

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6564030号
(P6564030)

(45) 発行日 令和1年8月21日 (2019.8.21)

(24) 登録日 令和1年8月2日 (2019.8.2)

(51) Int. Cl.

F I

C 1 2 Q 1/00 (2006.01)
 C O 7 H 15/26 (2006.01)
 G O 1 N 1/30 (2006.01)
 G O 1 N 33/48 (2006.01)
 G O 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 Q 1/00 B
 C O 7 H 15/26 C S P
 G O 1 N 1/30
 G O 1 N 33/48 P
 G O 1 N 33/53 Y

請求項の数 7 (全 39 頁)

(21) 出願番号 特願2017-522199 (P2017-522199)
 (86) (22) 出願日 平成26年11月18日 (2014.11.18)
 (65) 公表番号 特表2018-505649 (P2018-505649A)
 (43) 公表日 平成30年3月1日 (2018.3.1)
 (86) 国際出願番号 PCT/TR2014/000410
 (87) 国際公開番号 WO2016/064353
 (87) 国際公開日 平成28年4月28日 (2016.4.28)
 審査請求日 平成29年8月31日 (2017.8.31)
 (31) 優先権主張番号 2014/12329
 (32) 優先日 平成26年10月21日 (2014.10.21)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 トルコ (TR)

(73) 特許権者 517137712
 ブダク, メフメト
 Budak, Mehmet
 トルコ共和国 ユカリ ディクメン マハ
 ッレ. オラン-チャンカヤ-アンカラ-
 O 6450, トゥラン ギュネス ブルバリ
 , 638. ジャッデ, No: 3/13
 Turan Gunes Bulvari
 , 638. Cadde, No. 3/13,
 Yukari Dikmen Mah. O
 ran-Cankaya-Ankara-
 TURKEY-O6450

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 パパベル ロエアス (Papaver rhoeas) から得られる新規分子を含む組織及び細胞染料処方

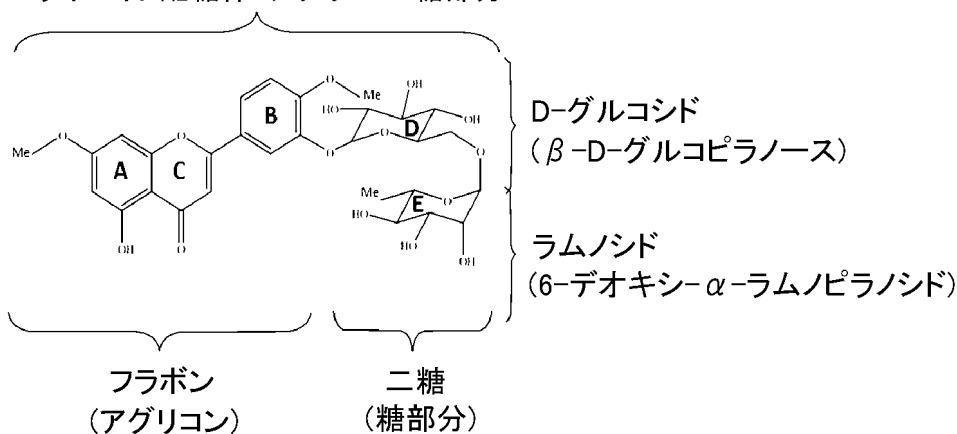
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

パパベル ロエアス抽出物から得られ、以下の構造を有する、核を染色するための分子。

【化 1】

フラボノイド配糖体=アグリコン+糖部分



【請求項 2】

5-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-(4-メトキシ-3-((2R, 3R, 4S, 5S, 6R)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-(2R, 3R, 4R, 5R, 6S)-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-メチルテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)メチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)フェニル)-4H-クロメン-4-オンである、請求項1に記載の分子。

