

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5757478号  
(P5757478)

(45) 発行日 平成27年7月29日(2015.7.29)

(24) 登録日 平成27年6月12日(2015.6.12)

(51) Int.Cl.		F I		
<b>C 0 7 D 3 1 1 / 3 2</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 D	3 1 1 / 3 2	C S P
<b>A 6 1 K 3 1 / 3 5 3</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K	3 1 / 3 5 3	
<b>A 6 1 P 3 5 / 0 0</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P	3 5 / 0 0	

請求項の数 3 (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2011-83382 (P2011-83382)	(73) 特許権者	501203344
(22) 出願日	平成23年4月5日(2011.4.5)		国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
(65) 公開番号	特開2012-219024 (P2012-219024A)		茨城県つくば市観音台3-1-1
(43) 公開日	平成24年11月12日(2012.11.12)	(73) 特許権者	501174550
審査請求日	平成26年3月27日(2014.3.27)		国立研究開発法人国際農林水産業研究センター
			茨城県つくば市大わし1-1
		(74) 代理人	100082876
			弁理士 平山 一幸
		(74) 代理人	100109807
			弁理士 篠田 哲也

最終頁に続く

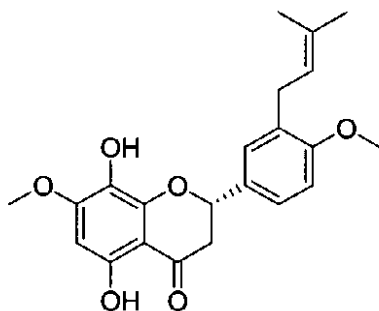
(54) 【発明の名称】 フラボノイド化合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

化学式(ⅠⅠⅠ)で示されるフラボノイド化合物。

【化1】

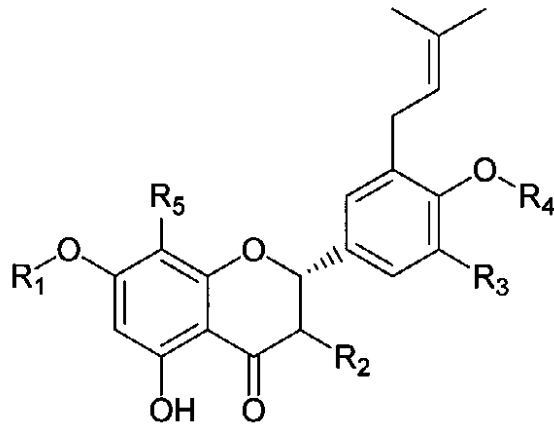


化学式(ⅠⅠⅠ)

【請求項2】

化学式(Ⅰ)で示されるフラボノイド化合物(ただし、 $R_1$ 及び $R_4 = CH_3$ 、 $R_2$ 及び $R_3 = H$ 、 $R_5 = OH$ であるか又は、 $R_1$ 、 $R_4$ 及び $R_5 = H$ 、 $R_2 = OH$ 、 $R_3$ が化学式(ⅠⅠ)である)を有効成分とする抗変異原剤。

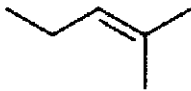
【化2】



化学式 (I)

10

【化3】



化学式 (II)

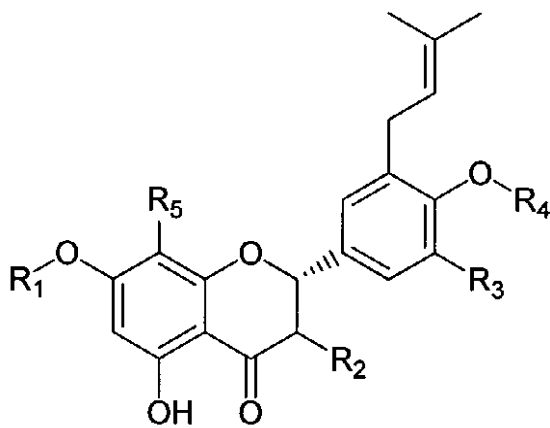
20

【請求項3】

インドセンダンの有機溶剤抽出物をカラムクロマトグラフィーにより分画することで、化学式 (I) で示されるフラボノイド化合物 (ただし、 $R_1$  及び  $R_4 = CH_3$ 、 $R_2$  及び  $R_3 = H$ 、 $R_5 = OH$  であるか又は、 $R_1$ 、 $R_4$  及び  $R_5 = H$ 、 $R_2 = OH$ 、 $R_3$  が化学式 (II) である) を製造することを特徴とする、フラボノイド化合物の製造方法。

30

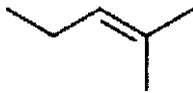
【化4】



化学式 (I)

40

【化5】

化学式 (I I)

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規のフラボノイド化合物及びその製造方法と、その化合物を有効成分とする抗変異原剤に関する。

