(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3602854号
(P3602854)
(45)発行日　平成16年12月15日(2004.12.15)　(24)登録日　平成16年10月1日(2004.10.1)

(51)Int.Cl.[7]	F I
C07C 49/493	C07C 49/493
A61K 31/12	A61K 31/12
A61P 35/00	A61P 35/00
C07C 45/56	C07C 45/56
C07C 45/64	C07C 45/64

請求項の数 11　(全 20 頁)

(21)出願番号　特願平11-502047
(86)(22)出願日　平成10年6月1日(1998.6.1)
(86)国際出願番号　PCT/JP1998/002425
(87)国際公開番号　WO1998/056745
(87)国際公開日　平成10年12月17日(1998.12.17)
審査請求日　平成13年8月23日(2001.8.23)
(31)優先権主張番号　特願平9-171193
(32)優先日　平成9年6月13日(1997.6.13)
(33)優先権主張国　日本国(JP)
(31)優先権主張番号　特願平9-203903
(32)優先日　平成9年7月15日(1997.7.15)
(33)優先権主張国　日本国(JP)

(73)特許権者
タカラバイオ株式会社
滋賀県大津市瀬田３丁目４番１号
(74)代理人
弁理士　風早　信昭
(74)代理人
弁理士　浅野　典子
(72)発明者　児島　薫
青森県弘前市大字在府町８２番地４　賛酒造株式会社バイオ弘前研究所内
(72)発明者　猪飼　勝重
滋賀県大津市瀬田３丁目４番１号　賛酒造株式会社中央研究所内

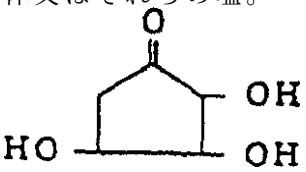
最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒドロキシシクロペンタノン

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

下記式〔Ｉ〕で表される2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩。



〔Ｉ〕

【請求項２】

下記工程を包含することを特徴とする式〔Ｉ〕で表される2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩の製造方法。

（Ａ）：下記（ａ）、（ｂ）、（ｃ）より選択される少なくとも１種の物を加熱処理し、2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノンを生成させる工程、

（ａ）ウロン酸又はウロン酸誘導体、

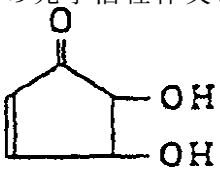
（ｂ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、

（ｃ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物、

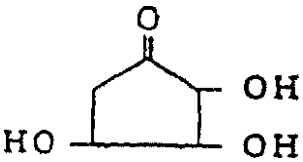
（Ｂ）：必要に応じて、得られた加熱処理物より2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノンを単離する工程。

【請求項３】

ウロン酸がガラクツロン酸、グルクロン酸、グルロン酸、マンヌロン酸及び／又はイズロン酸である請求の範囲２記載の製造方法。
【請求項４】
ウロン酸誘導体が、ウロン酸の塩、あるいはウロン酸ラクトン、ウロン酸エステル、ウロン酸アミド又はそれらの塩である請求の範囲２記載の製造方法。
【請求項５】
糖化合物がペクチン、ペクチン酸、アルギン酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、フコイダン、コンドロイチン硫酸、コンドロイチン、デルマタン硫酸及び／又はその分解物から選択される糖化合物である請求の範囲２記載の製造方法。
【請求項６】
加熱処理物が60～350℃、数秒～数日加熱処理して得られる加熱処理物である請求の範囲２～５のいずれか１項に記載の製造方法。
【請求項７】
加熱処理物が酸性～中性の条件下で加熱処理を行って得られる加熱処理物である請求の範囲２～６のいずれか１項に記載の製造方法。
【請求項８】
下記式〔II〕で表される4,5－ジヒドロキシ－２－シクロペンテン－１－オンを下記式〔Ｉ〕で表される2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノンに変換させる工程を包含することを特徴とする式〔Ｉ〕で表される2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩の製造方法。



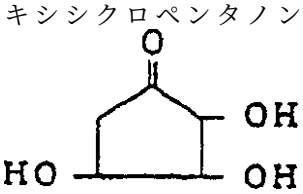
〔II〕



〔Ｉ〕

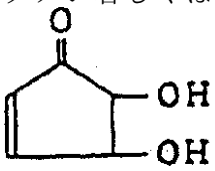
【請求項９】
請求の範囲１記載の2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも１以上の化合物を有効成分として含有することを特徴とする医薬。
【請求項１０】
医薬が制がん剤である請求の範囲９記載の医薬。
【請求項１１】
請求の範囲１記載の2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも１以上の化合物を含有することを特徴とする食品又は飲料。
【発明の詳細な説明】
発明の属する技術分野
本発明は、医薬、食品及び飲料の分野で有用な、制がん作用等の生理活性を有するヒドロキシシクロペンタノン化合物、その製造方法及びその利用に関する。
従来の技術
従来、臨床上の療法に用いられている薬物はアルキル化剤、代謝阻害剤、植物アルカロイド等の制がん剤、抗生物質、免疫促進剤、免疫調節剤など多岐にわたっているが、これらの薬物療法はいまだ完成したとはいいがたい。
これらのうち、天然物由来であるプロスタグランジンの中で、シクロペンテノン環を有するプロスタグランジンＡ及びＪ類がDNA合成を抑制することにより、安全性の高い制がん剤としての可能性が報告され、それらの各種誘導体が合成されている（特開昭62－96438

号公報参照）。
発明が解決しようとする課題
本発明の目的は、制がん作用等の生理作用を有する安全性の高いシクロペンタノン化合物を開発し、当該化合物の製造方法、当該化合物を含有する医薬、食品及び飲料を提供することにある。
課題を解決するための手段
本発明者らは式〔Ｉ〕で表される化合物、2,3,4－トリヒドロキシ－２－シクロペンタノン（以下、単にヒドロキシシクロペンタノンと称す）がウロン酸、ウロン酸誘導体、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物から選択される少なくとも１種の物の加熱処理物中に生成し、加熱処理物中より単離された当該化合物が制がん作用等の生理活性を有することを見出し、本発明を完成させた。
本発明を概説すれば、本発明の第１の発明は下記式〔Ｉ〕で表される2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩に関する。



〔Ｉ〕

本発明の第２の発明は下記工程を包含することを特徴とする式〔Ｉ〕で表される2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩の製造方法に関する。
（Ａ）：下記（ａ）、（ｂ）、（ｃ）より選択される少なくとも１種の物を加熱処理し、2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノンを生成させる工程、
（ａ）ウロン酸又はウロン酸誘導体、
（ｂ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、
（ｃ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物、
（Ｂ）：必要に応じて、得られた加熱処理物より2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノンを単離する工程。
本発明の第３の発明は下記式〔II〕で表される4,5－ジヒドロキシ－２－シクロペンテン－１－オンを式〔Ｉ〕で表される2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノンに変換させる工程を包含することを特徴とする式〔Ｉ〕で表される2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩の製造方法に関する。



〔II〕

本発明の第４の発明は本発明の第１の発明の2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも１以上の化合物を有効成分として含有することを特徴とする医薬に関する。
本発明の第５の発明は本発明の第１の発明の2,3,4－トリヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも１以上の化合物を含有することを特徴とする食品又は飲料に関する。
【図面の簡単な説明】
図１は保持時間と示差屈折検出計の出力の関係を示す図である。
図２はシクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合物の^{1}Ｈ－NMRスペクトルを表す図である。
図３はシクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合物の^{13}Ｃ－NMRスペクトルを表す図である。

図４はトリメチルシリル化されたシクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合物のガスクロマトグラムを表す図である。
図５は図４のピーク（１）のマススペクトルを表す図である。
図６は図４のピーク（２）のマススペクトルを表す図である。
図７はヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡの^{1}H－NMRスペクトルを表す図である。
図８はヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢの^{1}H－NMRスペクトルを表す図である。
図９はヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡの^{13}C－NMRスペクトルを表す図である。
図10はヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢの^{13}C－NMRスペクトルを表す図である。
図11はトリメチルシリル化されたヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡのガスクロマトグラムを表す図である。
図12はトリメチルシリル化されたヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢのガスクロマトグラムを表す図である。
図13は図11のピーク（１）のマススペクトルを表す図である。
図14は図12のピーク（２）のマススペクトルを表す図である。
発明の実施の形態
以下、本発明をより具体的に説明する。
本発明において、ウロン酸、ウロン酸誘導体、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物とは、その加熱処理物中にヒドロキシシクロペンタノンが生成されれば特に限定はない。
本発明により、食品又は飲料中に生理活性を有するヒドロキシシクロペンタノン、その光学活性体及び／又はそれらの塩の適量を含有させることが可能となった。これらの化合物が有する制がん作用等によって、本発明の食品又は飲料は制がん性食品又は制がん性飲料として極めて有用である。
また本発明によりヒドロキシシクロペンタノン、その光学活性体及び／又はそれらの塩を含有する医薬が提供され、該医薬はがんの治療剤又は予防剤として有用である。
本発明に使用されるヒドロキシシクロペンタノンは、（ａ）ウロン酸又はウロン酸誘導体、（ｂ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、（ｃ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物から選択される物を加熱処理することにより生成される。従って上記（ａ）、（ｂ）又は（ｃ）を含有しない原料を物理的、化学的、酵素的あるいはその他の手段を用いて生成せしめた（ａ）、（ｂ）又は（ｃ）を加熱処理することにより、本発明のヒドロキシシクロペンタノンを得ることもできる。
また本発明においてはヒドロキシシクロペンタノンを含有する加熱処理物、該加熱処理物からの部分精製ヒドロキシシクロペンタノン及び精製ヒドロキシシクロペンタノンを使用することができる。
ウロン酸はグリクロン酸ともいい、アルドースのアルデヒド基はそのままにして他端の第１アルコール基だけをカルボキシル基に酸化したヒドロキシアルデヒド酸の総称であり、天然では動植物の各種の多糖の構成成分として存在する。ウロン酸を含有する多糖としては、ペクチン、ペクチン酸、アルギン酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、フコイダン、コンドロイチン硫酸、コンドロイチン、デルマタン硫酸等があり、種々の生理機能が知られている。
本発明で使用することができるウロン酸は特に限定されるものでなく、例えばガラクツロン酸、グルクロン酸、グルロン酸、マンヌロン酸、イズロン酸等があり、ウロン酸の誘導体としては、それらのラクトン、それらのエステル、それらのアミド、それらの塩等があり、加熱処理によりヒドロキシシクロペンタノンを生成する物はすべて本発明の誘導体に包含される。ウロン酸のラクトンとしてはグルクロノ－6,3－ラクトン（以下、グルクロノラクトンと略記する）、マンヌロノ－6,3－ラクトン、イズロノ－6,3－ラクトン等が例

