

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5846069号

(P5846069)

(45) 発行日 平成28年1月20日 (2016. 1. 20)

(24) 登録日 平成27年12月4日 (2015. 12. 4)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K 31/121 (2006. 01)

A 6 1 K 31/121

A 6 1 P 31/04 (2006. 01)

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 17/10 (2006. 01)

A 6 1 P 17/10

請求項の数 2 (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2012-167745 (P2012-167745)
 (22) 出願日 平成24年7月27日 (2012. 7. 27)
 (65) 公開番号 特開2014-24814 (P2014-24814A)
 (43) 公開日 平成26年2月6日 (2014. 2. 6)
 審査請求日 平成26年3月26日 (2014. 3. 26)

(73) 特許権者 593206964
 マイクロアルジェコーポレーション株式会
 社
 岐阜県岐阜市曙町 4 - 1 5
 (73) 特許権者 304019399
 国立大学法人岐阜大学
 岐阜県岐阜市柳戸 1 番 1
 (73) 特許権者 000125347
 学校法人近畿大学
 大阪府東大阪市小若江 3 丁目 4 番 1 号
 (74) 代理人 100068755
 弁理士 恩田 博宣
 (74) 代理人 100105957
 弁理士 恩田 誠

最終頁に続く

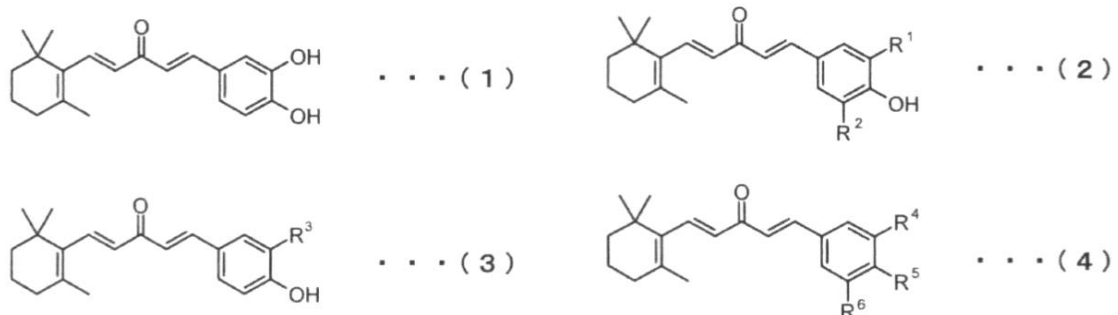
(54) 【発明の名称】 抗アクネ菌剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記一般式 (1) ~ (4) :

【化 1】



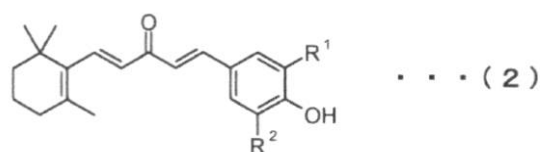
に示される化合物のうちの少なくとも一種を有効成分として含有する抗アクネ菌剤。

(但し、上記一般式 (2) 中の R¹ 及び R² は同一又は異なって、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基であり (但し、R¹ 及び R² が共にメトキシ基である場合を除く。)、上記一般式 (3) 中の R³ は炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基であり、上記一般式 (4) 中の R⁴ ~ R⁶ は同一又は異なって、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ基である。)

【請求項 2】

下記一般式（２）：

【化２】



で示される化合物であって、 R^1 及び R^2 が共にメトキシ基である化合物を有効成分として含有する抗アクネ菌剤（但し、前記化合物をイシクラゲ抽出物として含有する場合を除く。）。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、抗アクネ菌剤に関し、詳しくは特定のイソプレノイド化合物を有効成分として含有する抗アクネ菌剤に関する。