【背景技術】

【0002】

フラボノイドは広く植物界に分布し、古くから知られている一群の化合物である。フラボノイドは、抗酸化活性、抗がん作用、抗菌活性等の働きを持つことが知られている（非特許文献1）。

20

【0003】

また、インドセンダンの花芽や葉は、東南アジアなどの地域で広く食用に用いられており、インドセンダンが、抗菌防虫作用、鎮痛解熱効果等の薬理作用を示すことが知られている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献1】 Crit Rev Food Sci Nutr. 2008、 48(10):929

30

【非特許文献2】 Curr Med Chem Anticancer Agents. 2005、 5(2):149

【非特許文献3】 J Agric Food Chem. 2003、 22;51(22):6456

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

生物の遺伝子に変異を生じさせ、細胞や組織の異常、がんなどの疾病をもたらす因子は、変異原と呼ばれている。

食品や生活環境中に存在する変異原物質として、各種のフリーラジカル、ニトロソ化合物、芳香族炭化水素、複素環アミン類等が知られている。

【0006】

40

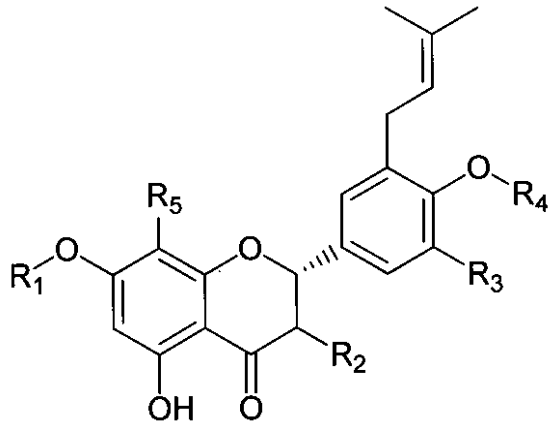
本発明者らは、インドセンダン可食部に変異原を抑制する作用（以下、抗変異原活性と称する。）があることを見だし（非特許文献3）、インドセンダンから複数のフラボノイド成分を単離取得し、その化学構造をつきとめ、更に単離した化合物が抗変異原活性を有することを確認して、発明を完成するに至った。

【0007】

すなわち、本発明は、化学式(I)で示されるフラボノイド化合物である（ただし、 $R_1$ 及び $R_4 = CH_3$ 、 $R_2$ 及び $R_3 = H$ 、 $R_5 = OH$ であるか、又は、 $R_1$ 、 $R_4$ 及び $R_5 = H$ 、 $R_2 = OH$ 、 $R_3$ が化学式(II)である）。

【0008】

## 【化1】

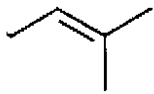


化学式 (I)

10

## 【0009】

## 【化2】



化学式 (II)

20

## 【0010】

また、本発明は、インドセンダンの有機溶剤抽出物をカラムクロマトグラフィーにより分画することを特徴とする、上記化学式 (I) で示されるフラボノイド化合物 (ただし、 $R_1$  は H 又は  $CH_3$ 、 $R_2$  は H 又は OH、 $R_3$  は H 又は化学式 (II)、 $R_4$  は H 又は  $CH_3$ 、 $R_5$  は OH 又は H、を意味する。) の製造方法である。

## 【発明の効果】

30

## 【0011】

本発明の化合物は、すぐれた抗変異原活性を有し、飲食品、医薬、化粧品等に添加して使用することができる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0012】

【図1】実施形態1に示す化合物の電子イオン化質量スペクトルのチャートを示す図である。

【図2】実施形態2に示す化合物の電子イオン化質量スペクトルのチャートを示す図である。

【図3】実施形態1及び2に示す化合物の円二色性スペクトルの結果を表す図である。

40

【図4】実施形態1及び2に示す化合物の紫外線吸収スペクトルの結果を表す図である。

【図5】実施形態1に示す化合物のプロトン核磁気共鳴スペクトルを示す。

【図6】実施形態1に示す化合物のカーボン核磁気共鳴スペクトルを示す。

【図7】実施形態2に示す化合物のプロトン核磁気共鳴スペクトルを示す。

【図8】実施形態2に示す化合物のカーボン核磁気共鳴スペクトルを示す。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0013】

本発明のフラボノイド化合物は、前記化学式 (I) で示されるフラボノイド化合物であり、以下の実施形態において、 $R_1$  及び  $R_4 = CH_3$ 、 $R_2$  及び  $R_3 = H$ 、 $R_5 = OH$  である化合物 (実施形態1) と、 $R_1$ 、 $R_4$  及び  $R_5 = H$ 、 $R_2 = OH$ 、 $R_3$  が前記化学式

