

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4730785号
(P4730785)

(45) 発行日 平成23年7月20日 (2011.7.20)

(24) 登録日 平成23年4月28日 (2011.4.28)

| | | | | |
|----------------|---------------|------------------|----------------|------------------------------|
| (51) Int. Cl. | | F I | | |
| C O 7 H | 15/256 | (2006.01) | C O 7 H | 15/256 C S P Z |
| A 2 3 L | 1/22 | (2006.01) | A 2 3 L | 1/22 I O 1 Z |
| A 2 3 L | 1/221 | (2006.01) | A 2 3 L | 1/221 C |
| A 2 3 L | 1/30 | (2006.01) | A 2 3 L | 1/30 B |

請求項の数 6 (全 9 頁)

| | | | |
|-----------|------------------------------|-----------|-------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2006-226772 (P2006-226772) | (73) 特許権者 | 595132360 |
| (22) 出願日 | 平成18年8月23日 (2006.8.23) | | 株式会社常磐植物化学研究所 |
| (65) 公開番号 | 特開2008-50288 (P2008-50288A) | | 千葉県佐倉市木野子158番地 |
| (43) 公開日 | 平成20年3月6日 (2008.3.6) | (73) 特許権者 | 304021831 |
| 審査請求日 | 平成19年3月2日 (2007.3.2) | | 国立大学法人 千葉大学 |
| | | | 千葉県千葉市稲毛区弥生町1番33号 |
| | | (74) 代理人 | 100089705 |
| | | | 弁理士 社本 一夫 |
| | | (74) 代理人 | 100140109 |
| | | | 弁理士 小野 新次郎 |
| | | (74) 代理人 | 100075270 |
| | | | 弁理士 小林 泰 |
| | | (74) 代理人 | 100080137 |
| | | | 弁理士 千葉 昭男 |

最終頁に続く

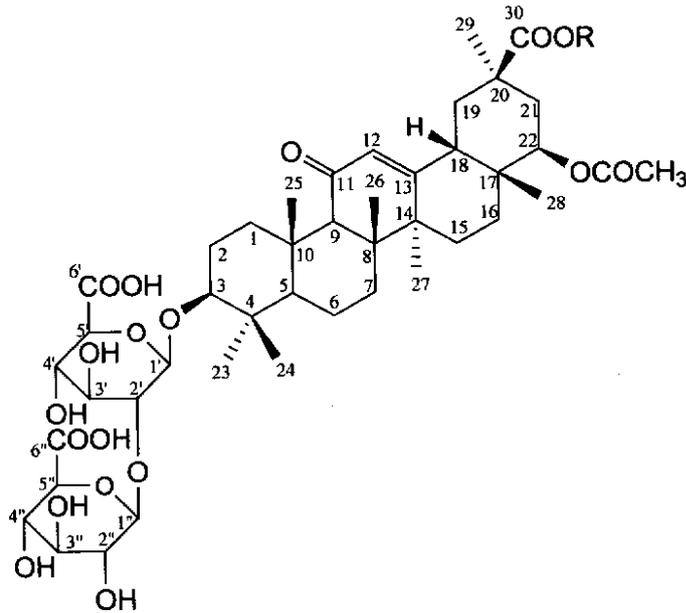
(54) 【発明の名称】 新規トリテルペン配糖体化合物および該化合物を含む天然甘味料

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式 (I)

【化1】



10

(式中、RはHまたはC1～C18のアルキル基である)

で示されるトリテルペン配糖体化合物、またはその薬理的に許容される塩。

20

【請求項2】

22 -アセトキシグリチルリチン(3-O-[β-D-グルクロノピラノシル-(1→2)-β-D-グルクロノピラノシル]-22-アセトキシル-11-オキソ-12-オレアネン-30-カルボン酸)である請求項1記載の化合物。

【請求項3】

請求項1または2に記載のトリテルペン配糖体化合物、またはその薬理的に許容される塩を含む天然甘味料。

【請求項4】

マメ科(Leguminosae)カンゾウ属(Glycyrrhiza)のウラルカンゾウから得られ、請求項1に記載のトリテルペン配糖体化合物を0.1～20%含むメタノールまたはエタノール抽出エキス。