【背景技術】

【０００２】

アクネ菌（*Propionibacterium acnes*）は、ヒトの皮脂腺の毛包に多くみられる皮膚常在菌であり、過剰に増殖するとニキビの原因となることが知られている。従来、ニキビの予防・治療薬としては、サリチル酸や過酸化ベンゾイル、また重度のニキビに対してはイソトレチノインが使用されている（非特許文献１参照）。しかしながら、上記予防・治療薬には副作用や耐性菌の出現等の点で問題があるため、これらに代わる抗アクネ菌剤の開発が望まれている。

20

【０００３】

一方、イソプレノイド化合物はイソプレンを構成単位とするテルペン炭化水素、及びその含酸素誘導体（アルデヒド、カルボン酸誘導体等）の総称であり、これらイソプレノイド化合物には様々な生理活性を有するものが多く存在する。例えば、抗菌活性及び抗真菌活性を有するイソプレノイド化合物として、ゲラニオール、ファルネソール、及びシトラールが知られている（特許文献１参照）。

【先行技術文献】

30

【特許文献】

【０００４】

【特許文献１】特開２００８－２３１０５８号公報

【非特許文献】

【０００５】

【非特許文献１】Kanlayavattanakul M. , Lourith N.(2011). Therapeutic agents and herbs in topical application for acne. J. Cosmet. Sci. 33, 289-297.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００６】

40

この発明は、本発明者らの鋭意研究の結果、特定のイソプレノイド化合物について抗アクネ菌活性を見出したことによりなされたものである。本発明の目的は、抗アクネ菌活性に優れた抗アクネ菌剤を提供することにある。

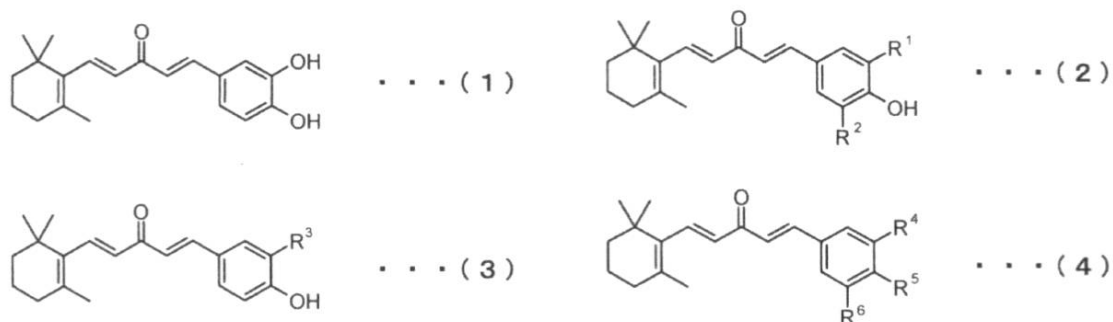
【課題を解決するための手段】

【０００７】

上記の目的を達成するために請求項１に記載の抗アクネ菌剤は、下記一般式（１）～（４）：

【０００８】

【化 1】



10

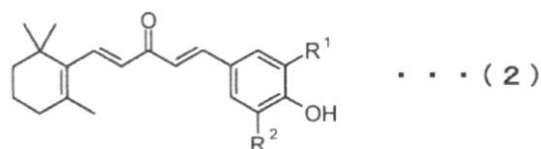
に示される化合物のうちの少なくとも一種を有効成分として含有する。但し、上記一般式 (2) 中の R^1 及び R^2 は同一又は異なって、炭素数 1～6 のアルコキシ基である。但し、 R^1 及び R^2 が共にメトキシ基である場合を除く。上記一般式 (3) 中の R^3 は炭素数 1～6 のアルコキシ基である。上記一般式 (4) 中の $R^4 \sim R^6$ は同一又は異なって、炭素数 1～6 のアルコキシ基である。

【0011】

請求項 2 に記載の抗アクネ菌剤は、下記一般式 (2) :

【0012】

【化 3】



20

で示される化合物であって、 R^1 及び R^2 が共にメトキシ基である化合物を有効成分として含有する。但し、前記化合物をイシクラゲ抽出物として含有する場合を除く。

【発明の効果】

【0013】

本発明によれば、抗アクネ菌活性に優れた抗アクネ菌剤を提供することができる。

30

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図 1】アクネ菌に対する生長阻害試験 (1) の結果を示すグラフ。

