 3 D
	35/78	35/78	J

- (72) 発明者 岡 修一
茨城県つくば市東1丁目1番3 工業技術院生命工学工業技術研究所内
- (72) 発明者 藤田 康子
茨城県つくば市千現1-5-5 片桐ハイツ102
- (72) 発明者 井上 真美
茨城県牛久市岡見町960-144
- (72) 発明者 内田 勝
千葉県八街市八街に-72-25
- (72) 発明者 佐々木 務
千葉県八日市場市平木3666-8

審査官 塚中 直子

(56)参考文献 特公 平 2 - 16317 (J P , B 2)
H e t e r o c y c l e s , 20 [9
] (1983) p . 1741 - 1744
P h y t o c h e m i s t r y , 37
[2] (1994) p . 551 - 555
P h y t o c h e m i s t r y , 30
[5] (1991) p . 1657 - 1663
C h e m . P h a r m . B u l l . 35
[12] (1987) p . 4717 - 4729

(58)調査した分野(Int.Cl.⁶, D B 名)
C07D 493/18
A23L 1/30
A61K 7/00
A61K 7/48
A61K 31/35
A61K 35/78
C A (S T N)
R E G I S T R Y (S T N)