(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第3796809号

(P3796809)

(45)発行日　平成18年7月12日(2006.7.12)　(24)登録日　平成18年4月28日(2006.4.28)

(51)Int.Cl.		F I	
C12P 19/14	(2006.01)	C12P	19/14
C12P 19/18	(2006.01)	C12P	19/18
C12P 19/44	(2006.01)	C12P	19/44
C12N 9/10	(2006.01)	C12N	9/10
C12N 9/42	(2006.01)	C12N	9/42

請求項の数 6　(全 13 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平8-110789
(22)出願日　平成8年5月1日(1996.5.1)
(65)公開番号　特開平9-295995
(43)公開日　平成9年11月18日(1997.11.18)
審査請求日　平成14年11月18日(2002.11.18)

微生物の受託番号　FERM　BP-253

(73)特許権者　000002886
大日本インキ化学工業株式会社
東京都板橋区坂下３丁目３５番５８号
(74)代理人　100124970
弁理士　河野　通洋
(72)発明者　江原　岳
千葉県佐倉市大崎台１－２７－１－３１８
(72)発明者　西橋　秀治
千葉県佐倉市大崎台２－２３－９

審査官　坂崎　恵美子

最終頁に続く

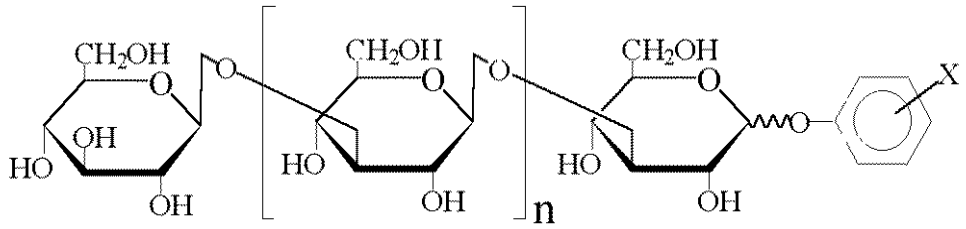
(54)【発明の名称】フェノール系配糖体、及びその製造方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

下記の一般式（I）

【化１】

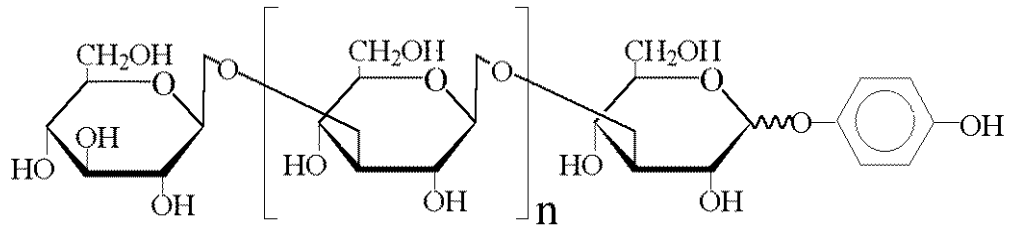


（式中、Ｘは水素原子、水酸基又はニトロ基を、ｎは０～９の整数を表わす。）で示されるフェノール系配糖体（但し、式中、Ｘが水素原子又は水酸基であり且つｎが０で表わされるフェノール系配糖体、及びＸがニトロ基であり且つｎが０～４の整数で表されるフェノール系配糖体、を除く）。

【請求項２】

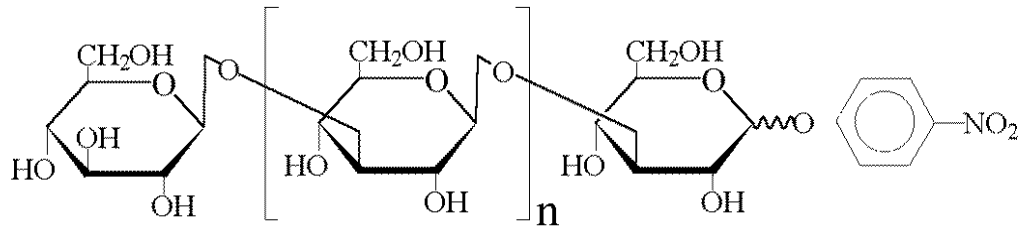
下記の一般式（II）

【化２】



又は、一般式（III）

【化３】



（式中、ｎは０～９の整数を表わす。）

で示される請求項１に記載のフェノール系配糖体（但し、式中、一般式（II）においてｎが０で表されるフェノール系配糖体、及び一般式（III）においてｎが０～４の整数で表されるフェノール系配糖体、を除く）。

【請求項３】

フェノール系グルコシル配糖体（Ａ）と、β－１，３グリコシル糖化合物（Ｂ）とを、β－１，３グルカナーゼ活性を有する酵素剤（Ｃ）の存在下で反応させるフェノール系配糖体の製造方法であって、酸化剤（Ｃ）がストレプトマイセスｓｐＤＩＣ－１０８菌株（微工研条寄第２５３号）から得られる糖転移酵素ＳＧＴａｓｅ、キタラーゼ又はドリセラーゼであることを特徴とするフェノール系配糖体の製造方法。