【図 2】アクネ菌に対する生長阻害試験 (2) の結果を示すグラフ。

【発明を実施するための形態】

【0015】

以下、本発明を具体化した実施形態の抗アクネ菌剤を詳細に説明する。

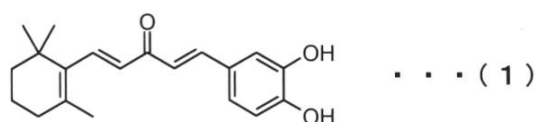
本実施形態の抗アクネ菌剤は、第 1～4 のイソプレノイド化合物のうちの少なくとも一種を有効成分として含有する。

【0016】

第 1 のイソプレノイド化合物は、下記一般式 (1) :

【0017】

【化 4】



で示される化合物である。なお、第 1 のイソプレノイド化合物は新規化合物である。

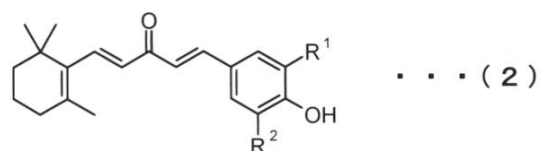
【0018】

第 2 のイソプレノイド化合物は、下記一般式 (2) :

50

【0019】

【化5】



で示される化合物である。式中の R^1 は炭素数 1～6 のアルコキシ基であって、特にメトキシ基であることが好ましい。 R^2 は炭素数 1～6 のアルコキシ基であって、特にメトキシ基であることが好ましい。

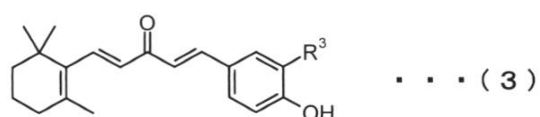
10

【0020】

第3のイソプレノイド化合物は、下記一般式(3)：

【0021】

【化6】



で示される化合物である。式中の R^3 は炭素数 1～6 のアルコキシ基であって、特にメトキシ基であることが好ましい。

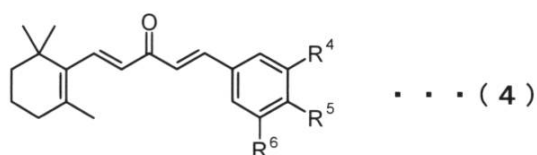
20

【0022】

第4のイソプレノイド化合物は、下記一般式(4)：

【0023】

【化7】



で示される化合物である。式中の R^4 は炭素数 1～6 のアルコキシ基であって、特にメトキシ基であることが好ましい。 R^5 は炭素数 1～6 のアルコキシ基であって、特にメトキシ基であることが好ましい。 R^6 は炭素数 1～6 のアルコキシ基であって、特にメトキシ基であることが好ましい。

30

【0024】

抗アクネ菌剤は、上記第1～4のイソプレノイド化合物のうちの一つのみを含有するものであってもよいし、二種以上を含有するものであってもよい。なお、上記第1～4のイソプレノイド化合物のなかでも第1のイソプレノイド化合物は特に抗アクネ菌活性に優れている。そのた、抗アクネ菌剤中に第1のイソプレノイド化合物を含有させることが特に好ましい。

【0025】

抗アクネ菌剤は、例えば健康食品や食品等の飲食品等の添加剤、医薬品、及び医薬部外品として有用である。抗アクネ菌剤は液状であってよいし、固体状であってよい。それらの剤形としては、特に限定されないが、例えば散剤、粉剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、丸剤、液剤等が挙げられる。また、本発明の目的を損なわない範囲において、賦形剤、基剤、乳化剤、安定剤、溶剤、香料、甘味料等の添加剤を配合してもよい。