50

( I I ) である化合物 ( 実施形態 2 ) を示す。

以下、各実施形態について具体的に説明する。

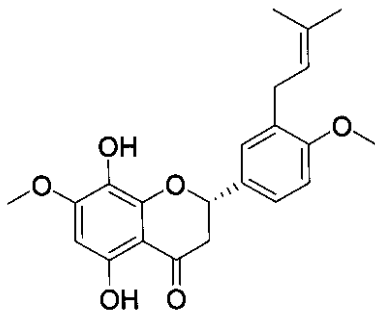
【 0 0 1 4 】

[ 実施形態 1 ]

本実施形態の化合物は、化学式 ( I I I ) で示されるフラボノイド化合物であり、フラバノンに分類される基本骨格を有する。類似化合物が数多く知られているが、同じ置換基を有する化合物は知られておらず、新規の構造を有する ( 以下、化合物 1 と称する。 )。

【 0 0 1 5 】

【 化 3 】



10

化学式 ( I I I )

20

【 0 0 1 6 】

化合物 1 は、インドセンダンのメタノール抽出物をさらにジクロロメタンで抽出し、得られたジクロロメタン抽出物をカラムクロマトグラフィーにより分画することで得ることができる。

【 0 0 1 7 】

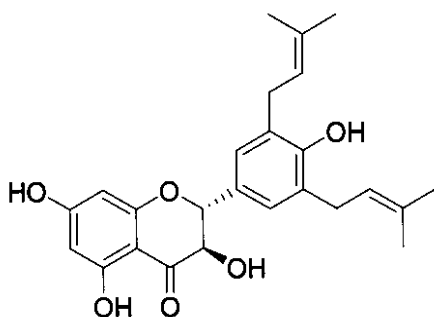
[ 実施形態 2 ]

本実施形態の化合物は、化学式 ( I V ) で示されるフラボノイド化合物であり、フラバノールに分類される基本骨格を有する。類似化合物が数多く知られているが、同じ置換基を有する化合物は知られておらず、新規の構造を有する ( 以下、化合物 2 と称する。 )。

30

【 0 0 1 8 】

【 化 4 】



40

化学式 ( I V )

【 0 0 1 9 】

化合物 2 は、インドセンダンのメタノール抽出物をさらにジクロロメタンで抽出し、得られたジクロロメタン抽出物をカラムクロマトグラフィーにより分画することで得ることができる。

【 0 0 2 0 】

本発明のフラボノイド化合物である化合物 1 および化合物 2 は、変異原物質に対する抗

50

変異原作用を有し、食品や化粧品および医薬品の素材などとして広く産業上利用されるものである。

また、本発明のフラボノイド化合物である化合物 1 および化合物 2 の化学構造も明らかにされたので、これを化学修飾、又は各種の改変を加えることにより、新規な配糖体、新規なアグリコン等、従来未知の化合物を更に得ることも期待される。

#### 【0021】

なお、化合物 1 および化合物 2 は、上述した有機溶媒に限定されることなく、インドセンダンを材料として有機溶媒（アルコール等）による抽出、カラムクロマトグラフィー等、各種のクロマトグラフィーのほか、植物成分の分離、抽出に利用される公知の方法を単独であるいは適宜組み合わせ、容易に得ることができる。

10

#### 【0022】

以下に、化合物 1 および化合物 2 の製造に関する実施例および抗変異原作用を測定した実施例を示す。

#### 【実施例 1】

#### 【0023】

凍結乾燥させたインドセンダン可食部（花芽および葉）0.5 kg を粉末状に破碎し、室温で 5 L のメタノールに 24 時間浸漬することにより抽出し、抽出液をロータリーエバポレータにより粘稠なシロップ状になるまで濃縮した。

#### 【0024】

さらに、ジクロロメタン 0.5 L（リットル）を加え、成分を抽出した。ジクロロメタン溶液をロータリーエバポレータにより、メタノール 50 mL（ミリリットル）に溶解させた。

20

#### 【0025】

メタノール溶液を逆相カラムクロマトグラフィー（Wakogel 40C18）により分画し、得られた画分を TSK gel ODS 80Ts カラムを接続した高速液体クロマトグラフィーにて以下の条件で分画することで、純粋な化合物 1（4 mg）および化合物 2（2.7 mg）を得た。

#### 【0026】

カラム：東ソー TSK gel Super-ODS（4.6 × 50）

溶離液：アセトニトリル / 0.5% ギ酸水

グラジエント：0 - 20分 30 - 70% 10分

流速：2 ml / min

収集波長：290 nm

リテンションタイム

化合物 1：4.72 分

化合物 2：5.47 分

30

#### 【0027】

得られた化合物 1 及び化合物 2 について質量分析、円二色性スペクトル分析、紫外吸収スペクトル分析、ならびに核磁気共鳴分析を行い、化学構造を決定した。

#### 【0028】

質量分析は、島津製作所製 QP-2010 質量分析計（直接導入プローブ使用、70 keV）を用いて行った。エレクトロスプレーイオン化フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量スペクトルは、Bruker Daltonics 社製 Apex II 70e 質量分析計を用いて測定した。図 1 に、化合物 1 の電子イオン化質量スペクトル、図 2 に、化合物 2 の電子イオン化質量スペクトルの結果を示す。

