

(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2003-73392
(P2003-73392A)

(43) 公開日 平成15年3月12日 (2003.3.12)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	キーワード* (参考)
C 0 7 H 13/06		C 0 7 H 13/06	4 C 0 5 7
A 6 1 K 31/216		A 6 1 K 31/216	4 C 0 8 6
	31/7024		4 C 2 0 6
A 6 1 P 29/00		A 6 1 P 29/00	
	37/08		

審査請求 未請求 請求項の数17 O L (全 21 頁)

(21) 出願番号 特願2001-267814(P2001-267814)

(22) 出願日 平成13年9月4日 (2001.9.4)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成13年3月5日
日本薬学会第121年会組織委員会発行の「日本薬学会第
121年会要旨集」に発表

(71) 出願人 899000057

学校法人 日本大学
東京都千代田区九段南四丁目8番24号

(72) 発明者 北中 進

東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学
校法人日本大学内

(74) 代理人 100079108

弁理士 稲葉 良幸 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規なケイヒ酸誘導体並びにこれを用いた組成物、抗アレルギー剤及び抗炎症剤

(57) 【要約】

【課題】 *Bidens parviflora* Willd. から抽出された抗アレルギー剤又は抗炎症剤として効果がある有効成分を提供すること。さらに、そのような有効成分を有する組成物、特に抗アレルギー剤及び抗炎症剤を提供すること。

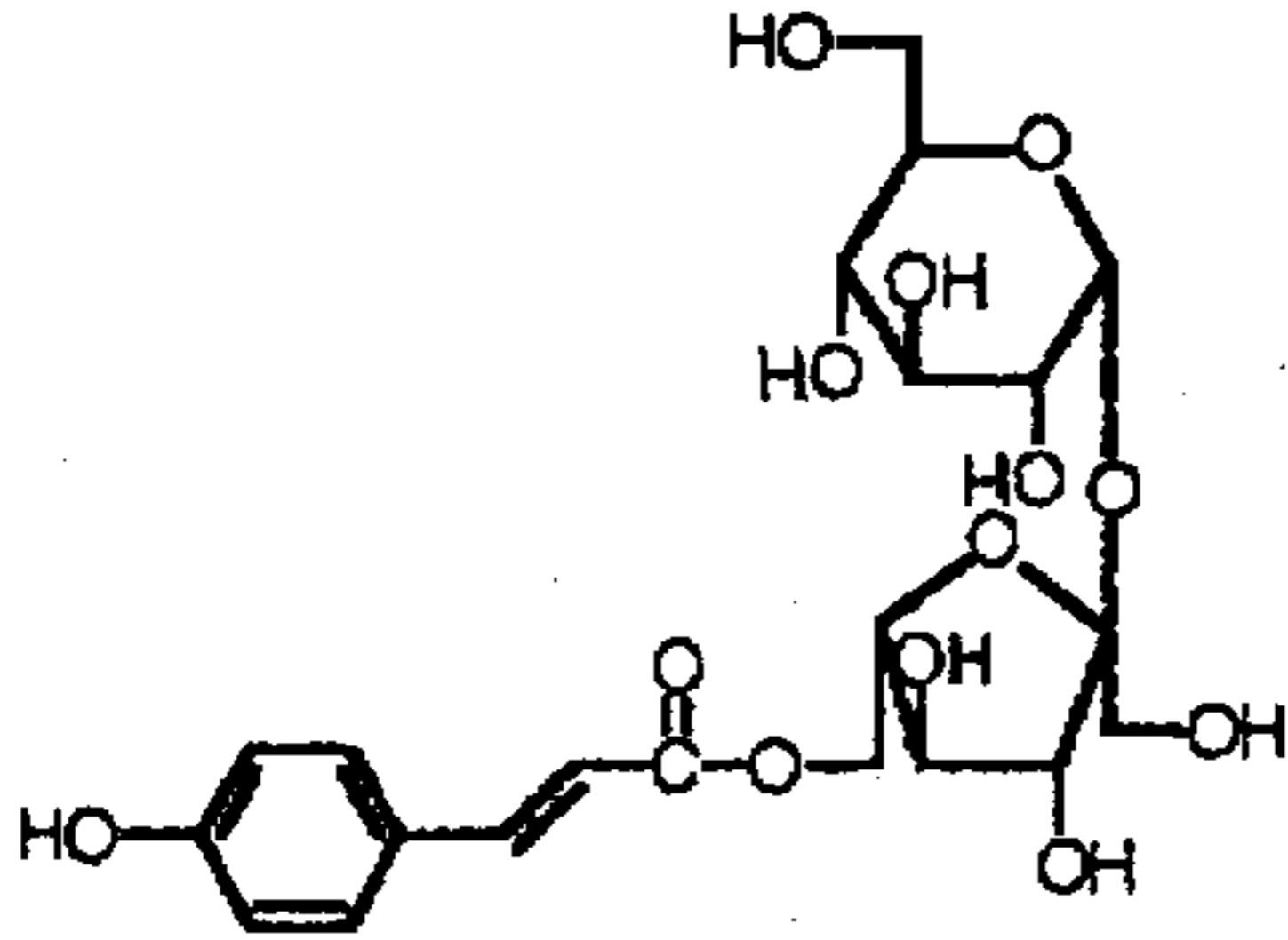
【解決手段】 本発明は、特定の構造（特許請求の範囲に示す化学式（1）～（3）、（5）及び（6））で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することにより、上記課題を解決したものである。また、本発明は、上記の新規なケイヒ酸誘導体又は特定の構造（特許請求の範囲に示す化学式（4））で示されるケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤及び抗炎症剤を提供することにより、上記課題を解決したものである。

1

【特許請求の範囲】

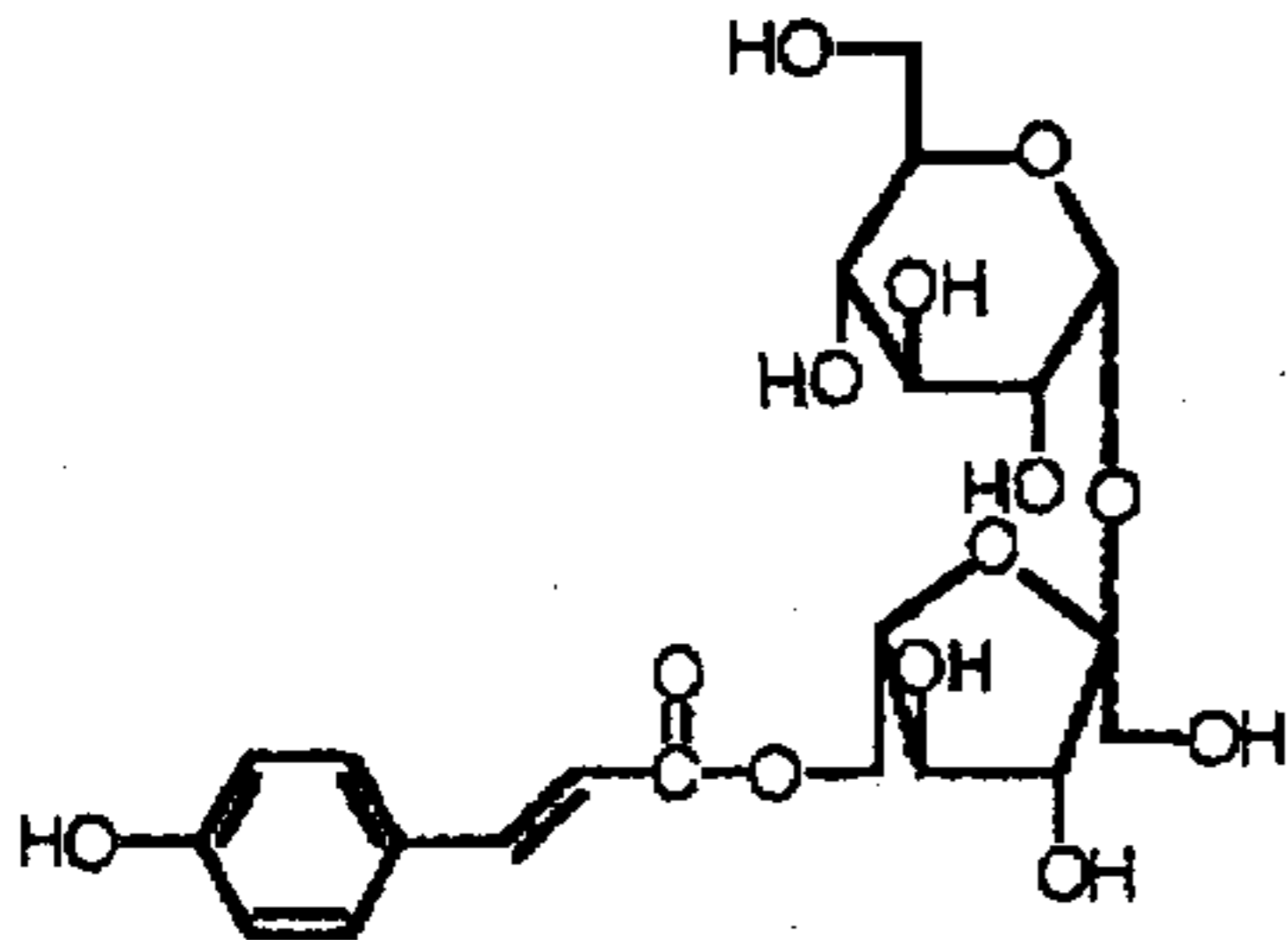
【請求項1】 下記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