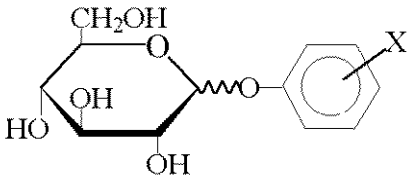
【請求項４】

β－１，３グリコシル糖化合物（Ｂ）が、β－１，３グルコシル多糖、又はβ－１，３グルコシルオリゴ糖である請求項３に記載の製造方法。

【請求項５】

フェノール系グルコシル配糖体（Ａ）が、下記の一般式（IV）

【化４】



（式中、Ｘは水素原子、水酸基又はニトロ基を表わす。）で示される配糖体である請求項３又は４に記載の製造方法。

【請求項６】

フェノール系グルコシル配糖体（Ａ）が、ハイドロキノン又はｐ－ニトロフェノールのグルコシル配糖体である請求項３又は４に記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】

本発明は、β－１，３オリゴ糖を有する新規なフェノール系配糖体、及びその製造方法に関する。

【０００２】

【従来の技術】
フェノール系配糖体は、優れた生理活性を持ち且つ低毒性であること、および該配糖体に含まれるフェノール類部分が殺菌・防かび作用を示すことから、薬品などとしての有用性が以前から認識され、また、該配糖体を糖関連酵素の基質、活性測定・検出試薬として使用することも期待されていた。
【０００３】
例えば、アルブチン（ハイドロキノン－β－Ｄ－グルコピラノシド）は自然界に存在し、古くから利尿作用を有することが知られており、更に、最近になってメラニン色素生成阻害作用もあることが明らかにされ、美白剤（化粧品）としても使用されるようになった。
【０００４】
カテコール、レゾルシノールのグルコシル配糖体などは、皮膚色素沈着症の予防および治療に有効で、皮膚外用剤の成分として利用できること（特開平４－１１１５号公報）、頭皮のフケの発生を防止し、頭髪に潤いと、しなやかさを与える顕著な作用効果を有し、頭髪化粧料の成分として利用できること（特開平４－５２１８号公報）が知られている。
【０００５】
また例えばｐ－ニトロフェノールや２－クロロ－４－ニトロフェノール等の、マルトオリゴ糖配糖体あるいはセロオリゴ糖配糖体については、各々アミラーゼ、セルラーゼの基質や活性測定・検出試薬として用いられてきた。
【０００６】
ハイドロキノン配糖体、カテコール配糖体、レゾルシノール配糖体などが優れた生理活性を有することは前述した通りであるが、その活性はハイドロキノン、カテコール、レゾルシノールなど非糖部分に由来するものである。
【０００７】
しかし、ハイドロキノン、カテコール、レゾルシノール自身は毒性の強い物質であるため、安価であっても、そのまま用いることはできず、糖を付加し低毒化した配糖体の状態で使用している。
【０００８】
しかし、これら従来の配糖体は、糖を僅か１残基しか持たない単糖配糖体であり、使用時に生体酵素または皮膚常在菌の酵素など（例えばグルコシダーゼ）によって分解され、毒性物質が遊離してくる可能性が危惧される。このことは、安全性における大きな問題であり、これらフェノール系配糖体の安定化が切望されている。
【０００９】
また、ｐ－ニトロフェノールや２－クロロ－４－ニトロフェノールは、発色性物質であることから、これらの配糖体を用いる簡便な酵素活性測定・検出法が提供されてきた。しかし、これまで知られていたのは、アミラーゼあるいはセルラーゼなどの活性を測定する為のｐ－ニトロフェノールや２－クロロ－４－ニトロフェノールのマルトオリゴ糖あるいはセロオリゴ糖配糖体等であった。
【００１０】
またビール製造工程で生じる澱を分解する目的で使用され、また植物の病原体などに対する抵抗性の指標となると期待されるβ－１，３グルカナーゼに関しては、その活性測定・検出に使用できる配糖体はこれまで存在せず、その活性の高精度、且つ簡便な測定を可能にするフェノール系配糖体が切望されていた。
【００１１】
【発明が解決しようとする課題】
本発明が解決しようとする課題は、医薬品やβ－１，３グルカナーゼ活性の検査薬や測定試薬として有用な、新規なフェノール系配糖体、及びその製造方法を提供することにある。
【００１２】
【課題を解決するための手段】
本発明者らは、課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、フェノール系グルコシル配糖体

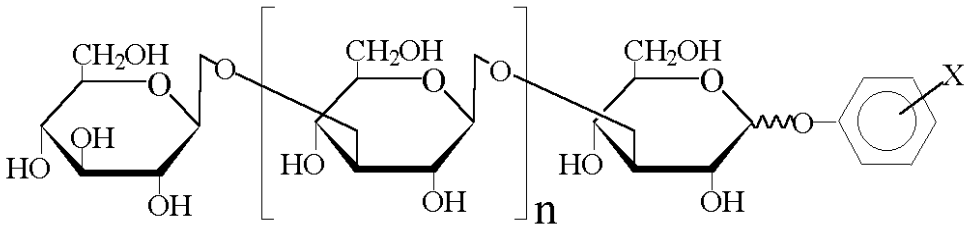
とβ－１，３グリコシル糖化合物とをβ－１，３グルカナーゼ活性を有する酵素剤の存在下で反応させることにより容易に新規フェノール系配糖体を製造できることを見いだし、本発明を完成するに至った。