30

【請求項5】

請求項4に記載の抽出エキスを含む天然甘味料。

【請求項6】

食品(健康食品を含む)、食品添加物、医薬品、医薬部外品、嗜好品、化粧品またはトイレットリー用品に使用される請求項3または5に記載の甘味料。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

【技術分野】

40

【0002】

本発明は、マメ科(Leguminosae)のカンゾウ属(Glycyrrhiza)植物が産生する新規トリテルペン配糖体化合物に関する。また、本発明は該化合物を含むカンゾウ抽出エキス、ならびにこれらの化合物及び抽出エキスの天然甘味料としての用途に関する。

【背景技術】

【0003】

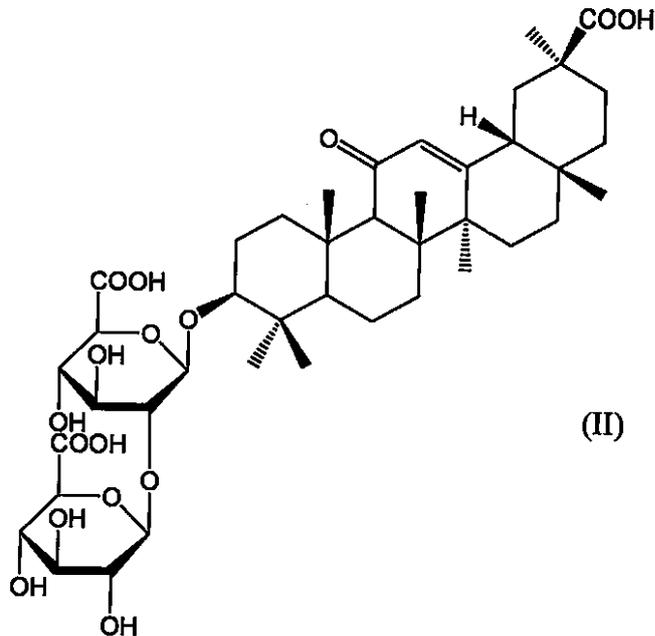
カンゾウ(甘草、別名リコリス)は薬草として最古の歴史をもつもののひとつであり、漢方処方中最もよく用いられる生薬である。その活性物質は、根およびストロン部に豊富に蓄積される下記構造式(II)で示すトリテルペン配糖体、グリチルリチンであると考えられており、慢性肝炎、抗アレルギーの医薬品、風邪薬およびドリンク剤などに広く利用

50

されている。グリチルリチンは甘味料としての使用も多く、塩慣れ効果を利用して醤油や漬物、水産加工食品などに使用されている。化粧品や医薬部外品にもその成分が利用されており、日常生活に広く浸透している化合物である。

【0004】

【化1】



10

(II)

20

【0005】

また、カンゾウの薬効としては、消化性潰瘍改善作用、鎮咳作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用、副腎皮質ホルモン様作用、性ホルモン様作用、解毒作用、肝障害改善作用及びインターフェロン誘起作用などが報告されている。

【0006】

したがって、上記のようなカンゾウの幅広い薬効の発現には、グリチルリチンだけでなく、他の成分も関与していると推定される。グリチルリチンの他にも多くのトリテルペノイド化合物がこれまでにカンゾウから単離されている[Fukai T. and Nomura T. (1998) Phenolic Constituents of Licorice (Glycyrrhiza Species) in Progress in the Chemistry of Organic Natural Products (Herz W. et al. ed) Vol. 73, Springer, Wien]が、グリチルリチン以外で有効利用されているトリテルペノイド化合物は見当たらない。

30

【非特許文献1】Fukai T. and Nomura T. (1998) Phenolic Constituents of Licorice (Glycyrrhiza Species) in Progress in the Chemistry of Organic Natural Products (Herz W. et al. ed) Vol. 73, Springer, Wien