40

#### 【0029】

円二色性スペクトル分析は、日本分光製 J-820 旋光分散計を用いて行った。結果を図 3 に示す。実線が化合物 2 のチャート、点線が化合物 1 のチャートである。

#### 【0030】

紫外線吸収スペクトル分析は、島津製作所製 UV-1600 分光光度計を用いて行った

50

。結果を図4に示す。実線が化合物2のチャート、点線が化合物1のチャートである。

【0031】

核磁気共鳴は、Bruker Biospin社製 Avance 800または Avance 500核磁気共鳴分光計を用いて行った。図5は、化合物1のプロトン核磁気共鳴スペクトル、図6は、化合物1のカーボン核磁気共鳴スペクトルの結果を示す。図7は、化合物2のプロトン核磁気共鳴スペクトル、図8は、化合物2のカーボン核磁気共鳴スペクトルの結果を示す。

【0032】

化合物1の理化学的性質を以下の表1にまとめて示す。

【0033】

【表1】

---

色・性状：黄色シロップ状	
分子式：C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	
電子イオン化質量スペクトル(図1)：(m/z, %): 384 (M <sup>+</sup> , 100), 369 (40), 341 (24), 329 (29), 219 (88), 206 (31), 191 (48), 179 (64)	
エレクトロスプレーイオン化フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量スペクトル：m/z 383.1498 ([M-H] <sup>+</sup> , C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>6</sub> )	
紫外線吸収スペクトル(図4)：λ <sub>max</sub> 290 nm (ethanol, ε = 6.1 x 10 <sup>3</sup> ), 340 nm (ε = 1.4 x 10 <sup>3</sup> )	20
円二色性スペクトル(図3)：λ <sub>ext</sub> : 293 nm (ethanol, [θ] = -1150, 0.219 mM)	
プロトン核磁気共鳴スペクトル(図5)	
カーボン核磁気共鳴スペクトル(図6)	

---

【0034】

化合物2の理化学的性質を以下の表2にまとめて示す。

【0035】

【表2】

---

色・性状：黄色シロップ状	
分子式：C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	
電子イオン化質量スペクトル(図3)：(m/z, %): 424 (M <sup>+</sup> , 100), 339 (27), 327 (49), 270 (68), 243 (50), 153 (62)	
エレクトロスプレーイオン化フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量スペクトル：m/z 423.1815 ([M-H] <sup>+</sup> , C <sub>25</sub> H <sub>27</sub> O <sub>6</sub> )	
紫外線吸収スペクトル(図4)：λ <sub>max</sub> 293 nm (ethanol, ε = 6.1 x 10 <sup>3</sup> ), 330 nm (ε = 2.7 x 10 <sup>3</sup> ), 383 nm (ε = 0.9 x 10 <sup>3</sup> )	
円二色性スペクトル(図4)：λ <sub>ext</sub> : 295 nm (ethanol, [θ] = -186, 0.253 mM)	40
プロトン核磁気共鳴スペクトル(図7)	
カーボン核磁気共鳴スペクトル(図8)	

---

【実施例2】

【0036】

化合物1及び化合物2の抗変異原効果を測定した。

約4 x 10<sup>7</sup>個の細胞を含むサルモネラ・ティフィムリウムTA98株の培養液に50 ngのTrp-P-1(トリプトファン熱分解物である変異原物質)及び3.0 nmolのチトクロムP450を含むラット肝より調製したS9画分を加え、化合物1または化合物2のメタノール溶液とともに、20分間加温した後、最少グルコース培地で2日間培

10

20

30

40

50

養し、出現した復帰変異コロニー数を計数した。

被検試料無添加の系をコントロール（0%抑制）とし、Trp-P-1を添加しなかった系をバックグラウンド（100%抑制）として、突然変異抑制率を計算した。結果を表3に示す。

【0037】

【表3】

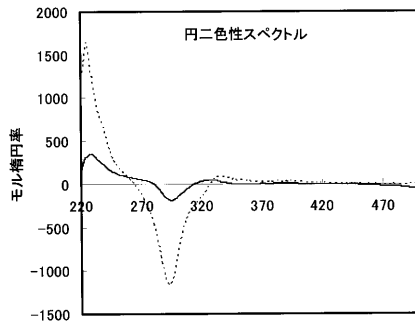
被験物質 (1 mM)	復帰突然変異コロニー数
Trp-P-1なし (バックグラウンド)	41
Trp-P-1あり (対照)	126
化合物 1 (0.1 mM)	45 (95%抑制)
化合物 2 (0.1 mM)	26 (100%抑制)