示される。ウロン酸エステルとしては、例えばメチルエステル、エチルエステル、プロピレングリコールエステル、カルボキシメチルエステル等がありウロン酸より製造することができる。またウロン酸のアミド化によりウロン酸アミドも製造することができる。更にこれらの塩は常法により製造することができる。
次に本明細書において、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物は特に限定されるものでなく、例えばペクチン、ペクチン酸、アルギン酸、ヒアルロン酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、フコイダン、コンドロイチン硫酸、コンドロイチン、デルマタン硫酸、それらの化学的、酵素的、物理的処理物である、その分解物、分解物の誘導体、分解物の塩を使用することができる。
前記の化学的な処理方法としては、原料化合物を例えば室温～200℃で数秒～数時間、好ましくは50～130℃で数秒～60分処理すれば良く、酸性下この処理を行うとグリコシド結合が加水分解を受け、ペクチンの場合、ガラクツロン酸及び／又はガラクツロン酸エステルを含む分解物が生ずる。また例えばpH6.8、95℃で数分～数十分処理することによりβ－脱離反応が生じ、235nm付近の吸光度が増大した不飽和ウロン酸及び／又は不飽和ウロン酸エステルを有する糖化合物が得られる。本発明の糖化合物にはウロン酸及び／又はウロン酸エステルを含有する多糖類のβ－脱離反応により生成する非還元末端に不飽和ウロン酸及び／又は不飽和ウロン酸エステルを含有する糖化合物が含まれる。
また前記の酵素学的な処理方法としては、原料糖化合物のウロン酸及び／又はウロン酸エステル含有多糖加水分解酵素、例えばペクチナーゼ、ヒアルロニダーゼ等によるウロン酸及び／又はウロン酸エステル含有多糖の公知の分解が挙げられる。また、ウロン酸及び／又はウロン酸エステル含有多糖リアーゼによるウロン酸及び／又はウロン酸エステル含有多糖の公知の分解が挙げられる。例えばペクチン、ペクチン酸の場合、各々公知のペクチンリアーゼ（EC4.2.2.10）、ペクチン酸リアーゼ（EC4.2.2.2）、エキソポリガラクツロン酸リアーゼ（EC4.2.2.9）で分解することによって、非還元末端に４－デオキシ－Ｌ－トレオ－ヘキス－４－エノピラノシル　ウロネート（４－deoxy－Ｌ－threo－hex－４－enopyranosyl uronate）又はそのメチルエステルを有する糖化合物が得られる。また、ヒアルロン酸の場合はヒアルロン酸リアーゼ（EC4.2.2.1）、アルギン酸の場合はアルギン酸リアーゼ（EC4.2.2.3）が使用される。なお、アルギン酸の場合は非還元末端に４－デオキシ－Ｌ－エリトロ－ヘキス－４－エノピラノシル　ウロネートを有する糖化合物が得られる。この非還元末端に４－デオキシ－Ｌ－トレオ－ヘキス－４－エノピラノシル　ウロネート、４－デオキシ－Ｌ－エリトロ－ヘキス－４－エノピラノシル　ウロネート又はそれらのメチルエステルを有する酵素分解物も本発明の糖化合物に包含される。
更に前記の物理的な処理方法としては、原料糖化合物の近赤外線、赤外線、マイクロ波、超音波処理等が挙げられ、例えばペクチン及び／又はペクチン酸をpH中性又はアルカリ性の溶液中に入れ、温度は適宜、室温以上で、適宜還元下、例えばアスコルビン酸存在下で、時間は１秒以上、好ましくは５秒～１時間の超音波処理をし、振動エネルギーを与えることが挙げられる。なお超音波以外にもマイクロ波、近赤外線、赤外線等の照射も有効で、これらを組合せ照射しても良い。照射は連続的に行っても良く、断続的に行っても良い。
本発明においてウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物とは、上記のウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物の含有物であれば特に限定はない。ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物としてはリンゴ、例えばミカン、レモン等の柑橘類、バナナ、白菜、キャベツ、レタス、シソ、カボチャ、セロリ、ゴボウ、エシャロット、ブロッコリー、ピーマン、ほうれん草、タマネギ、人参、人参の葉、大根の葉、茶、ゴマ、マメ、イモ等の双子葉類植物の果実、野菜、葉、種実等、麦、米等の単子葉植物の穀物、褐藻類、例えば昆布、ワカメ等、紅藻類、緑藻類、単細胞緑藻類等の藻類、微生物としてはリオフィラム　ウルマリウム、ハタケシメジ、ナメコ、シイタケ、エノキタケ、ヒラタケ、マッシュルーム等の担子菌類、サナギタケ、ノムシタケ等の子のう菌類、酵母、糸状菌、例えば麹菌、細菌、例えば納豆菌、乳酸菌等、動物としては脊椎動物又は無脊椎動物、ブタ皮膚、ウシ皮膚、サメ軟骨、鯨軟骨等が例示され、

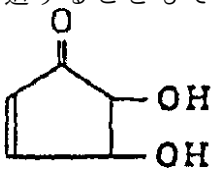
本発明においては、これらの植物、微生物又は動物由来のウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物を使用することができる。
また本発明においては、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物として、果物果皮、果物搾汁かす、例えばリンゴ搾汁かす、ミカン搾汁かす、野菜搾汁かす、穀類かす、例えば清酒粕、ビールかす、焼酎かす、ウイスキーかす、豆類かす、例えばおから、海藻かす等の農水産・食品加工処理物をそのまま、あるいは乾燥、粉砕して用いても良い。
本発明で使用するウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物はそのまま、若しくは前処理として通常の、煮る、焼く、炒る、焙じる、煎じる、蒸す、炒める、揚げる等の任意の加工方法で処理することができる。
本発明においては、これらのウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物は前記の化学的、酵素的（微生物による発酵を含む）、物理的前処理を行って得られる該含有物の処理物、又は該処理物よりの精製物を使用しても良い。
ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物である多糖類は公知の化学的、酵素学的、物理的な処理方法により製造することができる。例えばペクチンとしては、例えば柑橘類の果皮及びリンゴの果実より抽出される高分子の多糖類を使用することができる。工業的なペクチン製造の原料はフルーツで、レモン、ライム等の柑橘類のジュースのしぼりかす（主として内果皮）が用いられるほか、リンゴのジュースのしぼりかすも用いられている。ジュースのしぼりかすには主として不溶性のプロトペクチンが含まれており、製造の段階でこれを可溶化（抽出）し、ペクチンを調製する。可溶化は酸性の温水～熱水で抽出することによって行うことができ、抽出時の温度、pH、時間条件を原料に合せてコントロールすることにより、分子量やエステル化度の一定なペクチンを高収量で製造することができる。抽出液は遠心分離やろ過によって精製し、濃縮後アルコールを添加してペクチンを沈殿させ回収することができる。回収された沈殿を乾燥、粉砕し、所定の乾燥ペクチンを調製することができる。
ペクチンの主構造は、部分的にメチル化されたガラクツロン酸のポリマーである。カルボキシル基はメチルエステル化されたり、遊離の酸のままか、あるいはアンモニウム塩化、カリウム塩化、又はナトリウム塩化されている。ペクチンはメチルエステル化度（DM度：全カルボキシル基に対するメトキシル基の割合）によって、DM度の高いHMペクチン及びDM度の低いLMペクチンに分類され〔吉積智司ほか編、（株）光琳発行、新食品開発用素材便覧、第114～119頁（1991）〕、本発明においては市販の食品添加物ペクチン〔外山章夫編、食品と科学社発行、天然物便覧、第12版、第138頁（1993）〕、市販のHMペクチン、LMペクチン等（前出の新食品開発用素材便覧）を使用することができる。
合成法により合成されるウロン酸、ウロン酸誘導体、オリゴ糖等も本発明で使用することができる。
本発明に使用する加熱処理物は、（ａ）ウロン酸又はウロン酸誘導体、（ｂ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、（ｃ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物から選択される物を原料として製造することができる。
本発明に使用するヒドロキシシクロペンタノンを含有する加熱処理物の製造における加熱処理方法としては、本発明のヒドロキシシクロペンタノンが生成する条件であれば特に限定は無いが、ウロン酸、ウロン酸誘導体、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、ウロン酸含有物及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物を例えば60～350℃で数秒～数日、好ましくは80～150℃で数分～数日加熱処理すれば良く、ペクチンの場合、例えば80～150℃で数分～数日の加熱処理を行うことにより、ヒドロキシシクロペンタノンを含有する加熱処理物を得ることができる。またウロン酸、ウロン酸のラクトン、ウロン酸エステルを60～150℃で数分～数日加熱処理することによりヒドロキシシクロペンタノンを含有する目的の加熱処理物を得ることができる。
加熱処理時のpHは特に限定はないが、中性から酸性下で行うのが好ましく、その原料に応じ加熱処理時のpHを調整すればよい。
加熱処理時の原料の濃度はその加熱処理によりヒドロキシシクロペンタノンを生成しうる