【化1】



【請求項2】 下記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

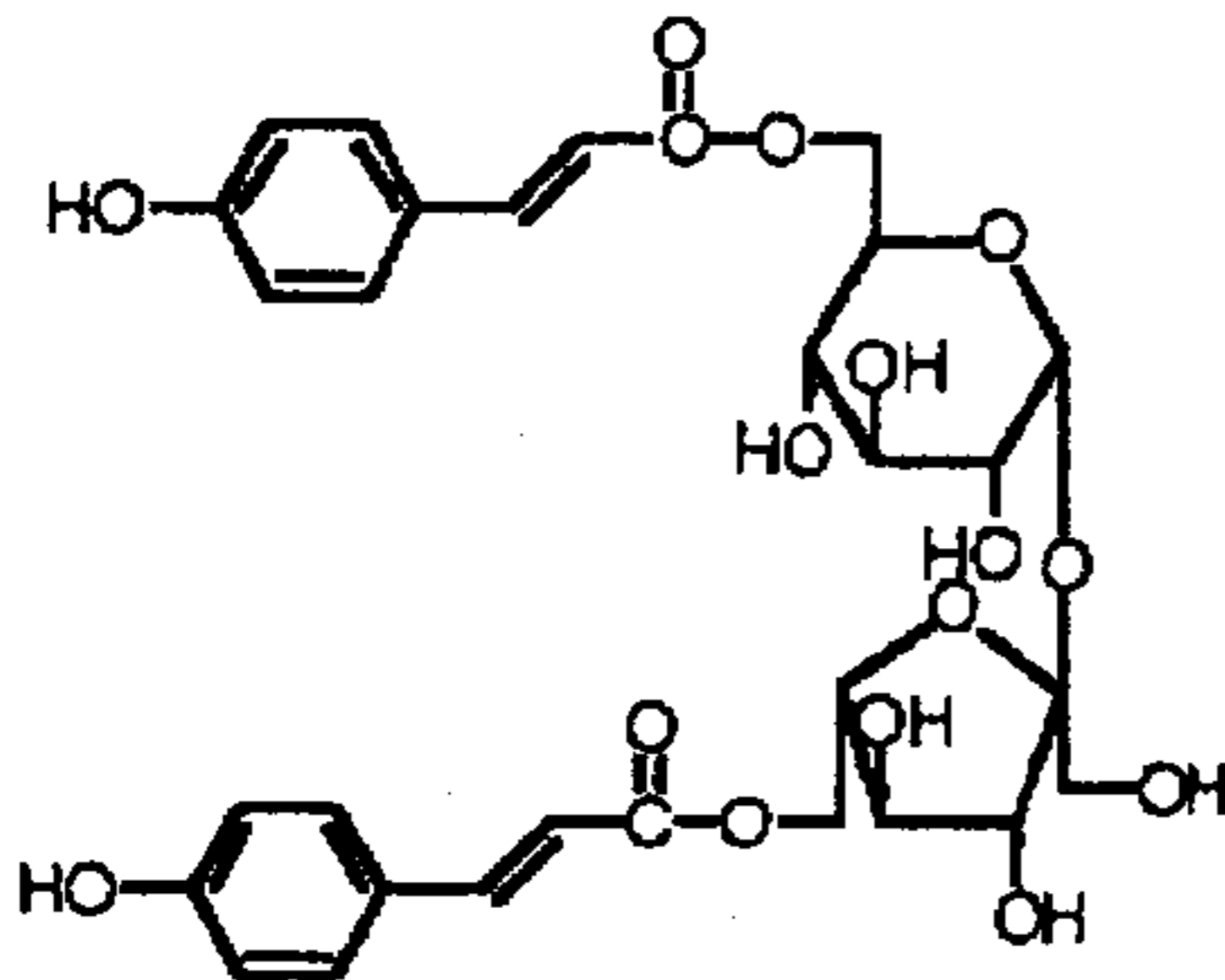
【化2】



【請求項3】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項2記載の組成物。

【請求項4】 下記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

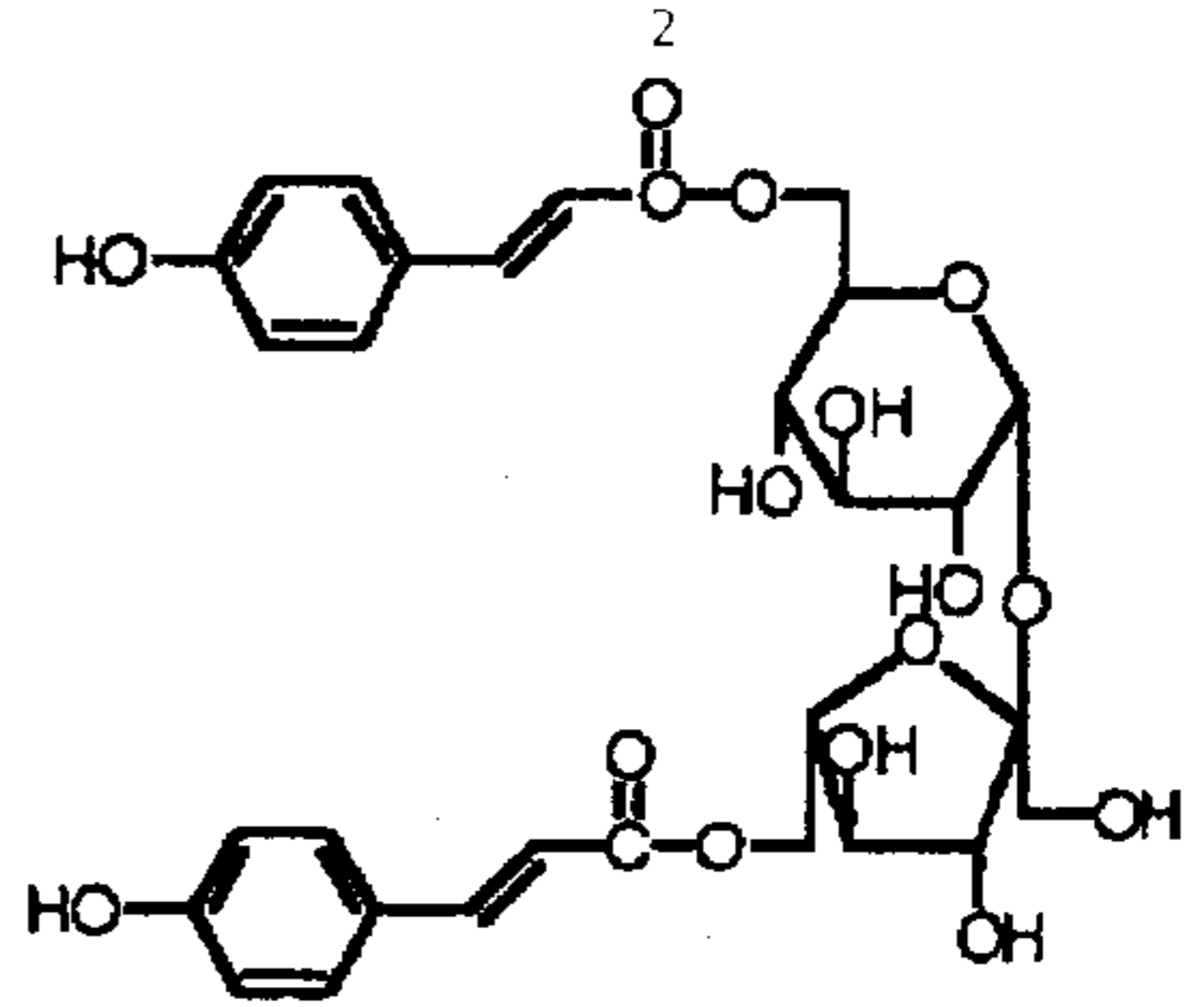
【化3】



【請求項5】 下記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化4】

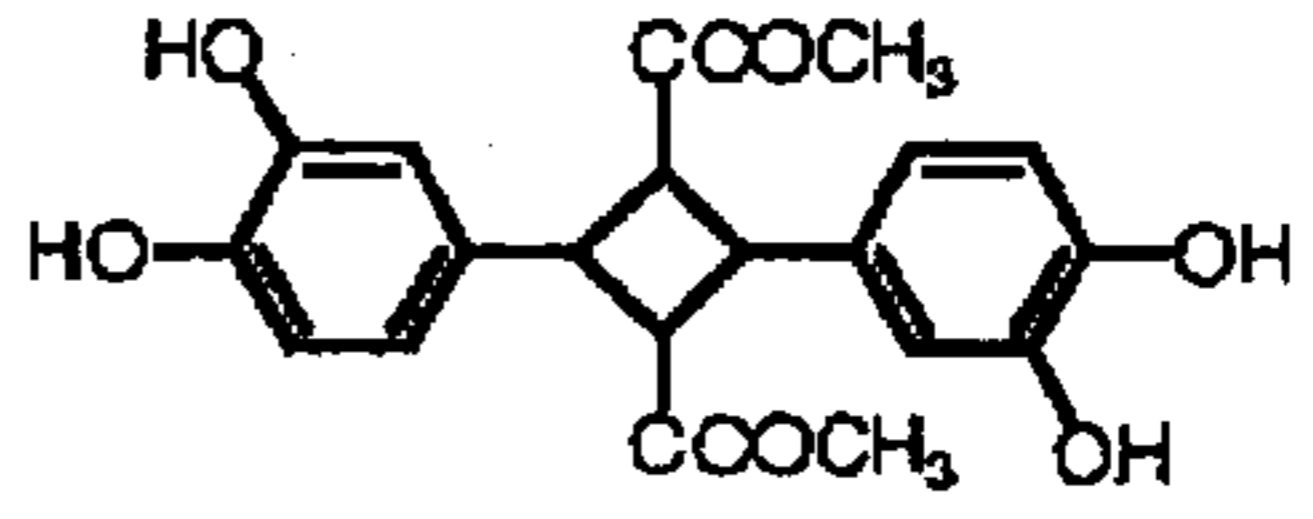
10



【請求項6】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項5記載の組成物。

【請求項7】 下記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

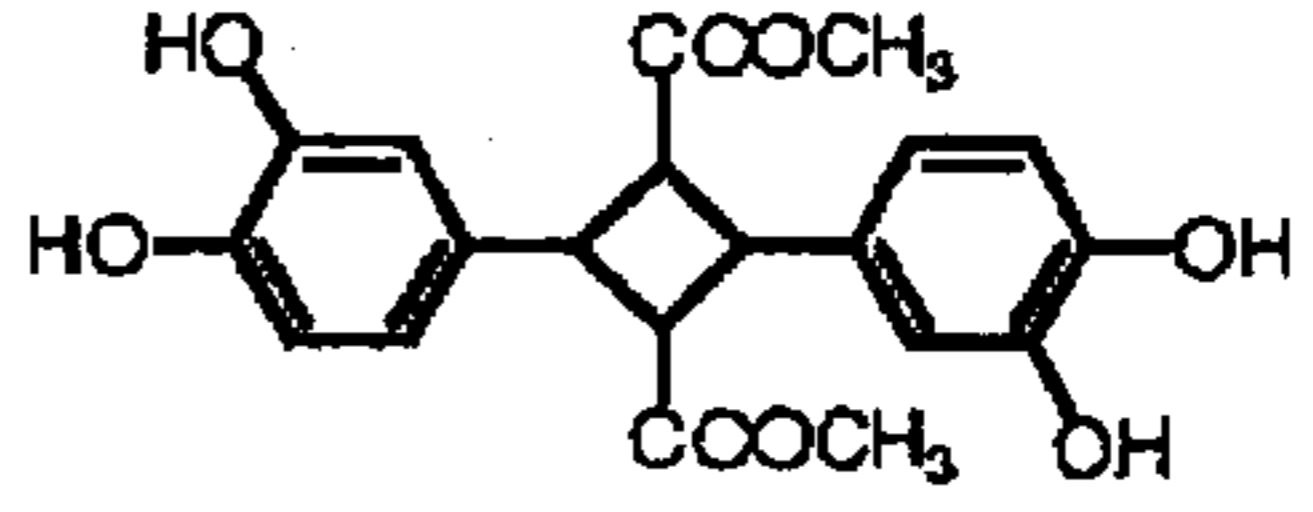
【化5】



20

【請求項8】 下記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化6】

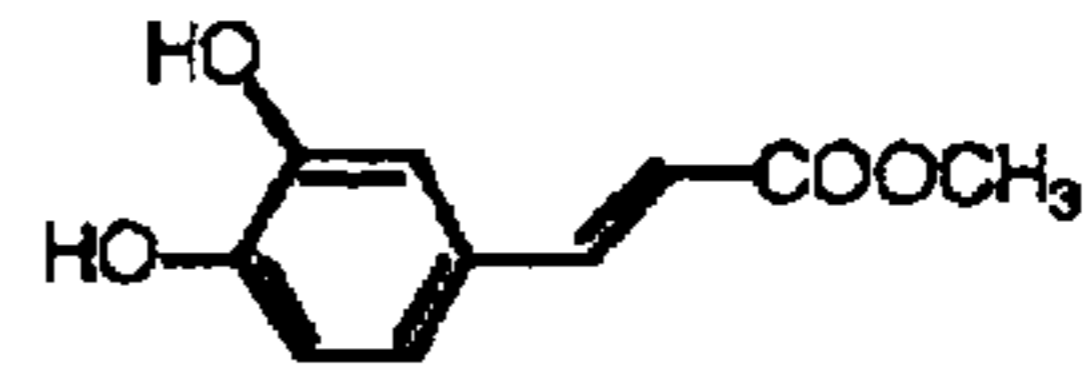


30

【請求項9】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項8記載の組成物。

【請求項10】 下記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化7】

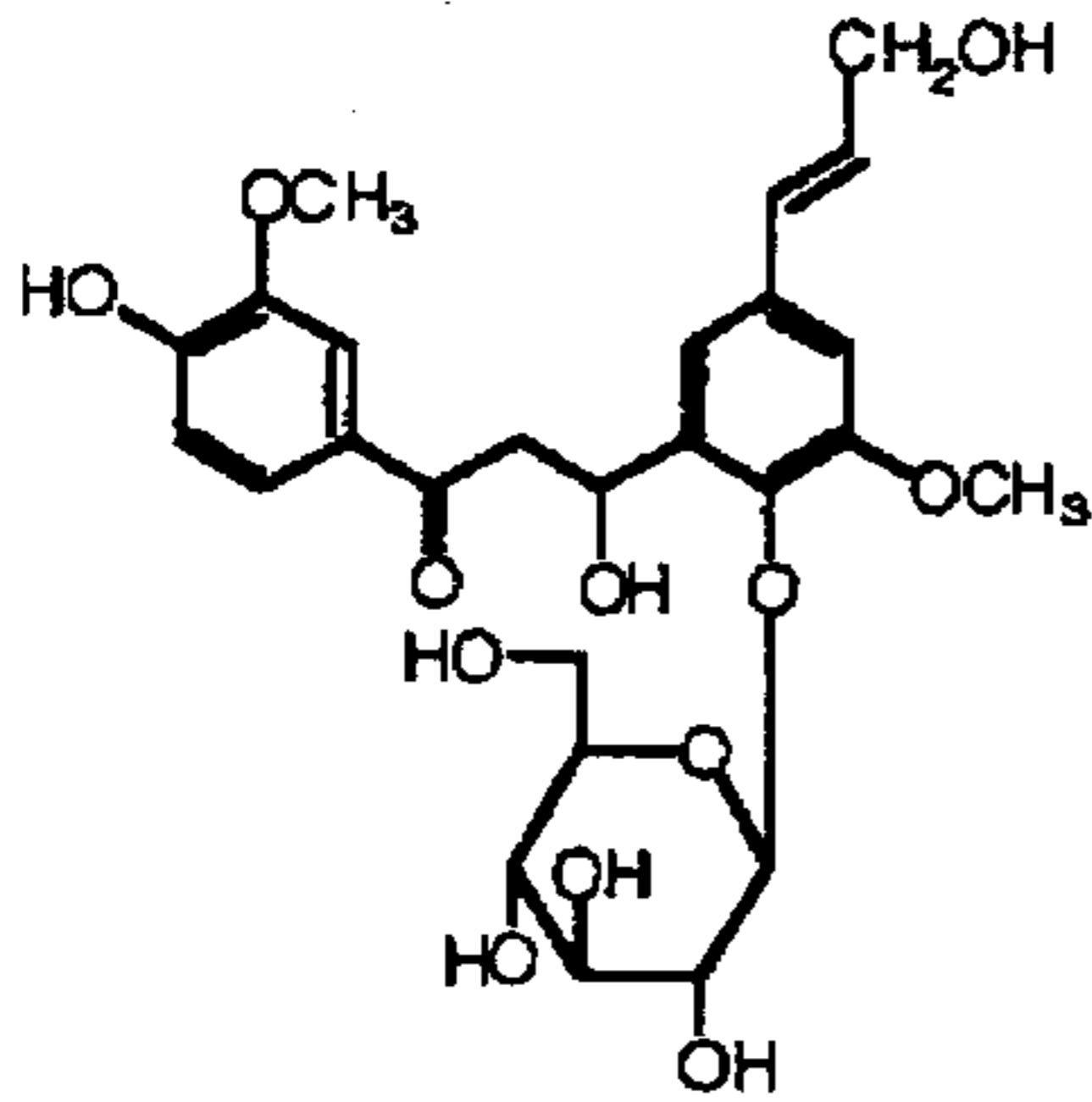


40

【請求項11】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項10記載の組成物。

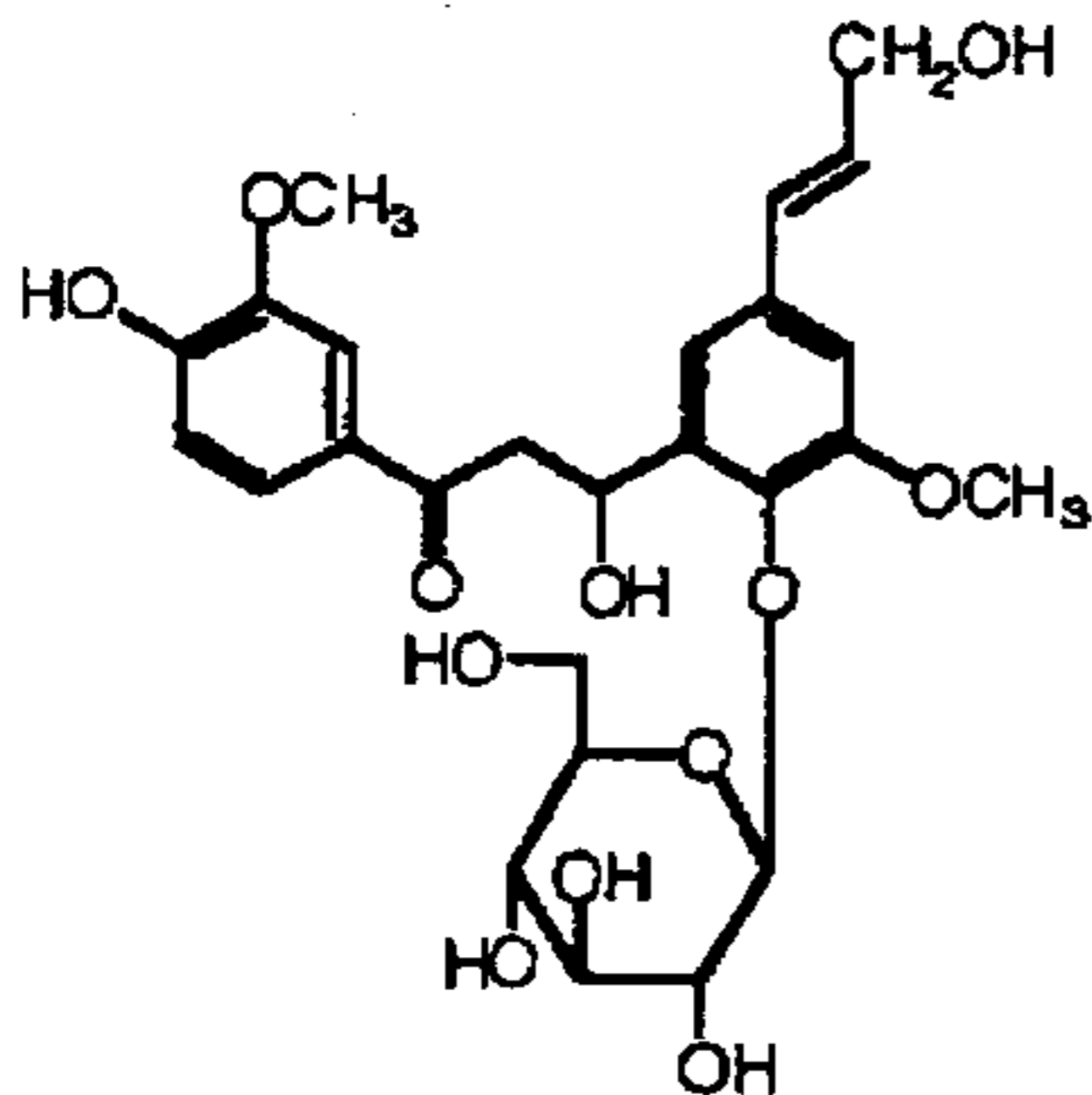
【請求項12】 下記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

【化8】



【請求項13】 下記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

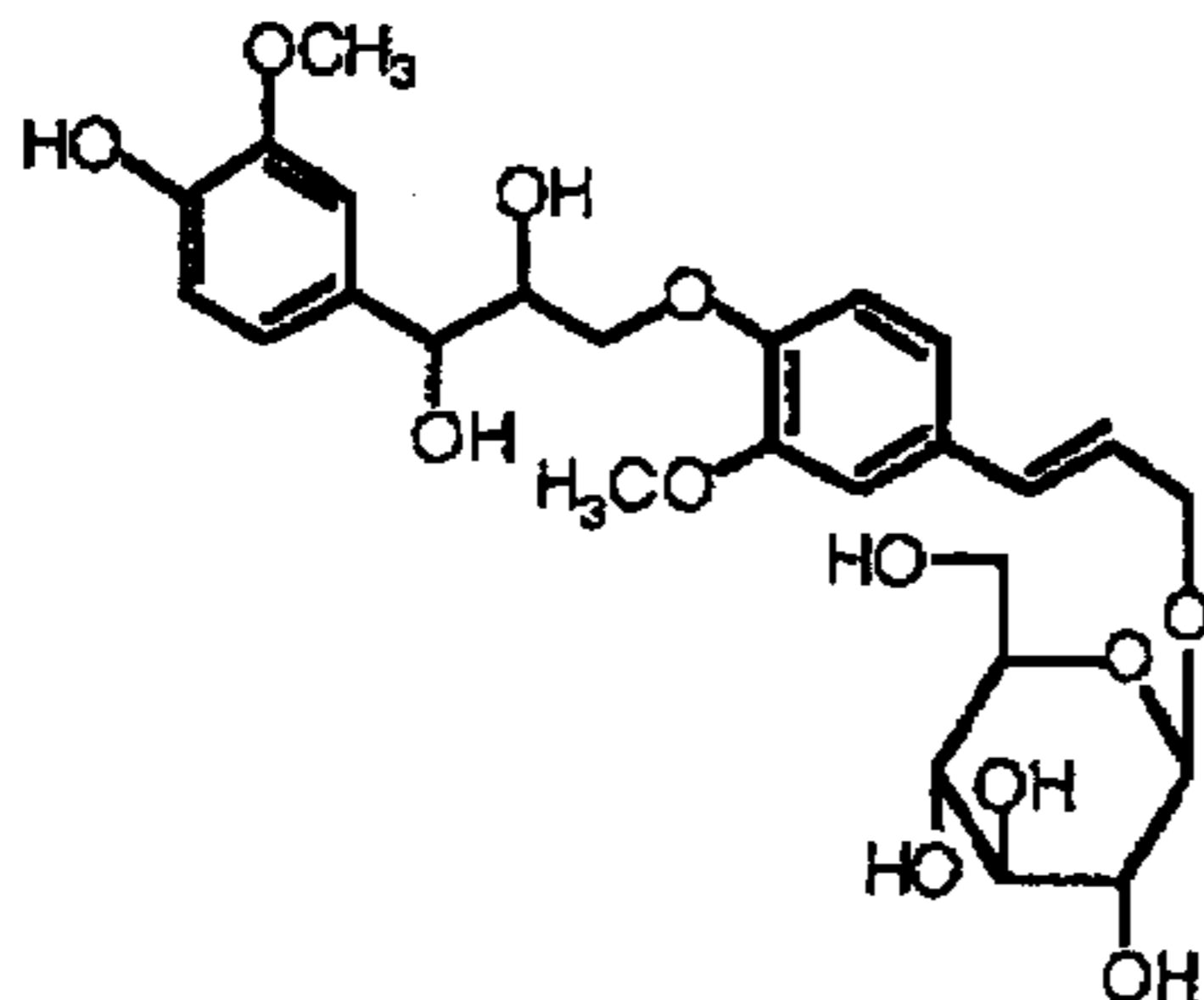
【化9】



【請求項14】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項13記載の組成物。

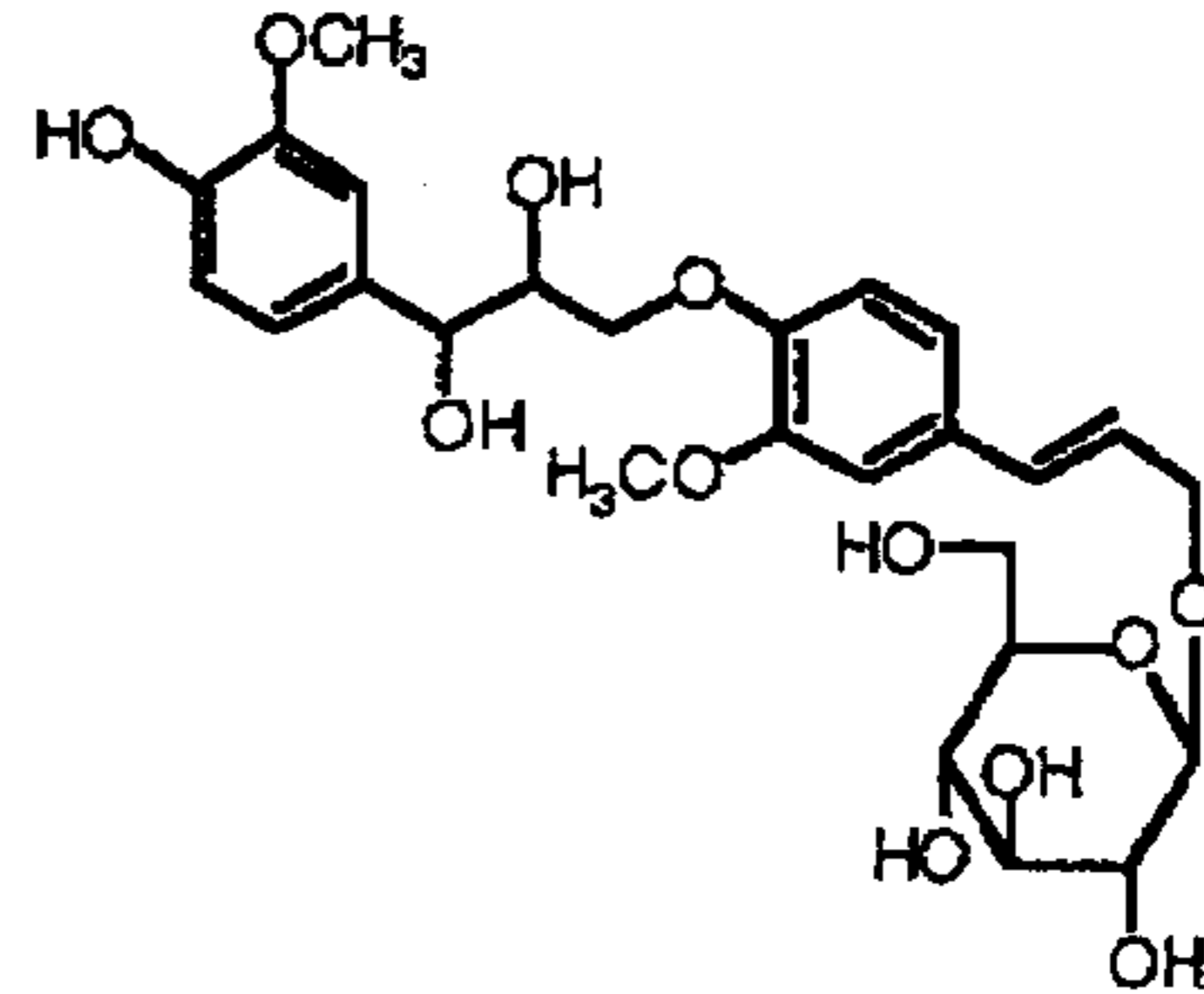
【請求項15】 下記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

【化10】



【請求項16】 下記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化11】



【請求項17】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項16記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、キク科植物である小花鬼針草(中国名)〔学名; *Bidens parviflora* Willd.〕の抽出物である新規なケイヒ酸誘導体並びにこれを有効成分として有する組成物、抗アレルギー剤及び抗炎症剤に関する。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症などのアレルギー疾患が増え続けている。これらのアレルギー疾患は、主にI型アレルギー反応によるものであり、多量に生じた、アレルゲンに対する免疫グロブリンE抗体が、肥満細胞の表面でアレルゲンと結合することにより起こる化学伝達物質の遊離によって引き起こされることが知られている。

【0003】従来、これらのアレルギー疾患に対する治療剤として、クロモグリク酸ナトリウム、トラニスト、オキサトミド等が開発されているが、これらの薬剤は消化器系や中枢系に対して副作用を伴うことがある。また、近年社会問題になっているアトピー性皮膚炎は、何等かのアレルゲンに対するアレルギー反応の結果起こる疾患で、未だに根本的な治療方法がないことから、上記の抗アレルギー剤を用いるか、炎症を抑えるために、ステロイド剤(副腎皮質ホルモン剤)が外用されている。しかしながら、ステロイド剤は副作用が大きいことが多く、慎重な適用が必要とされている。

【0004】また、アレルギー疾患以外の炎症性疾患に対する抗炎症剤においても、種々のものが開発されているが、未だ満足したものは得られていない。

【0005】一方、小花鬼針草(*Bidens parviflora* Willd.)は、中国内モンゴル、東北、河北、河南各地に広く分布しているキク科植物であり、主に民間薬として、高血圧、喘息、胃潰瘍等に対して用いられている。

【0006】しかしながら、*Bidens parviflora* Willd.が有する抗アレルギー性成分又は抗炎症性成分に対す

る解明はされていなかった。

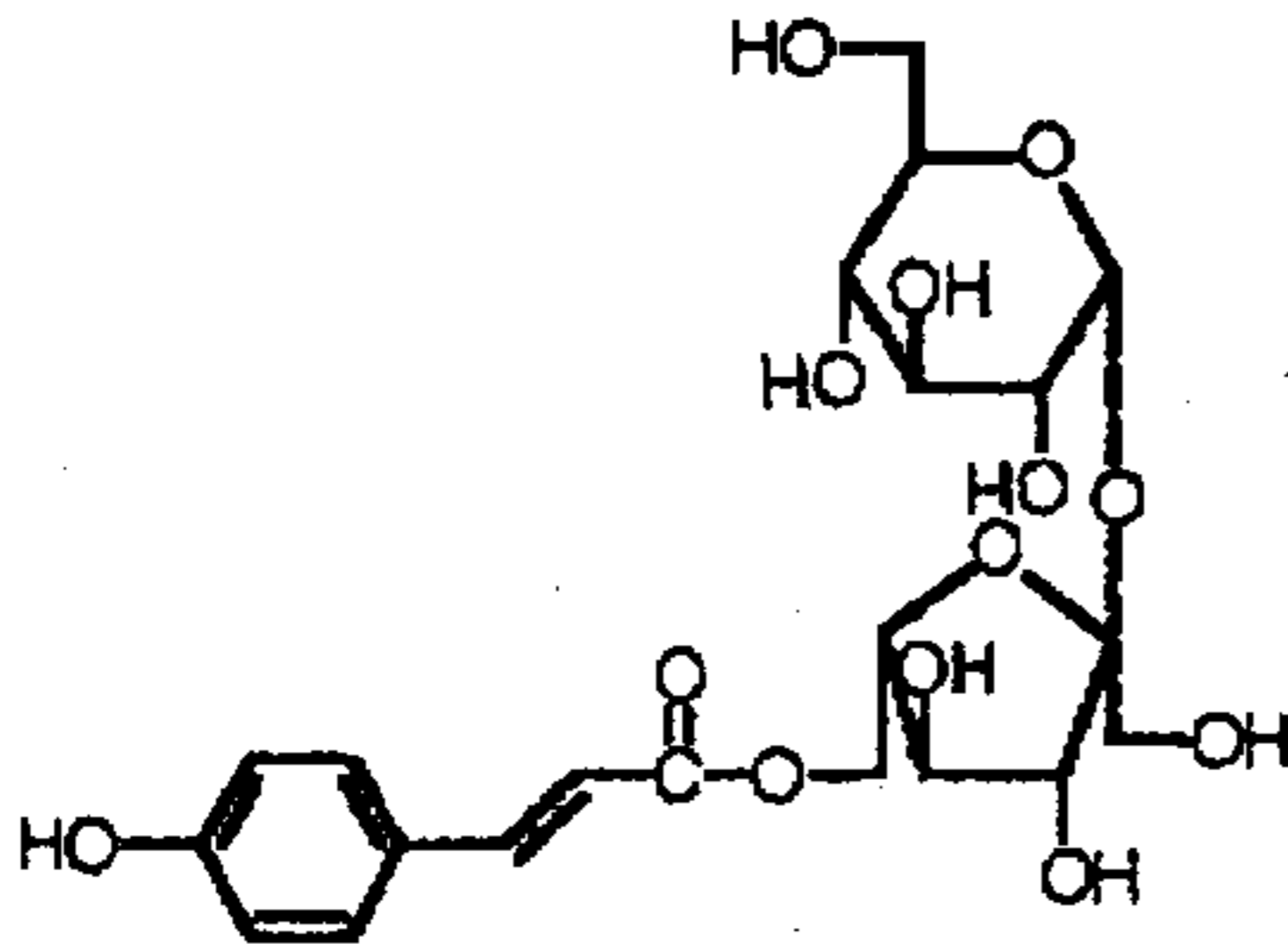
【0007】そこで、本発明は、*Bidens parviflora* Willd.から抽出された抗アレルギー性又は抗炎症性に効果がある有効成分を提供することを目的とする。さらに、本発明の他の目的は、そのような有効成分を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明は、下記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することにより、前記目的を達成したものである。

【0009】

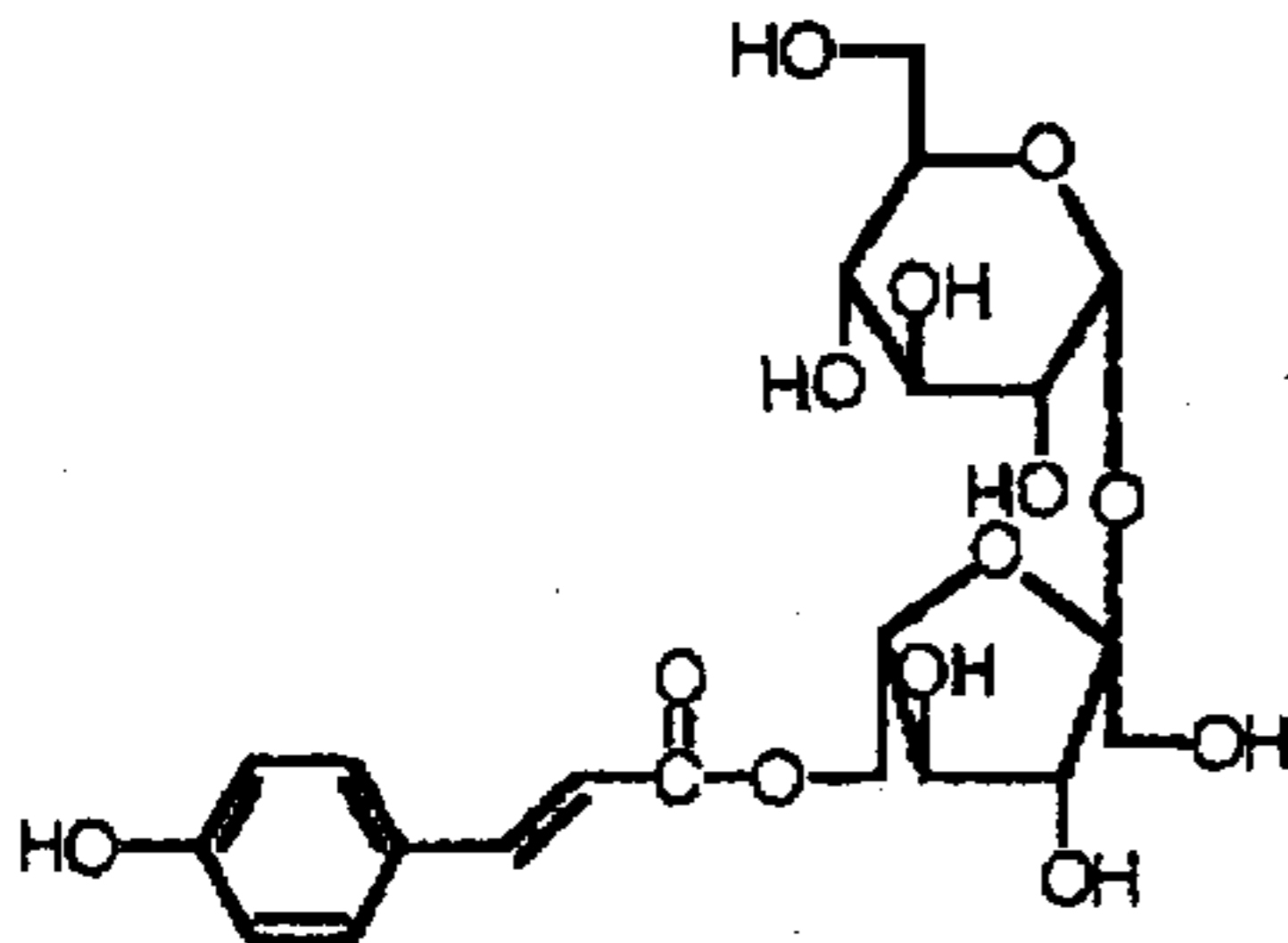
【化12】



【0010】また、本発明は、下記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0011】

【化13】



【0012】また、本発明は、下記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

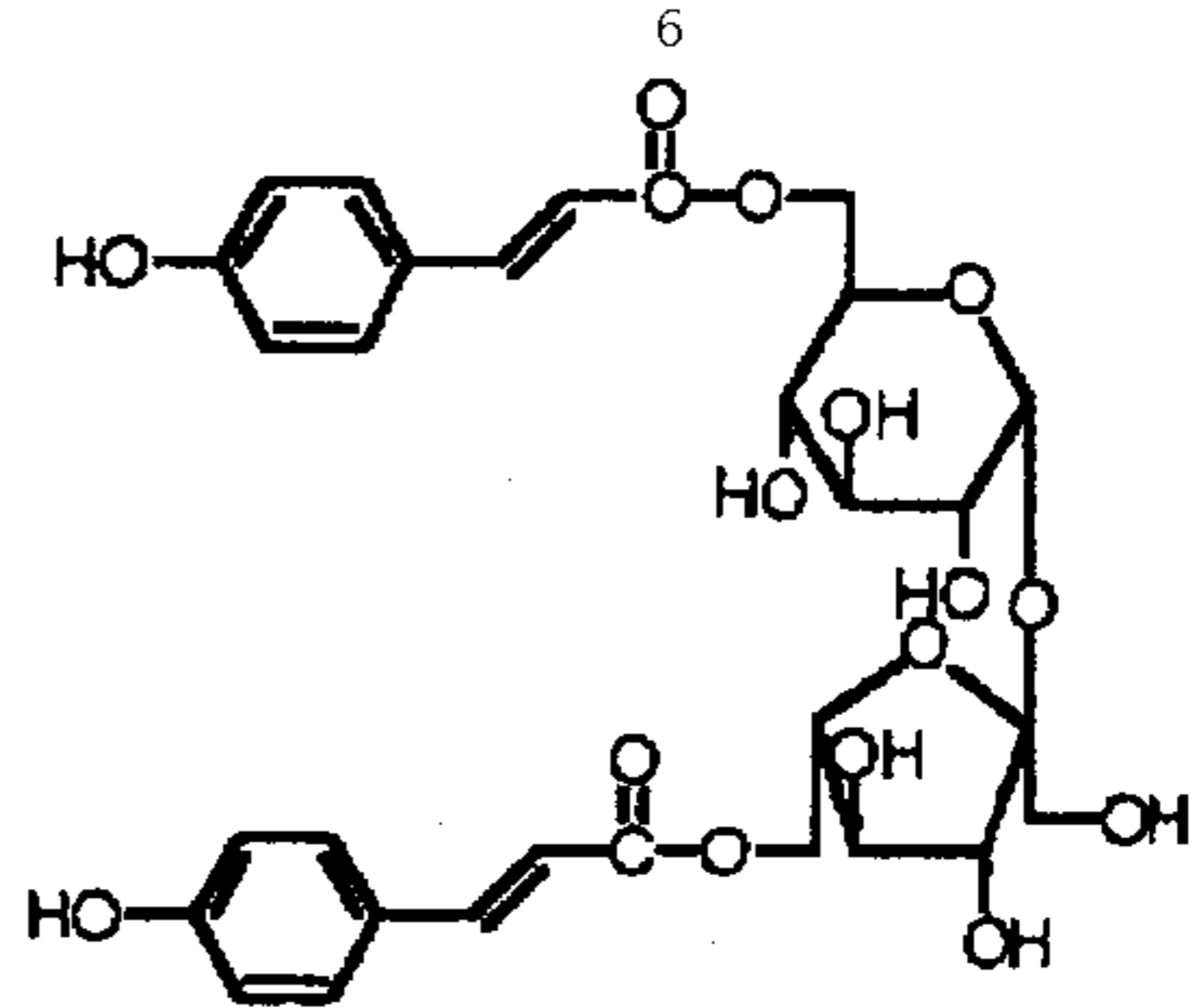
【0013】

【化14】



(4)