【請求項3】

自動又は手動の診断染色方法による組織病理学、微生物学、又は細胞学上の顕微鏡評価のための核の染色における、請求項1に記載の分子の使用。

【請求項4】

免疫組織化学診断技術における、請求項1に記載の分子の使用。

10

【請求項5】

請求項1に記載の分子を含有する、染色組成物。

【請求項6】

前記分子が糖基、アルキル基、飽和脂肪基、アルコール、酸、アルカロイド、蛍光物質、放射性対照剤、ナノマテリアル、分散剤、及び媒染剤組成物として伴う金属複合体と結合する、請求項5に記載の染色組成物。

【請求項7】

パパベル ロエアスから抽出する工程を含む、請求項1に記載の分子を含む染色組成物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

パパベル ロエアス (Papaver rhoeas) 染料処方は、誘導体及び相乗的分子を伴う新規バイオフラボノイドを含む。診断目的のために、「細胞及び組織」の核の特異的染色を与える新規核染料がパパベル ロエアス抽出物から処方される。本発明は、「ヘマトキシリン」の日常的な染料の代替処方であり、保健部門における診断の利点があり、また経済に貢献する染料に関する。

【0002】

概説

パパベル ロエアス (Papaver rhoeas) 処方は、主に核染料として使用され、新規分子を含み、毎年経済に100～150億ドル貢献する可能性があり、ヘマトキシリンの代替物である。供給源は、世界の絶滅の危機に瀕している熱帯雨林を保存し、地域の生態系のバランスをとる取り組みに貢献し、工業製品として有用である。(Anatech LTD. “histology chemicals, ‘boiling hematoxylin market” “Summer 2008 INNOVATOR”)。

30

【0003】

パパベル ロエアス処方は、日常的な診断法で用いられるヘマトキシリンの従来型染料の合理的代替物である。ヘマトキシリンに対して高まる必要性は、ヒト集団の数及び診断的治療的医療処置の増加に起因する。1グラム当たりのヘマトキシリンの販売価格は非常に高く、生産は世界の熱帯雨林を危険にさらし、また生態系にリスクを負わせる。

40

【0004】

本明細書におけるパパベル ロエアスは、発見され処方された新規細胞-組織染色源である。パパベル ロエアス分子は非常に活性で機能的であり、これはバイオフラボノイド分子であり、エオシンと組み合わせられる。分子自体は誘導体及び相乗的分子とあわせて、組織及び微生物学的サンプル由来の真菌等の他の供給源中の核において明確な染色を提供して細部の微細な染色を可能にし、診断目的のために組織病理学、細胞学に応用することができる。診断における広範囲の色のスペクトル及び特徴を解明及び詳述することで、新規診断パラメータ及び知見を提供する。

【0005】

50

病院、研究所及び製造業における染色法、ハードウェア装置及び材料は、伝統的技術と類似し、追加の投資を必要としない。分子は、免疫系調節剤、T細胞活性化剤、抗ウイルス剤、組織保護剤、及び再生剤、並びにインジケータとして、また新規ビタミン複合体の合成のために使用できる。それは更に、ワイン業界において色素として、食品、軍服を着色するため、特にベビー服及び玩具用の更に不活性な色素として、また環境に配慮した織物において着色剤として、肌の若返り及びスミージングとしても使用することができ、吹き出物治療薬及び抗しわ剤として使用することができる。化粧品は、外科的プロテアーゼ及び外科縫合糸の染色で用いられる。生化学的診断検査に応用される。特に、工業用プラズマテレビでは、モニタースクリーン並びに製造のためのナノテクノロジー及びナノ粒子合成のためのセンサーテクノロジーも使用してプリンターカートリッジを製造することができ、ペイントが可能になる。ここでも、免疫組織化学は他のデジタル画像テクノロジーと組み合わせて診断目的のために使用される。