40

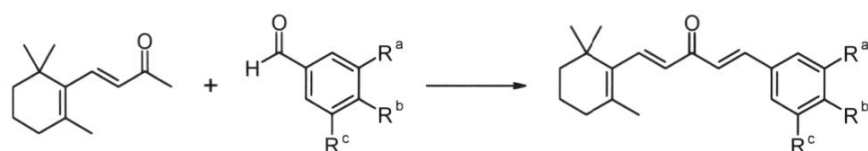
【0026】

抗アクネ菌剤中に有効成分として含有される上記第1～4のイソプレノイド化合物は、有機化学合成(半合成を含む)により得ることができる。例えば、下記反応式に示すように、 β -イオノン(β -ionone)と修飾ベンズアルデヒドとのカップリング反応により合成することができる。

50

【0027】

【化8】



カップリング反応において、反応活性化剤としては、例えば、三フッ化ホウ素・ジエチルエーテル錯体、LiHMDS (lithium hexamethyldisilazide) を用いることができる。反応溶媒としては、例えば、ジオキサン、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、エタノール、クロロホルム、ジクロロメタンを用いることができる。

10

【0028】

また、上記第1～4のイソプレノイド化合物は、天然物から抽出及び単離することにより得ることもできる。例えば、上記第2のイソプレノイド化合物であって、一般式(2)中の R^1 及び R^2 が共にメトキシ基である化合物(Nostocionone)は、シアノバクテリア(藍色細菌)、ネンジュモ科ネンジュモ属の陸生藍藻の一種であるイシクラゲ(Nostoc commune)に含有される成分である。そして、イシクラゲを原料として抽出工程及び単離工程を行うことにより得ることができる。

【0029】

詳述すると、抽出工程は、原料としてのイシクラゲからNostociononeを含む抽出物を抽出する工程である。イシクラゲは天然に自生する藻体であってもよいし、人工的に培養した藻体であってもよい。また、必要に応じて破碎処理した状態や、乾燥処理した状態としてもよい。

20

【0030】

抽出工程に用いる抽出溶媒としては、水、親水性有機溶媒、又は水と親水性有機溶媒との混合溶媒を用いることができる。親水性有機溶媒としては、例えば、メタノールやエタノール等の低級アルコール類、アセトン、及び酢酸エチルが挙げられる。抽出方法としては、公知の抽出方法、例えば冷水抽出、温水抽出、熱水抽出、及び蒸気抽出のいずれの方法を用いてもよい。抽出操作としては、抽出溶媒中にイシクラゲを所定時間浸漬させる。抽出操作においては、抽出効率を高めるべく、必要に応じて攪拌処理、加圧処理、及び超音波処理等の処理をさらに行ってもよい。抽出操作後、例えばろ過や遠心分離等の公知の分離法を用いて固液分離操作を行うことにより、抽出液と原料の残渣とを分離する。このとき、必要に応じて得られた抽出液(抽出物)の濃縮を行う。

30

【0031】

単離工程は、抽出工程にて得られた抽出物中に含まれるNostociononeを単離・精製する工程である。Nostociononeは、上記抽出物を1又は2以上のクロマトグラフィを用いて精製することにより単離される。クロマトグラフィとしては、公知のクロマトグラフィ、例えば液体クロマトグラフィ、超臨界流体クロマトグラフィ、及び薄層クロマトグラフィを用いることができる。Nostociononeの同定は、構造決定により、又は精製品を指標とすることにより行うことができる。

40

【0032】

次に、本実施形態における効果について以下に記載する。

(1) 抗アクネ菌剤は、上記第1～4のイソプレノイド化合物のうちの少なくとも一種を有効成分として含有する。上記構成によれば、アクネ菌の生長を抑制することにより、優れた抗アクネ菌活性を発揮する。

【0033】

(2) 好ましくは、抗アクネ菌剤は第1のイソプレノイド化合物を含有する。この場合には、特に優れた抗アクネ菌活性を発揮する。

(3) 好ましくは、抗アクネ菌剤は第2のイソプレノイド化合物であって、一般式(2)中の R^1 及び R^2 が共にメトキシ基である化合物(Nostocionone)である。Nostociono