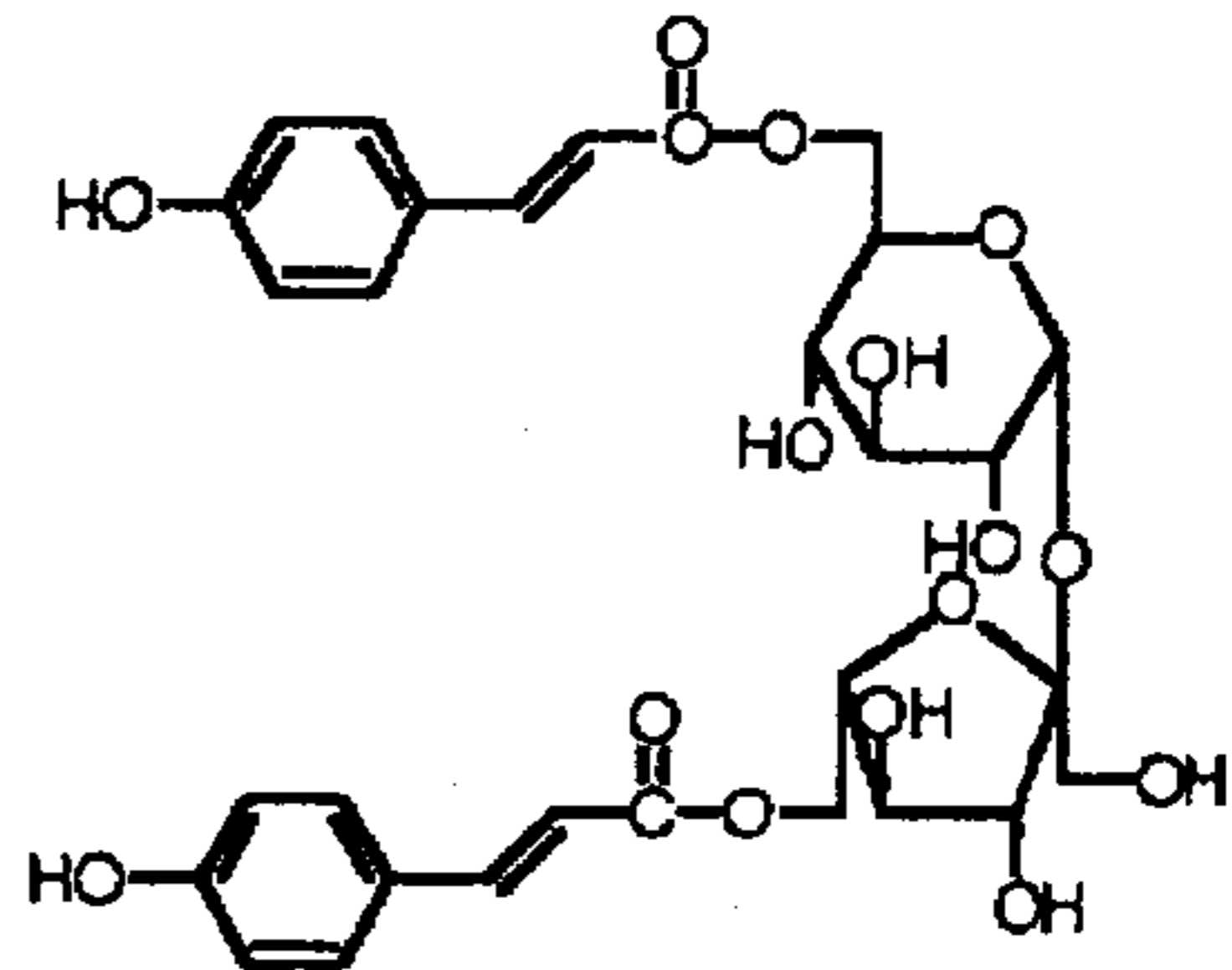
特開2003-73392



【0014】また、本発明は、下記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0015】

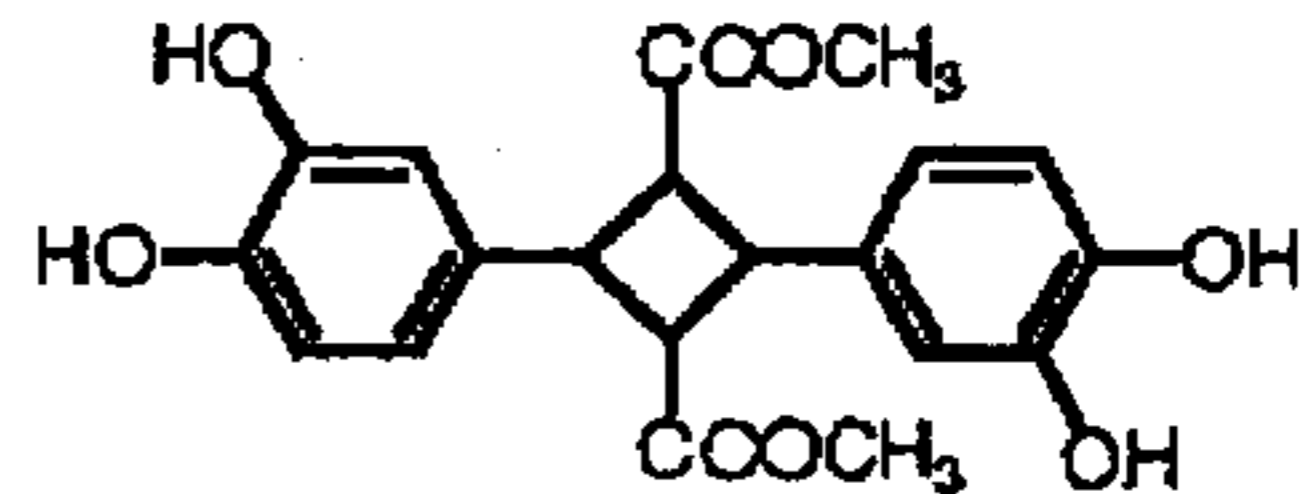
【化15】



【0016】また、本発明は、下記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0017】

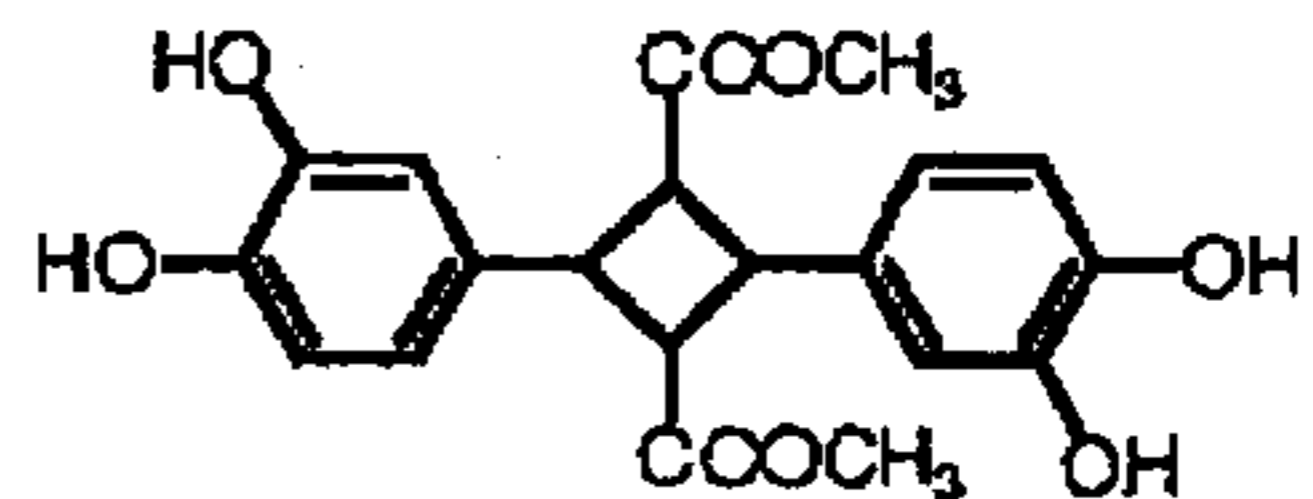
【化16】



【0018】また、本発明は、下記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0019】

【化17】

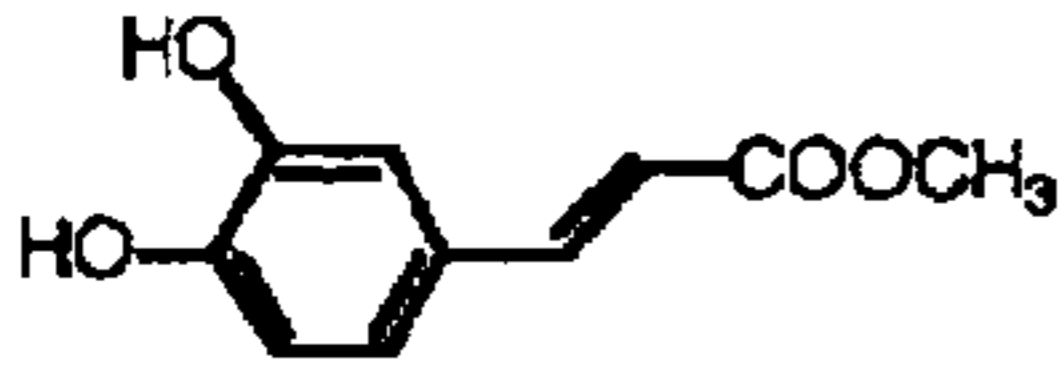


【0020】また、本発明は、下記化学式(4)で示さ

れるケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0021】

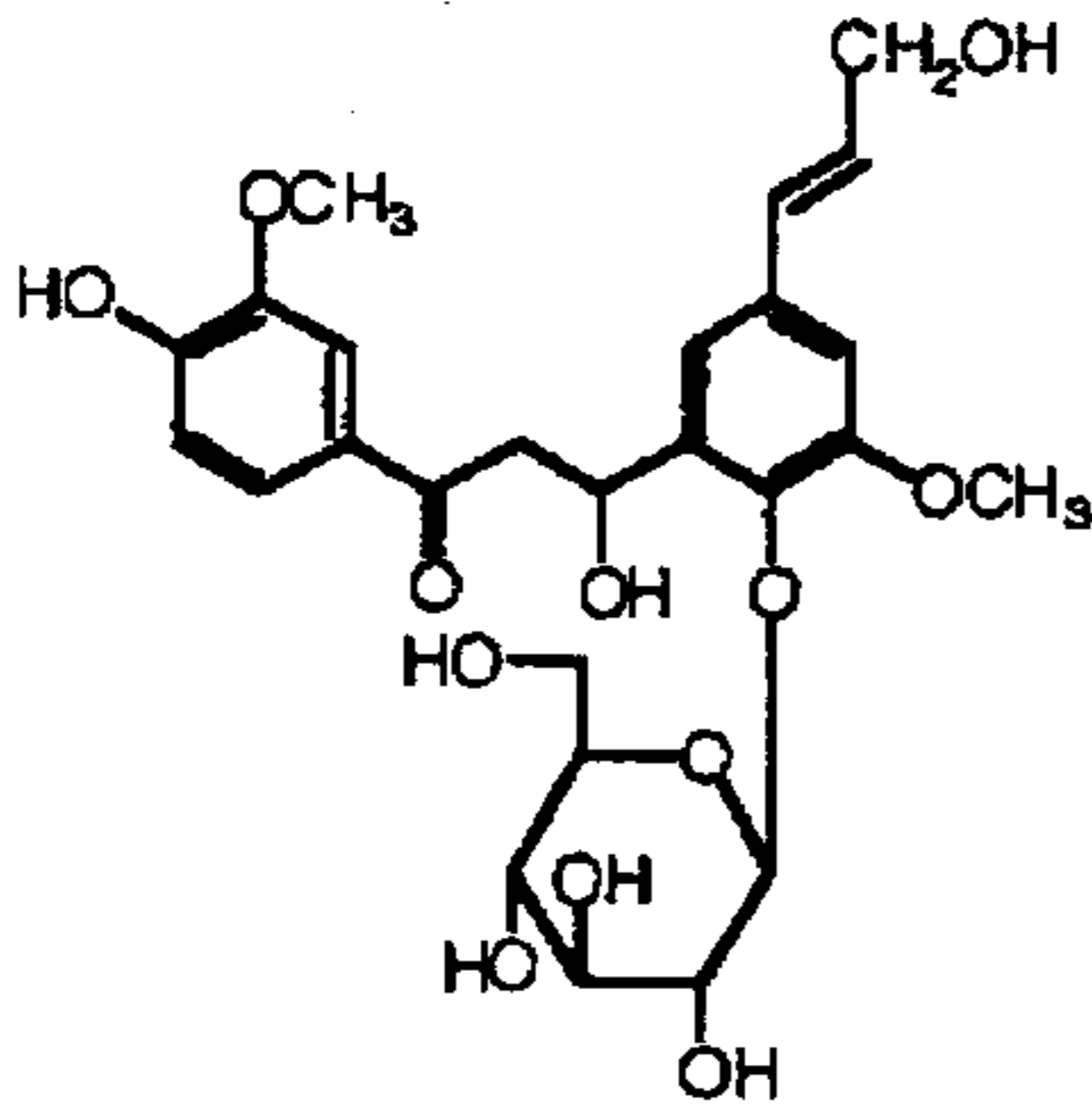
【化18】



【0022】また、本発明は、下記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0023】

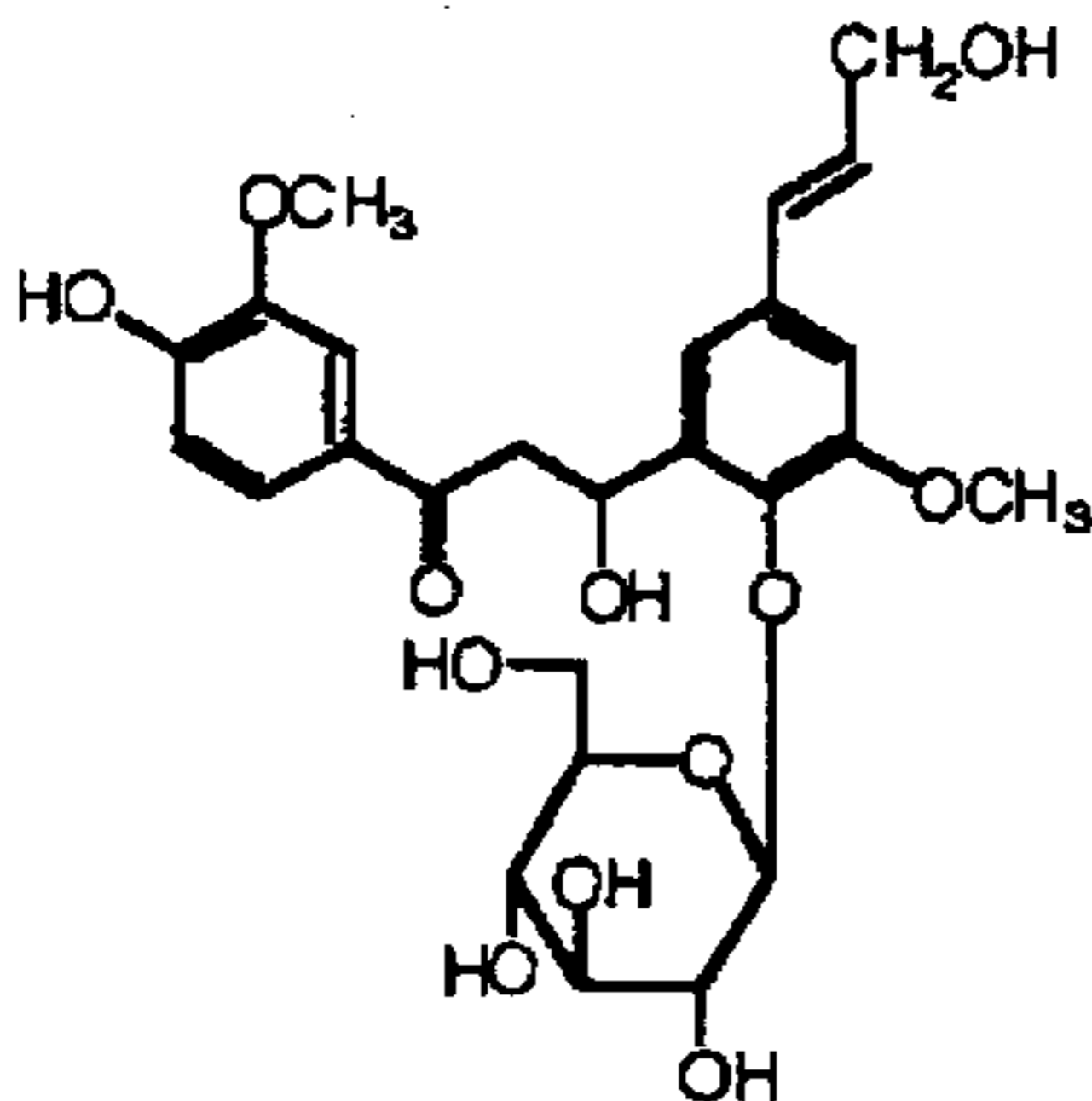
【化19】



【0024】また、本発明は、下記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0025】

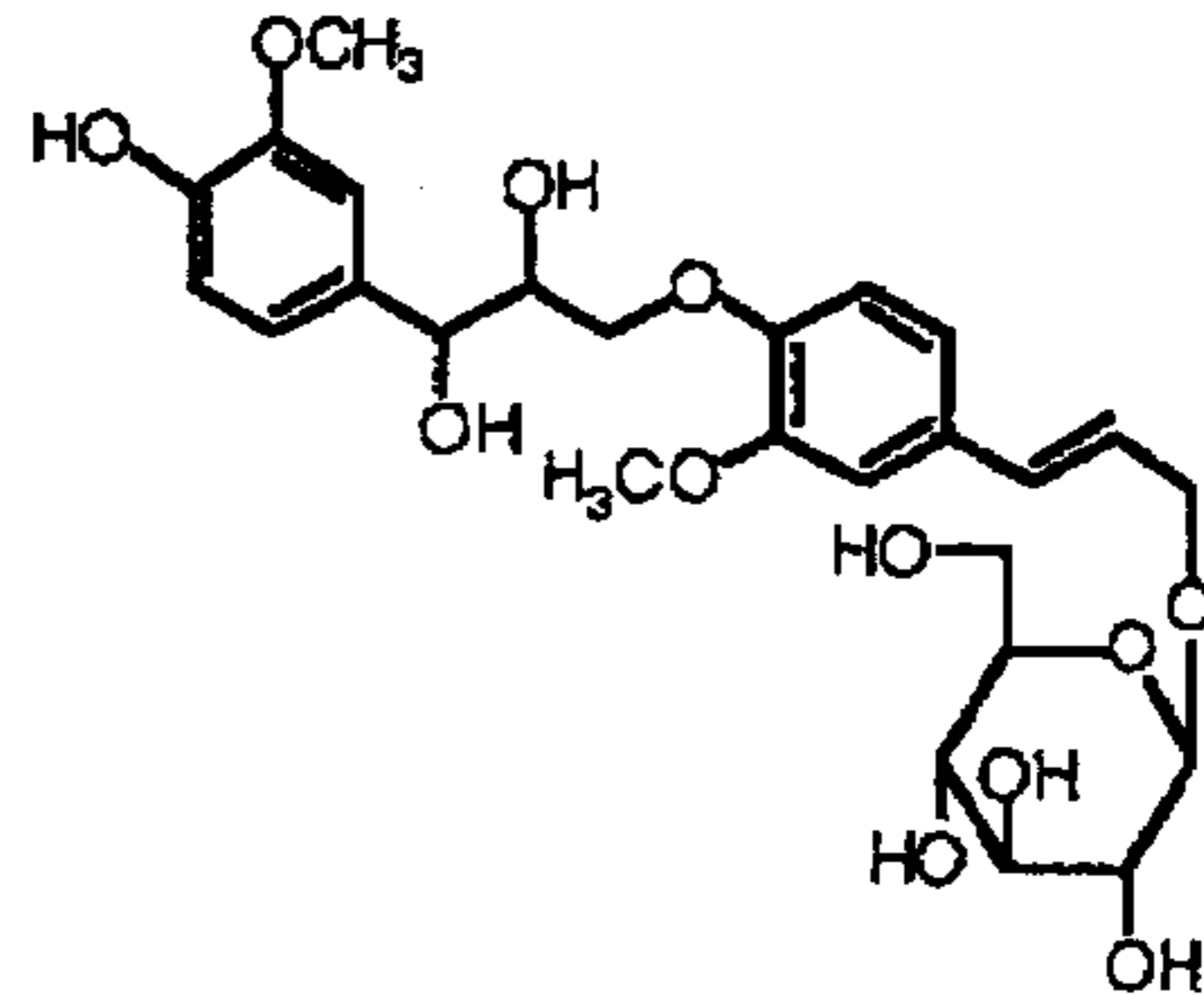
【化20】



【0026】また、本発明は、下記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0027】

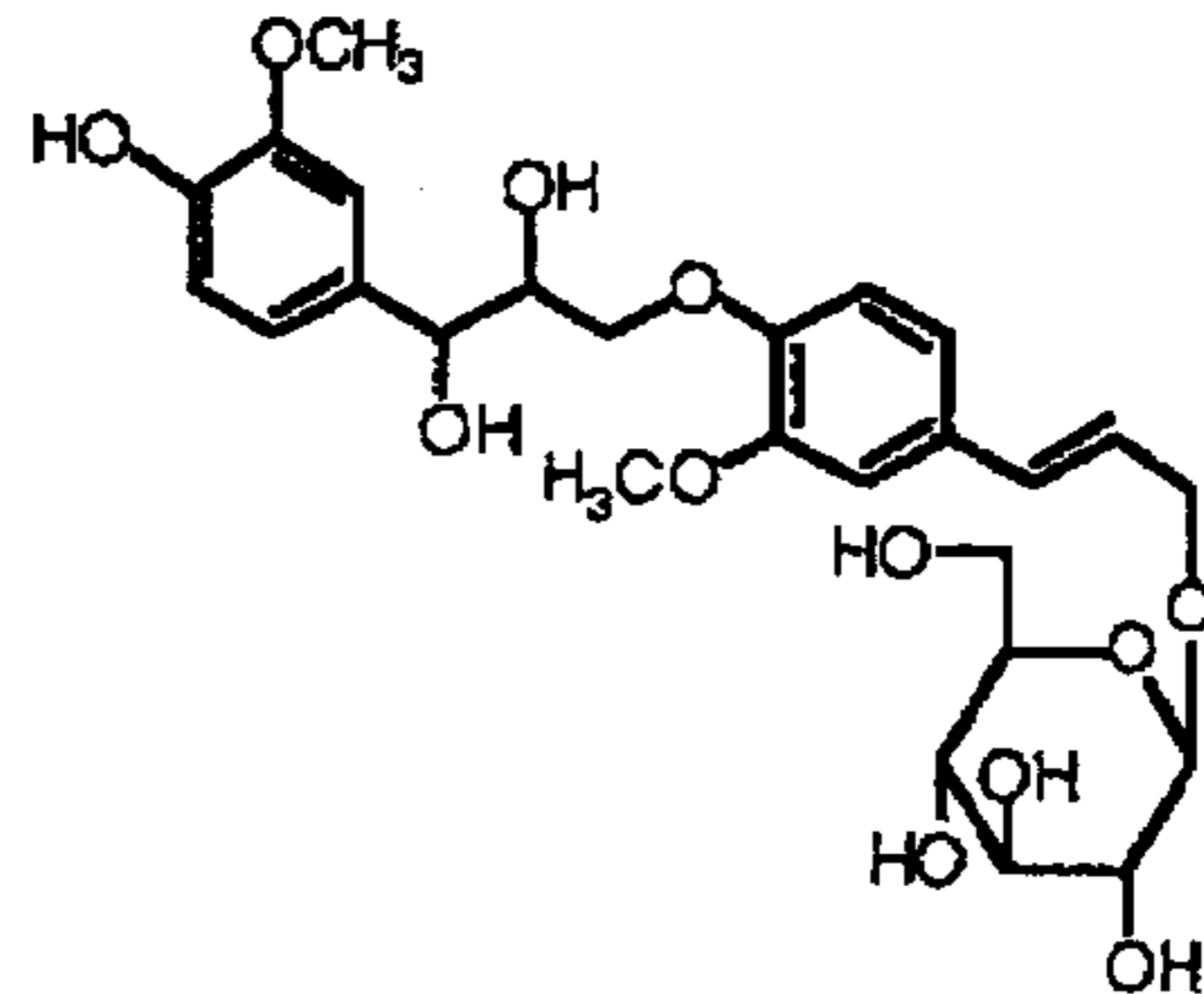
【化21】



【0028】また、本発明は、下記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0029】

【化22】



【0030】

【発明の実施の形態】以下、本発明の新規なケイヒ酸誘導体について詳細に説明する。

【0031】本発明のケイヒ酸誘導体は、前記化学式(1)で示される構造の新規物質、前記化学式(2)で示される構造の新規物質、前記化学式(3)で示される構造の新規物質、前記化学式(5)で示される構造の新規物質、及び前記化学式(6)で示される構造の新規物質である。

【0032】本発明のケイヒ酸誘導体は、*Bidens parviflora* Willd.の全草(地上部)を乾燥又は未乾燥の状態に粗切し、水及び/又は有機溶媒を加えた後濃縮した抽出エキスの状態又はこれをクロマトグラフィや再結晶等により精製した結晶若しくは油状物質の状態に得られる。

【0033】*Bidens parviflora* Willd.の抽出エキスは、上記の乾燥粉末を溶媒によって抽出し、抽出液から溶媒を減圧濃縮などにより除去して得ることが出来る。この溶媒としては、水、メタノール、エタノールなどのアルコール、アセトン、および、これらの混合物等が使

用できる。

【0034】抽出溶媒の使用量は、*Bidens parviflora* Willd. 1重量部に対して、抽出溶媒として水及び／又は有機溶媒を5～20重量部とすることが好適である。

【0035】抽出エキスは、必要により、さらに、カラムクロマトグラフィなどの常用の手段を用いて精製してもよい。

【0036】また、*Bidens parviflora* Willd.を乾燥した後、粉碎して、乾燥粉末とすることもできる。この際、乾燥及び粉碎は常法によって行えばよい。乾燥は、熱を加えない自然乾燥が好ましい。粉碎の程度は、剤形に合わせて適宜選択される。

【0037】次に、本発明の、前記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、前記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、前記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、及び前記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物について詳細に説明する。

【0038】本発明の各組成物は、前記化学式(1)、(2)、(3)、(5)又は(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有効成分として有するものである。本発明の組成物としては、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤として用いることが好適である。以下、本発明の組成物として好適な抗アレルギー剤について説明する。

【0039】前記ケイヒ酸誘導体を含む本発明の抗アレルギー剤は、通常、従来の方法にしたがって製剤化される。製剤化の際には、医薬用に使用されている種々の補助剤、すなわち、蒸留水、白色ワセリンなどの担体やその他の助剤、例えば、安定剤、防腐剤、乳化剤などを必要に応じて使用する。剤形の例としては、錠剤、散剤、顆粒剤、液剤、ローション、懸濁剤、クリーム、軟膏、噴霧液、入浴剤などがあり、これらの剤形は投与方法に合わせて適宜選択される。例えば、外用剤の場合、液剤、ローション、懸濁剤、クリーム、軟膏、噴霧液、入浴剤などの剤形が選択される。

【0040】本発明の抗アレルギー剤(製剤)への前記ケイヒ酸誘導体の配合量は、該誘導体を抽出エキスの状態で配合する場合、通常、1～30重量%、好ましくは2～15重量%であり、該誘導体を精製した物質として粉末状で配合する場合、通常、1～20重量%、好ましくは2～10重量%である。

【0041】本発明の抗アレルギー剤は、通常、経口、外用(局所)、吸入ないし通気、および、これらの組み合わせにより投与され、好ましくは、外用により投与される。投与量は、投与方法によって異なるが、例えば、局所投与の場合、乾燥粉末を5～15重量%含有する製剤を1日1回ないし数回塗布する。また、経口投与の場合、通常、成人で、乾燥粉末では0.3～0.5gを1

日1回ないし数回投与する。

【0042】なお、上記の用量および用法は、患者の年齢、性別、症状および重傷度ならびに、他の薬剤の使用などの条件により変化するものであり、上記の範囲にとられることなく変更することが可能である。

【0043】本発明の抗アレルギー剤では、特に、慢性気管支炎、気管支喘息に対する治療効果が著しい。その効果は、肥満細胞を用いたヒスタミン遊離抑制試験によってヒスタミン遊離抑制活性が確認されている。したがって、慢性気管支炎、気管支喘息に限らず、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症等の何れのアレルギー疾患にも適用できると期待される。

【0044】また、本発明の組成物として好適な抗炎症剤についても、前述した抗アレルギー剤と同様のものである。従って、本発明の抗炎症剤は、抗アレルギー剤についての前記説明が適宜適用される。

【0045】なお、*Bidens parviflora* Willd.の煎じ液は、古くから飲用されており、その安全性は確認されている。

【0046】前述の新規なケイヒ酸誘導体を有する本発明の組成物は、抗アレルギー剤又は抗炎症剤として特に好適であるが、その他の医薬品、医薬部外品、化粧品、食品等として用いることができる。

【0047】次に、本発明の、前記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を有する組成物について説明する。本発明の組成物は、前記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を有効成分とする以外は、前記化学式(1)～(3)、(5)及び(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物と同様のものである。従って、本発明の項において、特に詳述しない点については、前述の組成物における記載が適宜適用される。例えば、本発明の組成物も、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤として用いることが好適である。

【0048】本発明の組成物は、前記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を、前述した化学式(1)～(3)、(5)及び(6)で示されるケイヒ酸誘導体と同様にして*Bidens parviflora* Willd.から単離し、これに必要に応じて他の成分を添加して製剤することにより得ることができる。

【0049】本発明の組成物(好ましくは抗アレルギー剤又は抗炎症剤)への前記化学式(4)で示される化合物の配合量、及び本発明の組成物(好ましくは抗アレルギー剤又は抗炎症剤)の投与量については、前述した前記化学式(1)～(3)、(5)及び(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物の場合と同様である。

【0050】

【実施例】以下、実施例を挙げて、本発明を更に詳細に説明する。しかしながら、本発明はこれらの実施例に何等限定されるものではない。

【0051】(実施例1)キク科Bidens植物属の小花鬼針草(*Bidens parviflora* Willd.)の全草5.5kgを、60%エタノール(エタノール:水=6:4、容量比、以下同じ)55Lに12時間浸した後、1時間加熱循環することにより抽出液を得た。さらに、1回、同様に60%エタノール55Lにて抽出し、これらの抽出液を合わせ、減圧濃縮により褐色の粉末エキス674.2gを得た。

【0052】この粉末エキス674.2gを水2Lに溶解し、n-ヘキサン2L、酢酸エチル2L及びブタノール2Lで順次それぞれ3回ずつ抽出した。このうち、ブタノール画分の抽出液を減圧濃縮し、184.6の褐色粉末を得た。

【0053】上記画分のうち、ブタノール画分濃縮エキス176.2gをとり、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、12×25cm)に付し、水4.5L、20%メタノール8L、40%メタノール4.5L、60%メタノール7L、80%メタノール3.5L、続いて100%メタノール2.5Lで、順次溶出した。

【0054】これらの画分のうち、60%メタノール溶出液の画分を減圧濃縮し、この減圧濃縮物(8.9467g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300、和光純薬社製、6.5×25cm)に付し、クロロホルム:メタノール=100:0、95:5、90:10、85:15、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100でそれぞれ2Lずつ溶出した。そのうち、クロロホルム:メタノール=90:10の溶出分画を集め、その減圧濃縮物(1.3812g)について、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×10cm)に付し、メタノール:水=1:1で40mlずつ分画した。画分7-15を集め、その減圧濃縮物(1.3556g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてFluotix(INW125、NEOS社製、10×250mm)を用い、移動相としてアセトニトリル:水=1:5を用い、流速4ml/min(室温)で溶出させ、保持時間17分5秒に溶出するピーク(UV254nm)を分取した。

【0055】これを減圧濃縮し、メタノールから再結晶して無色針状晶(収量50.2mg)を得た。得られた結晶は、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、化合物4であることを確認した。

【0056】(実施例2及び3)実施例1において得た80%メタノール溶出液の画分を集め、この減圧濃縮物(23.687g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300、和光純薬社製、6.5×40cm)に付し、クロロホルム:メタノール=100:0、95:5、90:10、85:15、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100でそれぞれ2Lずつ溶出した。そのうち、クロロホルム:メタノール=80:20

の溶出分画を集め、その減圧濃縮物(3.1423g)について、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×10cm)に付し、メタノール:水=1:1で溶出し、40mlずつ分画した。画分21-25を集め、その減圧濃縮物(1.8346g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてAQUASIL SS-4251(60)(セシュー社製、10×250mm)を用い、移動相としてクロロホルム:メタノール:水=40:16:1.5の混合溶媒を用い、流速2ml/min(室温)で溶出させ、保持時間15分31秒及び31分20秒にそれぞれ溶出するピーク(UV254nm)を分取した。

【0057】これらの2つの画分をそれぞれ減圧濃縮し、黄色粉末(保持時間15分31秒、収量17.3mg)及び白色粉末(保持時間31分20秒、収量37.1mg)をそれぞれ得た。得られた粉末は、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、それぞれ化合物1及び化合物2の構造を決定した。