10

【背景技術】

【0006】

パパベル ロエアスは、自然界で自然に生育する。種名はパパベル ロエアス エル (Papaver rhoeas L) であり、科学的系統名前はケシ科 (Papaveraceae) である。他の名称は、red Poppy、Corn Poppy、Flanders Poppy、Shirley Poppy Papaver Papaver Papaver Roubini Papaver tenuissima Papaver tumigil Papaver trilobum Papaver strigosum であり、同じ種がある (1~6)。通常、様々なサイズの2枚及び4枚の大きな有毛萼片の花弁上に黒色の斑点があり、赤色の葉を有する。子房は中心に位置し、黒地で取り囲まれている。花粉の量は果実のサイズに応じて変わり、果実1個あたり200個を超える種子が含まれている。

20

【0007】

パパベル ロエアスは陽気な気候で生育し、砂地で最もよく生育する。パパベル ロエアスの花弁は、化学的に発色し、パパベリン酸 (Papaveric acid) が関与する反応を呈する。鎮静作用軟化剤、及び初経調整性、去痰性、催眠性を有し、麻酔及び鎮静作用を若干機能させ (7~9)、熱、気管支炎症状及び咳、不眠症、消化系障害の治療及び疼痛に有用である。 (10~12)。更に、多動及び不眠症などの神経系症状に使用することもできる。子供にとって安全であることも証明されている (13~15)。

30

【0008】

フラボノイドはフェノール構造を有し、果物、野菜、穀物、樹皮、根中に自然に存在し、花、茶、及びワインでも見いだされる (16)。5000種を超えるフラボノイドが検出されているが、特異的効果は非常に稀にしか示されない。バイオフィラボノイド花 (Bioflavonoids flowers) は、果実の色に関与する (17~20)。食物と共に摂取すると、心臓血管疾患が減弱し、死亡率が減少した。 (21, 22)。誘導体は野菜でも見られ、一例としてビタミンP (ルチン) 等のビタミンとしての特徴も示す (23)。毛細血管壁の血管透過性 (24) はフラボノイドによって増加し、このことは1950年代に発見された。フラボノイドは4つの主な群に分けられ (25, 26) (27)、サブグループに分けることができる。フラボノイドは分子構造において特徴的な各基について示されている。

40

【0009】

フラボンは中心の芳香環上に二重結合を有し、平面構造を有する。フラボノイドは2-フェニルベンゾピレン (benzopirene) 芳香族複素環を含む。バイオフィラボノイドは植物に色を与え、フラボノイド植物の成長及び発育においても重要な役割を果たす。キノコバイオフィラボノイドでUV-B線に対する自然のバリアを作製することは、日和見真菌の成長の防止に役立つ。抗菌効果及び抗寄生虫効果が示されている。微生物で微生物フラボノイド分子に対して遺伝的変化を生じさせることができる。しかしながら、技術的にはこれらは費用がかかる方法である (28)。

50

【0010】

IUPAC 4. 5によると、フラボノイドはイソフラボノイド及びネオフラボノイドの2つの群に分けられる。これらは、構造イソフラボンから誘導される3-フェニルクロメン-4-オン(3-フェニル-1, 4-ベンゾピラン)及びバイオフラボノイドの構造から誘導されるフェニルクマラン(4-フェニル-1, 2-ベンゾピラン)である。

【0011】

バイオフラボノイドは、ケトン並びにそれらのフラボン及びフラボノールを含んでいるかどうかによって化合物の名称が与えられる。フラボノイドという語は、非ポリヒドロキシケトンにおいてよりも大まかに、ポリフェノールの化合物を記載するために用いられる。フラボノイドは3つの環又は複素環構造を有し、全体で3環の構造のフロログルシノールモデルを示す構造を有する。イソフラボノイド分子は遺伝子工学によって産生することができる(28)。

10

【0012】

パパベル ロエアスの花卉及びさく果は、いくつかのアルカロイドを産生する。これらのアルカロイドは、酸と共に加熱した場合、ポルフィリンと呼ばれる活性な複合体に変わる。未知の反応複合体アルカロイドの結果は赤色になる。クレイマン(Klayman)は「赤色原理」と呼び(29-33)、反応のpHに関連して発色する(33-35)。