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明は、カンゾウ由来の新規な化合物、及び該化合物を含むカンゾウ抽出エキスを提供し、さらにこれらの用途を提供することを課題とする。

40

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、グリチルリチンの生合成経路解明を目的としたカンゾウ根の含有成分に関する研究を行ってきた。かかる研究において、上記式(II)に構造上類似するが、上述の文献を始め従来技術文献には未載の新規トリテルペン配糖体類がウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) の根およびストロン中に存在することを見出した。そして、このトリテルペン配糖体の単離、同定に成功した。さらに、このトリテルペン配糖体は上品な甘味を持つ天然物質として有用であることを見出し、本発明を完成するに至った。

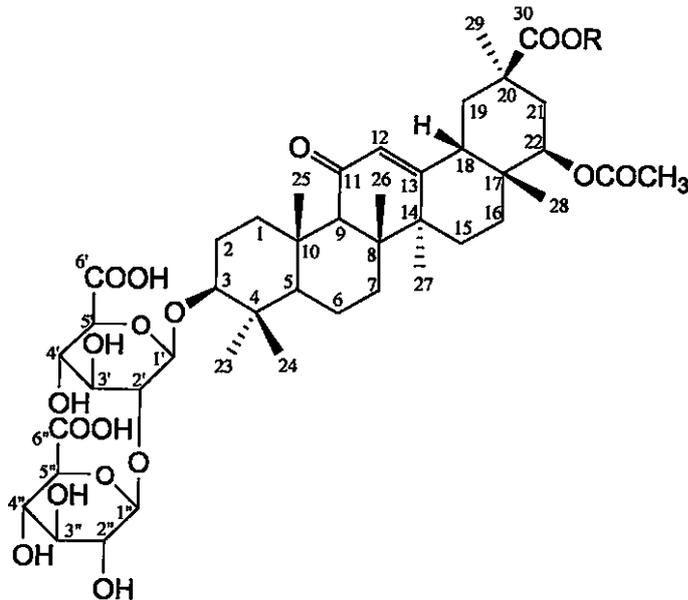
50

【 0 0 0 9 】

すなわち、本発明は、以下の式 (I)

【 0 0 1 0 】

【 化 2 】



10

20

【 0 0 1 1 】

(式中、RはHまたはC1～C18のアルキル基である)

で示されるトリテルペン配糖体化合物、またはその薬理的に許容される塩を提供する。

RがC1～C18のアルキル基であるとき、アルキル基は直鎖または分枝鎖のいずれであってもよく、好ましくはC1～C6の直鎖または分枝鎖アルキル基である。

【 0 0 1 2 】

好ましい化合物は、式 (I) において、RがHである化合物であり、この構造は22 位にアセトキシ基が存在するグリチルリチン、すなわち22 -アセトキシグリチルリチン (3-O-[-D-グルクロノピラノシル-(1 2)- -D-グルクロノピラノシル]-22 -アセトキシル-11-オキソ-12-オレアネン-30-カルボン酸) である。

30

【 0 0 1 3 】

薬理的に許容される塩としては、アンモニウム塩、カリウム塩及びナトリウム塩が好ましく、それぞれ1～3個の位置で塩を形成しうる。

本発明はまた、式 (I) のトリテルペン配糖体化合物、またはその薬理的に許容される塩を含む甘天然調味料を提供する。

【 0 0 1 4 】

本発明はまた、マメ科 (Leguminosae) カンゾウ属 (Glycyrrhiza) の植物から得られ、式 (I) のトリテルペン配糖体化合物を0.1～20%含む抽出エキスを提供する。

本発明はまた、前記抽出エキスを含む天然甘味料を提供する。

40

【 0 0 1 5 】

前記トリテルペン配糖体化合物及び前記抽出エキスを含む天然甘味料は、食品 (健康食品を含む)、食品添加物、医薬品、医薬部外品、嗜好品、化粧品またはトイレタリー用品に使用することができる。