範囲内であれば特に限定は無く、操作性、収率等の点を考慮し設定すれば良い。本発明における加熱処理は湿式加熱でも、乾式加熱でも良いが、本発明のヒドロキシシクロペンタノンの生成効率の点からは湿式加熱が好ましい。湿式加熱としては、水蒸気加熱、水蒸気加圧加熱、加圧式加熱等任意の湿式加熱方法を用いることができる。乾式加熱としては、乾燥熱風による直接加熱法、熱源から隔壁を通して加熱する間接加熱法等が使用できる。直接加熱方法としては、気流乾熱法、噴霧乾熱法等があり、間接加熱法としてはドラム乾熱法等が使用できる。

本発明に使用する加熱処理物中のヒドロキシシクロペンタノンはがん細胞増殖抑制等を指標に精製、単離することができる。精製、単離手段としては、化学的方法、物理的方法等の公知の精製、単離手段を用いれば良く、ゲルろ過法、分子量分画膜による分画法、溶媒抽出法、分留法、イオン交換樹脂、順相、逆相の各種クロマトグラフィー法等の従来公知の精製方法を組合せ、加熱処理物中に生成されたヒドロキシシクロペンタノンを採取することができる。

例えば、グルクロノラクトン水溶液を加熱し、この加熱液を陰イオン交換カラムクロマトグラフィー、合成吸着剤カラムクロマトグラフィー及びシリカゲルカラムクロマトグラフィーに順次かけることよってヒドロキシシクロペンタノンを精製することができる。

本発明のヒドロキシシクロペンタノンは下記式〔II〕で表される4,5－ジヒドロキシ－２－シクロペンテン－１－オン（以下、単にシクロペンテノンと称す）を出発物質として製造することもできる。



〔II〕

例えば、シクロペンテノンを水又は水を含む溶媒に溶解することによってヒドロキシシクロペンタノンは生成する。本発明のヒドロキシシクロペンタノン生成の条件には何ら限定はなく、ヒドロキシシクロペンタノンが生成する条件であればよい。

生成したヒドロキシシクロペンタノン量は順相、逆相等のカラムを用いたHPLC、ガスクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィー、核磁気共鳴等の方法で測定できる。

このヒドロキシシクロペンタノンを精製する方法としては化学的方法、物理学的方法等の公知の方法を用いれば良く、ゲルろ過法、分子量分画膜による分画法、溶媒抽出法、分留法、イオン交換、逆相、順相等の各種クロマトグラフィー法等の従来公知の精製方法を組合せ、反応生成物中のヒドロキシシクロペンタノン又はその光学活性体を精製、単離することができる。

例えばシクロペンテノン水溶液を４℃で30日間保存するとシクロペンテノンの約30％がヒドロキシシクロペンタノンに変化する。

単離したヒドロキシシクロペンタノンの構造は質量分析法、核磁気共鳴法、赤外吸収スペクトル、紫外吸収スペクトル等の公知の方法で決定することができる。

本発明のヒドロキシシクロペンタノンとシクロペンテノンは水溶液中で相互に変換し、平衡関係にある。単離したシクロペンテノンから上記のようにヒドロキシシクロペンタノンが生成するが、逆に、単離したヒドロキシシクロペンタノンを水溶液状態で放置するとヒドロキシシクロペンタノンの一部はシクロペンテノンに変化する。

なお、本発明において使用する式〔II〕で表されるシクロペンテノンは、化学合成法により合成することができる〔カーボハイドレート　リサーチ（Carbohydrate Res.）、第247巻、第217～222頁（1993）、ヘルベチカ　キミカ　アクタ（Helvetica Chimica Acta）、第55巻、第2838～2844頁（1972）〕。またシクロペンテノンはウロン酸、ウロン酸誘導体、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体含有糖化合物含有物から選択される少なくとも１種の物の加熱処理物中に生成する化合物であって、本発明ではその精製物も使用することができる。

例えば、ウロン酸としてＤ－グルクロン酸を使用し、その１％溶液を121℃で４時間加熱処理することにより、加熱処理物中にシクロペンテノンが生成する。この加熱処理物中のシクロペンテノンを溶媒で抽出し、抽出物を濃縮する。次にこの濃縮物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、溶出するシクロペンテノン画分を濃縮し、濃縮物からシクロペンテノンをクロロホルムで抽出することにより、加熱処理物中のシクロペンテノンが単離される。

シクロペンテノンの物性を下記に示す。なおシクロペンテノンの質量分析はDX302質量分析計（日本電子社製）を用いて行った。また、重クロロホルム溶媒を用いたNMRスペクトルの測定はJNM－A500（日本電子社製）を用いた。比旋光度はDIP－370型旋光計（日本分光社製）、UV吸収スペクトルはUV－2500分光光度計（島津製作所社製）、赤外吸収スペクトル（IR）はFTIR－8000赤外分光光度計（島津製作所社製）をそれぞれ用い測定した。

FAB－MS　m/z　115〔M＋H〕$^{+}$

マトリックスとしてグリセロールを用いた。

^{1}H－NMR（$CDCl_3$）

δ4.20（1H,d,J＝2.4Hz,5－H）、4.83（1H,m,4－H）、6.30（1H,dd,J＝1.2,6.1Hz,2－H）、7.48（1H,dd,J＝2.1,6.1Hz,3－H）

但し、^{1}H－NMRの化学シフト値は$CHCl_3$の化学シフト値を7.26ppmとして表した。

旋光度：〔α〕$_{D}^{20}$　0°（c　1.3、水）

IR（KBr法）:3400、1715、1630、1115、1060、1025cm^{-1}に吸収を有する。

UV:λ_{max}　215nm（水）

単離されたヒドロキシシクロペンタノンを光学分割することによりヒドロキシシクロペンタノンの光学活性体を得ることもできる。なお、同様にして、上記したシクロペンテノンの光学活性体を得ることができる。

光学活性体の分離はラセミ混合物の機械的分割、優先晶出法、ジアステレオマー塩あるいは包接化合物としての結晶化による分割、酵素・微生物による動力学的分割、クロマトグラフィーによる分割等により行うことができる。

クロマトグラフィーによる分割としては、ガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー等を用いることができ、それぞれに適したキラル固定相を使用すればよい。

液体クロマトグラフィーによる光学分割としてはキラルな固定相を用いる方法、キラルな溶離液を用いる方法、ジアステレオマーとしての分離等を用いることができる。

キラル固定相としてはアミド系固定相、尿素系固定相、配位子交換型固定相、多糖・多糖誘導体固定相、タンパク質固定相、ポリメタクリル酸エステル固定相、ポリメタクリルアミド固定相等が使用できる。

溶離液としてはヘキサン系、アルコール系、水（緩衝液）系等が使用でき、上記固定相との組合せにおいて適宜使用することができる。

ヒドロキシシクロペンタノン又はその光学活性体としては、医薬として許容される塩があり、公知の方法にて変換することができる。

ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩は制がん活性、がん細胞増殖抑制活性、アポトーシス誘発活性、トポイソメラーゼII阻害活性、がん細胞分化誘導活性、抗リウマチ活性、慢性関節リウマチ抑制作用、ファス抗原産生誘導活性、抗菌活性、抗ウイルス活性、肝機能改善活性、熱ショックタンパク誘導活性、血液成分正常化活性、がん免疫増強活性、抗炎症活性、腫瘍壊死因子産生抑制活性、一酸化窒素産生抑制活性、免疫調節活性、例えば遅延型過敏反応抑制活性、リンパ球幼若化反応抑制活性、混合リンパ球反応抑制活性、IgE産生抑制活性、カラゲーナン浮腫抑制活性等の生理活性を有し、これらの活性により、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも１以上の化合物を有効成分として含有する医薬は、例えば生体防御機構に作用する医薬、例えば抗体産生機構に作用する製剤、抗炎症剤、抗アレルギー剤、抗リウマチ剤、インターフェロン誘発剤等、糖質代謝に作用する医薬、例えば糖尿病治療剤、病原生物に作用する医薬、例えば、抗菌剤、抗ウイルス剤等として有用