【0013】

バイオフラボノイドは、反応性の酸素ラジカルに対する抗酸化剤として反応を加速させ(39, 40)、内部酸化反応性酸素種を還元する還元剤のようなスーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、およびグルタチオンペルオキシダーゼ、アスコルビン酸、及び α -トコフェロールを通じて(41)脂質過酸化を防止することによって(36-38)、酸素損傷を制御する。

20

【0014】

いくつかのフラボノイドは、反応性の酸素-誘導体を不活化ラジカルペルオキシ亜硝酸に変換する(42)。多くのフラボノイドは内皮細胞及びマクロファージと相互作用することができ、一酸化窒素、一酸化窒素シンターゼ活性を減少させ(43)、従って、非常に有害なペルオキシ亜硝酸と反応し、酸素フリーラジカルの産生を誘導する。

【0015】

フラボノイドは抗酸化剤として作用し、残存するフリーラジカルを除去するため、よって、損傷をあまり起こさず、一酸化窒素(44)及び一酸化窒素分子と反応することもでき(45)、フラボノイドによって阻害される。

30

【0016】

フラボノイド酸化的損傷(46, 47)は、キサンチンのオキシダーゼ活性の阻害をもたらす(48)、白血球炎症の減少を可能にする(49)。いくつかのフラボノイド超過酸化物の産生(50)は、如何なる影響なく好中球の脱顆粒を阻害する。肥満細胞脱顆粒は膜内で起こる。 Ca^{2+} 受容体はチャンネルの制御に影響を及ぼす(51, 52)。

【0017】

フラボノイドは鉄結合特性及び鉄安定化特性を有し、更に脂質過酸化も阻害する(53-56)。いくつかのフラボノイドは、好中球接着が最適の炎症反応を起こす際に、炎症細胞を減少させる(57-59)。しかしながら、概して、補体活性化を減少させることができる。フラボノイドはペルオキシダーゼ放出を減少する。この反応によるA1-抗トリプシン活性化は、反応性酸素ラジカルの産生を阻害する。タンパク質分解酵素は、酵素系に対するアラキドン酸の前進的不活性化を示し(60-62)、同時に抗炎症及び抗血栓特性が与えられる(63)。

40

【0018】

フラボノイドの平均的一日摂取量の研究は少ない。例えば、ビタミンCの消費はフラボノイドの摂取より3倍多い(64)。フラボノイド消費は国によって大きく異なる(65, 66)。集団研究でのフラボノイドの食物摂取の判定は困難である。ヒトにおけるフラボノイドの代謝吸収及び排出に関する研究も少ない(67-72)。グリコシル化形態は

50

、アグリコン形態よりも吸収される。接合は腸及び肝臓で起こる（73）。

【0019】

フラボノイドの代謝は腸細胞で始まり、肝臓へ運ばれた後にアルブミンと結合することによりグルクロニド抱合体が形成され、硫酸基、メチル基の添加、又はフラボノイドの抱合の両方が完了する。バイオフィラボノイド抱合体の活性が高いほど、地中海における死亡率及び心臓血管疾患が低くなる。

【0020】

バイオフィラボノイドのいわゆる毒性効果は十分研究されていない（74～79）。均等変異原性（even mutagenic properties）について多くの議論がなされている（80～82）。しかしながら、ヒトに関する長期間の他の研究は、明確な発がん性副作用の可能性が低いことを示す。フラボノイドは癌細胞又は不死化細胞に対して有害であるが、これらは正常な細胞に対する毒性は低い（83～85）。フラボノイドの生体外（in vitro）研究から、抗アレルギー剤、抗酸化剤、抗菌剤、抗細菌剤（anti-bacterial）、抗真菌剤、同様のいくつかの他の生物学的及び薬理学的活性は抗ウイルス効果を有することが示されている。