50

neはイシクラゲに含まれる天然成分であることから、抗アクネ菌剤として用いた場合に、より副作用が少なく、生体に対してより安全に適用することができる。

【0034】

なお、本実施形態は、次のように変更して具体化することも可能である。

・ 上記抗アクネ菌剤は、ニキビ等の症状がでた際の治療剤として適用することができるのみならず、予防のために使用することもできる。

【0035】

・ 天然物由来の第1～4のイソプレノイド化合物を用いる場合には、天然物から完全に単離することなく抽出物の状態として第1～4のイソプレノイド化合物を剤中に含有させてもよい。例えば、イシクラゲの水抽出物又は親水性有機溶媒抽出物を含有する抗アク

10

【0036】

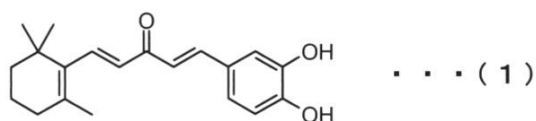
次に、上記実施形態及び別例から把握できる技術的思想について記載する。

(イ) イシクラゲの水抽出物又は親水性有機溶媒抽出物を含有する抗アクネ菌剤。

(ロ) 下記一般式(1)：

【0037】

【化9】



20

で示される新規化合物。

【実施例】

【0038】

次に、実施例を挙げて上記実施形態をさらに具体的に説明する。

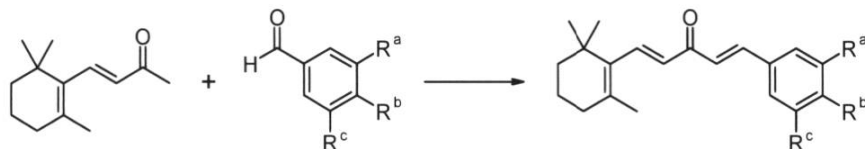
[化合物1～6の合成]

下記反応式に示すβ-イオノン(β-ionone)と各種修飾ベンズアルデヒドとのカップリング反応を用いて化合物1～6を合成した。下記反応式中におけるR^a～R^cと各化合物との対応は表1に示すとおりである。なお、化合物1～4はそれぞれ第1～4のイソプレノイド化合物に該当するものである。化合物5及び6は第1～4のイソプレノイド化合物のいずれにも該当しない、その他のイソプレノイド化合物である。

30

【0039】

【化10】



【0040】

【表1】

40

	R ^a	R ^b	R ^c
化合物1	OH	OH	H
化合物2	OCH ₃	OH	OCH ₃
化合物3	OCH ₃	OH	H
化合物4	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
化合物5	OCH ₃	OCH ₃	H
化合物6	H	OCH ₃	H

なお、化合物1～6の合成は、用いた修飾ベンズアルデヒドが異なるのみで基本的な合成方法は同じである。そのため、以下では化合物1の合成方法のみを具体的に記載する。

50

【0041】

β-ヨノン (0.481 g, 2.5 mmol) に 3, 4-ジヒドロキシベンズアルデヒド (0.69 g, 5.0 mmol) を加えた。さらに、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (1.583 mL, 12.5 mmol) を加えるとともに、溶媒としてジオキサン (10 mL) を加えて溶解させ、室温で 19 時間攪拌した。反応終了後、酢酸エチルを用いて反応液中の生成物の抽出を行った。抽出液を希塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水を用いて順に洗浄し、無水硫酸ナトリウムを用いて乾燥させた。そして、溶媒を留去して得られた残渣をシリカゲルに吸着させ、フラッシュカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/ヘキサン = 1/5 → 1/2) にて精製することにより化合物 1 (0.34 g, 43%) をオレンジ粘性液体として得た。得られた化合物 1 の構造解析データを以下に示す。

10

【0042】

HREI-MS: m/z : 312.1725 [M]⁺ (calc. for C₂₀H₂₄O₃, 312.1717)