【0058】(実施例4)実施例2及び3において得た画分のうち、クロロホルム:メタノール=95:5の溶出画分を集め、その濃縮物(3.1423g)についてSephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×20cm)に付し、メタノール:水=1:1で、40mlずつ溶出し、画分18-21を集め、その減圧濃縮物(1.0123g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてFluotix(INW125、NEOS社製、10×250mm)を用い、移動相として(アセトニトリル:水=18:82(容量比)の混合溶媒)を用い、流速4ml/min(室温)で溶出させ、保持時間20分12秒に溶出するピーク(UV254nm)を分取した。

【0059】この減圧濃縮物をメタノールから再結晶して、白色結晶(収量12.4mg)を得た。得られた結晶は、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、化合物3の構造を決定した。

【0060】(実施例5)実施例1において得た20%メタノール溶出液の画分を集め、この減圧濃縮物(32.6169g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300、和光純薬社製、6.5×25cm)に付し、クロロホルム:メタノール=100:0、95:5、90:10、85:15、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100でそれぞれ2Lずつ分画した。そのうち、クロロホルム:メタノール=50:50の溶出分画を集め、その減圧濃縮物(4.4632g)について、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×10cm)に付し、メタノール-水の混合溶媒(メタノール:水=1:1)で40mlずつ分画した。これにより、フラクション5-12を集めた。その減圧濃縮物(0.8142g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてFluotix(INW125、NEOS社製、10×250mm)を用い、移動相としてメタノー

ル-水の混合溶媒（メタノール：水=1：5）を用い、流速3ml/min（室温）で溶出させ、保持時間13分55秒に溶出するピーク（UV254nm）を分取した。

【0061】これを減圧濃縮し、黄色オイル（収量23.2mg）を得た。得られたオイルは、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、化合物5の構造を決定した。

【0062】（実施例6）実施例5において得た画分のうち、クロロホルム：メタノール=60：40の溶出画分を集めた。その減圧濃縮物（3.1611g）を、Sephadex LH-20カラム（Pharmacia Biochem.社製、3×20cm）に付し、メタノール：水=1：1、40mlずつ分画し、画分を集め、画分6-14減圧濃縮物（0.6125g）をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてFluotix（INW125, NEOS社製、10×2 *

*50mm）を用い、移動相としてアセトニトリル-水の混合溶媒（アセトニトリル：水=18：82（容量比））を用い、流速3ml/min（室温）で溶出させ、保持時間10分11秒に溶出するピーク（UV254nm）を分取した。

【0063】これを減圧濃縮し、黄色オイル（収量16.3mg）を得た。得られたオイルは、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、化合物6の構造を決定した。

10 【0064】各実施例で得られた化合物1、2、3、4、5及び6それぞれの¹H-NMR及び¹³C-NMRのデータを表1~3に示す。また、化合物1、2、3、4、5及び6それぞれの性状、マススペクトル及びその他の物性等のデータを表4に示す。

【0065】

【表1】

(ppm, in CD₃OD)

化合物 1		化合物 2	
位置	H	位置	H
1	127.2 s	1	127.2 s
2	131.4 d	2	131.4 d
3	161.8 d	3	116.8 d
4	161.3 s	4	161.3 s
5	116.8 d	5	116.8 d
6	131.3 d	6	131.4 d
7	146.9 d	7	146.9 d
8	114.9 d	8	115.1 d
9	169.1 s	9	169.4 s
		1'	127.1 s
		2'	131.2 d
		3'	116.8 d
		4'	161.3 s
		5'	116.8 d
		6'	131.2 d
		7'	146.8 d
		8'	114.9 d
		9'	169.1 s
Glucose 部		Glucose 部	
1	93.4 d	1	93.2 d
2	73.4 d	2	73.3 d
3	74.8 d	3	74.8 d
4	71.6 d	4	72.2 d
5	74.3 d	5	72.2 d
6	62.5 t	6	65.5 t
Fructose 部		Fructose 部	
1	63.8 t	1	64.1 t
2	105.5 s	2	105.5 s
3	78.9 d	3	79.0 d
4	76.8 d	4	77.0 d
5	80.8 d	5	80.8 d
6	66.8 t	6	66.8 t

(t)値は結合定数 (Hz)

【0066】

【表2】

化合物 3		化合物 4	
位置	C	位置	C
1	133.6 s	1	127.8 s
2	114.7 d	2	116.5 d
3	146.2 s	3	149.4 s
4	145.3 s	4	146.6 s
5	116.3 d	5	115.1 d
6	118.9 d	6	122.8 d
7	43.9 d	7	146.8 d
8	50.3 d	8	171.2 s
9	175.0 s	OCH ₃	52.1 q
1'	133.6 s		
2'	114.7 d		
3'	146.2 s		
4'	145.3 s		
5'	116.3 d		
6'	118.9 d		
7'	43.9 d		
8'	50.3 d		
9'	175.0 s		
OCH ₃	52.5 q		

【0067】

* * 【表3】

化合物 5		化合物 6	
位置	C	位置	C
1	130.2 s	1	134.1 s
2	112.8 d	2	119.9 d
3	148.8 s	3	148.7 s
4	153.2 s	4	147.1 s
5	115.9 d	5	115.7 d
6	130.3 d	6	121.1 d
7	199.3 s	7	74.2 d
8	64.5 t	8	85.2 d
9	49.3 d	9	62.3 t
OCH ₃	56.6 q	OCH ₃	56.6 q
1'	130.2 s	1'	132.8 s
2'	112.8 d	2'	120.9 d
3'	148.8 s	3'	151.9 s
4'	143.6 s	4'	149.2 s
5'	154.0 s	5'	118.8 d
6'	110.4 d	6'	111.5 d
7'	190.8 d	7'	194.4 d
8'	190.6 d	8'	125.2 d
9'	63.6 t	9'	70.9 t
OCH ₃	56.5 q	OCH ₃	56.4 q
Glucose 部		Glucose 部	
1	105.9 d	1	103.3 d
2	78.5 d	2	75.2 d
3	78.0 d	3	78.0 d
4	71.0 d	4	71.7 d
5	76.1 d	5	78.2 d
6	62.3 t	6	67.2 t

【0068】

【表4】

	化合物 1	化合物 2	化合物 3	化合物 4	化合物 5	化合物 6
性状	黄色粉末	黄色粉末	白色針状結晶	無色針状結晶	黄色オイル	黄色オイル
FAB-MS (m/z)	489[M+H] ⁺	635[M+H] ⁺	388.1 [M] ⁺	194[M] ⁺	537[M-H] ⁻	537[M-H] ⁻
HR-FAB-MS			EI-MS (m/z)	EI-MS (m/z)		
実測値	489.16072	635.19757	388.11550	194.04412	537.19659	537.19700
計算値	489.16082	635.19619	388.11580	194.04224	537.19712	537.19712
分子量	488.2	634.2	388.1	194.0	538.2	538.2
分子式	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₃	C ₃₀ H ₃₄ O ₁₅	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	C ₂₉ H ₃₀ O ₁₂	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₂
UV λ _{max} ^{MeOH} nm (ε)	312 (43,700) 229 (21,400)	312 (1,900) 229 (1,300)	284 (22,900) 236 (31,600)	322 (14,275) 263 (5,593)	267 (10,800) 248 (8,800) 222 (21,900)	268 (10,500) 246 (28,400) 207 (24,800)
IR ν _{max} ^{KBr} cm ⁻¹	3380 1693 1598 1513 1448 1267 1174 1060	3399 1691 1598 1513 1446 1267 1174 1060	3401 3324 1712 1616 1535 1448 1361 1302	3415 3234 2534 2404 1746 1600 1517 1440	3395 2932 1662 1587 1462 1423 1273 1232	3412 2931 1715 1604 1512 1482 1422 1369

【0069】表1~6の結果から、化合物1は前記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体であり、化合物2は前記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体であり、化合物3は前記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体であることが確認された。また、化合物4は、前記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体であることが確認された。さらに、化合物5は前記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体であり、化合物6は前記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体であることが確認された。

【0070】(実施例7)ヒスタミン遊離抑制効果
Compound 48/80刺激によるマスト細胞からヒスタミン遊離における、化合物1~6 (Bidens parviflora Willd.から単離したケイヒ酸誘導体)それぞれのヒスタミン遊離抑制効果としての阻害率を下記試験法に従って求めた。そして、この阻害率から、IC₅₀。(ヒスタミンを50%抑制するときの濃度)(μg/mL)を求めることにより、ヒスタミン遊離抑制効果を評価した。その結果を表5に示す。尚、比較例として、インドメタシンのIC₅₀値も併せて示す。

【0071】〔ヒスタミン遊離抑制効果試験法〕7~8週齢のWister系ラットを断頭後放血させ、腹腔内に冷タイロート液を注入し、公知の方法により肥満細胞を単離し、1~2×10⁶ cells/mLとなるように0.1%牛血清アルブミン(BSA)を含むタイロート液に懸濁し、細胞浮遊液を調製した。各化合物を各濃度(100 μg/mL)に調整した試料溶液に上記細胞浮遊液を加えて37℃、5分間インキュベートを行い、脱顆粒誘発剤としてCompound 48/80を加え、37℃、10分間インキュベートを行う。これらの

反応液は水冷して反応停止、遠心分離した上澄に0.1N塩酸を加えた後、ヒスタミン量をOndaら(J. Med. Sci, 27, 93(1978))の方法に準じて高速液体クロマトグラフィにより測定した。

【0072】この結果から、阻害率を次式により算出した。

$$\text{阻害率 (\%)} = \{1 - (A - B) / (C - B)\} \times 100$$

A : 単離化合物の存在下で compound 48/80により遊離されるヒスタミン量

B : 自発的に遊離されるヒスタミン量

C : compound 48/80により遊離されるヒスタミン量

【0073】

【表5】

ヒスタミン遊離阻害作用試験の結果

化合物	ヒスタミン IC ₅₀ (μg/mL)
1	28.6
2	45.2
3	48.8
4	36.9
5	19.6
6	19.4

インドメタシン (比較例) IC₅₀ 89.5 μg/mL

【0074】(実施例8)プロスタグランジンE₂ (PGE₂)抑制効果

RAW264.7細胞(大日本製薬社製)を1.0×10⁵個/mLの濃度に調製し、48穴プレートに300 μLずつ分注し、5%CO₂で10分間培養した。検体を投与した後、LPS(マクロファージのリポポリサッ

カライド、Sigma社製、終濃度100ng/mL) 3μLを加え、37℃、5%CO₂にて16時間培養した。上清採取し、遠心分離器10000rpmショットにて遠心した。この上清240μLを採取し、ELISAキット(amer sham pharmacia biotech社製)にて定量を行った。ELISAには上清を12倍希釈して用いた。検体は、ジメチルスルホキシドに溶解し(終濃度0.2%, 30μg/mL)になるように投与した。このときのPGE₂の濃度を測定し、その結果を表6に示す。また、検体としての化合物を投与せず、LPSの添加もしない例、及びLPSのみ添加する例をそれぞれ比較例として、これらの場合も同様の方法でPGE₂の濃度を測定し、その結果を表6に併せて示す。

【0075】

【表6】

プロスタグランジンE₂(PGE₂)阻害作用試験の結果

	濃度(μg/mL)	PGE ₂ 濃度(pg/mL)
+NONE		16
+LPSのみ		473
Sample+LPS		
1	30	236
2	30	536
3	30	127
4	30	122