【0021】

ワンらは、呼吸器合胞体ウイルス、パラインフルエンザウイルス、及びアデノウイルスと同様に、単純ヘルペスウイルス及びHIVによって実施した研究で、フラボノイドの抗ウイルス活性を示した（87）。フラボノイドの効果は、ウイルスの複製周期の異なる段階によって異なり得る（88）。フラボノイドのアグリコン形態（89）は、ロタウイルス阻害に対して影響を及ぼす。逆転写酵素又はDNA指向性RNAポリメラーゼとして、抗HIV剤の阻害活性に関する研究がされている（90）。HIVに感染した患者を治療するために、以前に定義されたフラボノイドの治療に対する多大な貢献が利益をもたらすかは明らかではない（91）。フラボノイド白血病（MLL）遺伝子における生体外（in vitro）の研究は、トポイソメラーゼ酵素を阻害することによるDNA複製変異効果の進展において重要であると考えられる。シクロオキシゲナーゼ及びリポキシゲナーゼは、抗炎症効果を通じて見られている。膜チロシンキナーゼは、様々な免疫応答フラボノイドを阻害する性質である（92、93）。

【0022】

血管内皮新生は多くの発生反応（developing reaction）によって調節される。フラボノイドの摂取は、肺癌及び黒色腫増殖率の間に逆相関関係がある。しかしながら、フラボノイドの抗血管新生効果の背景メカニズムは明らかではない。タンパク質キナーゼの可能なメカニズムは阻害であり得る（94～104）。

【0023】

男性で臨床研究を行ったところ、通常消費する食品でフラボノイドを摂取することにより、冠動脈性心疾患による死亡のリスクが低減されるようである。加えて、フラボノイドの摂取が、認知症の発生を防止するために提示されている（105、106）。酸化ストレスの存在と血管損傷との間の総血漿コレステロール濃度逆相関関係が報告されている。フラボノイドの摂取は認知症のリスクを低減する。血管炎症メカニズムを変えることで、動脈圧及び高血圧が高度に調節される。毛細管内皮機能を増加させ、アテローム性動脈硬化症のリスクを減少させることにより、血管は細胞における酸化ストレスに関連するシグナル経路を阻害する。塞栓形成は、血小板凝集を阻害することによって血栓形成を阻害する。フラボノイドは、（a）直接的抗菌活性を有し、（b）活性を有する抗生物質と相乗的に、そして（c）細菌毒性因子を抑制する同じ効果を有する。

【0024】

更に、極端な量の力の効果を生体内（in vivo）で測定することを目的とした酸化的細胞損傷について、手順は十分でなく、研究は限られている。吸収及び排出に関するより多くのデータ収集を確実にする分析技術の開発が必要とされる。今日の情報に照らすと、果物、野菜および飲料（例えば、茶及び赤ワイン）によるフラボノイド摂取が推奨される（107～112）。

10

20

30

40

50

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0025】

【非特許文献1】Quebe Trim, Canada plant diseases Name City, Canada. 288 pp. 197

【非特許文献2】Alex, JF, in cayouette, R., Mulligan, D, Ottawa, Ont., Canada. 132 pp. Canada's Common and botanical names of weeds. Agric.1980.

【非特許文献3】L. H. Bailey, Bailey, E. z.hortus. 3. revision. MacMillan, New York, NY, USA. 1290, p. 1976

【非特許文献4】Scogg who, H. J., Canada flora. Nat. Muse. Nat. Sci. (Ottawa) Ya y. Bot. 7 (1) -7 (4). 1711, p. 1979

【非特許文献5】Van Wijk, HL plant names dictionary. Martinus Nijhoff, The Hague, The Netherlands. 1444, p. 191 1

【非特許文献6】Victor M. Flore Laurentienn to 1. 2nd edition. Univ., Montreal, Que., Canada. 952 pp., 1964