【 発明を実施するための最良の形態 】

【 0 0 1 6 】

(1) トリテルペン配糖体化合物及びこれを含むカンゾウ抽出エキス

本発明のトリテルペン配糖体化合物は、中国の内モンゴ (黒竜江、吉林、遼寧各省の一部を含む)、甘肅、寧夏回族自治区、新疆の各地、ロシア、アフガニスタン、イラン、パキスタンに産するマメ科 (Leguminosae) 植物の一属であるカンゾウ属 (Glycyrrhiza) の植

50

物 (*G. glabra*, *G. uralensis*, *G. echinata*, *G. inflata*, *G. yunnanensis*, *G. eurycarpa*, *G. aspera*, *G. pallidiflora*) から得られる。好ましくはカンゾウ属のウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) の根およびストロンから得られる。

【0017】

本発明のトリテルペン配糖体化合物は、カンゾウの根およびストロンを原料とし、これらから適宜の溶剤を用いて粗抽出エキスを得て、これを複数回の逆相カラムクロマトグラフィーにより分離精製することで得られる。

【0018】

原料植物体は乾燥しているものを入手するのが容易であるが、抽出処理に先立ち小片化しておくことが好ましい。抽出溶剤としては、水、メタノールやエタノールなどのアルコール類、アセトン、酢酸エチルなど適宜の溶剤を単独または混合して用いることができるが、好ましい抽出溶媒はメタノール、エタノールなどのアルコールである。抽出には冷浸、温浸、還流冷却下での過熱など適宜の方法を用いることができる。抽出は連続式、バッチ式のいずれでもよく、加圧、常圧または減圧下で実施できる。抽出時間は抽出方法、抽出溶媒の種類などに応じて適宜決定できるが、例えば室温抽出の場合、1時間～10日であり、溶媒の沸点付近の温度では10分～10時間である。抽出後、抽出溶媒を常圧または減圧下で留去するか、凍結乾燥して粗抽出エキスを得る。

【0019】

粗抽出エキスを溶媒分画手段により精製する場合には、水、酢酸エチル、*n*-ブタノールなど適宜の溶剤を用いることができる。分画を行うことにより得られた分画の溶媒は、常圧または減圧下で留去するか、凍結乾燥して粗精製画分を得る。

【0020】

粗精製画分をさらにカラムクロマトグラフィー手段により分離精製する場合には、ODS、シリカゲル、あるいは合成吸着樹脂を担体とするオープンカラム、中圧カラムあるいは高速液体クロマトグラフィーを用いることができる。カラムクロマトグラフィーに用いる溶媒は、メタノール、エタノール、アセトニトリル、アセトン、酢酸エチルなど適宜の溶剤を用いることができる。

【0021】

上述した抽出、精製工程により、本発明の新規なトリテルペン配糖体化合物である、22-*O*-アセトキシグリチルリチン(3-*O*-[*D*-グルクロノピラノシル-(1 \rightarrow 2)]-*D*-グルクロノピラノシル]-22-*O*-アセトキシシル-11-オキソ-12-オレアネン-30-カルボン酸)を得た。本明細書では、この化合物を化合物Iと称する。

【0022】

本発明はまた、マメ科 (*Leguminosae*) カンゾウ属 (*Glycyrrhiza*) の植物から得られ、式(1)に記載のトリテルペン配糖体化合物を0.1～20%含む抽出エキスを提供する。好ましくは、抽出エキスは式(1)に記載のトリテルペン配糖体化合物を0.3～5%含む。

(2) 天然甘味料及びその用途

本発明により得られた化合物Iは、ショ糖と比較して約10倍の甘さを示すことがわかった。また、化合物Iの甘味は単純ではなく、甘酸っぱい、わずかな苦味がある、上品な甘さがある、などの感想を得た。したがって、本発明のトリテルペン配糖体化合物は新規な天然甘味料として極めて有用である。天然甘味料の用途としては、食品(健康食品を含む)、食品添加物、医薬品、医薬部外品、嗜好品(タバコなど)、化粧品およびトイレタリー用品を含むが、これに限定されない。また、本発明のトリテルペン配糖体化合物を含む粗抽出エキスおよびこの粗抽出エキスの精製工程で得られる抽出エキスには、特に有毒成分は含まれていないので、この抽出エキスも本発明のトリテルペン配糖体化合物と同様に、天然甘味料として用いることができる。本発明のトリテルペン配糖体化合物及び抽出エキスは、そのまま、あるいは慣用の担体とともに、人間あるいは動物に適用することができる。