【００１３】

即ち、本発明は、下記の一般式（I）

【００１４】

【化５】



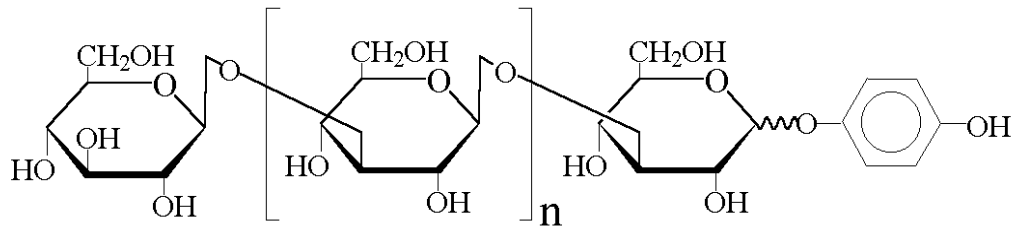
【００１５】

（式中、Ｘは水素原子、水酸基又はニトロ基を、ｎは０～９の整数を表わす。）で示されるフェノール系配糖体である。

また本発明は、下記の一般式（II）

【００１６】

【化６】

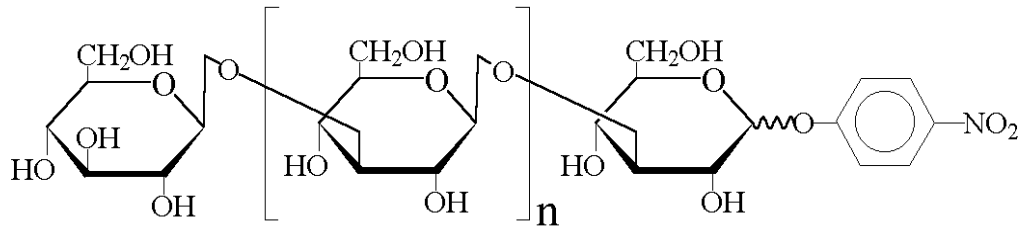


【００１７】

又は、一般式（III）

【００１８】

【化７】



【００１９】

（式中、ｎは０～９の整数を表わす。）

で示されるフェノール系配糖体を含む。

【００２０】

本発明は、フェノール系グルコシル配糖体（Ａ）と、β－１，３グリコシル糖化合物（Ｂ）とを、β－１，３グルカナーゼ活性を有する酵素剤（Ｃ）の存在下で反応させることを特徴とするフェノール系配糖体の製造方法であり、β－１，３グリコシル糖化合物（Ｂ）が、特に、β－１，３グルコシル多糖、又はβ－１，３グルコシルオリゴ糖であるフェノール系配糖体の製造方法や、

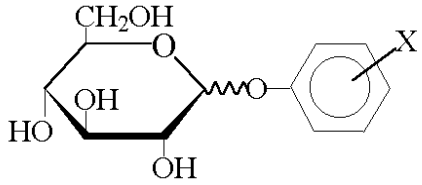
【００２１】

β－１，３グルカナーゼ活性を有する酵素剤（Ｃ）が、特に、ストレプトマイセスｓｐＤＩＣ－１０８菌株（微工研条寄第２５３号）から得られる糖転移酵素ＳＧＴａｓｅ、キタ

ラーゼ又はドリセラーゼであることを特徴とする、フェノール系配糖体の製造方法や、フェノール系グルコシル配糖体（Ａ）が、特に、下記の一般式（IV）

【００２２】

【化８】



【００２３】

（式中、Ｘは水素原子、水酸基又はニトロ基を表わす。）

で示される配糖体であることを特徴とする、フェノール系配糖体の製造方法や、フェノール系グルコシル配糖体（Ａ）が、特に、ハイドロキノン又はｐ－ニトロフェノールのグルコシル配糖体であることを特徴とする、フェノール系配糖体の製造方法を含むものである。

【００２４】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明に用いるフェノール系グルコシル配糖体（Ａ）としては、フェニルグルコシド、ヒドロキシフェニルグルコシド、ニトロフェニルグルコシド、２－クロロ－４－ニトロフェニルグルコシドなどが例示され、好ましくは、ハイドロキノングルコシド、ｐ－ニトロフェニルグルコシドが挙げられる。

【００２５】

β－１，３グリコシル糖化合物（Ｂ）としては、カードラン、パキマン、パラミロン、シゾフィラン、ラミナラン、酵母細胞壁、ラミナリオリゴ糖などが例示され、好ましくは、カードラン、ラミナリオリゴ糖が挙げられる。

【００２６】

本発明の製造法に使用するβ－１，３グルカナーゼ活性を有する酵素剤（Ｃ）は、それ自体公知であるが、該酵素剤がフェノール系グルコシル配糖体に対して糖転移活性を示すことは知られていなかった。

【００２７】

酵素剤（Ｃ）としては、ストレプトマイセスｓｐＤＩＣ－１０８菌株（微工研条寄第２５３号）から得られる糖転移酵素であるＳＧＴａｓｅ、キタラーゼ（和光純薬工業株式会社製）、ドリセラーゼ（協和発酵工業株式会社製）が例示される。これらの酵素剤（Ｃ）は、そのまま用いてもよいし、固定化あるいは修飾酵素として用いてもよい。