【非特許文献7】Inodc Taxonomic Code database (version 8) Notes: Papaver rhoeas: 1996

【非特許文献8】Plants Database, database Earned (version 4.0.4): National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-4490 ABD.1996

【非特許文献9】Plants Database, database Earned (version 5.1.1) :: National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-4490 USA. 2000

【非特許文献10】John Kartesz Notes: North America Project (BONAP), University of North Carolina Reference Biota: Papaver rhoeas

【非特許文献11】Chevallier. A. The Encyclopedia of Medicinal Plants Dorling Kindersley. London 1996 ISBN 9-780751 - 303148

【非特許文献12】Bown. D. Encyclopedia of Herbs and use. Dorling Kindersley, London. 1995 ISBN 0-75 13-020-31

【非特許文献13】Papaver rhoeas L. behavioral and pharmaco-toxicological studies in rats. Soulim NEW R Younos, Jarmo the C-Idriss S, D Khaoluk F Bouse, Laila C. Journal of Ethnopharmacology, 74 (3): 265-74 2001

【非特許文献14】Papaver rhoeas Effects mouse Hedayat Sahraei year in the acquisition and morphine examining welded on conditioned place preference expression, Ethnopharmacology Volume 103 Sayedeh Maedeh Fatimid B, Shahrokh Pasha of-RADC, Zehra Faghih-Monzav of Seyyed Hossein Salimi and Muhammad Kamalinejad Magazine, Issue 3, Pages 420-424 February 20, 2006,

【非特許文献15】Ali Pourmotabbed, Baharak Rostami, the Gille Manouchehr of Gille Pirzadeh-Jahromi B, Hedayat Sahara, Hasan Ghoshoonib, Homeir to Zardooz and Ethnopharmacology Volume 95 Muhammad Kamalinejad Magazine, Issues 2-3, Pages 431-435

【非特許文献16】Facciola. S. Cornucopia - A Source Book of Edible Plants. Kampong Publications 1990 ISBN 0-9628087- 0-9 2004

【非特許文献17】Chiej. R.sifal Plants R. Encyclopedia. MacDonald ISBN 0-356- 10541.1984 1984.

【非特許文献18】F. Chittenden. ST Dictionary of Plants plus Supplement. 1956 Oxford University Press 1951

【非特許文献19】Hedrick. UP Sturtevant the world of edible plants. Dover Publications ISBN 0-486-20459-621. 1972

【非特許文献20】de Groot, H Rauan, Fundam reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids Clin Pharmacol 1998; 12: 249-55.

【非特許文献21】E. Hamlyn Edible plants. ISBN 0-600-37216-2, 1981

【非特許文献22】Formica JV, quercetin and related bioflavonoids Regelson W. Re

10

20

30

40

50

view of the biology. Food Chem Toxicol 33: 1061- 1080. 1995

【非特許文献 2 3】Computational and Theoretical Chemistry, a quantum mechanical approach to Mina Ghiasi, Afsaneh Azadnia to, Masoud Arabiehb, Mansour Zahedib Volume 996, routine and resist oxidation (vitamin P) Pages 28-36 The protective effect of:

【非特許文献 2 4】Frieseneck B, Tsai AG, inflammation, edema and cellular basis for the Intagliet Daflo K. 500 mg activity. Int J Clin Exp Microcirc 15 (Suppl): 17-21. 2012 1995

【非特許文献 2 5】Clinical Nutrition flavonoids American Society: action and potential applications 1,2,3 possible mechanisms Robert J Nijveldt, Els van Nood, D 10
anny AK van Hoorn, Petra G Boelens, classy van Norra and Paul AM van Leeuwen in a review in 2001

【非特許文献 2 6】Robak J Gryglews the RJ. Flavonoids bioactivity. Pol J Pharmacol; 48: 555-64. 1996