IR (film): 3263, 1594, 1285, 983, 810 cm⁻¹

¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃): δ_H 7.64 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 7.56 (1H, d, J = 16.5 Hz, H-11), 7.23 (1H, s, H-13), 7.03 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-17), 6.93 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-16), 6.84 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-10), 6.51 (1H, d, J = 16.5 Hz, H-8), 2.10–2.05 (2H, m, H-3), 1.81 (3H, s, H-20), 1.62–1.60 (2H, m, H-4), 1.49–1.46 (2H, m, H-5), 1.09 (6H, s, H-18 and H-19)

20

¹³C-NMR (100 MHz; CDCl₃): δ_C 190.8, 147.8, 145.1, 144.8, 144.1, 138.3, 136.6, 129.0, 127.4, 123.0, 122.9, 115.6, 114.7, 39.9, 34.2, 34.0, 28.9, 22.0, 18.9

[アクネ菌に対する生長阻害試験 (1)]

化合物 1, 3～6 によるアクネ菌に対する生長阻害活性をディスク法により評価した。

【0043】

30

独立行政法人製品評価技術基盤機構より入手した P.acnes 菌株を、GAM 培地中にて 37℃ で 48 時間、嫌気培養した。その後、P.acnes 菌株を培養した GAM 培地の 600 nm における吸光値を測定するとともに、同 GAM 培地を吸光値が 0.2 となるように希釈して希釈菌液を調製した。また、化合物 1, 3～6 をジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解させ、それぞれ 0.1, 1.0, 10 mM の試験試料を調製した。

【0044】

次に、上記希釈菌液を GAM 寒天培地に塗布した。GAM 寒天培地の表面を乾燥させた後、GAM 寒天培地上にディスクろ紙 (直径 6 mm) を静置するとともに、ディスクろ紙に対して各試験試料 (15 μL) を添加した後、48 時間の嫌気培養を行った。48 時間後、GAM 寒天培地に形成される生長阻止円の大きさを測定した。その結果を図 1 のグラフに示す。

40

【0045】

図 1 に示すように、化合物 1, 3, 4 を添加した場合には、ディスクろ紙の直径 (6 mm) を超える生長阻止円が形成されており、化合物 1, 3, 4 はアクネ菌に対する生長阻害活性を有していることが分かる。また、化合物 1, 3, 4 のなかでも化合物 1 は特に優れた生長阻害活性を示した。一方、化合物 5, 6 を添加した場合には、ディスクろ紙の直径を超える生長阻止円が形成されることはなく、化合物 5, 6 はアクネ菌に対する生長阻害活性を有していないことが分かる。

【0046】

[天然物からの Nostocionone の単離]

50

Nostocionone（上記化合物 2 と同じ物質）を天然物であるイシクラゲから単離を行った。イシクラゲの乾燥粉体（200 g）にエタノール（2 L）を添加して、室温にて 2 時間攪拌するとともに 30 分間静置した後、上清を回収した。また、沈殿物に対して、エタノール（2 L）を添加して、室温にて 2 時間攪拌するとともに 30 分間静置した後、上清を回収した。そして、この沈殿物に対する再抽出操作を合計 10 回繰り返した。得られた全てのの上清をろ紙によりろ過するとともに、そのろ液を減圧濃縮することにより、イシクラゲ抽出物（10 g）を得た。

【0047】

イシクラゲ抽出物に対して、複数のクロマトグラフィによる分画を組み合わせて行うことにより目的物の単離を行った。まず、イシクラゲ抽出物（11 g）を中性シリカゲルに吸着させ、液体クロマトグラフィ（ヘキサン：酢酸エチル＝4：1→1：1）による分画を行った。そして、イシクラゲ抽出物を順相 TLC（展開溶媒／クロロホルム：メタノール＝100：1）にて分析したときに、R_f 値が 0.5 となるスポットを含む画分を回収するとともに、同画分を濃縮することにより第 1 粗精製物を得た。

10

【0048】

第 1 粗精製物に対してシリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル＝5：1）による分画を行い、上記スポットを含む画分を回収するとともに、同画分を濃縮することにより第 2 粗精製物を得た。その後、第 2 粗精製物に対してシリカゲルクロマトグラフィー（クロロホルム）による分画を行い、上記スポットを含む画分を回収するとともに、同画分を濃縮することにより第 3 粗精製物を得た。