10

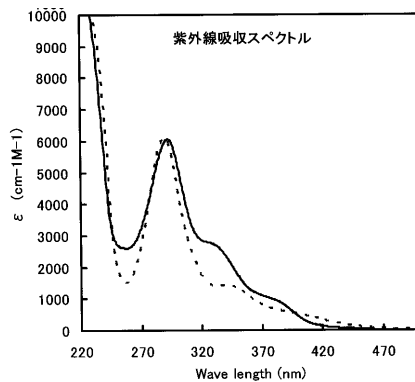
【0038】

以上の試験結果より明らかなように、本発明の化合物である化合物1および化合物2は、複素多環式芳香族に属する変異原物質に対する抗変異原作用を有することがわかる。

【図3】

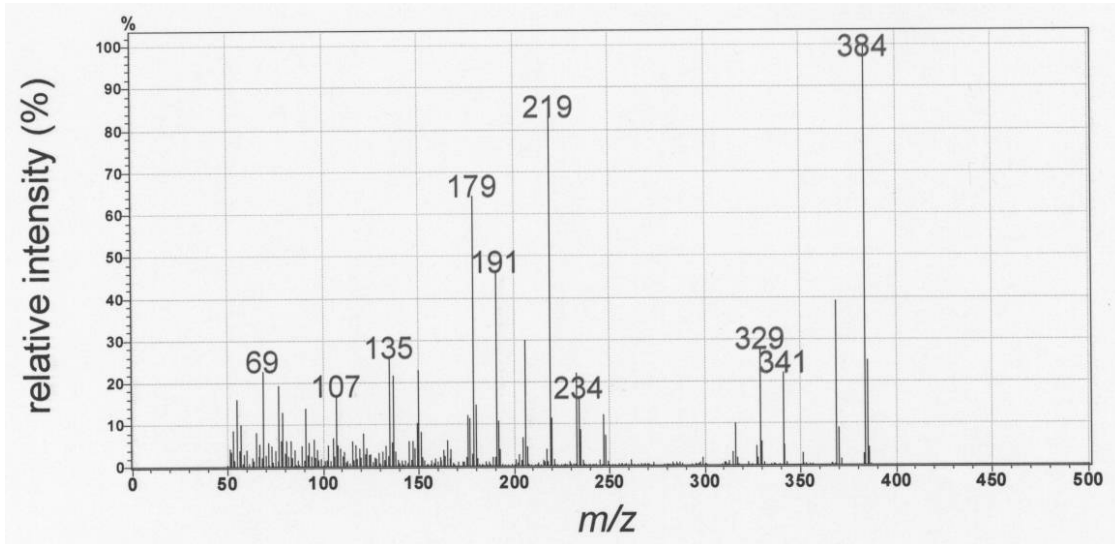


【図4】

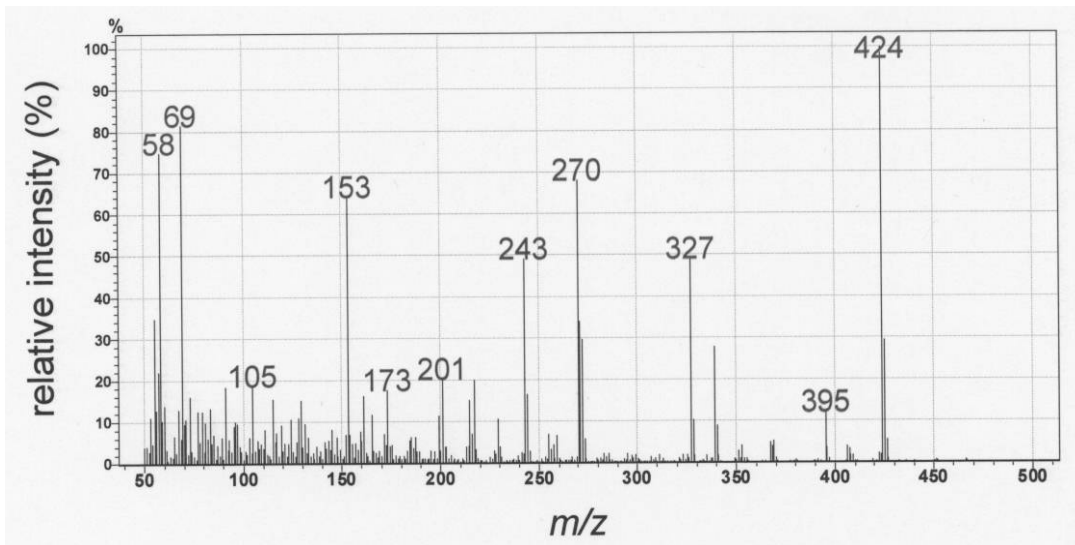




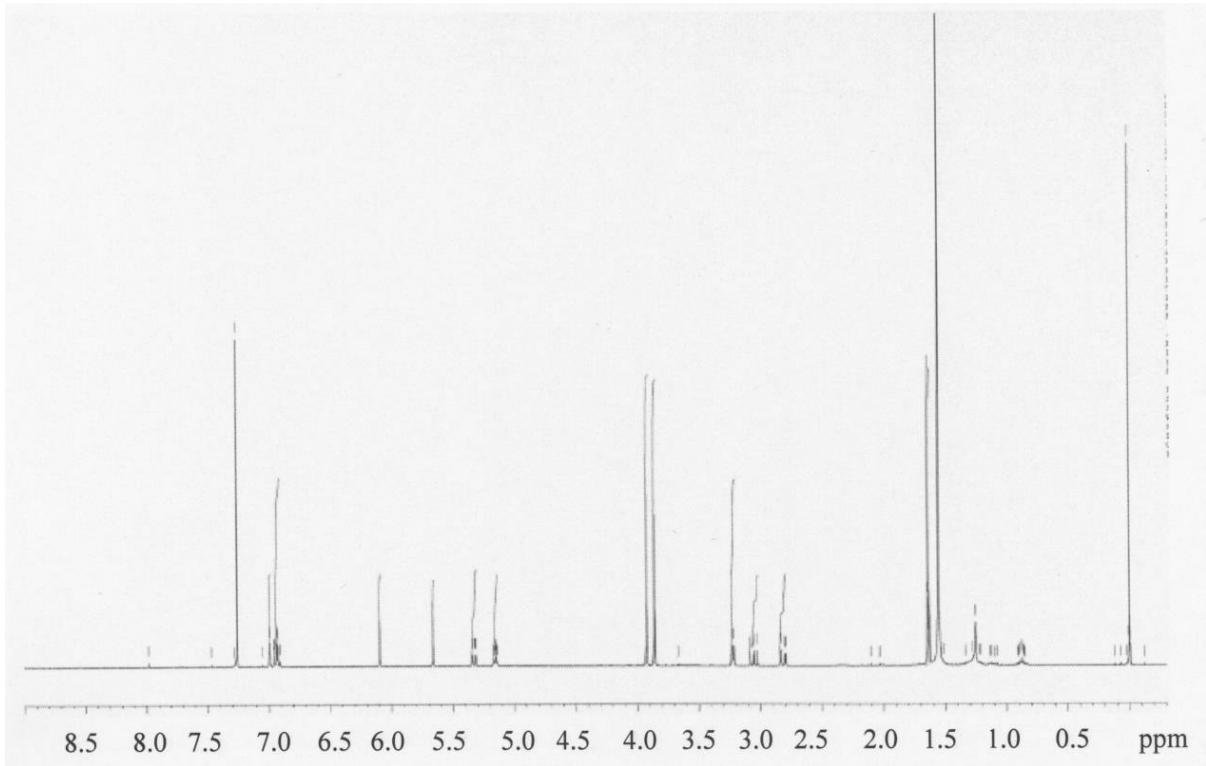