【００２８】

ストレプトマイセスｓｐＤＩＣ－１０８菌株（微工研条寄第２５３号）から得られるＳＧＴａｓｅの製造方法、精製方法、特徴に関しては、特公平４－３７７１９号公報、及び特願平７－１０６０２号公報に記載されているが、以下にその概略を示す。

【００２９】

ＳＧＴａｓｅは、ストレプトマイセスｓｐＤＩＣ－１０８菌株を振盪培養、通気培養等で、ｐＨ５．０～８．０、培養温度２０～５０℃で１～６日培養した培養液中に生産される。その作用は、β－１，３グリコシル糖化合物（例えばカードラン、ラミナラン、パキマン、酵母細胞壁など）及びその部分分解物を加水分解し、ビオース、トリオースを主成分とするオリゴ糖を生成する。

【００３０】

更に、その際、適当な受容体（例えば、多糖、オリゴ糖、配糖体など）が存在すると、生成したオリゴ糖をβ－１，３グリコシド結合を介して受容体に転移する。その作用温度は１０～７０℃、至適温度は４０～６０℃であり、作用ｐＨは４．０～８．５、至適ｐＨは

５．０～７．０である。またＳＤＳ－ＰＡＧＥから求められる糖の分子量は約３．４万である。

【００３１】

前述の酵素剤（Ｃ）は、β－１，３グリコシル糖化合物（Ｂ）を加水分解し、種々のフェノール系グルコシル配糖体（Ａ）に糖転移させ、これによってオリゴ糖を糖鎖に持つフェノール系配糖体が得られる。

【００３２】

本発明によるフェノール系配糖体の製造方法は、より具体的には、以下に示すような操作で行なわれる。反応容器、例えば三角フラスコやねじ口ビン中で、フェノール系グルコシル配糖体（Ａ）と、β－１，３グリコシル糖化合物（Ｂ）とを反応溶媒に混和させ、酵素剤（Ｃ）を作用させる。

【００３３】

フェノール系グルコシル配糖体（Ａ）は、反応溶媒に対して５０重量／容量％以下、好ましくは０．１～３０重量／容量％混和させる。β－１，３グリコシル糖化合物（Ｂ）は、反応溶媒に対して５０重量／容量％以下、好ましくは０．１～３０重量／容量％混和させる。

【００３４】

酵素剤（Ｃ）は、反応溶媒に対して５０重量／容量％以下、好ましくは０．１～３０重量／容量％混和させる。これらの原料は、必ずしも反応溶媒に完全溶解している必要はないが、溶解している方が好ましい。反応溶媒は、水もしくは緩衝液でよいが、これに水溶性有機溶媒を加えてもよい。

【００３５】

水溶性有機溶媒としては、例えばメタノール、エタノール、プロパノールなどの炭素数１～３のアルコール、アセトン、アセトニトリル、ジメチルホルムアミドなどが挙げられ、好ましくは炭素数１～３のアルコール、アセトニトリルが挙げられる。

【００３６】

反応溶媒に占める水溶性有機溶媒の割合は、０～９０容量／容量％、好ましくは０～８０容量／容量％である。緩衝液の種類については特に限定されるものではないが、例えば酢酸緩衝液、クエン酸緩衝液、コハク酸緩衝液、トリス緩衝液などを用いることができ、好ましくは酢酸緩衝液である。緩衝液のｐＨは３～８の範囲内に設定できるが、用いる酵素剤の至適ｐＨに調整するのが望ましい。

【００３７】

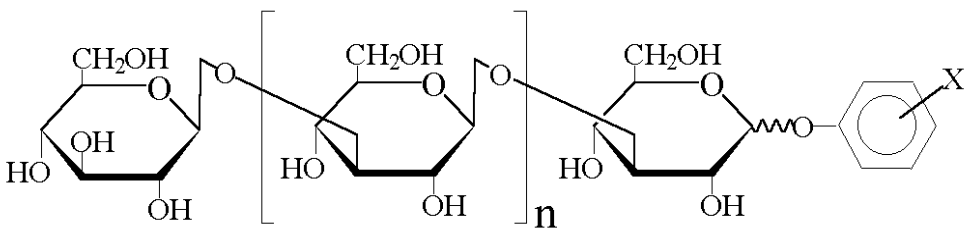
上記反応液を１０～７０℃、好ましくは４０～６０℃の温度条件下で適当時間振盪する。通常１～２日間で反応の進行は止まる。反応終了後、目的産物であるフェノール系配糖体を精製するには、一般的な酵素の精製方法を適宜利用して行なうことができ、特に限定されない。例えば、順相クロマトグラフィー（例えば固定相がＡｍｉｄｅ－８０（東ソー株式会社製）で移動相がアセトニトリル水溶液）などにより反応液から分取することが可能である。