20

【0049】

第 3 粗精製物に対して分取薄層クロマトグラフィ（クロロホルム：メタノール＝100：1）による分離処理を行い、目的物質が吸着した部位のシリカゲル単体（R_f 値 0.5）を回収した。回収したシリカゲル単体をアセトンに浸漬させて目的物をアセトン中に溶出させ、その溶出液を濃縮することにより目的物である Nostocionone（22.3 mg）を得た。得られた Nostocionone の構造解析データを以下に示す。

【0050】

HR FAB-MS：m/z：357.2091 [M+H]⁺（calc. for C₂₂H₂₈O₄, 357.2066）

IR（film）：3363, 1600, 1513, 1457, 1114, 672 cm⁻¹

30

¹H-NMR（400 MHz；CDCl₃）：δ_H 7.56（1H, d, J=16.0 Hz）, 7.48（1H, d, J=16.0 Hz）, 6.82（1H, d, J=16.0 Hz）, 6.82（2H, s）, 6.48（1H, d, J=16.0 Hz）, 5.87（1H, bs）, 3.91（6H, s）, 2.07（2H, t, J=6.4 Hz）, 1.81（3H, s）, 1.65-1.60（2H, m）, 1.49-1.47（2H, m）, 1.09（6H, s）

¹³C-NMR（100 MHz；CDCl₃）：δ_C 188.9, 147.4, 143.2, 142.9, 137.4, 136.7, 136.5, 129.3, 126.5, 124.3, 105.4, 56.5, 39.9, 34.3, 33.8, 29.0, 22.0, 19.0

40

〔アクネ菌の生長阻害試験（2）〕

イシクラゲから単離した Nostocionone（化合物 2）、及びイシクラゲ抽出物によるアクネ菌に対する生長阻害活性をディスク法により評価した。

【0051】

単離した Nostocionone を DMSO に溶解させ、0.1, 1.0, 10 mM の試験試料を調製した。また、上記イシクラゲ抽出物を DMSO に溶解させ、500, 1000, 2000 μg/mL の試験試料を調製した。