【 図 1 】



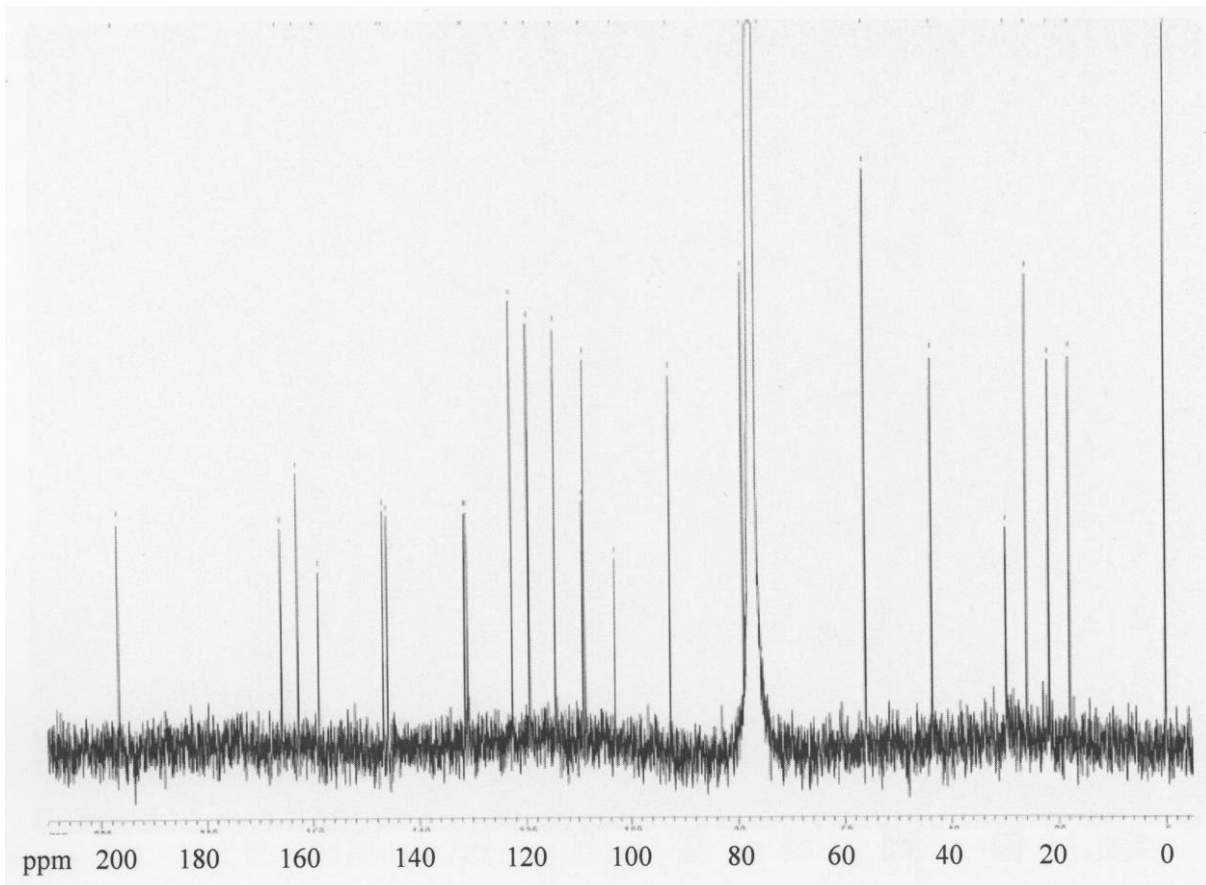
【 図 2 】



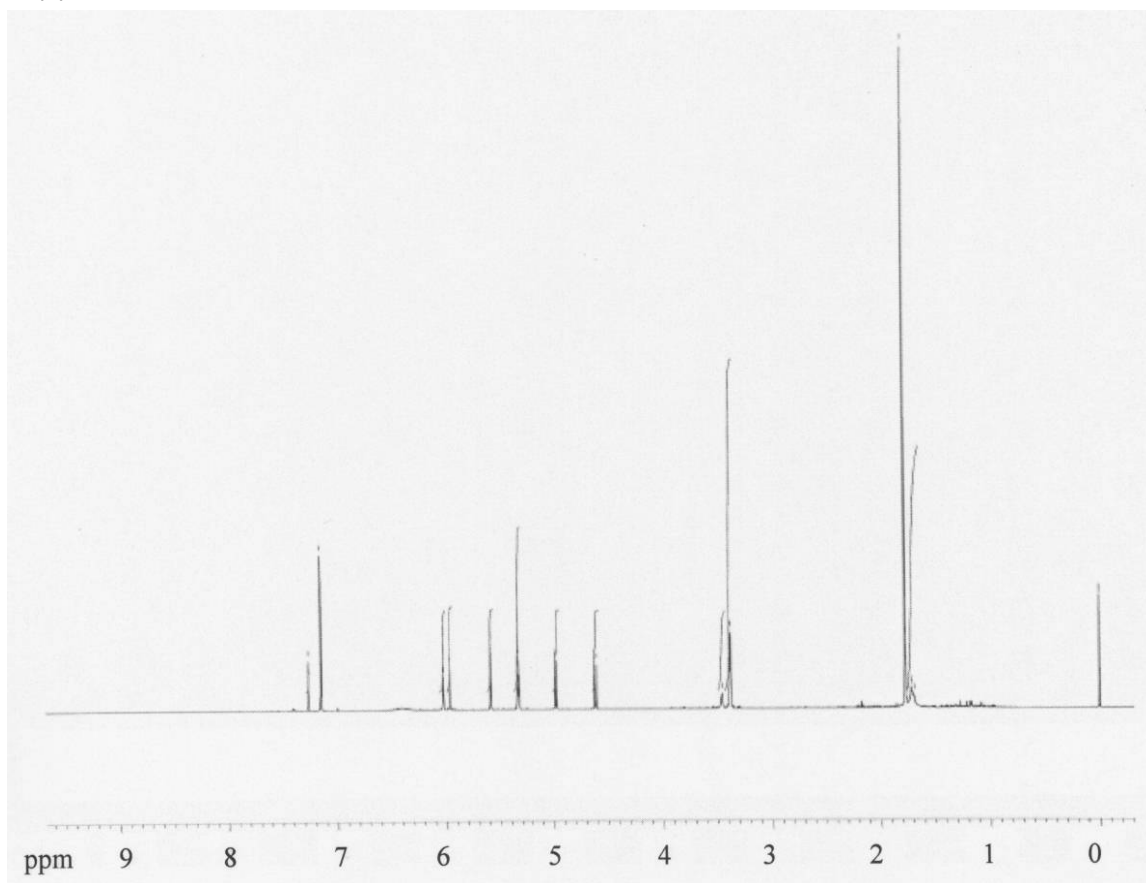
【 図 5 】



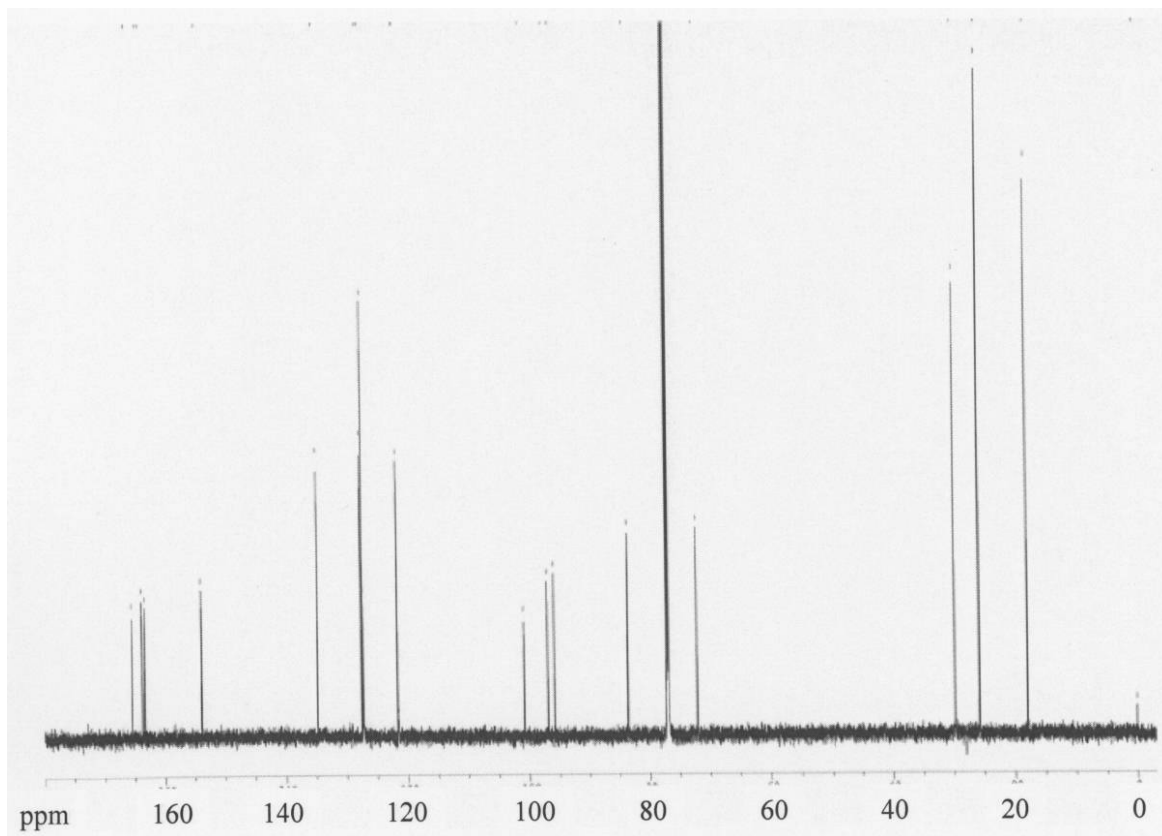
【 図 6 】



【 7 】



【 8 】



## フロントページの続き

- (72)発明者 小野 裕嗣  
茨城県つくば市観音台2 - 1 - 1 2 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研  
究所内
- (72)発明者 中原 和彦  
茨城県つくば市大わし1番地1 独立行政法人国際農林水産業研究センター内
- (72)発明者 吉橋 忠  
茨城県つくば市大わし1番地1 独立行政法人国際農林水産業研究センター内
- (72)発明者 野田澤 茜  
茨城県つくば市大わし1番地1 独立行政法人国際農林水産業研究センター内
- (72)発明者 ゲシニー トラクンティワコン  
タイ王国バンコク市チャトゥチャク区パホンヨーチン通 カセサート大学 食品研究所内
- (72)発明者 プルンチャイ タンカナクン  
タイ王国バンコク市チャトゥチャク区パホンヨーチン通 カセサート大学 食品研究所内

審査官 早川 裕之

- (56)参考文献 Journal of Asian Natural Products Research, 2010年, 12, 505 - 515  
J. Agric. Food Chem., 2003年, 51, 6456 - 6460

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D 311/32

A61K 31/353

A61P 35/00

CAplus/REGISTRY(STN)