である。従って本発明で得られる医薬は、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩に感受性を示す疾病用の医薬として、例えばがん、ウイルス性疾患、リウマチ、糖尿病、アレルギー、自己免疫疾患、炎症等の疾病の治療用医薬又は予防用医薬として極めて有用である。

ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩は、例えばヒト前骨髄性白血病細胞HL－60、ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞MOLT－３、肺がん細胞Ａ－549、SV40形質転換肺細胞WI－38VA13、肝がん細胞Hep G2、結腸がん細胞HCT 116、ヒト結腸がん細胞SW480、ヒト結腸がん細胞WiDr、胃がん細胞AGS、ミエローマ細胞等のがん細胞に細胞増殖抑制作用、制がん活性を有し、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも１以上の化合物を有効成分として含有する制がん剤を製造することができる。また、これらの化合物はがん細胞にアポトーシス誘発作用、がん細胞のトポイソメラーゼII阻害作用を有する。ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩のがん細胞増殖抑制作用機作は本発明を何ら制限するものではないが、例えばがん細胞に対するアポトーシス誘発作用、トポイソメラーゼII阻害作用も本発明において制がん作用に包含される。

制がん剤の製造は一般的には、ヒドロキシシクロペンタノン、その光学活性体及び／又はそれらの塩を薬学的に許容できる液状又は固体状の担体と配合し、かつ必要に応じて溶剤、分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤等を加えて、錠剤、顆粒剤、散剤、粉末剤、カプセル剤等の固形剤、通常液剤、懸濁剤、乳剤等の液剤であることができる。またこれを使用前に適当な担体の添加によって液状となし得る乾燥品とすることができる。

本発明の制がん剤は、製剤形態に応じた適当な投与経路で投与される。投与方法も特に限定はなく、内用、外用及び注射によることができる。注射剤は、例えば静脈内、筋肉内、皮下、皮内等に投与し得、外用剤には座剤等も包含される。

制がん剤としての投与量は、その製剤形態、投与方法、使用目的及びこれに適用される患者の年齢、体重、症状によって適宜設定され、一定ではないが一般には製剤中に含有されるヒドロキシシクロペンタノン、その光学活性体及び／又はそれらの塩の量が成人１日当り10pg～200mg/kgである。もちろん投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。本発明の薬剤はそのまま経口投与するほか、任意の飲食品に添加して日常的に摂取させることができる。

ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも１以上の化合物を有効成分として含有する生体防御機構に作用する医薬、例えば抗体産生機構に作用する製剤、抗炎症剤、抗アレルギー剤、抗リウマチ剤、インターフェロン誘発剤等、糖質代謝に作用する医薬、例えば糖尿病治療剤、病原生物に作用する医薬、例えば、抗菌剤、抗ウイルス剤、アポトーシス誘発剤等は制がん剤に準じ、製剤化することができ、制がん剤に準じた方法、用量で投与することができる。

ヒドロキシシクロペンタノンはシクロペンテノンと水溶液中にて平衡の関係にあり、生体内にてシクロペンテノンより変換されるヒドロキシシクロペンタノンも医薬としての効果を発揮すると考えられる。従って生体内でのヒドロキシシクロペンタノンの形成を目的とするシクロペンテノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩の使用も本願に包含されるものである。

本発明のヒドロキシシクロペンタノン又はその光学活性体はがん細胞増殖抑制作用等の種々の生理活性を有し、本発明のヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも１以上の化合物を含有、希釈又は添加してなる食品又は飲料は例えば制がん性の食品又は飲料等の機能性食品又は飲料として有用である。

なお、本発明の食品又は飲料の製造においてはヒドロキシシクロペンタノンを含有する加熱処理物、該加熱処理物からの部分精製ヒドロキシシクロペンタノン、精製ヒドロキシシクロペンタノン及び／又はその光学活性体を使用することができる。

本発明のヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択さ

れる少なくとも１以上の化合物を含有、希釈又は添加してなる食品又は飲料とは、特に限定はないが、例えば穀物加工品（小麦粉加工品、デンプン類加工品、プレミックス加工品、麺類、マカロニ類、パン類、あん類、そば類、麩、ビーフン、はるさめ、包装餅等）、油脂加工品（可塑性油脂、てんぷら油、サラダ油、マヨネーズ類、ドレッシング等）、大豆加工品（豆腐類、味噌、納豆等）、食肉加工品（ハム、ベーコン、プレスハム、ソーセージ等）、水産製品（冷凍すりみ、かまぼこ、ちくわ、はんぺん、さつま揚げ、つみれ、すじ、魚肉ハム、ソーセージ、かつお節、魚卵加工品、水産缶詰、つくだ煮等）、乳製品（原料乳、クリーム、ヨーグルト、バター、チーズ、練乳、粉乳、アイスクリーム等）、野菜・果実加工品（ペースト類、ジャム類、漬け物類、果実飲料、野菜飲料、ミックス飲料等）、菓子類（チョコレート、ビスケット類、菓子パン類、ケーキ、餅菓子、米菓類等）、アルコール飲料（日本酒、中国酒、ワイン、ウイスキー、焼酎、ウオッカ、ブランデー、ジン、ラム酒、ビール、清涼アルコール飲料、果実酒、リキュール等）、嗜好飲料（緑茶、紅茶、ウーロン茶、コーヒー、清涼飲料、乳酸飲料等）、調味料（しょうゆ、ソース、酢、みりん等）、缶詰・瓶詰め・袋詰め食品（牛飯、釜飯、赤飯、カレー、その他の各種調理済み食品）、半乾燥又は濃縮食品（レバーペースト、その他のスプレッド、そば・うどんの汁、濃縮スープ類）、乾燥食品（即席麺類、即席カレー、インスタントコーヒー、粉末ジュース、粉末スープ、即席味噌汁、調理済み食品、調理済み飲料、調理済みスープ等）、冷凍食品（すき焼き、茶碗蒸し、うなぎかば焼き、ハンバークステーキ、シュウマイ、餃子、各種スティック、フルーツカクテル等）、固形食品、液体食品（スープ等）、香辛料類等の農産・林産加工品、畜産加工品、水産加工品等が挙げられる。

本発明の食品又は飲料の製造法は、特に限定はないが、調理、加工及び一般に用いられている食品又は飲料の製造法による製造を挙げることができ、製造された食品又は飲料に制がん作用を有するヒドロキシシクロペンタノン、その光学活性体及び／又はそれらの塩が含有されていれば良い。

調理及び加工においては、調理、加工後の（ａ）ウロン酸又はウロン酸誘導体、（ｂ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、（ｃ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物から選択される物の加熱処理物中にヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物が含有されていれば良い。

すなわち調理・加工前、調理・加工時、更には調理・加工後にヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を含有する（ａ）ウロン酸又はウロン酸誘導体、（ｂ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、（ｃ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物から選択される物の加熱処理物を添加してもよいし、調理及び加工品やその材料を、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を含有する（ａ）ウロン酸又はウロン酸誘導体、（ｂ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、（ｃ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物から選択される物の加熱処理物へ添加し、該加熱処理物中のヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を希釈してもよい。

次に食品又は飲料の製造においては、任意の工程で、加熱処理を行い、加熱処理物中に有効量のヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を含有させれば良く、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を含有する加熱処理物を添加してもよい。また食品又は飲料やその原料をヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を含有する加熱処理物へ添加し、該加熱処理物中のヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を希釈してもよい。また、添加は１回又は数回に渡って行ってもよい。したがって、簡便に新規な生理作用を示す食品又は飲料を製造することができる。また製造時において（ａ）ウロン酸又はウロン酸誘導体、（ｂ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、（ｃ）ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体含有糖化合物含有物から選択される物を含有せしめ、

製造時において生成した加熱処理物中のヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を構成成分とする食品又は飲料も本発明に包含される。いずれの工程を経た場合も、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を含有する加熱処理物を含有、添加及び／又は希釈してなる食品又は飲料は本発明の食品又は飲料と定義される。

またヒドロキシシクロペンタノン、その光学活性体及び／又はそれらの塩と、SH基含有化合物、例えばSH基含有アミノ酸、又はその誘導体、例えばシステイン含有アミノ酸誘導体との反応物として、食品、飲料中でも生成したヒドロキシシクロペンタノン誘導体を含有、添加及び／又は希釈してなる食品又は飲料も本発明の食品又は飲料と定義される。

制がん作用を有するヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物の食品中の含有量は特に制限されず、その官能と生理活性の点より適宜選択できるが、例えばヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物の含有量は食品100部当り10^{-9}部以上、食品としての官能、制がん作用の面からは好ましくは10^{-8}～５部、更に好ましくは10^{-7}～２部であり、生理的有効量の食品を摂取すれば良い。

また、制がん作用を有するヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物の飲料中の含有量は特に制限されず、その官能と生理活性の点より適宜選択できるが、例えばヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物の含有量は飲料100部当り10^{-9}部以上、飲料としての食味、制がん作用の面からは好ましくは10^{-8}～５部、更に好ましくは10^{-7}～２部であり、生理的有効量の飲料を摂取すれば良い。なお、本明細書において部は重量部を意味する。

本発明の食品又は飲料としては、制がん性を有するヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物が含有、添加及び／又は希釈されていれば特にその形状に限定は無く、タブレット状、顆粒状、カプセル状、ゲル状、ゾル状等の形状の経口的に摂取可能な形状物も包含する。