【0052】

次に、生長阻害試験（1）と同様にして調製した上記希釈菌液を GAM 寒天培地に塗布

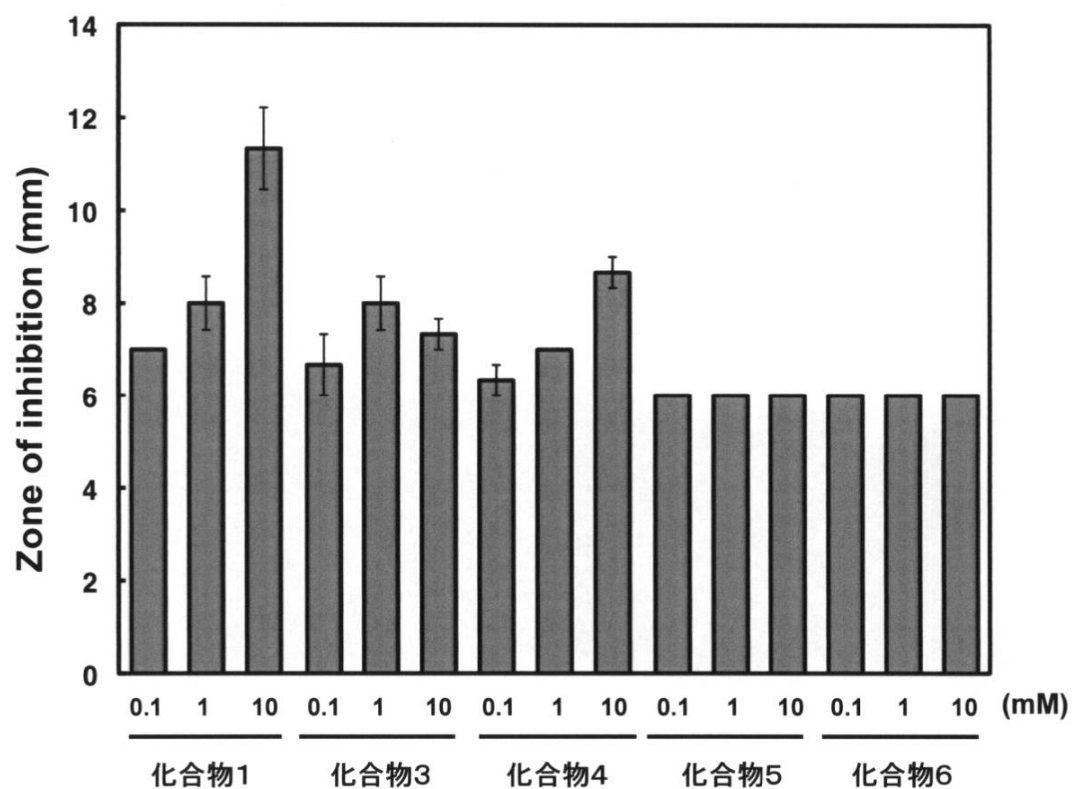
50

した。G A M寒天培地の表面を乾燥させた後、G A M寒天培地上にディスクろ紙（直径 6 mm）を静置するとともに、ディスクろ紙に対して各試験試料（15 μ L）を添加して、48時間の嫌気培養を行った。48時間後、G A M寒天培地に形成される生長阻止円の大きさを測定した。その結果を図2のグラフに示す。

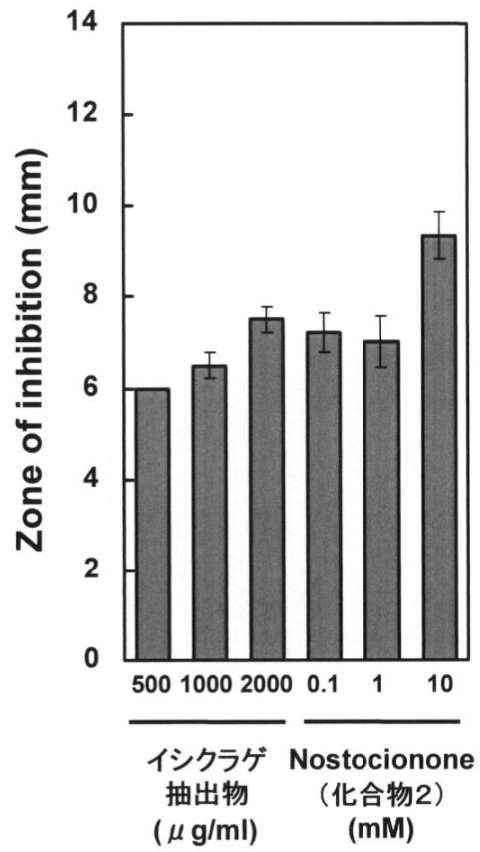
【0053】

図2に示すように、イシクラゲから単離したNostocionone及びイシクラゲ抽出物を添加した場合には、ディスクろ紙の直径（6 mm）を超える生長阻止円が略濃度依存的に形成されており、Nostocionone及びイシクラゲ抽出物はアクネ菌に対する生長阻害活性を有していることが分かる。

【図1】



【図 2】



フロントページの続き

(72)発明者 瀬瀬 守

岐阜県岐阜市柳戸1番1 国立大学法人岐阜大学 内

(72)発明者 伊藤 智広

奈良県奈良市中町3327-204 学校法人近畿大学 農学部 内

(72)発明者 竹中 裕行

岐阜県岐阜市曙町4-15 MAC総合研究所 内

審査官 田村 直寛

(56)参考文献 特開2007-116938 (JP, A)

特開2009-203168 (JP, A)

特開2003-104849 (JP, A)

特開平06-116159 (JP, A)

Synthetic Communications, Volume 39, Issue 24, pages 4362-4374, 2009

New Food Industry, 2010, Vol.52, No.7, pp.28-34

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)