【実施例】

【0023】

10

20

30

40

50

以下に実施例を挙げて具体的に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。
実施例1：カンゾウ属植物の一種であるウラルカンゾウからの化合物Iの抽出、分離

(1) ウラルカンゾウからの粗抽出エキスの作製

ウラルカンゾウ (*Glycyrrhiza uralensis*) の乾燥した根およびストロン288kgを粉碎後、メタノールおよそ3,000Lを用いて室温下2時間攪拌抽出し、続いて一晩静置による抽出を行った。固液分離後、もう一度同量のメタノールを用いて室温下2時間攪拌したのち抽出液をまとめて濾過し、得られた濾液を減圧下で濃縮した。適量の水を加えながらさらに濃縮し、凍結乾燥によりメタノール粗抽出エキス40kgを得た。

(2) 溶媒分画による粗抽出エキスの精製

得られたメタノール粗抽出エキスの一部10kgを酢酸エチル/水(1:1)200Lに溶解し、1時間攪拌後静置した。酢酸エチル相と水相を分離したのち、水相に対し等量のn-ブタノールを添加し1時間攪拌後静置した。n-ブタノール相と水相を分離したのち、n-ブタノール相を減圧下で濃縮、凍結乾燥し、粗精製エキス2.4kgを得た。

10

(3) クロマトグラフィーによる化合物Iの単離精製

得られた粗精製エキスのうち50gをODSカラムクロマトグラフィーに付し、アセトニトリル/0.06%TFA水(40:60)にて溶出し、400mLずつの12フラクション(Fr. B-1~B-12)を得た。合成吸着剤ダイアイオンHP-20(三菱化学)により脱酸し凍結乾燥したFr. B-2 17.6gについて、YMC-PACK ODS-A S-50 μm 20x250mm I.D. カラム、アセトニトリル/1%酢酸(35:65)を用いた逆相HPLCにより精製した。さらにWaters μ BONDASPHERE 5 μm C18-100 19x150mm I.D. カラム、アセトニトリル/1%酢酸(35:65)を用いた逆相HPLCにより精製し、化合物Iを200mg得た。

20

(4) 化合物Iの物性

以下に分離されたトリテルペン配糖体の物性を示す。なお、測定に使用した機器を以下に示す。UVスペクトル：SHIMADZU BIOSPEC-MINI、IRスペクトル：JASCO FT/IR-230、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルおよび ^{13}C NMRスペクトル：JEOL ECP-500 (500MHz)、HR FAB MSスペクトル：JEOL JMS HX110、旋光度：JASCO P-1020。

【0024】

分離されたトリテルペン配糖体は、非晶質の白色粉末である。

HR FAB MSスペクトラムの分子イオンピーク m/z 957.3303 ($[\text{M-H}+2\text{K}]^+$)より分子式 $\text{C}_{44}\text{H}_{64}\text{O}_8$ を有した。

30

【0025】

メタノール溶液中での旋光度 $[\alpha]_D$ 値は $+38.6^\circ$ (c 0.25)を示した。

UVスペクトラムは248nmに、不飽和ケトンに起因する極大吸収を示した。

IRスペクトラムはアセチル基、 $\text{C}=\text{C}$ 不飽和カルボニル基および二重結合に帰属する吸収帯(1717, 1646 cm^{-1})と、グルコース様の構造を示す幅広い吸収帯(3100~3700, 1032 cm^{-1})を示した。

【0026】

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル(500MHz)および ^{13}C NMRスペクトル(125MHz)の測定結果を表に示す。