【００３８】

本発明による製造方法の生成物の１つとして得られる、下記の一般式（Ｉ）

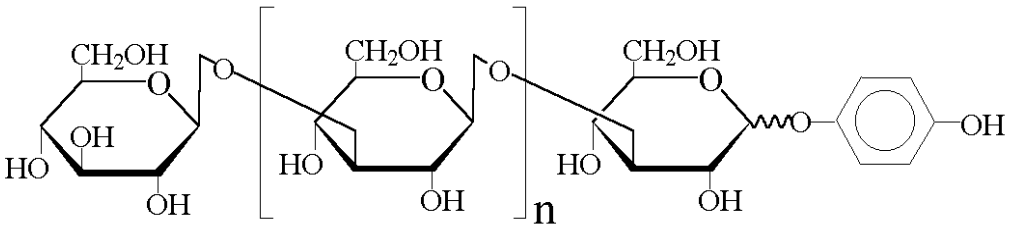
【００３９】

【化９】

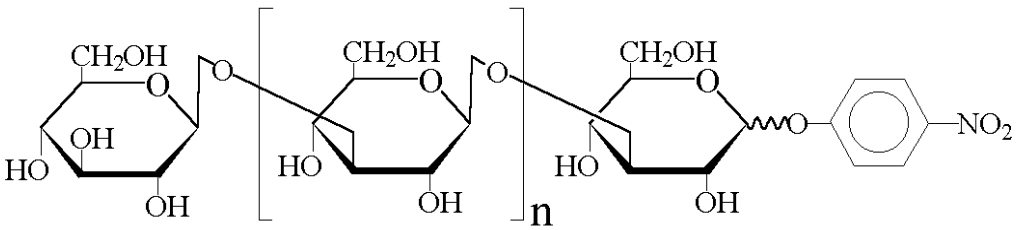


【００４０】

（式中、Ｘは水素原子、水酸基又はニトロ基、ｎは０～９の整数を表わす。）
で示される配糖体の内、特に下記の一般式（II）
【化１０】



【００４１】
（式中、ｎは０～９の整数を表わす。）
で示されるフェノール系配糖体は、グルコシダーゼなどに対する安定性が高いため、毒性物質が遊離する危険性が低い点で、例えば、化粧品配合剤としても従来のフェノール系配糖体より優れる。また下記の一般式（III）
【００４２】
【化１１】



【００４３】
（式中、ｎは０～９の整数を表わす。）
で示されるフェノール系配糖体は、新規なβ－１，３グルカナーゼ基質、活性測定・検出試薬に有用である。
【００４４】
【実施例】
以下に実施例を挙げ、本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。
【００４５】
（実施例１）　フェノール系グルコシル配糖体としてアルブチンを用いたフェノール系配糖体の製造例１
１重量／容量％のアルブチン、１重量／容量％のラミナリペンタオース、８０容量／容量％のエタノールを含む２０ｍＭの酢酸緩衝液ｐＨ５．５に、０．２重量／容量％のＳＧＴａｓｅを加え、この混合液を５５℃で振盪することにより反応させた。
【００４６】
２時間後、反応液の高速液体クロマトグラフィー（以下、ＨＰＬＣと略す）分析で、配糖体の生成を確認した（図１）。ＨＰＬＣ分析には、東ソー株式会社製Ａｍｉｄｅ－８０カラムを用い、カラム温度４０℃、溶離液７３容量／容量％アセトニトリル水溶液、流速０．７ｍｌ／ｍｉｎ、検出ＵＶ２８０ｎｍとした。
【００４７】
検出されたピークの内、図１中の実線矢印で示したピークを分取し、これをＮＭＲにより、構造解析した（図６）。以下にＮＭＲデータを示す。
【００４８】
^{1}Ｈ－ＮＭＲ（ｐｐｍ，プロトン数，形状，結合定数）：
７．０６，２Ｈ，ｄ（ハイドロキノン部分）、６．８７，２Ｈ，ｄ、４．９９，１Ｈ，ｄ，Ｊ＝７．７Ｈｚ（還元末端グルコースの１位）、カップリング定数より、ハイドロキノ

ンと糖鎖の結合はβ結合である。また、^{1}Ｈ積分比より、ハイドロキノンの水酸基のうち一方のみが糖鎖と結合していることが分かる。

【００４９】

^{13}Ｃ－ＮＭＲ：

１０３．８～１０５．４ｐｐｍに４Ｃ分のピークが存在することから糖鎖はグルコース４残基であることが判る。また還元末端グルコース１位のピークのケミカルシフトが１０３．８ｐｐｍであることからもハイドロキノンと糖鎖の結合がβ結合であることが確認できた。８６ｐｐｍ付近のピークは、グルコース間の結合がβ－１，３結合であることを示す。

【００５０】

以上のことから該化合物を、グルコース４残基の全てが、β－１，３結合を介してなるハイドロキノン－β－ラミナリテトラオシドと同定した。

【００５１】

（実施例２）　フェノール系グルコシル配糖体としてアルブチンを用いたフェノール系配糖体の製造例２

１重量／容量％のアルブチン、１重量／容量％のカードランを含む２０ｍＭの酢酸緩衝液ｐＨ５．０に、０．２重量／容量％のＳＧＴａｓｅを加え、この混合液を５０℃で振盪することにより反応させた。２時間後、反応液をＨＰＬＣ分析に付し、配糖体の生成を確認した（図２）。

【００５２】

ＨＰＬＣ分析には、昭和電工株式会社製ＮＨ２Ｐカラムを用い、カラム温度４０℃、溶離液７３容量／容量％アセトニトリル水溶液、流速０．７ｍｌ／ｍｉｎ、検出ＵＶ２８０ｎｍとした。その結果、ハイドロキノン－β－ラミナリビオシドをはじめとするフェノール系配糖体の生成が認められた。