本発明の食品又は飲料は生理活性を有するヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物を含有し、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩の有する種々の生理活性、制がん作用、抗菌作用、アポトーシス誘発作用、抗ウイルス作用、肝機能改善作用等によって、これらを摂取することにより発がん予防、がん抑制効果、ウイルス性疾患予防、治療、アルツハイマー病予防効果、肝機能改善効果を有する健康食品又は飲料であり、生体の恒常性の維持、特に胃腸健康保持に有用な食品又は飲料である。またその抗菌力により、極めて保存性の良い、食品又は飲料である。

本発明のヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩は100mg/kgの経口投与でマウスに毒性は認められない。

実施例

以下、実施例を挙げて、本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に何ら限定されるものではない。なお、実施例における％は重量％を意味する。

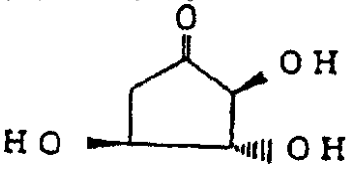
実施例１

（１）10gのＤ－グルクロン酸（シグマ社製　Ｇ　5269）を１リットルの水に溶解し、121℃で４時間加熱した後約10mlになるまで減圧下濃縮した。これに酢酸ブチル：酢酸：水＝3:2:2混合液の上層40mlを加えて混合後、遠心によって得た上清を減圧下約10mlまで濃縮した。

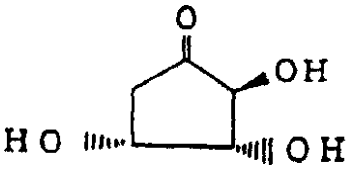
上記抽出液をカラムクロマトグラフィー用シリカゲルBW－300SP（２×28cm、富士シリシア化学社製）にアプライし、酢酸ブチル：酢酸：水＝3:2:2の上層を溶離液としてコンプレッサーで0.2kg/cm^{2}に加圧し、毎分5mlの流速で分離を行った。１画分当り10mlになるようにフラクショネーションを行い、各画分の一部をとって薄層クロマトグラフィーで分析したところ61番から80番までの画分に高純度のシクロペンテノンが含まれていた。これらの画分を集めて減圧下濃縮した後40mlのクロロホルムで抽出し、抽出液を減圧下濃縮することによって100mgのシクロペンテノンを得た。

この画分をパルパックタイプＳカラムを用いた順相HPLCで分離し、215nmの紫外線吸収で検出したところ、純度は98%であった。
（２）実施例１－（１）で調製したシクロペンテノンの水溶液（50mg/ml）を４℃で30日間保存した試料を以下の条件のHPLCで分析した。
カラム：リクロソープ（Lichrosorb）NH_2－５（4.6×250mm、メルク社製）
移動相:80%アセトニトリル水溶液
流速:0.8ml/分
カラム温度:25℃
検出：示差屈折検出計（YRD－880　midget、島村計器製作所社製）
試料:10倍希釈液を100μｌ注入
その結果、5.7分のシクロペンテノンのピークに加えて6.8分の本発明のヒドロキシシクロペンタノンのピークが見られた。クロマトグラムを図１に示す。すなわち図１は保持時間と示差屈折検出計の出力の関係を示す図であり、横軸は保持時間（分）、縦軸は示差屈折検出計の出力を示す。
実施例２
（１）市販のグルクロノラクトン（ナカライテスク社製）500gを38リットルの水に溶解し、生蒸気を吹き込んで125℃で５時間加熱した。冷却後減圧下濃縮し、NaOHで濃縮液をpH5.0に調整した。この液を水で平衡化したダイヤイオンSA－10A（三菱化学社製）を用いた陰イオン交換カラム（20リットル）にチャージし、水で溶出してくる非吸着画分24リットルを得た。
この画分を減圧下、2.8リットルまで濃縮し、終濃度2MになるようにNaClを加え、2M　NaCl水溶液で平衡化した合成吸着剤SP－207（三菱化学社製）カラム（15リットル）に２回に分けてチャージした。2M　NaCl水溶液でカラムを洗浄し、0.1M　NaCl水溶液で溶出される画分合計78リットルを得た。
この画分を減圧下11リットルまで濃縮し、濃縮液に対して上記と同様のSP－207カラムクロマトグラフィーを行い24リットルの溶出液を得た。但し、すべての試料を１回のクロマトグラフィーにかけ、溶出は水で行った。
溶出液を減圧下100mlまで濃縮し、AC－110－10透析膜（旭化成社製）を用いた電気透析により脱塩し、シクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合液100mlを得た。
（２）実施例２－（１）で得たシクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合液10mlを減圧下濃縮乾固し、酢酸ブチル：酢酸：水＝3:2:2の上層15mlに溶解した。これを実施例１－（１）と同様のシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ、500～700mlの溶離液で溶出されてくるシクロペンテノンを含む画分と950～1700mlの溶離液で溶出されてくるヒドロキシシクロペンタノンを含む画分を得た。但し、カラムサイズは2.5×50cmとした。ヒドロキシシクロペンタノン含有画分を減圧下濃縮、乾固し、75mgのヒドロキシシクロペンタノンを得た。
（３）実施例２－（２）と同様のシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、1070ml～1240mlの溶離液で溶出される画分１と1320ml～1500mlの溶離液で溶出される画分２を得た。
画分１と画分２をそれぞれ減圧下濃縮し、以下の条件でそれぞれHPLCを行った。
カラム:CAPCELL　PAK　C_{18}　SG300A　５μｍ（６×250mm、資生堂社製）
移動相:0.1%TFA水溶液
流速:1ml/分
検出:210nmにおける吸光度
それぞれの保持時間6.0分のピークを分取し、凍結乾燥した。画分１のHPLC処理物からは20mgのヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡ、画分２のHPLC処理物からは27mgのヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢを得た。
実施例３
実施例２－（２）で得たヒドロキシシクロペンタノンを4mMになるように水に溶解し、４℃、37℃、又は45℃で16時間放置した。各試料１μｌをシリカゲル60シートF_{254}（メルク

社製）にスポットし、酢酸ブチル：酢酸：水＝3:2:2の上層で展開した後、オルシノール－硫酸法で検出した。すなわち、400mgのオルシン一水和物（ナカライテスク社製、257－30）を22.8mlの硫酸に溶解し、水を加えて200mlとした液を展開後の薄層に噴霧し、120℃で１～２分間加熱してスポットを観察した。
その結果、すべての試料にシクロペンテノンのスポットが見られ、放置温度が高いほどシクロペンテノンのスポットの発色は強かった。
実施例４
（１）NMR
実施例２－（１）で得たシクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合液を減圧下乾固し、重水に溶解して^{1}H－NMRスペクトルと^{13}C－NMRスペクトルをJNM－A500（日本電子社製）を用いて測定した。その結果を以下に示す。
^{1}H－NMR
（Ａ）
δ2.42（1H,dd,J＝2.0,20.0Hz,5－Ｈ）,2.53（1H,dd,J＝5.5,20.0Hz,5－Ｈ）,3.91（1H,dd,J＝4.0,10.5,3－Ｈ）,4.23（1H,dd,J＝2.0,10.5Hz,2－Ｈ）,4.27（1H,dd,J＝4.0,5.5Hz,4－Ｈ）
（Ｂ）
δ2.13（1H,dd,J＝9.0,20.0Hz,5－Ｈ）,2.86（1H,ddd,J＝2.5,8.5,20.0Hz,5－Ｈ）,3.76（1H,dd,J＝8.5,10.0,3－Ｈ）,4.04（1H,dd,J＝2.5,10.0Hz,2－Ｈ）,4.13（1H,ddd,J＝8.5,8.5,9.0Hz,4－Ｈ）
HODの化学シフト値を4.65ppmとして表した。
この試料に含まれるヒドロキシシクロペンタノンは下記式〔III〕に示す構造とその対掌体及び下記式〔IV〕に示す構造とその対掌体の混合物であり、（Ａ）、（Ｂ）のどちらか一方が式〔III〕に示す構造とその対掌体、他方が式〔IV〕に示す構造とその対掌体のシグナルである。



〔III〕



〔IV〕

^{1}H－NMRスペクトルを図２に示す。すなわち図２はシクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合物の^{1}H－NMRスペクトルを表す図であり、横軸は化学シフト値（ppm）、縦軸はシグナルの強度を示す。なお、4.1、4.6、6.2、7.4ppmのシグナルはシクロペンテノン由来のシグナルである。
^{13}C－NMR
（Ａ）
δ44.2（５－Ｃ）,67.4（４－Ｃ）,76.4（３－Ｃ）,78.1（２－Ｃ）,218.1（１－Ｃ）
（Ｂ）
δ43.5（５－Ｃ）,69.5（４－Ｃ）,80.7（２－Ｃ）,80.8（３－Ｃ）,214.7（１－Ｃ）
ジオキサンの化学シフト値を67.4ppmとして表した。
この試料に含まれるヒドロキシシクロペンタノンは式〔III〕に示す構造とその対掌体及び式〔IV〕に示す構造とその対掌体の混合物であり、（Ａ）、（Ｂ）のどちらか一方が式〔III〕に示す構造とその対掌体、他方が式〔IV〕に示す構造とその対掌体のシグナルである。
^{13}C－NMRスペクトルを図３に示す。すなわち図３はシクロペンテノン、ヒドロキシシクロ