【0027】

40

【表1】

| 炭素番号 | ¹ H | ¹³ C | |
|-------------------|--|-----------------|----|
| 1 | 1.05 (1H, m) 3.03 (1H, dd, 4.1, 10.6) a | 39.5 | |
| 2 | 2.07 (1H, dd, 2.5, 11.5) 2.31 (1H, dd, 3.6, 13.5) | 26.7 | |
| 3 | 3.36 (1H, dd, 4.4, 11.6) | 89.2 | |
| 4 | | 40.0 | |
| 5 | 0.75 (1H, brd, 11.9) | 55.4 | |
| 6 | 1.33 (1H, m) 1.50 (1H, m) | 17.6 | 10 |
| 7 | 1.25 (1H, m) 1.56 (1H, m) | 32.7 | |
| 8 | | 45.7 | |
| 9 | 2.46 (1H, s) | 62.2 | |
| 10 | | 37.2 | |
| 11 | | 199.5 | |
| 12 | 6.03 (1H, s) | 129.0 | |
| 13 | | 168.3 | |
| 14 | | 43.6 | |
| 15 | 1.14 (1H, m) 1.72 (1H, dd, 3.7, 13.5) | 26.6 | |
| 16 | 1.05 (1H, m) 1.98 (1H, dd, 4.2, 13.2) | 25.7 | 20 |
| 17 | | 36.1 | |
| 18 | 3.08 (1H, dd, 4.1, 14.0) | 44.6 | |
| 19 | 1.79 (1H, t, 13.5) 2.22 (1H, dd, 1.8, 13.7) | 40.1 | |
| 20 | | 40.6 | |
| 21 | 1.77 (1H, bd, 14.6) 2.70 (1H, bd, 14.4) | 35.2 | |
| 22 | 4.86 (1H, t, 2.5) | 77.41 | |
| 23 | 1.42 (3H, s) | 28.1 | |
| 24 | 1.27 (3H, s) | 16.9 | |
| 25 | 1.21 (3H, s) | 16.8 | |
| 26 | 1.08 (3H, s) | 18.8 | 30 |
| 27 | 1.47 (3H, s) | 24.1 | |
| 28 | 0.93 (3H, s) | 21.8 | |
| 29 | 1.33 (3H, s) | 29.5 | |
| 30 | | 179.1 | |
| COCH ₃ | | 170.2 | |
| COCH ₃ | 2.03 (3H, s) | 20.7 | |
| 1' | 5.05 (1H, d, 7.6) | 105.1 | |
| 2' | 4.28 (1H, t, 8.4) | 84.6 | |
| 3' | 4.41 (1H, t, 8.8) | 77.7 | |
| 4' | 4.57 (1H, t, 9.6, 8.5) | 73.0 | |
| 5' | 4.61 (1H, d, 9.4) | 77.44 | |
| 6' | | 172.4 | |
| 1'' | 5.43 (1H, d, 7.5) | 106.9 | 40 |
| 2'' | 4.26 (1H, t, 8.5) | 76.8 | |
| 3'' | 4.33 (1H, t, 8.2) | 77.6 | |
| 4'' | 4.65 (1H, t, 9.8) | 73.3 | |
| 5'' | 4.62 (1H, d, 8.2) | 78.4 | |
| 6'' | | 172.1 | |

【0028】

表1から明らかのように、¹³C NMRスペクトラムは44個の炭素の存在を示し、うち12個はヘキソース骨格、残りの32個はアグリコンであるオレアナン骨格にアサインされた。

うちヘキソース部分の全ての水素および炭素は、TOCSY、¹H-¹H COSY、HMBCおよびHMQCを含むNMR解析と文献値との比較により、完全にアサインされた。すなわち、2つのヘキソースはいずれもグルクロン酸であり、正確には β -D-グルクロノピラノシル-(1 \rightarrow 2)- β -D

-グルクロノピラノースである。

【0029】

アグリコン部については、DEPT-¹³C NMR解析により8個のメチル基（アセトキシメチル1個を含む）、8個のメチレン炭素、6個のメチン炭素および10個の四級炭素の存在が示された。HMQC、HMBC、NOESYを含む¹³C NMR解析により、アグリコンは22-アセトキシル-11-オキソ-12-オレアネン-30-カルボン酸であることが示された。