【００５３】

（実施例３）　フェノール系グルコシル配糖体としてｐ－ニトロフェニル－β－グルコシドを用いたフェノール系配糖体の製造例３

１重量／容量％のｐ－ニトロフェニル－β－グルコシド、１重量／容量％のラミナリペンタオース、２０容量／容量％のエタノールを含む２０ｍＭの酢酸緩衝液ｐＨ５．５に、０．２重量／容量％のＳＧＴａｓｅを加え、この混合液を５５℃で振盪することにより反応させた。

【００５４】

２０時間後、実施例１と同様に、反応液をＨＰＬＣ分析し、配糖体の生成を確認した（図３）。図３中の実線矢印で示したピークを分取し、ＮＭＲで解析した結果、生成物をｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリテトラオシドと同定した（図７）。また、図３中の破線矢印で示したピークを分取し、ＮＭＲで解析した。

【００５５】

^{1}Ｈ－ＮＭＲ（ｐｐｍ，プロトン数，形状）：

８．２２，２Ｈ，ｄ、７．２４，２Ｈ，ｄ、ｐ－ニトロフェノール部分の存在を示す。５．２４，１Ｈ，ｄ（グルコース残基１の１位）、４．５１，１Ｈ，ｄ（グルコース残基２の１位）、４．５３，１Ｈ，ｄ（グルコース残基３の１位）、４．３６，１Ｈ，ｄ（グルコース残基４の１位）、３．０～４．８（グルコース残基１～４の２～６位）。但し、ここでは、アグリコンに近い方から順にグルコース残基１～４と表記した。また^{1}Ｈ積分比より、ｐ－ニトロフェノール１分子あたりグルコース４分子が結合していることが分かる。

【００５６】

^{13}Ｃ－ＮＭＲ：

８６ｐｐｍ付近のピークは、グルコース間の結合がβ－１，３結合であることを示す。９９ｐｐｍ付近のピークは、ｐ－ニトロフェノールと糖鎖の結合がβ結合であることを示す。以上のことから、該化合物をｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリヘプタオシドと同定し

た。
【００５７】
（実施例４）
フェノール系グルコシル配糖体としてｐ－ニトロフェニル－α－グルコシドを用いたフェノール系配糖体の製造例１
１重量／容量％のｐ－ニトロフェニル－α－グルコシド、４重量／容量％のラミナリペンタオースを含む２０ｍＭの酢酸緩衝液ｐＨ５．０に１重量／容量％のキタラーゼを加え、この混合液を５０℃で振盪することにより反応させた。２時間後、反応液を実施例２と同様にＨＰＬＣ分析に付し、配糖体の生成を確認した。ＨＰＬＣ分析結果を図４に示す。
【００５８】
（実施例５）
フェノール系グルコシル配糖体としてｐ－ニトロフェニル－α－グルコシドを用いたフェノール系配糖体の製造例２
１重量／容量％のｐ－ニトロフェニル－α－グルコシド、４重量／容量％のラミナリペンタオースを含む２０ｍＭの酢酸緩衝液ｐＨ４．５に、１重量／容量％のドリセラーゼを加え、この混合液を５０℃で振盪することにより反応させた。２時間後、反応液を実施例２と同様にＨＰＬＣ分析に付し、配糖体の生成を確認した。ＨＰＬＣ分析結果を図５に示す。
【００５９】
（実施例６）ハイドロキノン－β－ラミナリテトラオシドとアルブチンのβ－グルコシダーゼに対する安定性比較試験
３７ｍＭのハイドロキノン－β－ラミナリテトラオシドあるいはアルブチンを含む５ｍｌの２０ｍＭの酢酸緩衝液ｐＨ５に、０．５ｍｇのβ－グルコシダーゼ（アーモンド由来）を加え、５０℃で振盪しながら反応させた。
【００６０】
経時的に反応液を一部採取し、ＨＰＬＣによる分析で毒性物質であるハイドロキノンの遊離率を比較した（図８）。その結果、アルブチンからは短時間で多量のハイドロキノンが遊離してくるのに対し、ハイドロキノン－β－ラミナリテトラオシドからの遊離量は長時間後も少なく、１時間反応の時点でアルブチンの約１／７０、２時間反応の時点ではアルブチンの約１／１７に抑えられていることが分かった。これから、ハイドロキノン－β－ラミナリテトラオシドのβ－グルコシダーゼに対する安定性は、アルブチンに比し飛躍的に向上していることが確認された。
【００６１】
（実施例７）　ｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリペンタオシドによる酵素活性測定・検出能試験
５．７ｍｇのｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリペンタオシドと０．４４ｍｇの塩化カルシウムとを含む１５０ｍＭの緩衝液３ｍｌに各種酵素を１ｕ（ユニット）添加し、４０℃で６０分間反応させた。反応中、経時的に４１５ｎｍにおける吸光度を測定し、ｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリペンタオシドのβ－１，３グルカナーゼ活性測定・検出能を検証した。
【００６２】
用いた酵素と緩衝液の組み合わせは、β-１,３グルカナーゼ（Helix pomatia由来）と酢酸緩衝液（ｐＨ５．０）、α－アミラーゼ（Bacillus licheniformis由来）とＨＥＰＥＳ－ＮａＯＨ（ｐＨ６．９）、セルラーゼ（ウスバタケ由来）と酢酸緩衝液（ｐＨ４．５）、β－グルコシダーゼ（アーモンド由来）と酢酸緩衝液（ｐＨ５．０）であった。
【００６３】
その結果、ｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリペンタオシドは、β－１，３グルカナーゼの作用を受けて発色し（４１５ｎｍにおける吸光度が増加する）、該酵素の測定能を有することが確認された（図９）。また、α－アミラーゼ、セルラーゼ、β－グルコシダーゼによる発色は非常に低かったことから、ｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリペンタオシド

はβ－１，３グルカナーゼに対する特異性が高いことも判明した。

【００６４】

【発明の効果】

本発明は、医薬原料や、β－１，３グルカナーゼ活性測定・検出試薬として利用できるｐ－ニトロフェノールのラミナリオリゴ糖配糖体や、グルコシダーゼなどに対する安定性が従来より高められたハイドロキノンのラミナリオリゴ糖配糖体などの新規のフェノール系配糖体、及びその製造方法が提供できる。

【図面の簡単な説明】

【図１】実施例１で得られた、ハイドロキノン－β－ラミナリオリゴグリコシドを含む酵素反応終了液のＨＰＬＣ分析結果を示す図である。横軸は溶離時間（分）を、縦軸は２８０ｎｍでの吸光度を表わす。

【図２】実施例２で得られた、ｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリオリゴグリコシドを含む酵素反応終了液のＨＰＬＣ分析結果を示す図である。

【図３】実施例３で得られた、ｐ－ニトロフェニル－β－オリゴグリコシドを含む酵素反応終了液のＨＰＬＣ分析結果を示す図である。

【図４】実施例４で得られた、ｐ－ニトロフェニル－α－オリゴグリコシドを含む酵素反応終了液のＨＰＬＣ分析結果を示す図である。

【図５】実施例５で得られた、ｐ－ニトロフェニル－α－オリゴグリコシドを含む酵素反応終了液のＨＰＬＣ分析結果を示す図である。

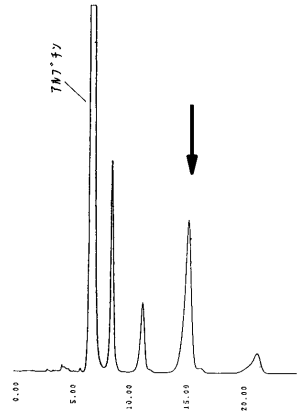
【図６】実施例１の図１中の実線矢印を付したピークを分取し、その化合物の構造を^{1}Ｈ－ＮＭＲ（上図）及び^{13}Ｃ－ＮＭＲ（下図）にて解析した結果を示す図である。

【図７】実施例３の図３中の実線矢印を付したピークを分取し、その化合物の構造を^{1}Ｈ－ＮＭＲ（上図）及び^{13}Ｃ－ＮＭＲ（下図）にて解析した結果を示す図である。

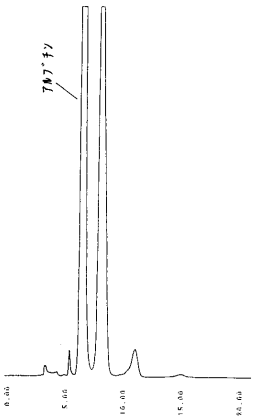
【図８】ハイドロキノン－β－ラミナリテトラオシド（図中Ｈｙｄ－Ｇ４と略記）とアルブチンのβ－グルコシダーゼに対する安定性を比較した図である。横軸は反応時間（時間）を、縦軸はハイドロキノンの遊離率（％）を表わす。

【図９】ｐ－ニトロフェニル－β－ラミナリペンタオシド（図中ＰＮＰ－Ｇ５と略記）の各種酵素による発色（４１５ｎｍにおける吸光度）経時変化を示した図である。横軸は時間（分）を縦軸は吸光度を表わす。