10

20

*

*【0076】

【発明の効果】本発明によれば、副作用の少ない、抗アレルギー物質又は抗炎症剤としての新規なケイヒ酸誘導体が提供される。さらに、本発明によれば、そのような新規なケイヒ酸誘導体又は特定のケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤及び抗炎症剤が提供される。

【手続補正書】

【提出日】平成13年9月13日(2001.9.13)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正内容】

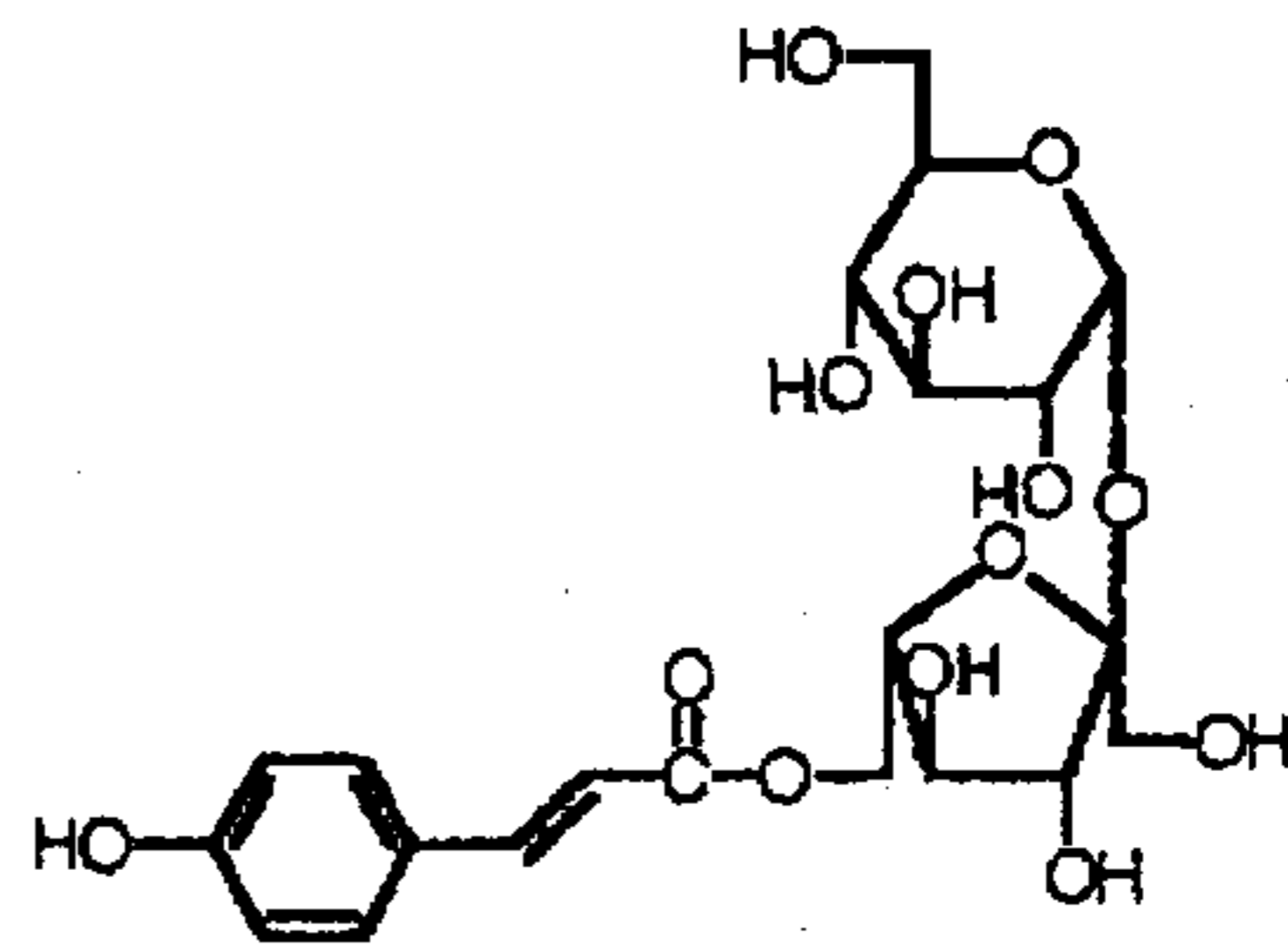
【書類名】明細書

【発明の名称】新規なケイヒ酸誘導体並びにこれを用いた組成物、抗アレルギー剤及び抗炎症剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】下記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

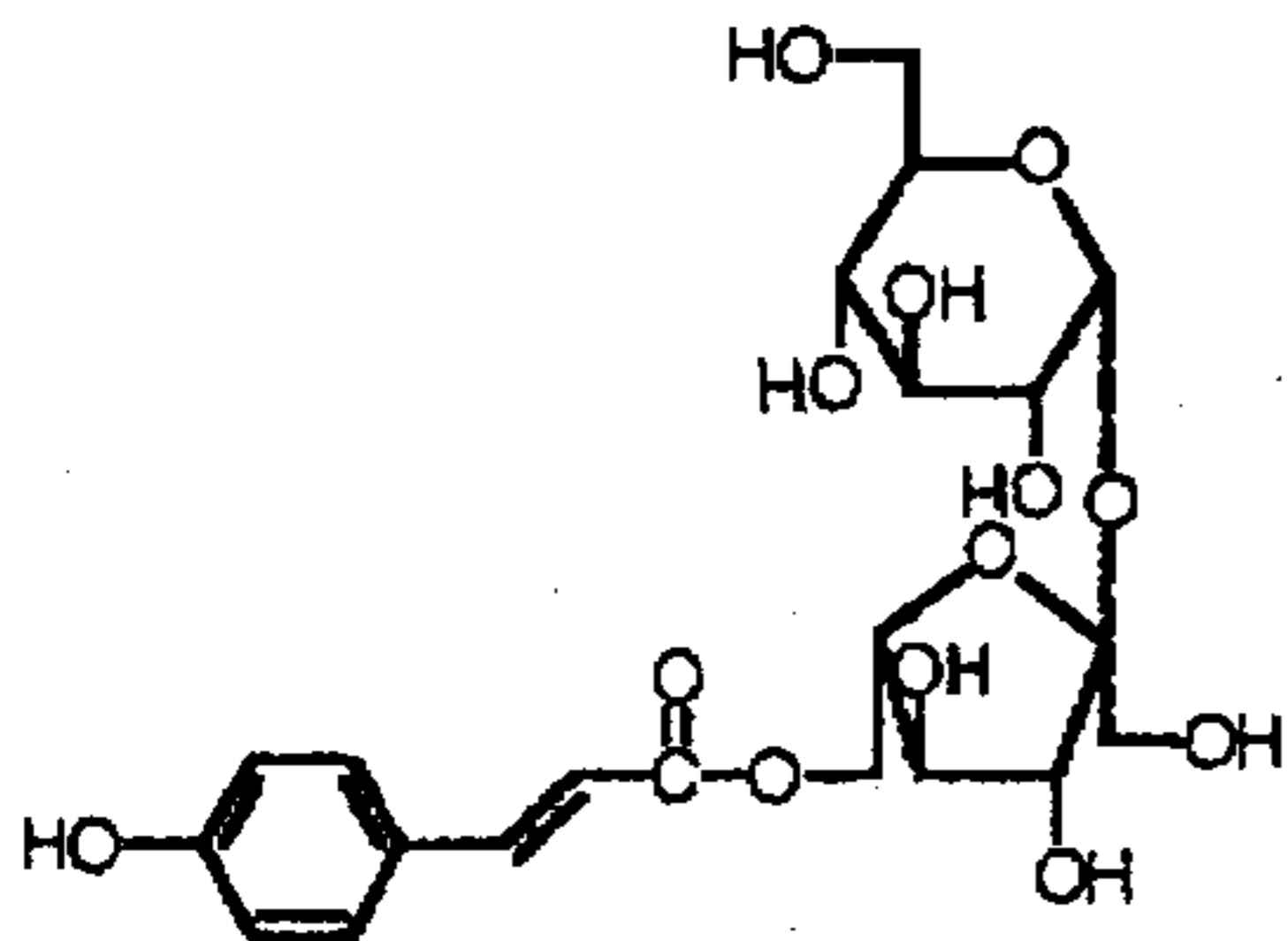
【化1】



(1)

【請求項2】下記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化2】

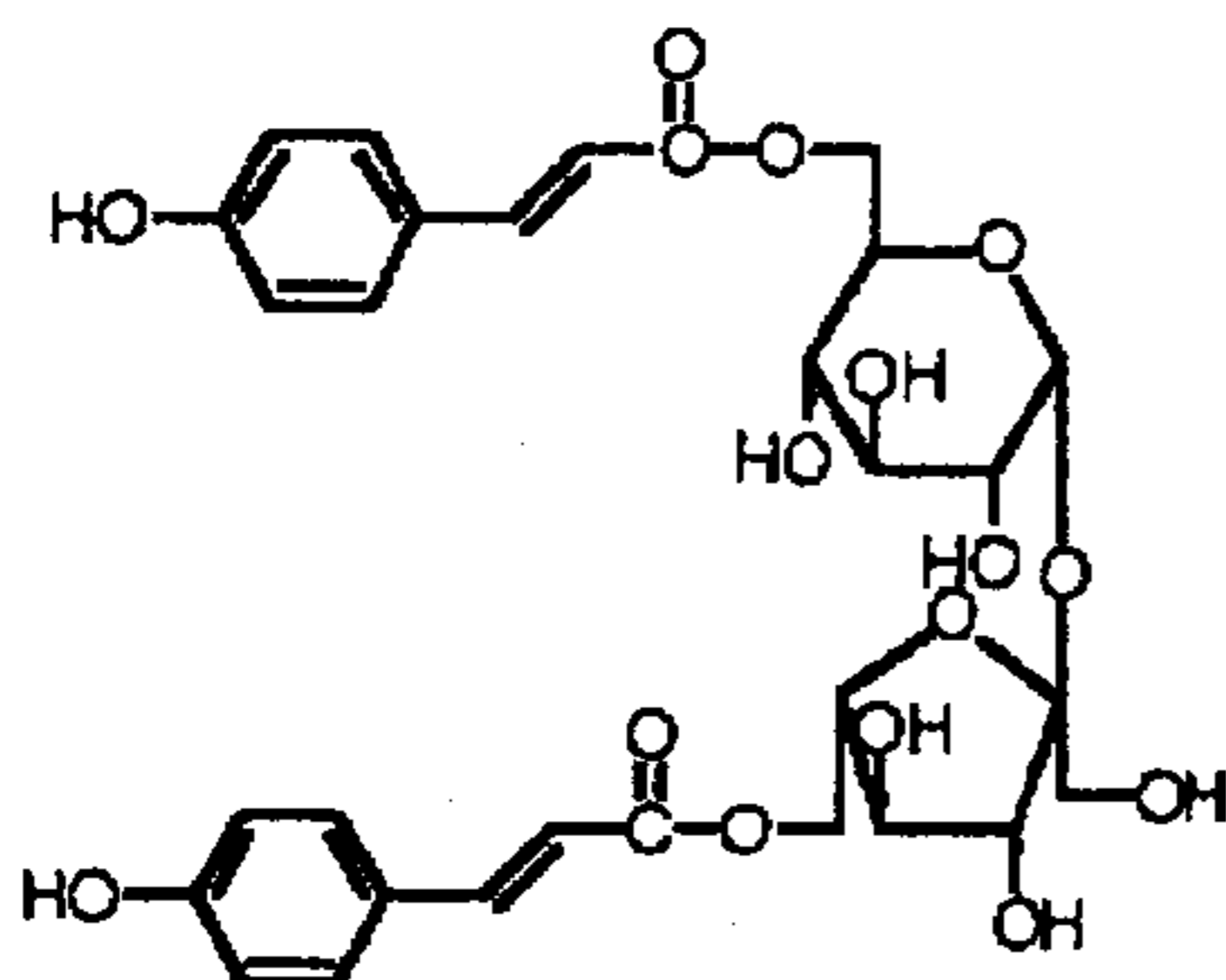


(1)

【請求項3】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項2記載の組成物。

【請求項4】 下記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

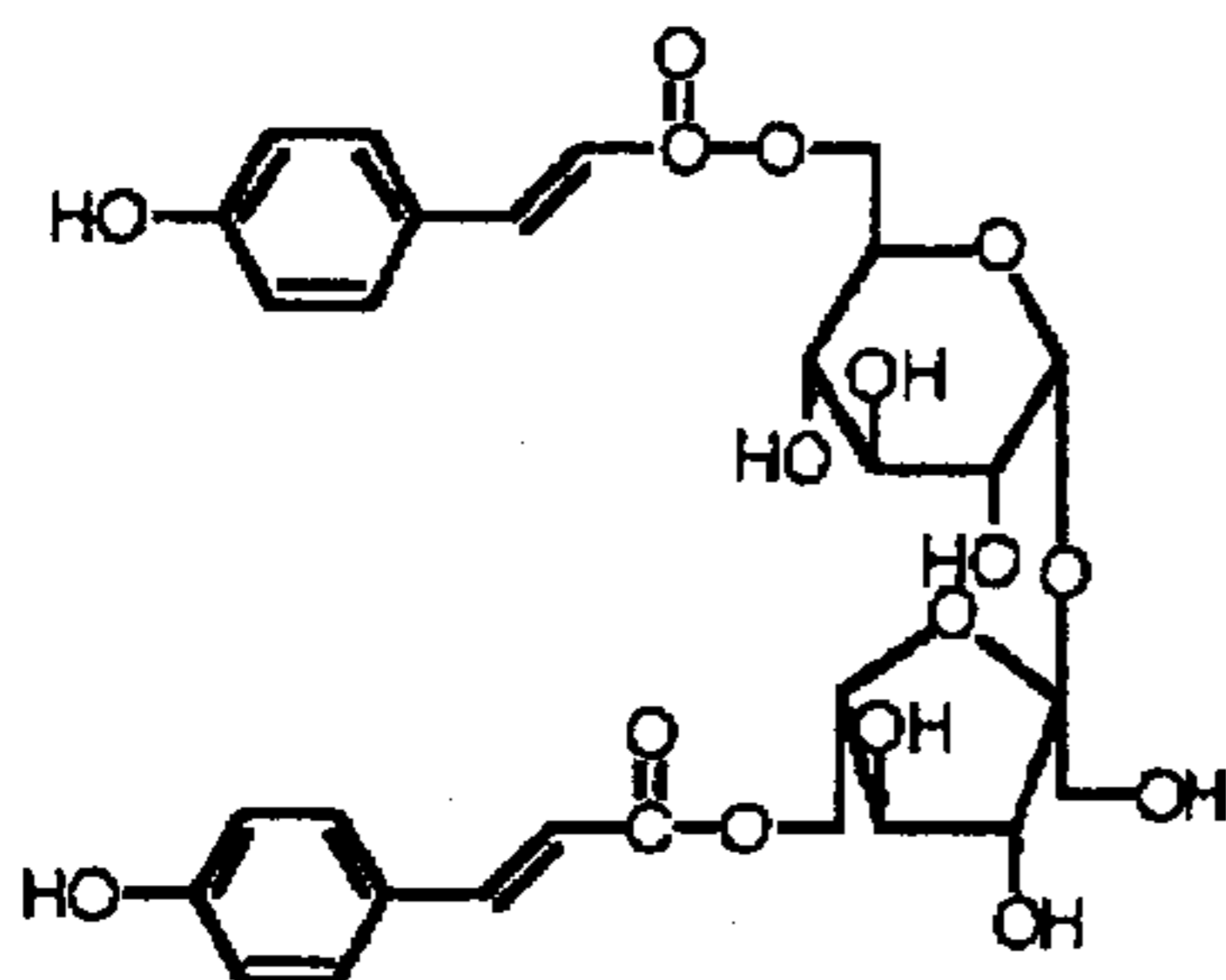
【化3】



(2)

【請求項5】 下記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化4】

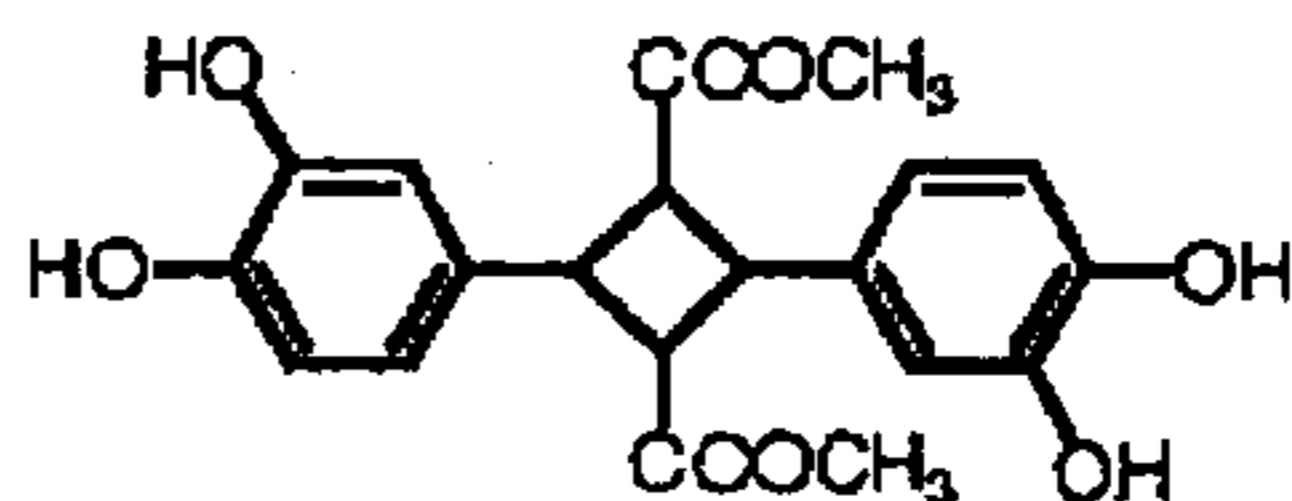


(2)

【請求項6】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項5記載の組成物。

【請求項7】 下記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

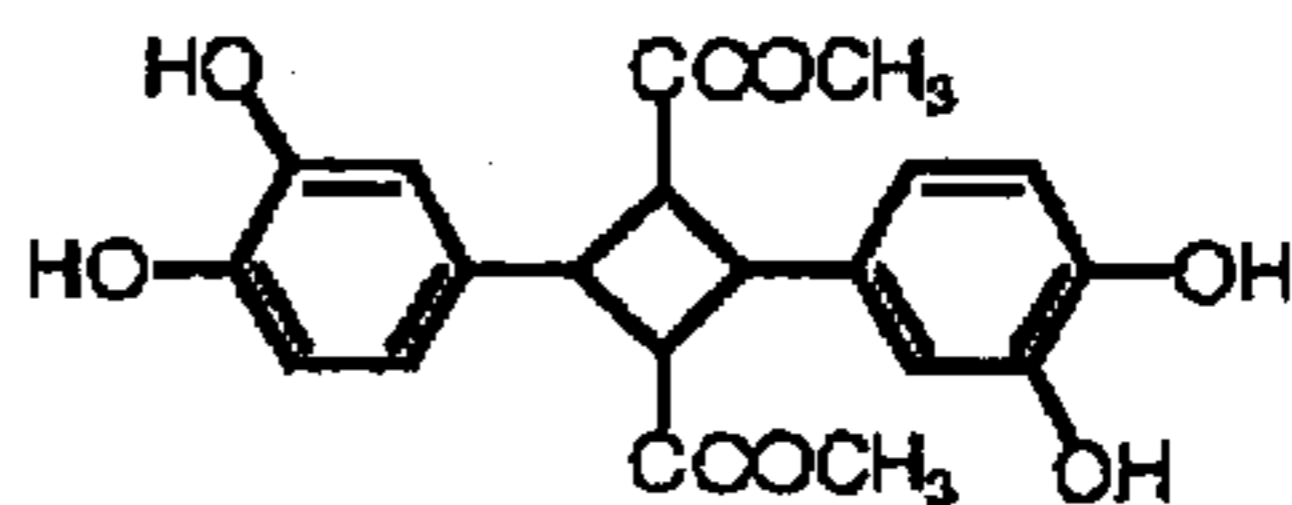
【化5】



(3)

【請求項8】 下記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化6】



(3)

【請求項9】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項8記載の組成物。

【請求項10】 下記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化7】

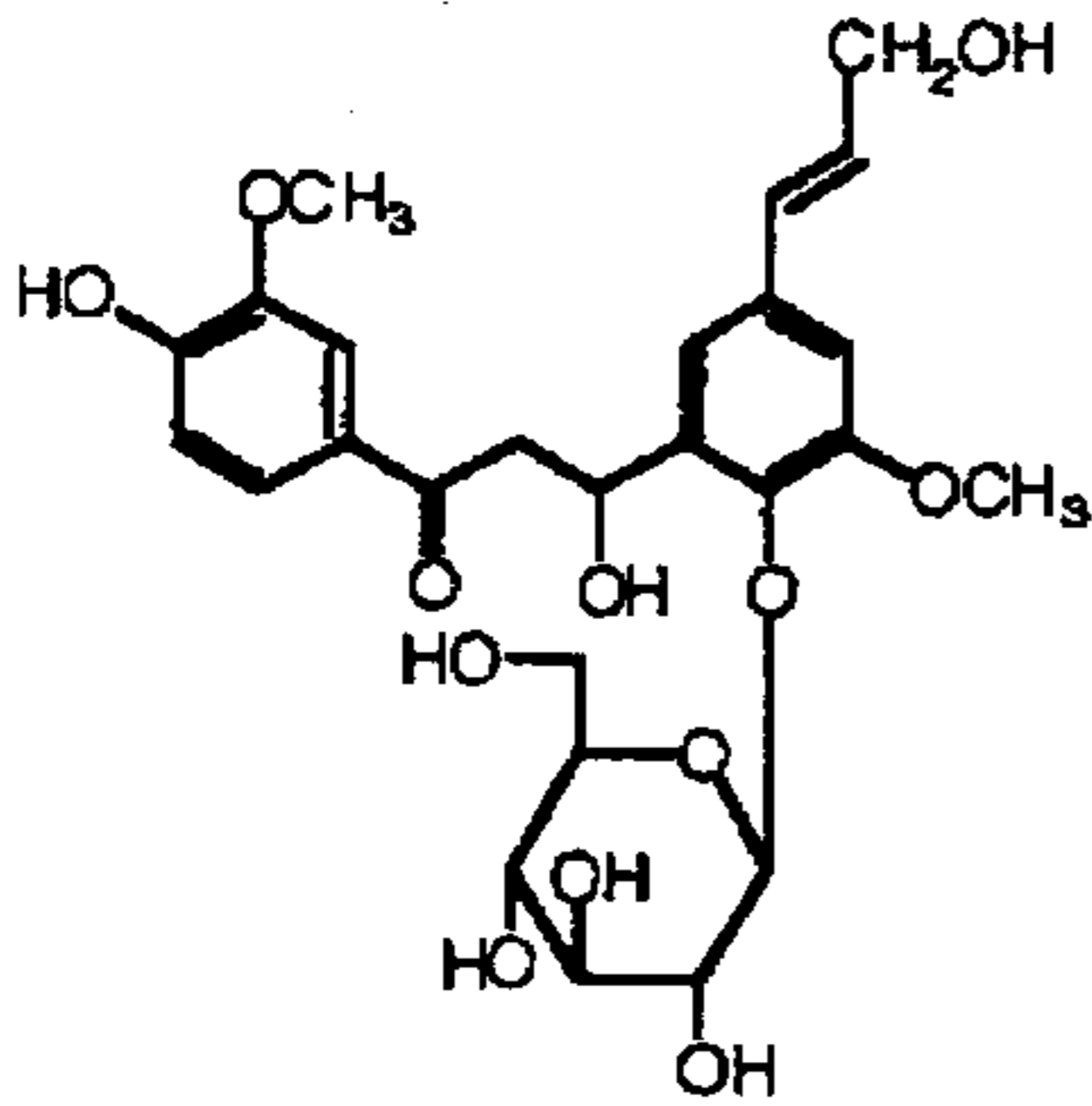


(4)