ペンタノン混合物の^{13}C－NMRスペクトルを表す図であり、横軸は化学シフト値（ppm）、縦軸はシグナルの強度を示す。なお、76.9、81.4、132.9、163.2、208.0ppmのシグナルはシクロペンテノン由来のシグナルである。

（２）GC/MS

実施例２－（１）で得たシクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合液0.5μｌを減圧下乾固し、トリメチルクロロシラン（ジーエルサイエンス社製）:N,O－ビス（トリメチルシリル）－アセタミド（ジーエルサイエンス社製）：無水ピリジン（シリレーショングレード、ピアス社製）＝4:1:4混合液100μｌに溶解して60℃で１時間トリメチルシリル化した。この試料１μｌを以下に示すガスクロマトグラフィー／質量分析（GC/MS）によって分析した。

カラム:TC－１（30m×0.25mm、ジーエルサイエンス社製）

カラム温度:100℃→160℃（４℃／分）

160℃→300℃（16℃／分）

300℃（５分）

キャリヤーガス:He　1.2ml/分

その結果を図４、図５、図６に示す。すなわち図４はトリメチルシリル化されたシクロペンテノン、ヒドロキシシクロペンタノン混合物のガスクロマトグラムを表す図であり、横軸はスキャン番号、縦軸はイオン強度を示す。図５と図６は図４のピーク（１）とピーク（２）のマススペクトルを表す図であり、横軸はM/Z、縦軸は相対強度（％）を示す。

その結果、図４のピーク（１）とピーク（２）は共にM/Z　349［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$を示し、これはトリメチルシリル化されたヒドロキシシクロペンタノンの構造から計算される値と一致した。

実施例５

（１）NMR

実施例２－（３）で得たヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡ及びＢをそれぞれ重水に溶解して^{1}H－NMRスペクトルと^{13}C－NMRスペクトルをJNM－A500（日本電子社製）を用いて測定した。その結果を以下に示す。

^{1}H－NMR

ヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡ

δ2.42（1H,dd,J＝2.0,20.0Hz,5－Ｈ）,2.53（1H,dd,J＝5.5,20.0Hz,5－Ｈ）,3.91（1H,dd,J＝4.0,10.5,3－Ｈ）,4.23（1H,dd,J＝2.0,10.5Hz,2－Ｈ）,4.27（1H,dd,J＝4.0,5.5Hz,4－Ｈ）

ヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢ

δ2.13（1H,dd,J＝9.0,20.0Hz,5－Ｈ）,2.86（1H,ddd,J＝2.5,8.5,20.0Hz,5－Ｈ）,3.76（1H,dd,J＝8.5,10.0,3－Ｈ）,4.04（1H,dd,J＝2.5,10.0Hz,2－Ｈ）,4.13（1H,ddd,J＝8.5,8.5,9.0Hz,4－Ｈ）

HODの化学シフト値を4.65ppmとして表した。

ヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡ、Ｂのどちらか一方が式〔III〕に示す構造を持つ物質とその対掌体、他方が式〔IV〕に示す構造を持つ物質とその対掌体である。

^{1}H－NMRスペクトルを図７及び図８に示す。すなわち図７はヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡの、図８はヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢの^{1}H－NMRスペクトルを表す図であり、横軸は化学シフト値（ppm）、横軸はシグナルの強度を示す。

^{13}C－NMR

ヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡ

δ44.2（５－Ｃ）,67.4（４－Ｃ）,76.4（３－Ｃ）,78.1（２－Ｃ）,218.1（１－Ｃ）

ヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢ

δ43.5（５－Ｃ）,69.5（４－Ｃ）,80.7（２－Ｃ）,80.8（３－Ｃ）,214.7（１－Ｃ）

ジオキサンの化学シフト値を67.4ppmとして表した。

ヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーA,Bのどちらか一方が式〔III〕に示す構造を持つ物質とその対掌体、他方が式〔IV〕に示す構造を持つ物質とその対掌体である。^{13}C－NMRスペクトルを図９及び図10に示す。すなわち図９はヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡの、図10はヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢの^{13}C－NMRスペクトルを表す図であり、横軸は化学シフト値（ppm）、縦軸はシグナルの強度を示す。

（２）GC/MS

実施例２－（３）で得たヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡの20mM水溶液とヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢの40mM水溶液各々0.5μｌを減圧下乾固し、トリメチルクロロシラン（ジーエルサイエンス社製）:N,O－ビス（トリメチルシリル）－アセタミド（ジーエルサイエンス社製）：無水ピリジン（シリレーショングレード、ピアス社製）＝4:1:4混合液100μｌに溶解して室温で20分間トリメチルシリル化した。この試料２μｌを以下に示すガスクロマトグラフィー／質量分析（GC/MS）によって分析した。

カラム:TC－１（30m×0.25mm、ジーエルサイエンス社製）

カラム温度:100℃→160℃（４℃／分）

160℃→300℃（16℃／分）

300℃（５分）

キャリヤーガス:He　1.2ml/分

その結果を図11～図14に示す。すなわち図11はトリメチルシリル化されたヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡのガスクロマトグラム、図12はトリメチルシリル化されたヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢのガスクロマトグラムを表す図であり、横軸はスキャン番号、縦軸はイオン強度を示す。図13と図14はそれぞれ図11のピーク（１）と図12のピーク（２）のマススペクトルを表す図であり、横軸はM/Z、縦軸は相対強度（％）を示す。

その結果、図11のピーク（１）と図12のピーク（２）は共にM/Z　349［M＋H］$^{+}$を示し、これはトリメチルシリル化されたヒドロキシシクロペンタノンの構造から計算される値と一致した。

実施例６

150、110、70又は40μＭヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡ水溶液、200、150、100又は60μＭヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢ水溶液、あるいは対照として水10μｌを96穴マイクロタイタープレートの各ウェルに添加した。前骨髄性白血病細胞株HL－60（ATCC　CCL－240）を10％ウシ胎児血清を含むRPMI1640培地に５×10^{4}個/mlとなるように懸濁し、90μｌずつ上記マイクロタイタープレートの各ウェルに分注し、５％　CO_2存在下37℃で48時間培養した。5mg/mlの３－（4,5－ジメチルチアゾール－２－イル）－2,5－ジフェニルテトラゾリウムブロミド（MTT;シグマ社製）リン酸緩衝食塩水溶液10μｌを加えて更に４時間培養を続けた後、顕微鏡で細胞の生育状態を観察した。また、0.04N　HCl含有２－プロパノール100μｌを加えてよくかくはんし、590nmにおける吸光度を測定した。

その結果、110μＭ以上のヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡ添加区分（終濃度11μＭ）及び100μＭ以上のヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢ添加区分（終濃度10μＭ）において細胞の増殖が見られなかった。よって、ヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＡは11μＭ濃度で、ヒドロキシシクロペンタノンジアステレオマーＢは10μＭ濃度でHL－60細胞の増殖を完全に抑制することが明らかになった。

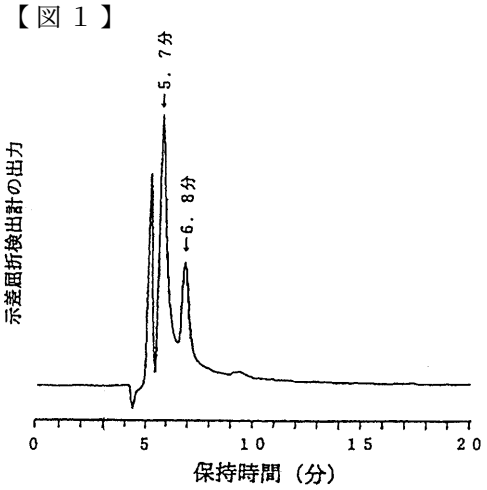
発明の効果

本発明により制がん作用、がん細胞増殖抑制作用、がん細胞分化誘導作用、アポトーシス誘発作用、抗菌作用、抗ウイルス作用、肝機能改善作用等の生理活性を有し、安全性の高いヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩が提供され、かつ、該化合物を含有する生理活性機能を有する医薬、食品及び飲料が提供される。

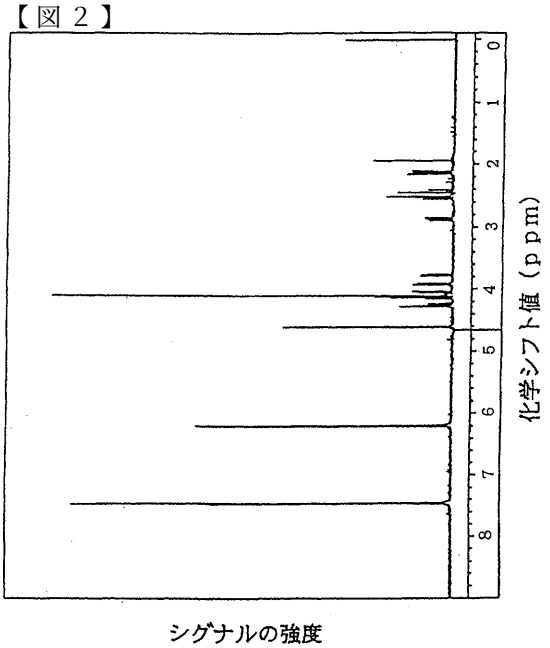
本発明により、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩は天