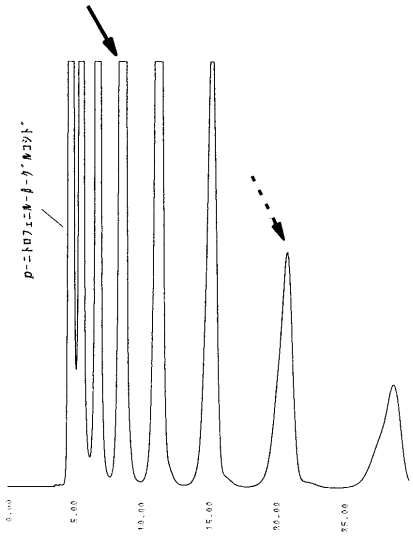
【図１】



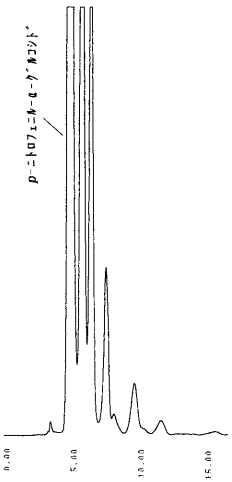
【図２】



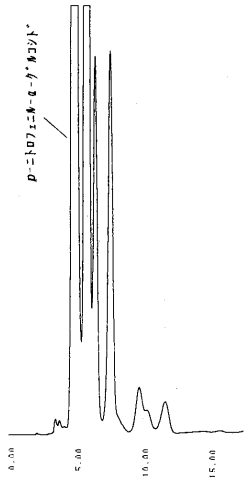
【図３】



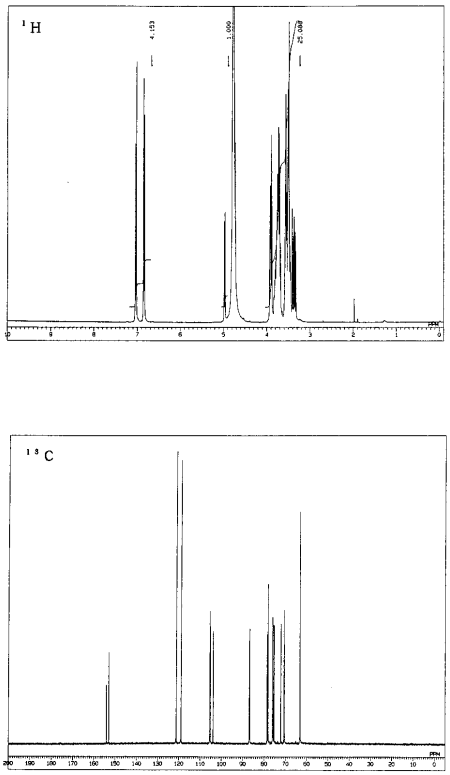
【図４】



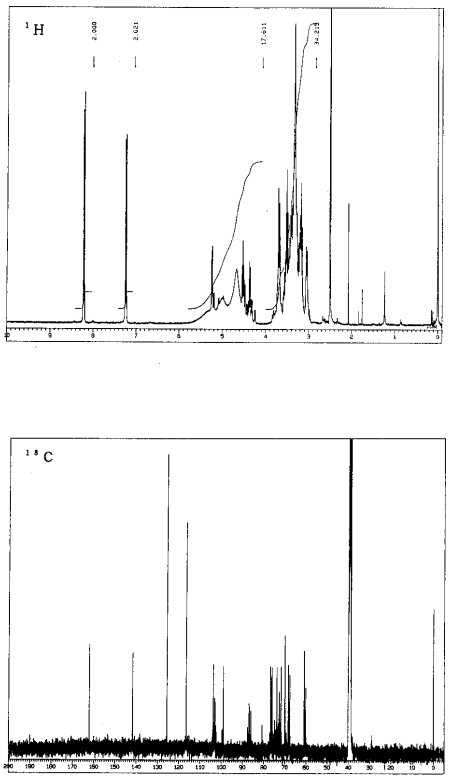
【図５】



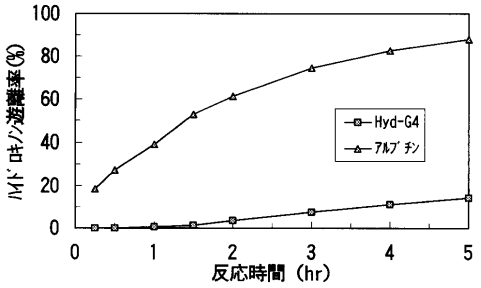
【図６】


1H
13C

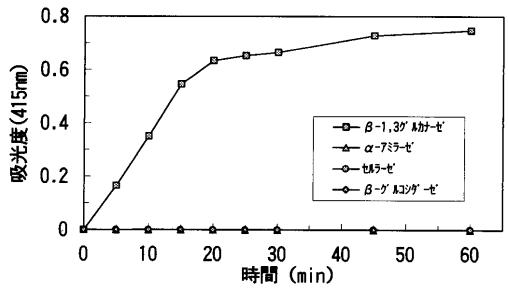
【図７】


1H
13C

【図８】


ﾊｲﾄﾞﾛｷｼﾉ遊離率(%)
100
80
60
40
20
0
0
1
2
3
4
5
反応時間 (hr)
Hyd-G4
ｱﾙﾌﾞﾁﾝ

【図９】


吸光度(415nm)
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0
10
20
30
40
50
60
時間 (min)
β-1,3ｸﾞﾙｶﾅｰｾﾞ
α-ｱﾐﾗｰｾﾞ
ｾﾙﾗｰｾﾞ
β-ｸﾞﾙｺｼﾀﾞｰｾﾞ

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		
C07H 15/203	***(2006.01)***		C07H	15/203	
C12Q 1/48	*(2006.01)*		C12Q	1/48	Z
C12R 1/465	*(2006.01)*		C12N	9/10	
			C12R	1:465	

(56)参考文献 特開平06－298636（JP，A）
Carbohydrate Research, Vol.77, p.245-251 (1979)
Carbohydrate Research, Vol.11, p.241-245 (1969)
Bioorganicheskaya Khimiya, Vol.12(11), p.1478-1483 (1986) & Chemical Abstract, AN 106:80828

(58)調査した分野(Int.Cl.，DB名)
C12P 19/14
C07H 15/203
C12N 9/10
C12N 9/42
C12P 19/18
C12P 19/44
CA/REGISTRY/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)