【請求項11】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項10記載の組成物。

【請求項12】 下記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

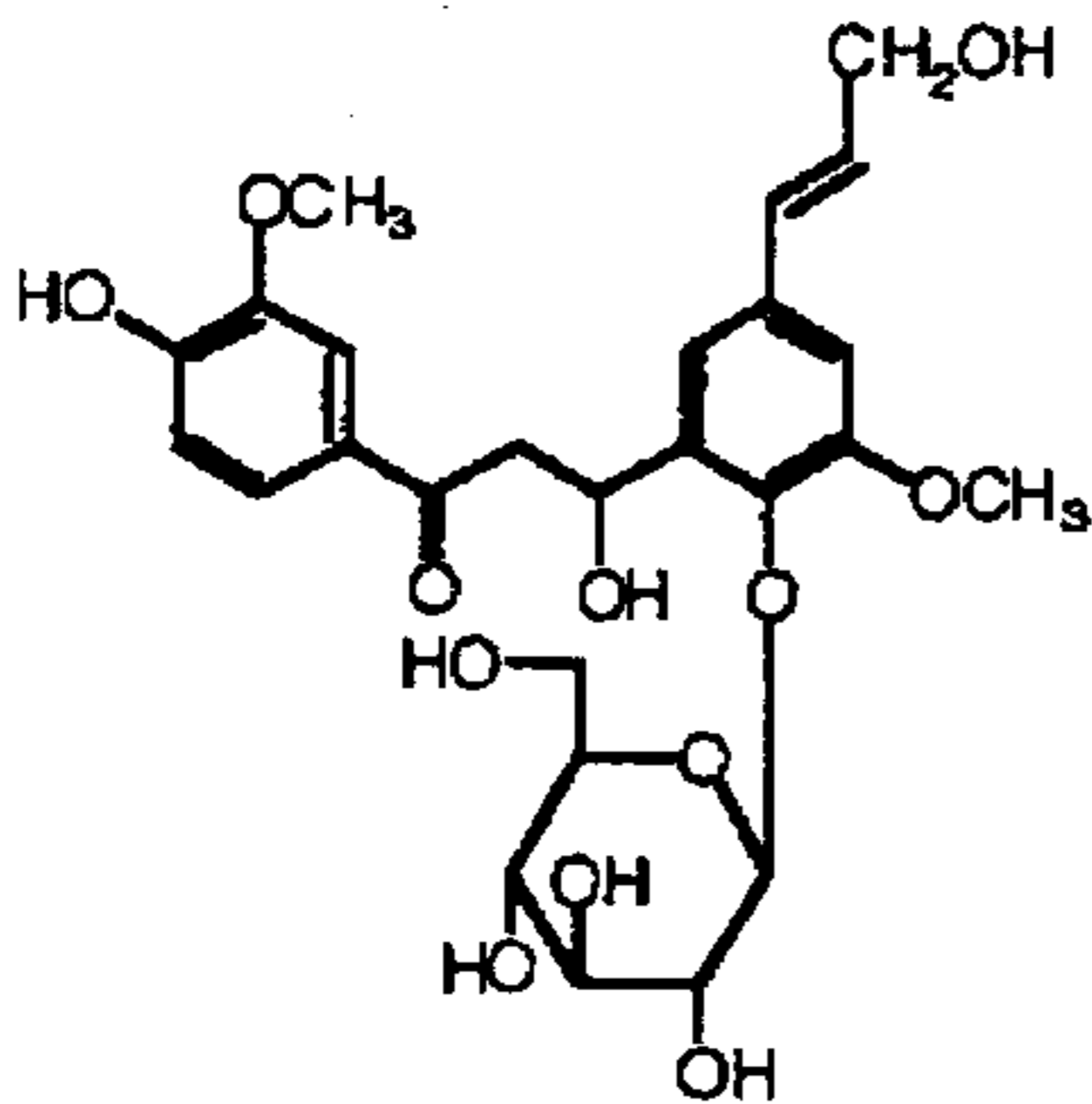
【化8】



(5)

【請求項13】 下記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化9】

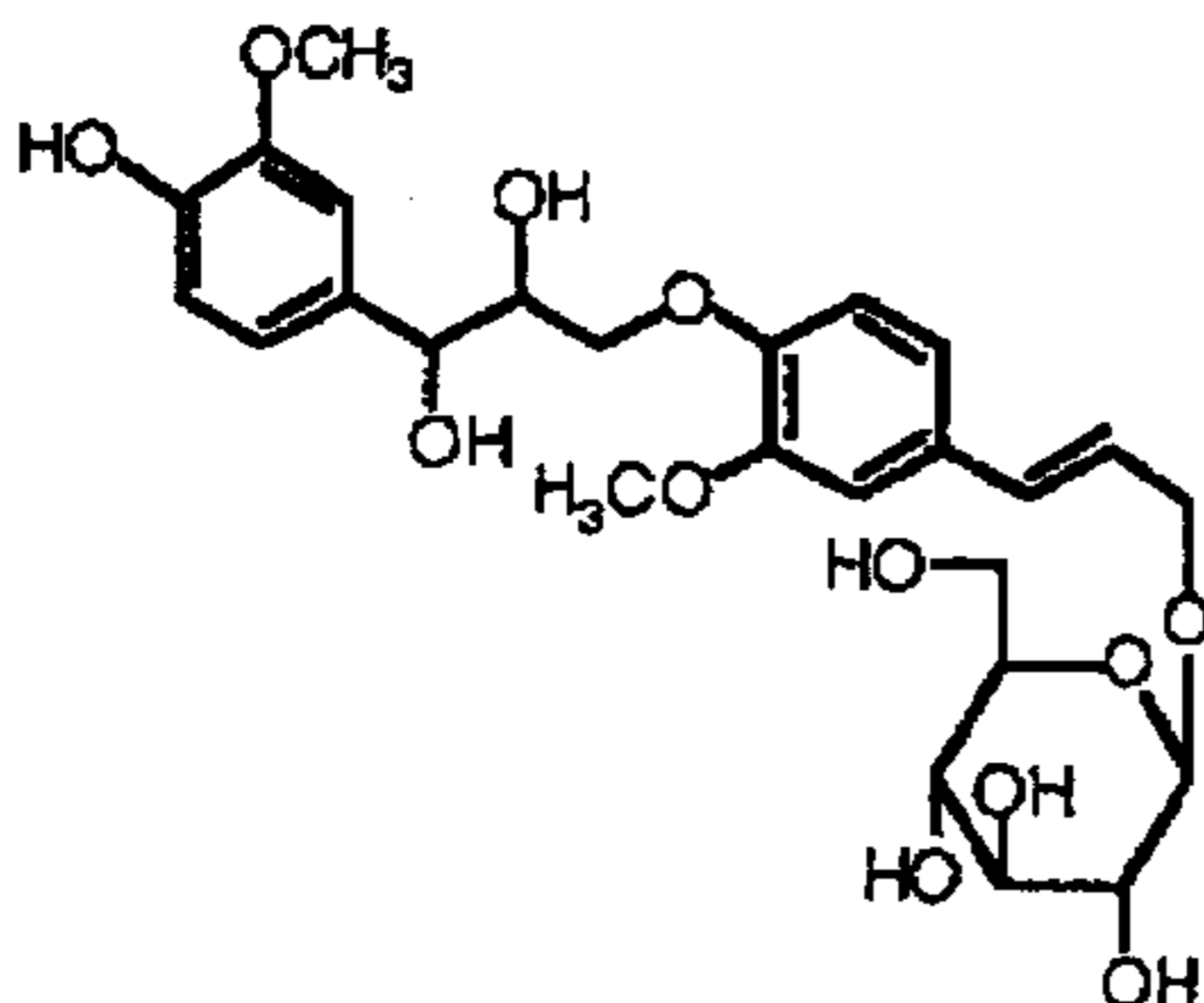


(5)

【請求項14】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項13記載の組成物。

【請求項15】 下記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体。

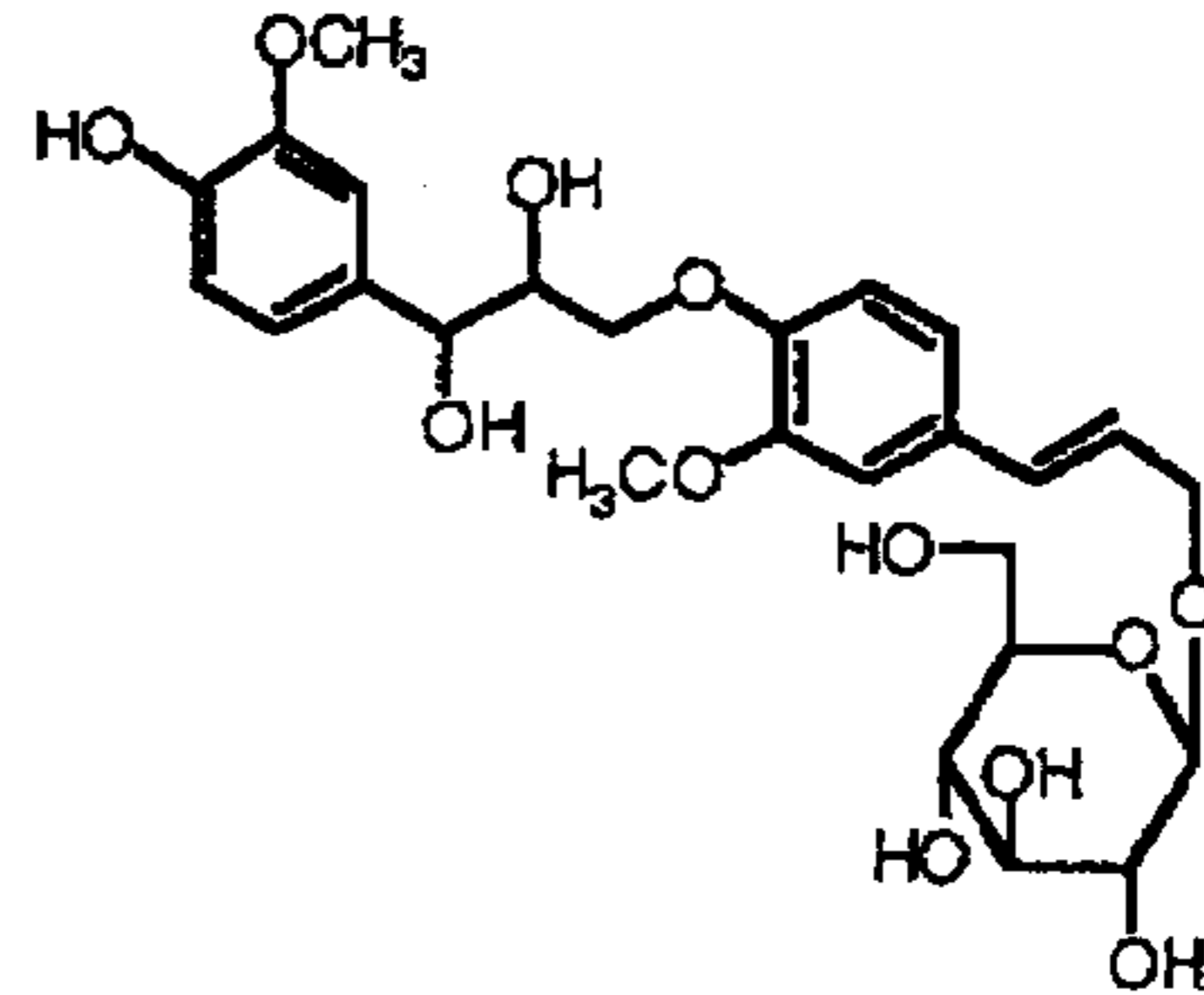
【化10】



(6)

【請求項16】 下記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物。

【化11】



(6)

【請求項17】 抗アレルギー剤用又は抗炎症剤用である請求項16記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、キク科植物である小花鬼針草(中国名)〔学名; *Bidens parviflora* Willd.〕の抽出物である新規なケイヒ酸誘導体並びにこれを有効成分として有する組成物、抗アレルギー剤及び抗炎症剤に関する。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症などのアレルギー疾患が増え続けている。これらのアレルギー疾患は、主にI型アレルギー反応によるものであり、多量に生じた、アレルギーに対する免疫グロブリンE抗体が、肥満細胞の表面でアレルギーと結合することにより起こる化学伝達物質の遊離によって引き起こされることが知られている。

【0003】従来、これらのアレルギー疾患に対する治療剤として、クロモグリク酸ナトリウム、トラニスト、オキサトミド等が開発されているが、これらの薬剤は消化器系や中枢系に対して副作用を伴うことがある。また、近年社会問題になっているアトピー性皮膚炎は、何等かのアレルギーに対するアレルギー反応の結果起こる疾患で、未だに根本的な治療方法がないことから、上記の抗アレルギー剤を用いるか、炎症を抑えるために、ステロイド剤(副腎皮質ホルモン剤)が外用されている。しかしながら、ステロイド剤は副作用が大きいことが多く、慎重な適用が必要とされている。

【0004】また、アレルギー疾患以外の炎症性疾患に対する抗炎症剤においても、種々のものが開発されているが、未だ満足したものは得られていない。

【0005】一方、小花鬼針草 (*Bidens parviflora* Willd.) は、中国内モンゴル、東北、河北、河南各地に広く分布しているキク科植物であり、主に民間薬として、高血圧、喘息、胃潰瘍等に対して用いられている。

【0006】しかしながら、*Bidens parviflora* Willd. が有する抗アレルギー性成分又は抗炎症性成分に対する解明はされていなかった。

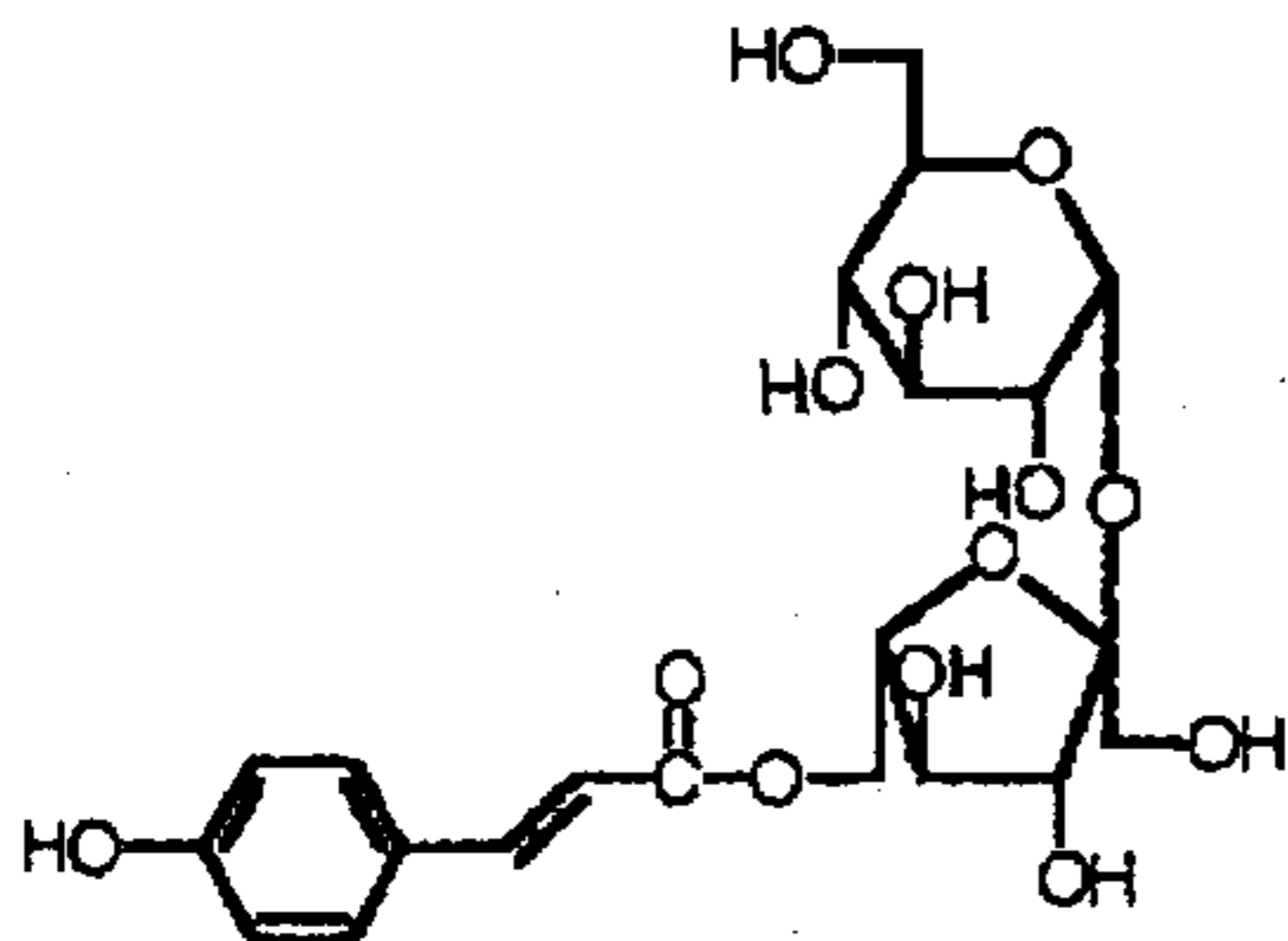
【0007】そこで、本発明は、*Bidens parviflora* Willd. から抽出された抗アレルギー性又は抗炎症性に効果がある有効成分を提供することを目的とする。さらに、本発明の他の目的は、そのような有効成分を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明は、下記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することにより、前記目的を達成したものである。

【0009】

【化12】

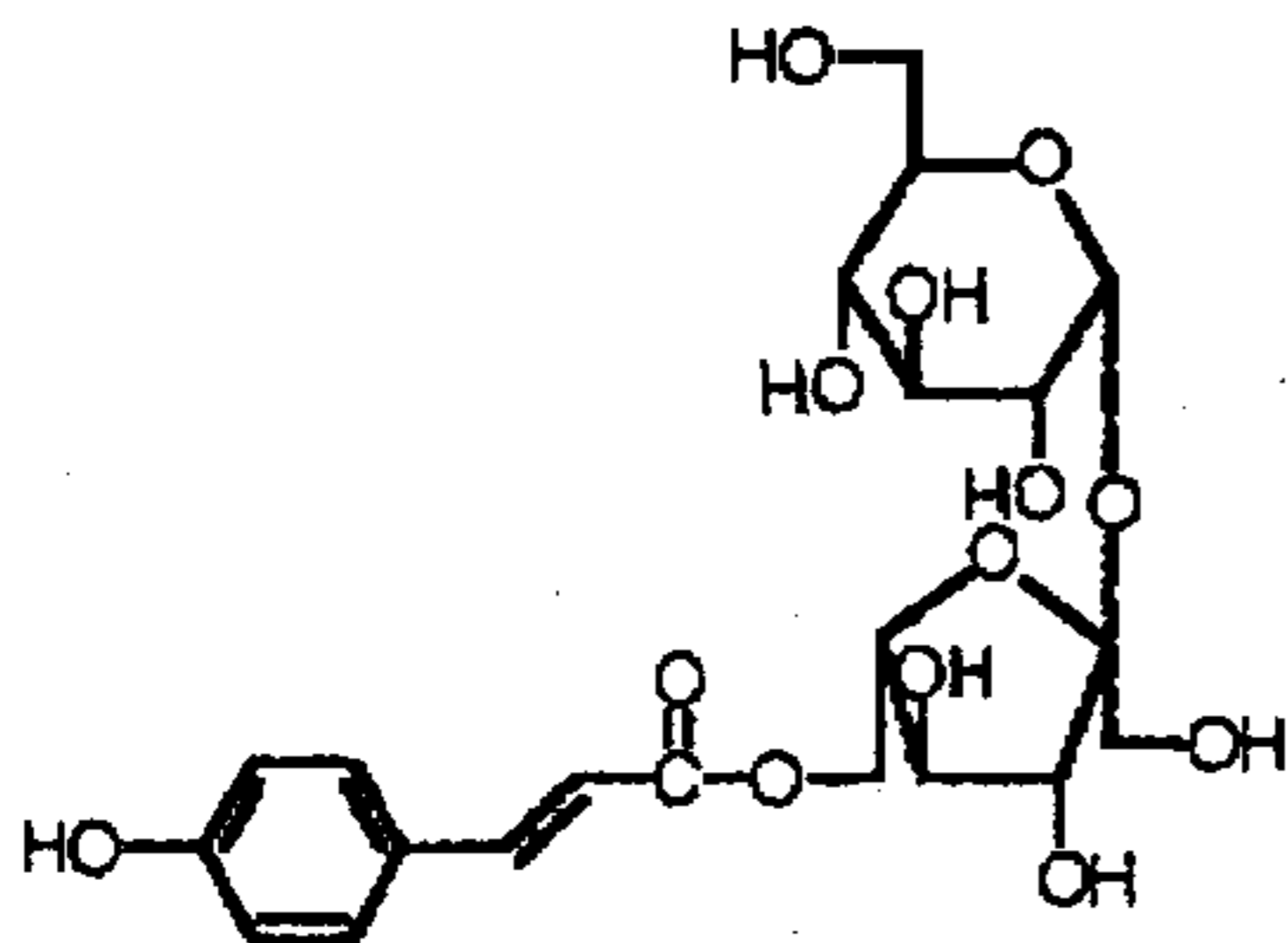


(1)

【0010】また、本発明は、下記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0011】

【化13】

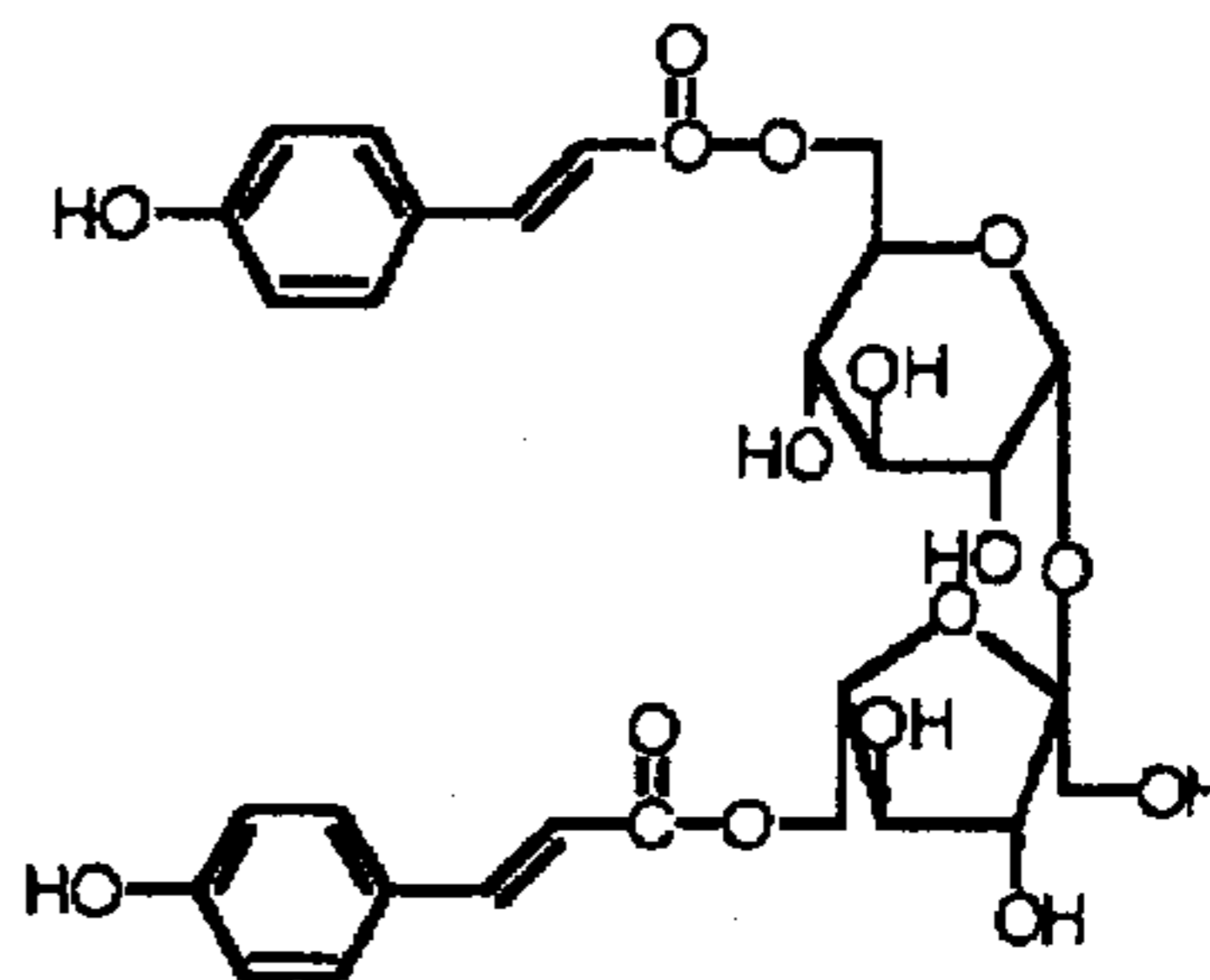


(1)