然由来の原料から簡便に、効率良く製造することが可能となった。
本発明により提供されるヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体は又はそれらの塩の種々の生理活性、制がん作用、抗菌作用、アポトーシス誘発作用、抗ウイルス作用、肝機能改善作用等によって、発がん予防、がん抑制効果、ウイルス性疾患予防、治療、アルツハイマー病予防効果、肝機能改善効果を有する医薬として使用することが可能となり、該医薬は生体の恒常性の維持、特に胃腸健康保持に有用な医薬となる。
また本発明により、食品又は飲料中に生理活性を有するヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩の適量を含有させることが可能となった。このヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩が有する種々の生理活性、制がん作用、分化誘導作用、異常細胞の増殖抑制作用、アポトーシス誘発作用、抗ウイルス作用、抗菌作用、肝機能改善作用等によって、本発明により提供される食品又は飲料は発がん予防、制がん効果、ウイルス性疾患予防、抗菌効果、アポトーシス誘発作用等の生体の恒常性（ホメオスタシス）維持機能を有する健康食品又は飲料であり、本発明により、胃腸健康保持に有用な機能性物質入りの食品又は飲料が提供される。また、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩を添加することにより、食品又は飲料の抗菌力を簡便に増強することができ、ヒドロキシシクロペンタノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩を有効成分とする製剤は食品又は飲料の防腐剤としても極めて有用である。