実施例2：化合物Iを含む抽出エキスの作製

乾燥したウラルカンゾウの根およびストロン100gに水1Lを添加し、一晩冷浸した。固液分離後、水700mLを用いて再度一晩冷浸を行った。抽出液を濾過し、減圧濃縮ののち凍結乾燥することにより、抽出エキス25.1gを得た。この抽出エキスには、化合物Iが1%以上含有される。

10

実施例3：化合物Iを含む抽出エキスの精製

上記の実施例2で得られた抽出エキスのうち5gを水100mLに溶解し、合成吸着剤ダイアイオンHP-20（三菱化学）200mLに吸着させた。水1Lを通液したのち、アセトニトリル500mLを用いて溶出させることにより、精製を行った。溶出液を減圧濃縮および乾燥し、精製エキス1.6gを得た。この精製エキスには、化合物Iが3%以上含有される。

実施例4：化合物Iの甘味試験

25～40歳の被検者10名を対象に、ショ糖との甘味比較試験を行った結果を表2に示す。

20

【0030】

【表2】

| 甘味剤の種類 濃度 | ショ糖 | | | | 化合物I | | | | グリチルリチン | 水 |
|--------------|--------|-------|------|----|-------------------------------|--------|-------|------|---------------|---|
| | 0.125% | 0.25% | 0.5% | 1% | 0.013% | 0.025% | 0.05% | 0.1% | 0.016% | - |
| 被験者A | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 被験者B | - | - | - | + | - | - | - | + | - | - |
| 被験者C | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - |
| 被験者D | - | - | - | + | - | - | - | - | + | - |
| 被験者E | - | - | + | + | + | + | + | + | + | ± |
| 被験者F | - | + | + | + | - | - | - | + | + | - |
| 被験者G | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - |
| 被験者H | + | + | + | + | - | - | + | + | + | - |
| 被験者I | - | - | - | + | - | - | - | + | + | - |
| 被験者J | - | - | - | + | - | + | + | + | + | - |
| 感想 | 単純な甘味 | | | | 苦味、辛味 残る甘味 甘辛い 上品な甘さ | | | | 残る甘味 後から甘い | |

30

【0031】

表2から読み取れるように、ショ糖（0.25%）と化合物I（0.025%）で甘味を感じた人数がともに4人であったこと、ショ糖（1%）と化合物I（0.1%）で甘味を感じた人数がともに9人であったことなどから、化合物Iは、ショ糖と比較して約10倍の甘さを示すと考えられる。また、化合物Iの甘味は単純ではなく、甘酸っぱい、わずかな苦味がある、上品な甘さがある、などの感想を得た。

40

フロントページの続き

- (74)代理人 100096013
弁理士 富田 博行
- (74)代理人 100091638
弁理士 江尻 ひろ子
- (72)発明者 李 楊金緯
千葉県佐倉市木野子158番地 株式会社常磐植物化学研究所内
- (72)発明者 中嶋 淳一郎
千葉県佐倉市木野子158番地 株式会社常磐植物化学研究所内
- (72)発明者 妹尾 修次郎
千葉県佐倉市木野子158番地 株式会社常磐植物化学研究所内
- (72)発明者 斉藤 和季
千葉県千葉市稲毛区弥生町1番33号 国立大学法人千葉大学大学院薬学研究院内

審査官 早川 裕之

- (56)参考文献 特開平03-117466(JP,A)
特開昭61-130255(JP,A)
特開昭63-267795(JP,A)
医薬品添加物事典, 株式会社薬事日報社, 1994年, 33-34
Biochemical Pharmacology, 1990年, 40, 291-296
Agric. Biol. Chem., 1986年, 50, 763-766
Agric. Biol. Chem., 1986年, 50, 1239-1245
Chemical Journal of Chinese Universities, 1995年, 16, 572-574
薬学雑誌, 2003年, 123, 619-631

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07H 15/256
A23L 1/22~221
A23L 1/30
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)