【0012】また、本発明は、下記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0013】

【化14】

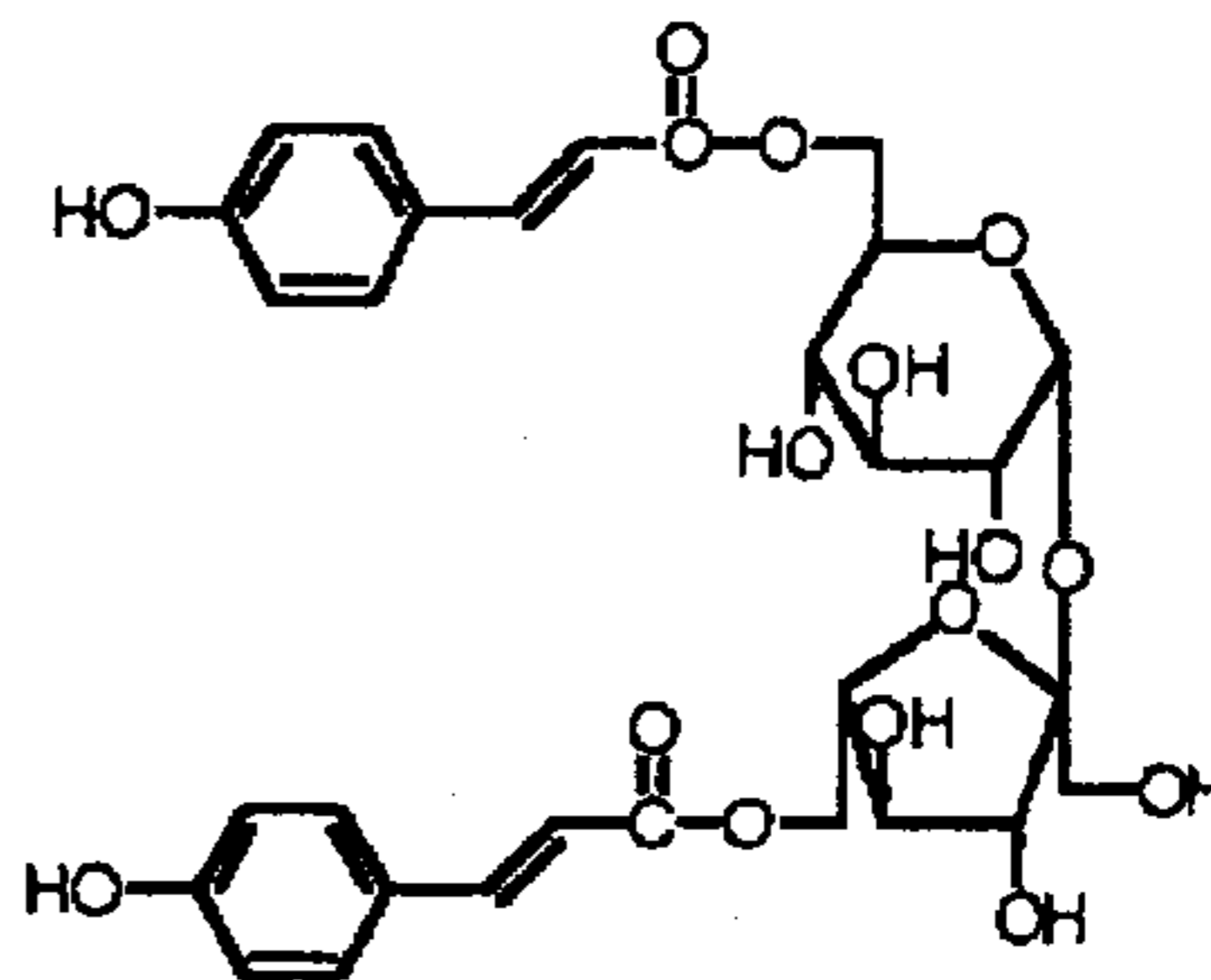


(2)

【0014】また、本発明は、下記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0015】

【化15】

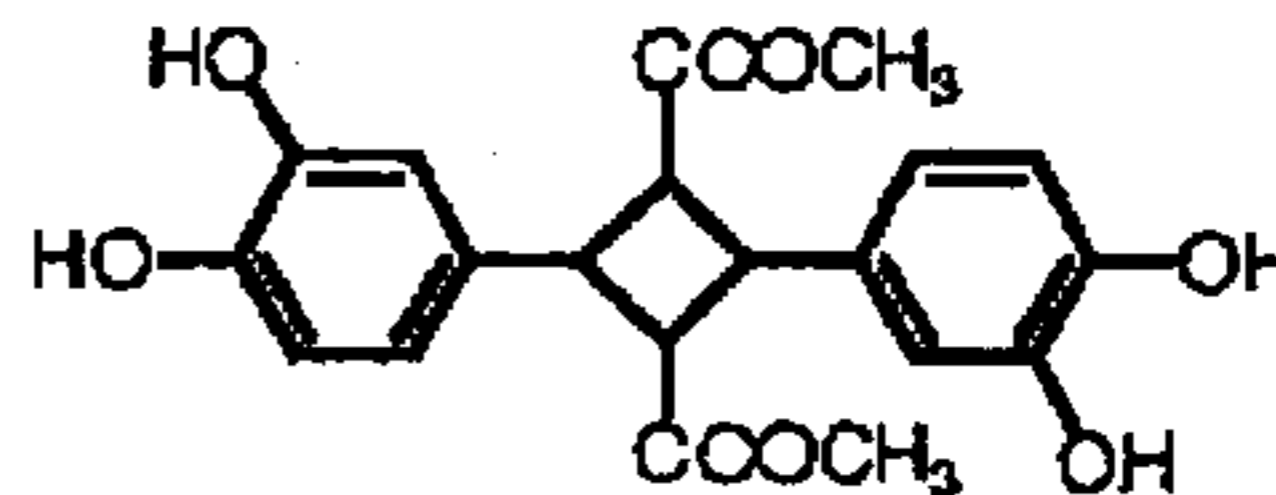


(2)

【0016】また、本発明は、下記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0017】

【化16】



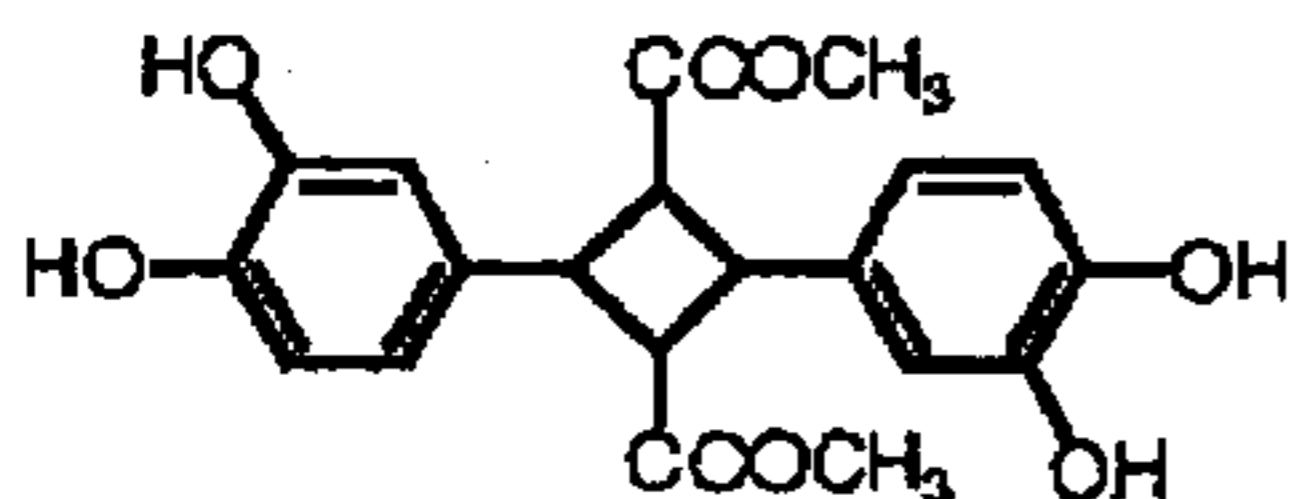
(3)

【0018】また、本発明は、下記化学式(3)で示さ

れる新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0019】

【化17】



(3)

【0020】また、本発明は、下記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0021】

【化18】

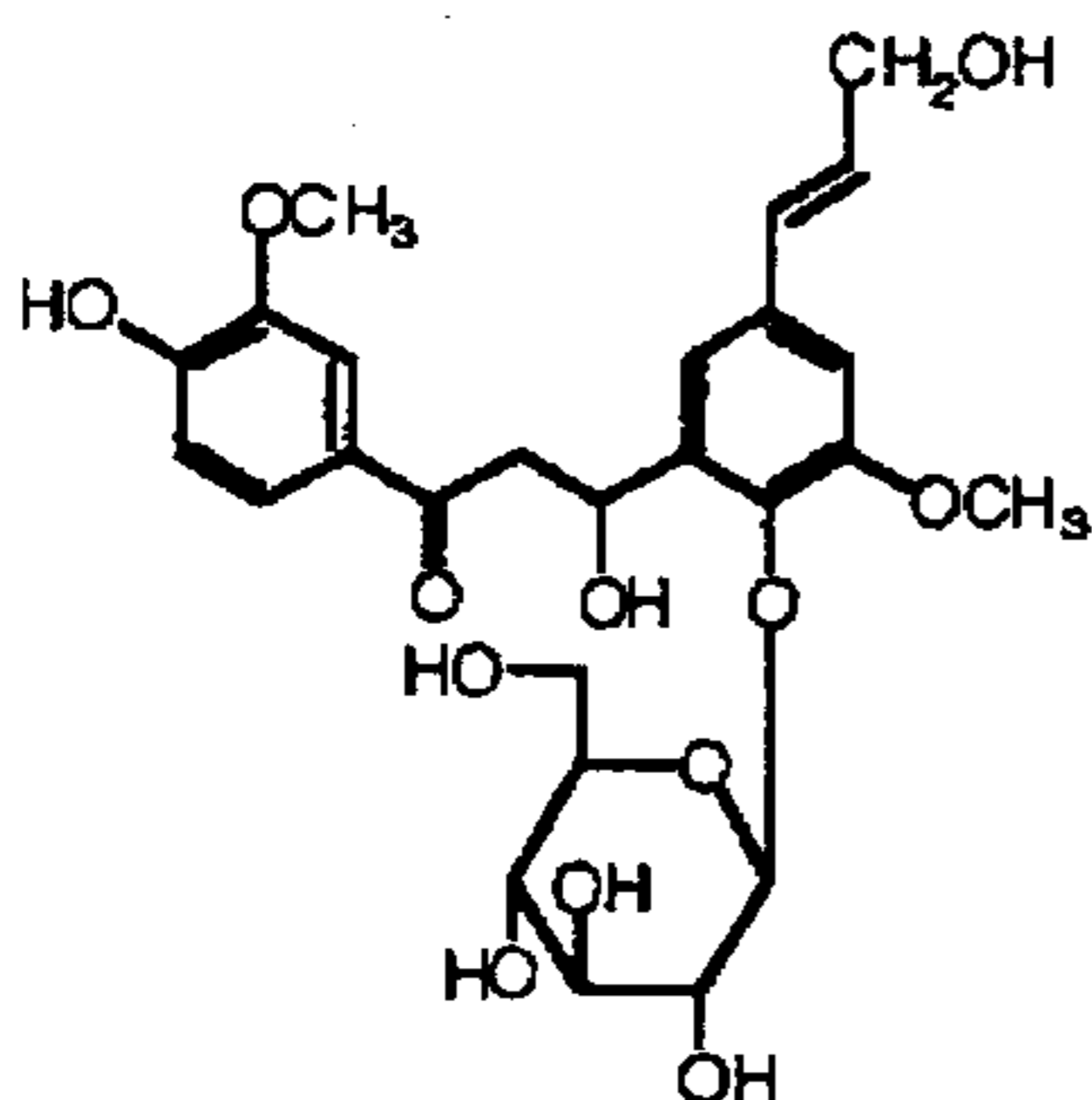


(4)

【0022】また、本発明は、下記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0023】

【化19】

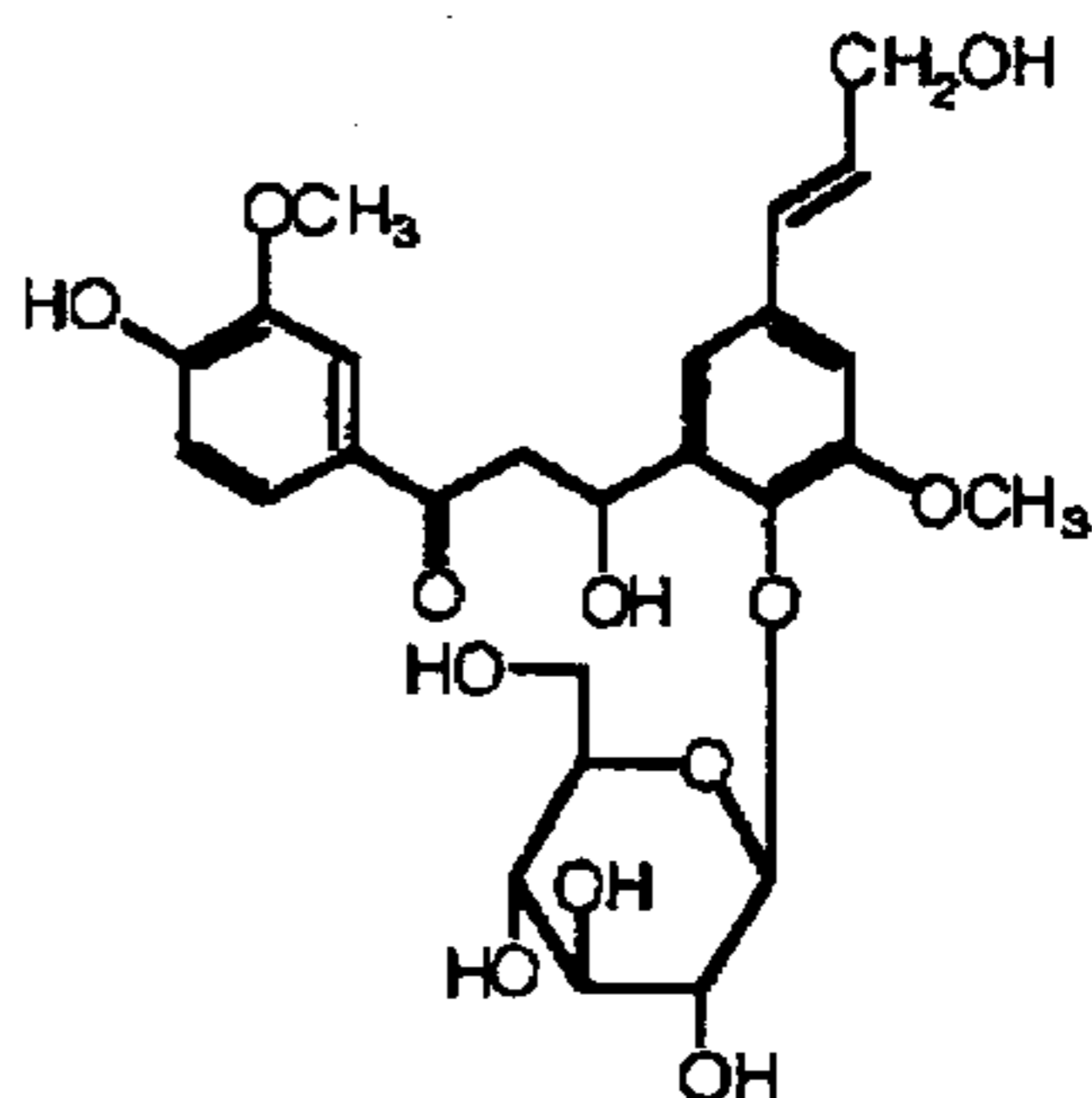


(5)

【0024】また、本発明は、下記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0025】

【化20】

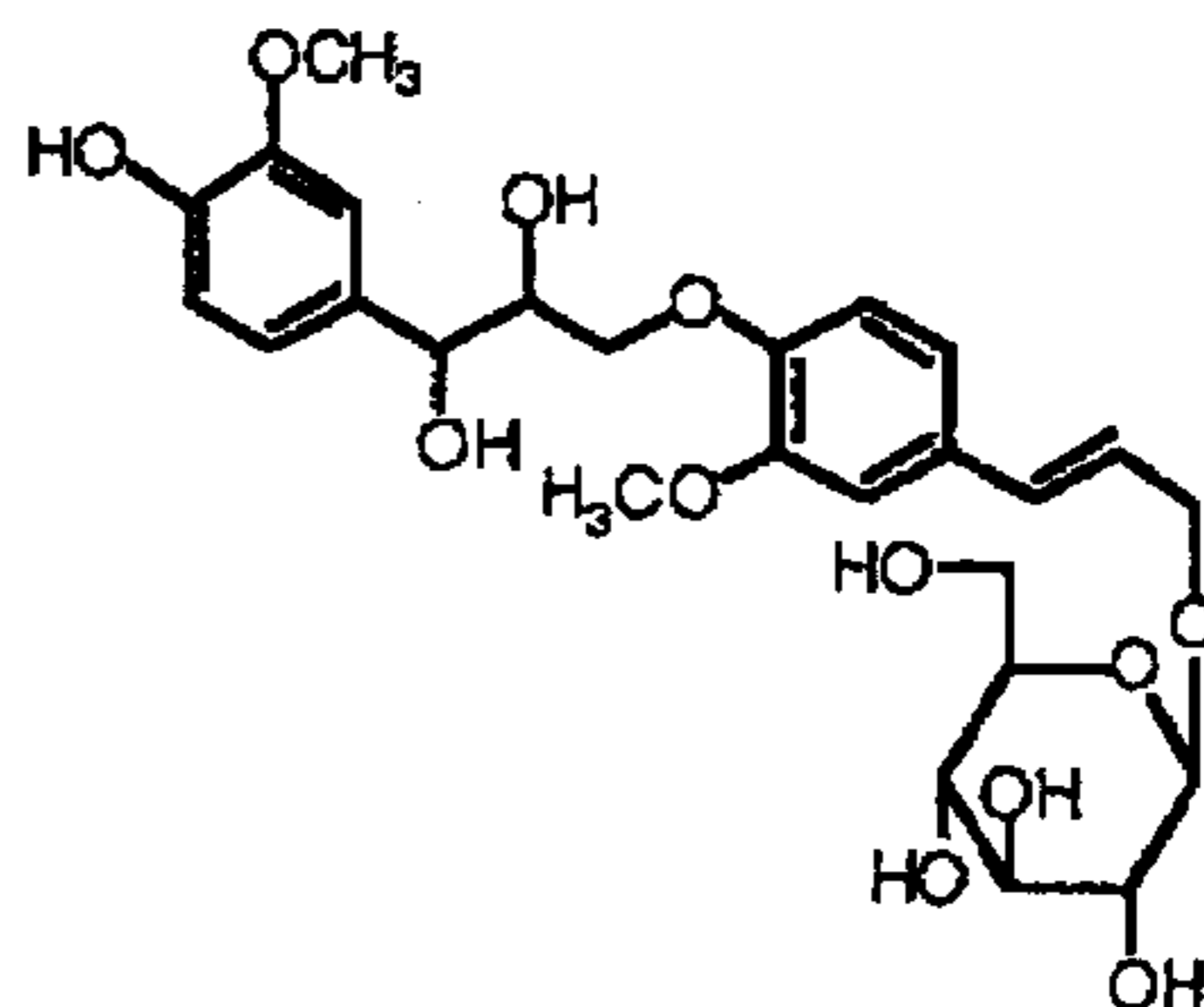


(5)

【0026】また、本発明は、下記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を提供することによっても、前記目的を達成したものである。

【0027】

【化21】

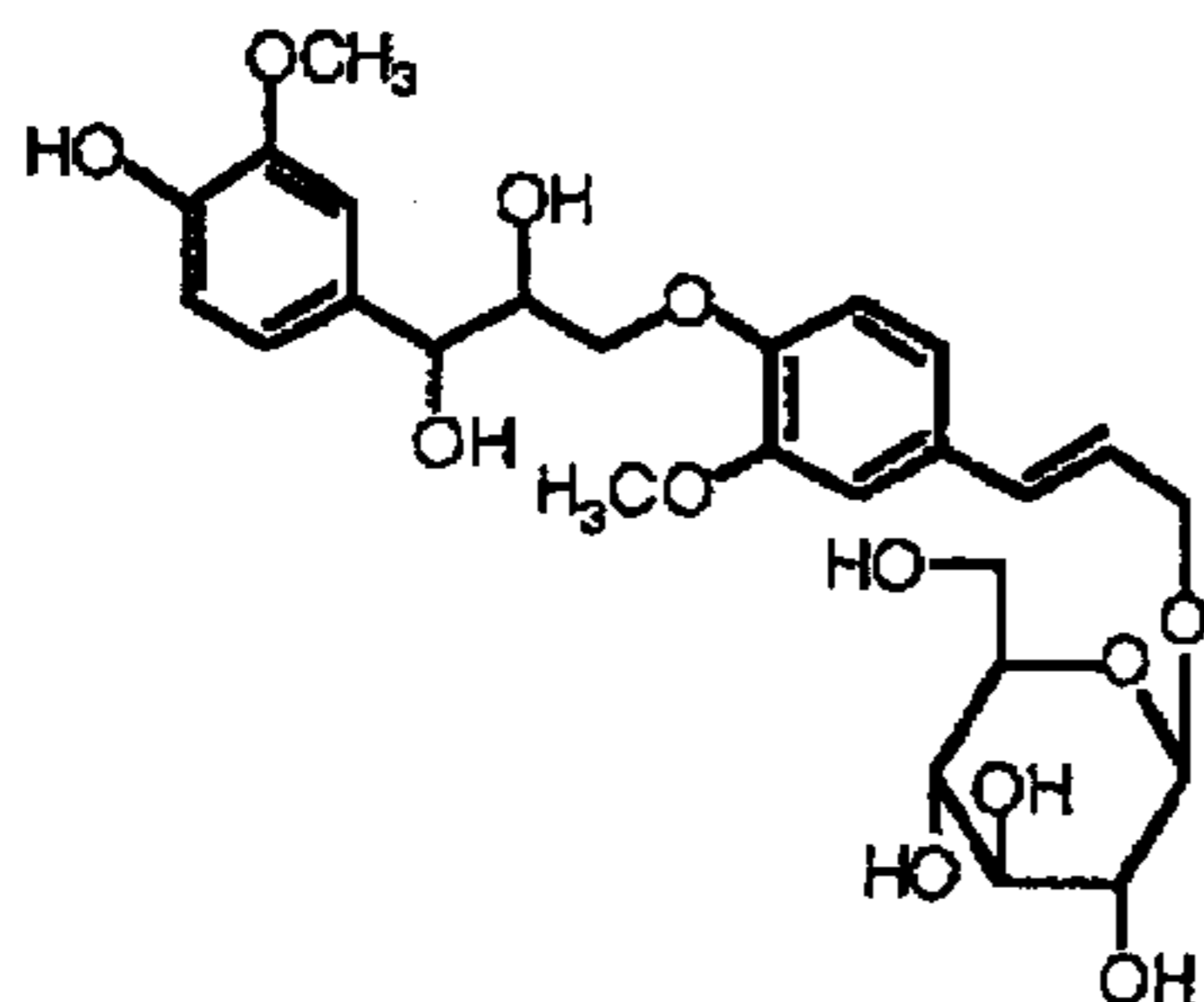


(6)