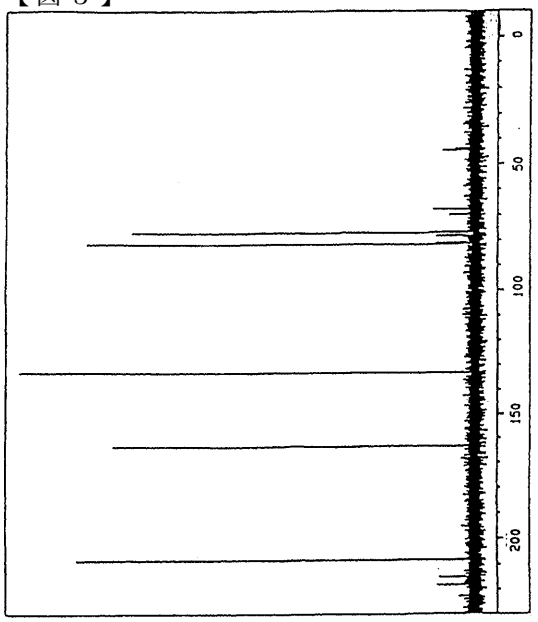
【図１】



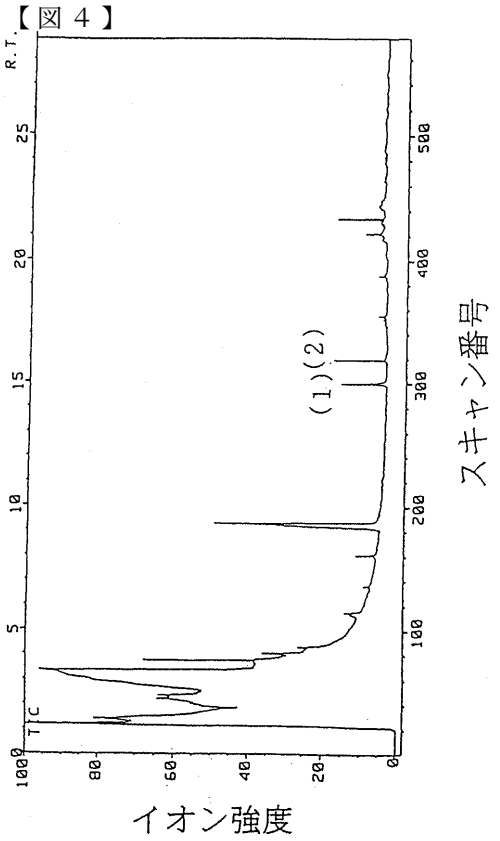
【図２】



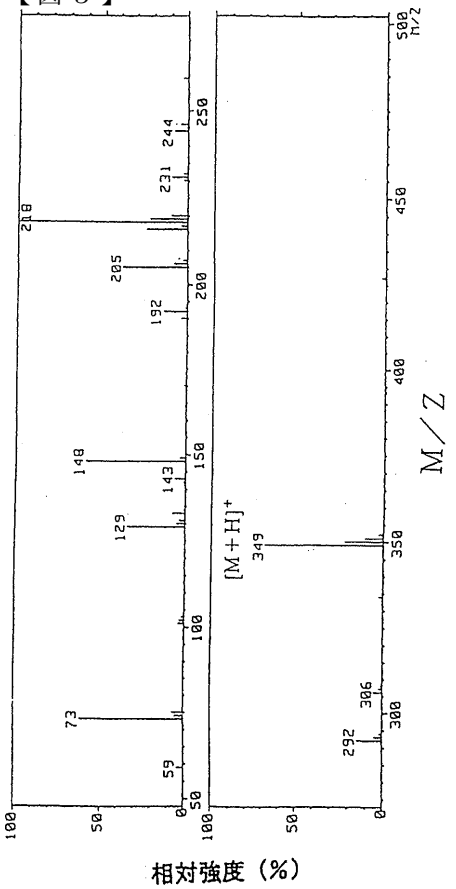
【図３】


化学シフト値（ｐｐｍ）
シグナルの強度

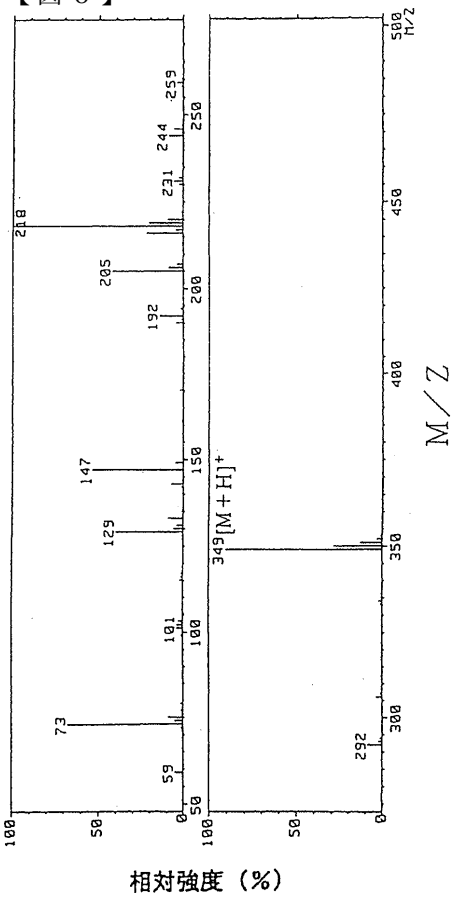
【図４】


R.T.
(1)(2)
TIC
スキャン番号
イオン強度

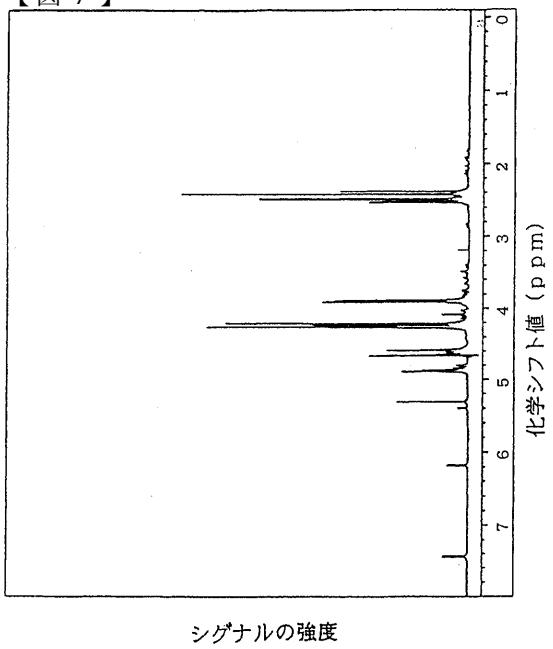
【図５】


[M+H]+
M/Z
相対強度（%）

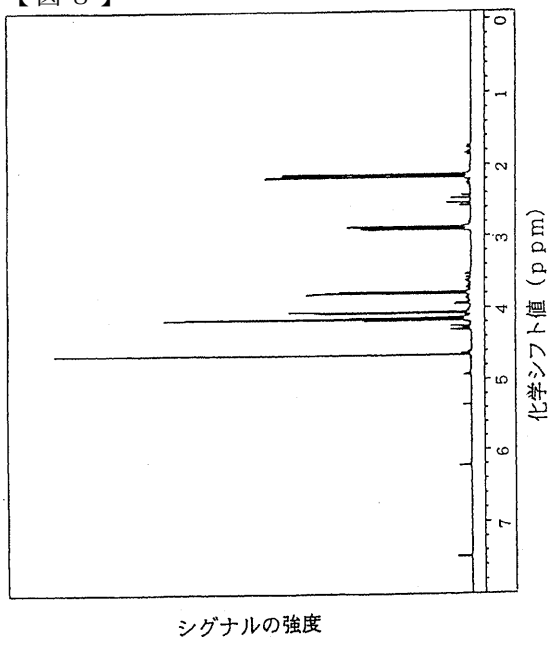
【図６】


[M+H]+
M/Z
相対強度（%）

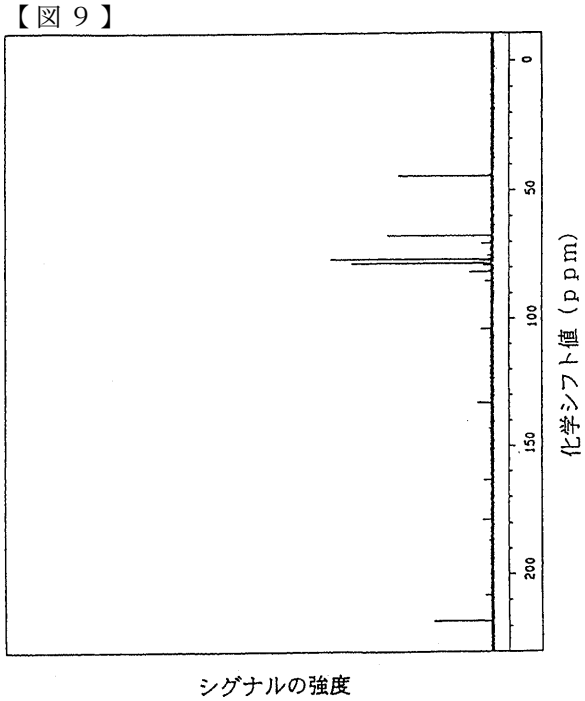
【図７】


化学シフト値（ｐｐｍ）
シグナルの強度

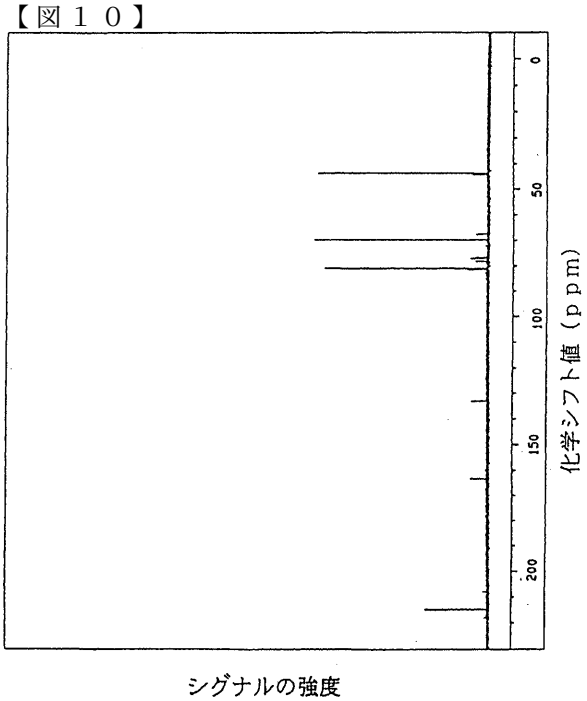
【図８】


化学シフト値（ｐｐｍ）
シグナルの強度

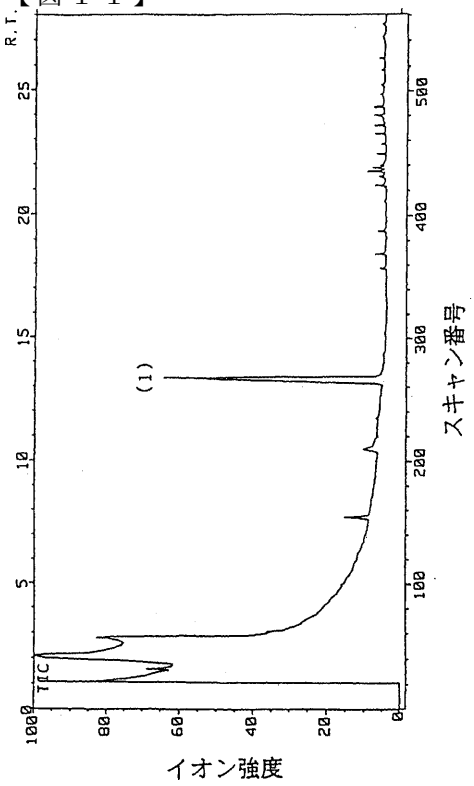
【図９】


化学シフト値（ｐｐｍ）
シグナルの強度

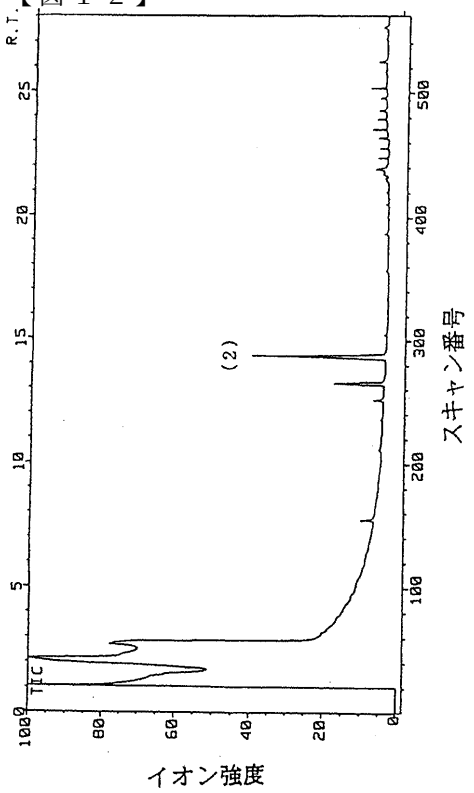
【図１０】


化学シフト値（ｐｐｍ）
シグナルの強度

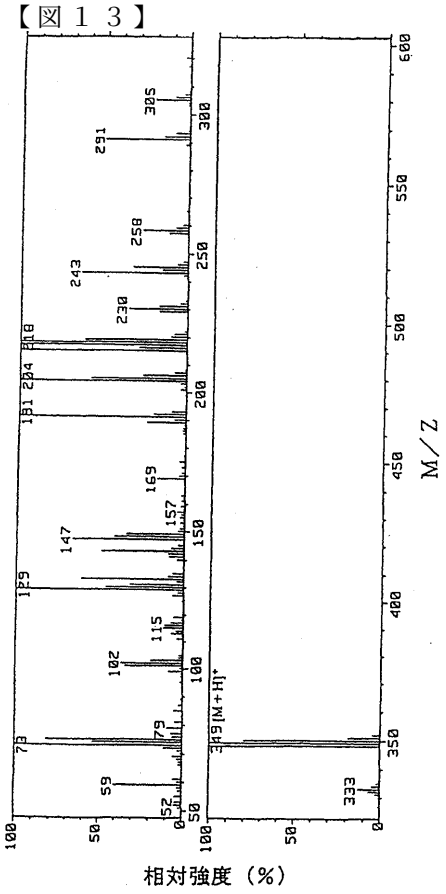
【図１１】



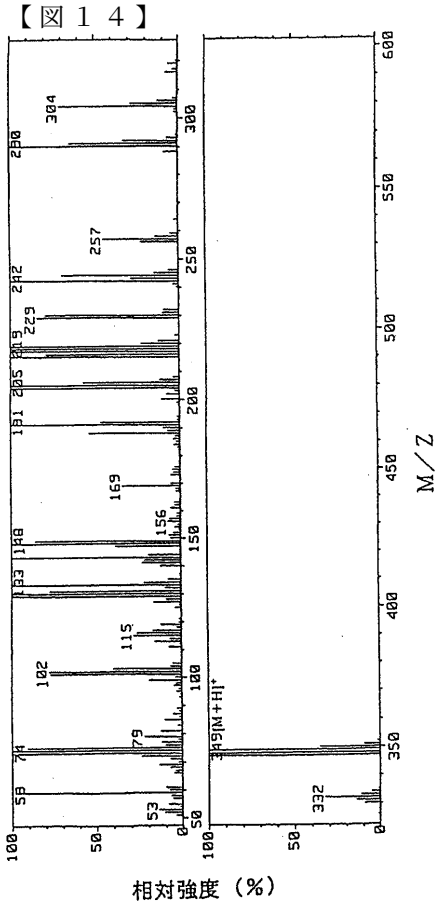
【図１２】



【図１３】



【図１４】



フロントページの続き

(72)発明者 榎 竜嗣
滋賀県大津市瀬田３丁目４番１号 寶酒造株式会社中央研究所内
(72)発明者 小山 信人
滋賀県大津市瀬田３丁目４番１号 寶酒造株式会社中央研究所内
(72)発明者 加藤 郁之進
滋賀県大津市瀬田３丁目４番１号 寶酒造株式会社中央研究所内

審査官 近藤 政克

(56)参考文献 国際公開第９７／３３５９３（WO, Ａ１）
国際公開第９８／１３３２８（WO, Ａ１）
J.Mol.Microbiol.Biotechnol.,2001年,3(3),p.461-465
日本糖質学会第１９回糖質シンポジウム要旨集, １９９７年 ７月, B3-06(p.63)
Chemical Abstract,1964年,60(9),10500c-d,(89364-45-4/RN CAOLD)

(58)調査した分野(Int.Cl.^{7}, ＤＢ名)
C07C 49/493,45/56,45/64
A61K 31/12
A61P 35/00
CAPLUS(STN)
REGISTRY(STN)
JICSTファイル(JOIS)
PubMed