【0028】また、本発明は、下記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤を提供するものである。

【0029】

【化22】



(6)

【0030】

【発明の実施の形態】以下、本発明の新規なケイヒ酸誘導体について詳細に説明する。

【0031】本発明のケイヒ酸誘導体は、前記化学式(1)で示される構造の新規物質、前記化学式(2)で示される構造の新規物質、前記化学式(3)で示される構造の新規物質、前記化学式(5)で示される構造の新規物質、及び前記化学式(6)で示される構造の新規物質である。

【0032】本発明のケイヒ酸誘導体は、*Bidens parviflora* Willd.の全草(地上部)を乾燥又は未乾燥の状態に粗切り、水及び/又は有機溶媒を加えた後濃縮した抽出エキスの状態又はこれをクロマトグラフィや再結晶等により精製した結晶若しくは油状物質の状態に得られる。

【0033】*Bidens parviflora* Willd.の抽出エキスは、上記の乾燥粉末を溶媒によって抽出し、抽出液から溶媒を減圧濃縮などにより除去して得ることが出来る。この溶媒としては、水、メタノール、エタノールなどのアルコール、アセトン、および、これらの混合物等が使用できる。

【0034】抽出溶媒の使用量は、*Bidens parviflora* Willd. 1重量部に対して、抽出溶媒として水及び/又は有機溶媒を5~20重量部とすることが好適である。

【0035】抽出エキスは、必要により、さらに、カラムクロマトグラフィなどの常用の手段を用いて精製してもよい。

【0036】また、*Bidens parviflora* Willd.を乾燥した後、粉碎して、乾燥粉末とすることもできる。この際、乾燥及び粉碎は常法によって行えばよい。乾燥は、熱を加えない自然乾燥が好ましい。粉碎の程度は、剤形に合わせて適宜選択される。

【0037】次に、本発明の、前記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、前記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、前記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物、前記化学式(5)で示される新規なケ

イヒ酸誘導体を有する組成物、及び前記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物について詳細に説明する。

【0038】本発明の各組成物は、前記化学式(1)、(2)、(3)、(5)又は(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有効成分として有するものである。本発明の組成物としては、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤として用いることが好適である。以下、本発明の組成物として好適な抗アレルギー剤について説明する。

【0039】前記ケイヒ酸誘導体を含む本発明の抗アレルギー剤は、通常、従来の方法にしたがって製剤化される。製剤化の際には、医薬用に使用されている種々の補助剤、すなわち、蒸留水、白色ワセリンなどの担体やその他の助剤、例えば、安定剤、防腐剤、乳化剤などを必要に応じて使用する。剤形の例としては、錠剤、散剤、顆粒剤、液剤、ローション、懸濁剤、クリーム、軟膏、噴霧液、入浴剤などがあり、これらの剤形は投与方法に合わせ適宜選択される。例えば、外用剤の場合、液剤、ローション、懸濁剤、クリーム、軟膏、噴霧液、入浴剤などの剤形が選択される。

【0040】本発明の抗アレルギー剤(製剤)への前記ケイヒ酸誘導体の配合量は、該誘導体を抽出エキスの状態で配合する場合、通常、1~30重量%、好ましくは2~15重量%であり、該誘導体を精製した物質として粉末状で配合する場合、通常、1~20重量%、好ましくは2~10重量%である。

【0041】本発明の抗アレルギー剤は、通常、経口、外用(局所)、吸入ないし通気、および、これらの組み合わせにより投与され、好ましくは、外用により投与される。投与量は、投与方法によって異なるが、例えば、局所投与の場合、乾燥粉末を5~15重量%含有する製剤を1日1回ないし数回塗布する。また、経口投与の場合、通常、成人で、乾燥粉末では0.3~0.5gを1日1回ないし数回投与する。

【0042】なお、上記の用量および用法は、患者の年齢、性別、症状および重傷度ならびに、他の薬剤の使用などの条件により変化するものであり、上記の範囲にとられることなく変更することが可能である。

【0043】本発明の抗アレルギー剤では、特に、慢性気管支炎、気管支喘息に対する治療効果が著しい。その効果は、肥満細胞を用いたヒスタミン遊離抑制試験によってヒスタミン遊離抑制活性が確認されている。したがって、慢性気管支炎、気管支喘息に限らず、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症等の何れのアレルギー疾患にも適用できると期待される。

【0044】また、本発明の組成物として好適な抗炎症剤についても、前述した抗アレルギー剤と同様のものである。従って、本発明の抗炎症剤は、抗アレルギー剤についての前記説明が適宜適用される。

【0045】なお、*Bidens parviflora* Willd.の煎じ

液は、古くから飲用されており、その安全性は確認されている。

【0046】前述の新規なケイヒ酸誘導体を有する本発明の組成物は、抗アレルギー剤又は抗炎症剤として特に好適であるが、その他の医薬品、医薬部外品、化粧品、食品等として用いることができる。

【0047】次に、本発明の、前記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を有する組成物について説明する。本発明の組成物は、前記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を有効成分とする以外は、前記化学式(1)～(3)、(5)及び(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物と同様のものである。従って、本発明の項において、特に詳述しない点については、前述の組成物における記載が適宜適用される。例えば、本発明の組成物も、特に抗アレルギー剤又は抗炎症剤として用いることが好適である。

【0048】本発明の組成物は、前記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体を、前述した化学式(1)～(3)、(5)及び(6)で示されるケイヒ酸誘導体と同様にして*Bidens parviflora* Willd.から単離し、これに必要な応じて他の成分を添加して製剤することにより得ることができる。

【0049】本発明の組成物(好ましくは抗アレルギー剤又は抗炎症剤)への前記化学式(4)で示される化合物の配合量、及び本発明の組成物(好ましくは抗アレルギー剤又は抗炎症剤)の投与量については、前述した前記化学式(1)～(3)、(5)及び(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体を有する組成物の場合と同様である。

【0050】

【実施例】以下、実施例を挙げて、本発明を更に詳細に説明する。しかしながら、本発明はこれらの実施例に何等限定されるものではない。

【0051】(実施例1)キク科*Bidens*植物属の小花鬼針草(*Bidens parviflora* Willd.)の全草5.5kgを、60%エタノール(エタノール:水=6:4、容量比、以下同じ)55Lに12時間浸した後、1時間加熱循環することにより抽出液を得た。さらに、1回、同様に60%エタノール55Lにて抽出し、これらの抽出液を合わせ、減圧濃縮により褐色の粉末エキス674.2gを得た。

【0052】この粉末エキス674.2gを水2Lに溶解し、*n*-ヘキサン2L、酢酸エチル2L及びブタノール2Lで順次それぞれ3回ずつ抽出した。このうち、ブタノール画分の抽出液を減圧濃縮し、184.6の褐色粉末を得た。

【0053】上記画分のうち、ブタノール画分濃縮エキス176.2gをとり、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、12×25cm)に付し、水4.5L、20%メタノール8L、40%メタノール4.5

L、60%メタノール7L、80%メタノール3.5L、続いて100%メタノール2.5Lで、順次溶出した。

【0054】これらの画分のうち、60%メタノール溶出液の画分を減圧濃縮し、この減圧濃縮物(8.9467g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300、和光純薬社製、6.5×25cm)に付し、クロロホルム:メタノール=100:0、95:5、90:10、85:15、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100でそれぞれ2Lずつ溶出した。そのうち、クロロホルム:メタノール=90:10の溶出分画を集め、その減圧濃縮物(1.3812g)について、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×10cm)に付し、メタノール:水=1:1で40mlずつ分画した。画分7-15を集め、その減圧濃縮物(1.3556g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてFluotix(INW125、NEOS社製、10×250mm)を用い、移動相としてアセトニトリル:水=1:5を用い、流速4ml/min(室温)で溶出させ、保持時間17分5秒に溶出するピーク(UV254nm)を分取した。

【0055】これを減圧濃縮し、メタノールから再結晶して無色針状晶(収量50.2mg)を得た。得られた結晶は、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、化合物4であることを確認した。

【0056】(実施例2及び3)実施例1において得た80%メタノール溶出液の画分を集め、この減圧濃縮物(23.687g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300、和光純薬社製、6.5×40cm)に付し、クロロホルム:メタノール=100:0、95:5、90:10、85:15、80:20、70:30、60:40、50:50、0:100でそれぞれ2Lずつ溶出した。そのうち、クロロホルム:メタノール=80:20の溶出分画を集め、その減圧濃縮物(3.1423g)について、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×10cm)に付し、メタノール:水=1:1で溶出し、40mlずつ分画した。画分21-25を集め、その減圧濃縮物(1.8346g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてAQUASIL SS-4251(60)(セシュー社製、10×250mm)を用い、移動相としてクロロホルム:メタノール:水=40:16:1.5の混合溶媒を用い、流速2ml/min(室温)で溶出させ、保持時間15分31秒及び31分20秒にそれぞれ溶出するピーク(UV254nm)を分取した。

【0057】これらの2つの画分をそれぞれ減圧濃縮し、黄色粉末(保持時間15分31秒、収量17.3mg)及び黄色粉末(保持時間31分20秒、収量37.1mg)をそれぞれ得た。得られた粉末は、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、それぞれ化合物1

及び化合物2の構造を決定した。

【0058】(実施例4) 実施例2及び3において得た画分のうち、クロロホルム：メタノール=95：5の溶出画分を集め、その濃縮物(3.1423g)についてSephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×20cm)に付し、メタノール：水=1：1で、40mlずつ溶出し、画分18-21を集め、その減圧濃縮物(1.0123g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてFluotix(INW125, NEOS社製、10×250mm)を用い、移動相として(アセトニトリル：水=18：82(容量比)の混合溶媒)を用い、流速4ml/min(室温)で溶出させ、保持時間20分12秒に溶出するピーク(UV254nm)を分取した。

【0059】この減圧濃縮物をメタノールから再結晶して、白色結晶(収量12.4mg)を得た。得られた結晶は、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、化合物3の構造を決定した。

【0060】(実施例5) 実施例1において得た20%メタノール溶出液の画分を集め、この減圧濃縮物(32.6169g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300, 和光純薬社製、6.5×25cm)に付し、クロロホルム：メタノール=100：0、95：5、90：10、85：15、80：20、70：30、60：40、50：50、0：100でそれぞれ2Lずつ分画した。そのうち、クロロホルム：メタノール=50：50の溶出分画を集め、その減圧濃縮物(4.4632g)について、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×10cm)に付し、メタノール-水の混合溶媒(メタノール：水=1：1)で40mlずつ分画した。これにより、フラクション5-12を集めた。その減圧濃縮物(0.8142g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてFluotix(INW125, NEOS社製、10×250mm)を用い、移動相としてメタノー

ール-水の混合溶媒(メタノール：水=1：5)を用い、流速3ml/min(室温)で溶出させ、保持時間13分55秒に溶出するピーク(UV254nm)を分取した。

【0061】これを減圧濃縮し、黄色オイル(収量23.2mg)を得た。得られたオイルは、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、化合物5の構造を決定した。

【0062】(実施例6) 実施例5において得た画分のうち、クロロホルム：メタノール=60：40の溶出画分を集めた。その減圧濃縮物(3.1611g)を、Sephadex LH-20カラム(Pharmacia Biochem.社製、3×20cm)に付し、メタノール：水=1：1、40mlずつ分画し、画分を集め、画分6-14減圧濃縮物(0.6125g)をHPLCにより分離した。HPLCカラムとしてFluotix(INW125, NEOS社製、10×250mm)を用い、移動相としてアセトニトリル-水の混合溶媒(アセトニトリル：水=18：82(容量比))を用い、流速3ml/min(室温)で溶出させ、保持時間10分11秒に溶出するピーク(UV254nm)を分取した。

【0063】これを減圧濃縮し、黄色オイル(収量16.3mg)を得た。得られたオイルは、NMR及びMS等によるスペクトル解析により、化合物6の構造を決定した。

【0064】各実施例で得られた化合物1、2、3、4、5及び6それぞれの¹H-NMR及び¹³C-NMRのデータを表1~3に示す。また、化合物1、2、3、4、5及び6それぞれの性状、マススペクトル及びその他の物性等のデータを表4に示す。

【0065】

【表1】

(ppm, in CD₃OD)

化合物 1		化合物 2			
位置	C	H	位置	C	H
1	127.2 s		1	127.2 s	
2	131.4 d	7.47 d (8.5)	2	131.4 d	7.46 d (8.5)
3	161.8 d	6.81 d (8.5)	3	116.8 d	6.78 d (8.5)
4	161.3 s	6.78 d (8.5)	4	161.3 s	
5	116.8 d	6.81 d (8.5)	5	116.8 d	6.78 d (8.5)
6	131.3 d	7.47 d (8.5)	6	131.4 d	7.46 d (8.5)
7	146.9 d	7.62 d (16.0)	7	146.9 d	7.64 d (15.8)
8	114.9 d	6.36 d (16.0)	8	115.1 d	6.42 d (15.8)
9	169.1 s		9	169.4 s	
			1'	127.1 s	
			2'	131.2 d	7.38 d (8.5)
			3'	116.8 d	6.77 d (8.5)
			4'	161.3 s	
			5'	116.8 d	6.77 d (8.5)
			6'	131.2 d	7.38 d (8.5)
			7'	146.8 d	7.61 d (15.8)
			8'	114.9 d	6.27 d (15.8)
			9'	169.1 s	
Glucose 部			Glucose 部		
1	93.4 d	5.39 d (3.7)	1	93.2 d	5.43 d (3.7)
2	73.4 d		2	73.3 d	
3	74.8 d		3	74.8 d	
4	71.6 d		4	72.2 d	
5	74.3 d		5	72.2 d	
6	62.5 t		6	65.5 t	
Fructose 部			Fructose 部		
1	63.8 t	3.62 d (12.5), 3.61 d (12.5)	1	64.1 t	3.64 d (12.5), 3.63 d (12.5)
2	105.5 s		2	105.5 s	
3	78.9 d		3	79.0 d	
4	76.8 d		4	77.0 d	
5	80.8 d		5	80.8 d	
6	66.8 t		6	66.8 t	

()値は結合定数 (Hz)

【0066】

【表2】

*

*

化合物 3		化合物 4			
位置	C	H	位置	C	H
1	133.6 s		1	127.8 s	
2	114.7 d	6.74 d (1.9)	2	116.5 d	7.10 d (1.9)
3	146.2 s		3	149.4 s	
4	145.3 s		4	146.6 s	
5	116.3 d	6.73 d (8.2)	5	115.1 d	6.78 d (8.5)
6	118.9 d	6.62 dd (8.2, 1.9)	6	122.8 d	6.93 dd (8.5, 1.9)
7	43.9 d	3.65 t (9.8)	7	146.8 d	7.53 d (15.9)
8	50.3 d	3.11 t (9.8)	8	171.2 s	
9	175.0 s		OCH ₃	52.1 q	3.72 s
1'	133.6 s				
2'	114.7 d	6.74 d (1.9)			
3'	146.2 s				
4'	145.3 s				
5'	116.3 d	6.73 d (8.2)			
6'	118.9 d	6.62 dd (8.2, 1.9)			
7'	43.9 d	3.65 t (9.8)			
8'	50.3 d	3.11 t (9.8)			
9'	175.0 s				
OCH ₃	52.5 q	3.72 s			

【0067】

【表3】

化合物 5			化合物 6		
位置	C	H	位置	C	H
1	130.2 s		1	134.1 s	
2	112.8 d	7.68 brs	2	119.9 d	7.01 brs
3	148.8 s		3	148.7 s	
4	153.2 s		4	147.1 s	
5	115.9 d	6.79 d (8.3)	5	115.7 d	6.72 d (8.2)
6	130.3 d	7.69 dd (8.3, 1.5)	6	121.1 d	6.82 dd (8.3, 3.2)
7	199.3 s		7	74.2 d	4.83 dd (5.8, 3.2)
8	64.5 t	4.36 dd (10.4, 1.5)	8	86.2 d	4.37 dd (5.8, 3.2)
9	49.3 d	3.62 ddd (10.4, 9.2, 1.8)	9	62.3 t	3.70 dd (11.9, 6.2)
		5.52 dd (9.2, 1.8)			4.30 ddd (11.9, 6.2, 1.2)
OCH ₃	56.6 q	3.90 s	OCH ₃	56.6 q	3.76 s
1'	136.0 s		1'	132.8 s	
2'	118.8 d	7.68 brs	2'	120.9 d	6.87 m
3'	133.6 s		3'	151.9 s	
4'	143.6 s		4'	149.2 s	
5'	154.0 s		5'	118.8 d	6.87 m
6'	110.4 d	6.98 m	6'	111.5 d	7.01 brs
7'	130.8 d	6.72 d (15.9)	7'	134.4 d	4.35 d (15.9)
8'	130.6 d	6.24 dt (15.9, 5.5)	8'	125.2 d	6.23 dd (15.9, 6.4)
9'	63.6 t	4.17 dd (5.5, 1.5)	9'	70.9 t	3.88 m
OCH ₃	56.5 q	3.88 s	OCH ₃	56.4 q	3.79 s
Glucose 部			Glucose 部		
1	105.9 d	4.92 d (7.6)	1	108.3 d	4.35 d (7.6)
2	78.5 d		2	75.2 d	
3	78.0 d		3	78.0 d	
4	71.0 d		4	71.7 d	
5	76.1 d		5	78.2 d	
6	62.3 t		6	67.2 t	

【0068】

【表4】

*

*

	化合物 1	化合物 2	化合物 3	化合物 4	化合物 5	化合物 6
性状	黄色粉末	黄色粉末	白色針状結晶	無色針状結晶	黄色オイル	黄色オイル
FAB-MS (m/z)	489[M+H] ⁺	635[M+H] ⁺	388.1 [M] ⁺	194[M] ⁺	537[M-H] ⁻	537[M-H] ⁻
HR-FAB-MS			EI-MS (m/z)	EI-MS (m/z)		
実測値	489.16072	635.19757	388.11550	194.04412	537.19659	537.19700
計算値	489.16082	635.19619	388.11580	194.04224	537.19712	537.19712
分子量	488.2	634.2	388.1	194.0	538.2	538.2
分子式	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₃	C ₃₀ H ₃₄ O ₁₅	C ₂₀ H ₂₀ O ₈	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	C ₂₅ H ₃₃ O ₁₂	C ₂₇ H ₃₃ O ₁₂
UV λ _{max} ^{MeOH} nm (ε)	312 (43,700) 229 (21,400)	312 (1,900) 229 (1,300)	284 (22,900) 236 (31,600)	322 (14,275) 263 (5,593)	267 (10,800) 248 (8,800) 222 (21,900)	268 (10,500) 246 (28,400) 207 (24,800)
[α] _D ²⁵ cm ⁻¹	3380 1693 1598 1513 1448 1267 1174 1060	3399 1691 1598 1513 1446 1267 1174 1060	3401 3324 1712 1616 1535 1448 1361 1302	3415 3234 2534 2404 1746 1600 1517 1440	3395 2932 1662 1587 1462 1423 1273 1232	3412 2931 1715 1604 1512 1482 1422 1369

【0069】表1～6の結果から、化合物1は前記化学式(1)で示される新規なケイヒ酸誘導体であり、化合物2は前記化学式(2)で示される新規なケイヒ酸誘導体であり、化合物3は前記化学式(3)で示される新規なケイヒ酸誘導体であることが確認された。また、化合物4は、前記化学式(4)で示されるケイヒ酸誘導体であることが確認された。さらに、化合物5は前記化学式(5)で示される新規なケイヒ酸誘導体であり、化合物6は前記化学式(6)で示される新規なケイヒ酸誘導体であることが確認された。

【0070】(実施例7) ヒスタミン遊離抑制効果

Compound 48/80 刺激によるマスト細胞からヒスタミン遊離における、化合物1～6 (Bidens parviflora Willd. から単離したケイヒ酸誘導体) それぞれのヒスタミン遊離抑制効果としての阻害率を下記試験法に従って求めた。そして、この阻害率から、IC₅₀。(ヒスタミンを50%抑制するときの濃度)(μg/mL)を求めることにより、ヒスタミン遊離抑制効果を評価した。その結果を表5に示す。尚、比較例として、インドメタシンのIC₅₀値も併せて示す。

【0071】〔ヒスタミン遊離抑制効果試験法〕7～8週齢のWister系ラットを断頭後放血させ、腹腔内

に冷タイロート液を注入し、公知の方法により肥満細胞を単離し、 $1\sim 2 \times 10^6$ cells/mLとなるように0.1%牛血清アルブミン(BSA)を含むタイロート液に懸濁し、細胞浮遊液を調製した。各化合物を各濃度(100 μg/mL)に調整した試料溶液に上記細胞浮遊液を加えて37℃、5分間インキュベーションを行い、脱顆粒誘発剤としてCompound 48/80を加え、37℃、10分間インキュベーションを行う。これらの反応液は氷冷して反応停止、遠心分離した上澄に0.1N塩酸を加えた後、ヒスタミン量をOndaら(J. Med. Sci, 27, 93(1978))の方法に準じて高速液体クロマトグラフィにより測定した。

【0072】この結果から、阻害率を次式により算出した。

$$\text{阻害率 (\%)} = \{1 - (A - B) / (C - B)\} \times 100$$

A : 単離化合物の存在下でcompound 48/80により遊離されるヒスタミン量

B : 自発的に遊離されるヒスタミン量

C : compound 48/80により遊離されるヒスタミン量

【0073】

【表5】

ヒスタミン遊離阻害作用試験の結果

化合物	ヒスタミン IC ₅₀ (μg/mL)
1	28.6
2	45.2
3	48.8
4	36.9
5	19.6
6	19.4

インドメタシン (比較例) IC₅₀ 89.5 μg/mL

【0074】(実施例8) プロスタグランジンE₂ (PGE₂) 抑制効果

RAW264.7細胞(大日本製薬社製)を 1.0×10^5 個/mLの濃度に調製し、48穴プレートに300*

* μLずつ分注し、5%CO₂で10分間培養した。検体を投与した後、LPS(マクロファージのリポポリサッカライド、Sigma社製、終濃度100 ng/mL) 3 μLを加え、37℃、5%CO₂にて16時間培養した。上清採取し、遠心分離器10000 rpmショットにて遠心した。この上清240 μLを採取し、ELISAキット(amesham pharmacia biotech社製)にて定量を行った。ELISAには上清を12倍希釈して用いた。検体は、ジメチルスルホキシドに溶解し(終濃度0.2%, 30 μg/mL)になるように投与した。このときのPGE₂の濃度を測定し、その結果を表6に示す。また、検体としての化合物を投与せず、LPSの添加もしない例、及びLPSのみ添加する例をそれぞれ比較例として、これらの場合も同様の方法でPGE₂の濃度を測定し、その結果を表6に併せて示す。

【0075】

【表6】

プロスタグランジンE₂ (PGE₂) 阻害作用試験の結果

	濃度(μg/mL)	PGE ₂ 濃度 (pg/mL)
+NONE		16
+LPSのみ		473
Sample+LPS		
1	30	236
2	30	536
3	30	127
4	30	122

【0076】

【発明の効果】本発明によれば、副作用の少ない、抗アレルギー物質又は抗炎症剤としての新規なケイヒ酸誘導体が提供される。さらに、本発明によれば、そのような新規なケイヒ酸誘導体又は特定のケイヒ酸誘導体を有する組成物、特に抗アレルギー剤及び抗炎症剤が提供される。

フロントページの続き

Fターム(参考) 4C057 BB03 DD02 HH02
 4C086 AA01 AA02 AA03 EA03 MA01
 MA04 NA14 ZB11 ZB13
 4C206 AA01 AA02 AA03 DB01 DB28
 DB43 MA01 MA04 NA14 ZB11
 ZB13