【非特許文献 2 7】DOI: 10.1007 in the book / 978-3-642-22144-6_53: Natural Products: Phytochemistry, Botany and alkaloids, phenolics and terpenes Metabolism Section: 54, Publisher: Springer Berlin Heidelberg, Editors: , . Kishan Gopal Ramawat, Jean-Michel MERILLON, pp.1647- 1682_Need-to-know news and monitoring for UB faculty and staff

【非特許文献 2 8】UB Reporter This article is from the archives. Ellen GoldbOu c 20
ontributing Editor By: ARCHIVE genetically engineered microorganisms into tiny factories Published in 2007

【非特許文献 2 9】UNODC Szendre K. Pages: 5 1 -54 Creation Date: K. opium Szendre Faculty of Pharmacy, Laboratory Pharmacognostical, Szeged, Hungary porphyrox a method to isolate 1968

【非特許文献 3 0】Merck, E., Ann. Pharmacy, 21201, Physical Sciences, 18, 379, 1 839 Annual Progress Report. 1847

【非特許文献 3 1】Hesse, O., Liebig Ann. Chem. 153, 47, 1870.

【非特許文献 3 2】akshit, N. J. Chem. Soc. (London) 1 15 (1), 455, 1919.

【非特許文献 3 3】Rajagopol, S., Current Science. 12, 24, J. Org. Chem. 10, 175, 30
1945.

【非特許文献 3 4】Fulton, C, E / CN.7 / 1 17, 1948; Narcotics IV, No. 1, 15, Bulletin on 1952. 1948

【非特許文献 3 5】Klayman, DL Thesis, Rutgers University, 1956

【非特許文献 3 6】van Acker SA, Tromp MN. Haenen GR, van der Vijgh WJ, Bast A. Flavonoids as free radical nitric oxide cleaner. Biochem Biophys Res Commun 214: 755-9 1995

【非特許文献 3 7】Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hoult JR, flavonoids and phenolic dietary supplements mammalian 5-lipoxygenase and Sikoloksijenaz Halliwell B. Prevention. With antioxidant activity and to iron ion- reducing ability relationship. Biochem Pharmacol 1991; 42:1673-1681 1991 40

【非特許文献 3 8】Epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase obtained with flavonoids and bioflavonoids naturally occurring effects of the guinea pig. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1998; 58: 17-24).. 1998

【非特許文献 3 9】An update: alliwel B how to characterize an antioxidant. Biochem Soc Symp 61: 73- 101 1995

【非特許文献 4 0】KorkinAfanas'ev IB LG. Flavonoids, antioxidants and chelating properties. Adv Pharmacol 38: 151-63. 1997

【非特許文献 4 1】Sanhueza Garrido J Valdes J Campos R, Valenzuela in ischemia-reperfusion rat kidney been stressed xanthine dehydrogenase / xanthine oxidase Ch 50

anges: some inhibitory effect of flavonoid. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 78 : 211-8.1992

【非特許文献 4 2】Robak J Gryglews the RJ. Flavonoids bioactivity. *Pol J Pharmacol* 48: 555-64. Kim HP, Mani I, Iversen L, Ziboh VA. 1996

【非特許文献 4 3】Huk I Nanobash Brovkovich V VJ, et al. Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and nitric oxide in ischemia-reperfusion increases the concentration of damage: an experimental study. *Br J Surg*; 85: 1080-5. 1998

【非特許文献 4 4】Shutenko Z, Henry Y Pinard M, et al. Global ischemia and reperfusion in rat brain during electron paramagnetic resonance determined by the level of nitric oxide in vivo antioxidant effect of quercetin. *Biochem Pharmacol* 57 : 199-208. 1999

【非特許文献 4 5】van Acker SA, Tromp MN, Haenen GR, van der Vijgh WJ, Bast A. Flavonoids as free radical nitric oxide cleaner. *Biochem Biophys Res Commun*; 214: 755-9. 1995

【非特許文献 4 6】Chang WS, Lee YJ, Lu FJ, Chiang HC. Xanthine oxidase inhibitory effects of flavonoid. *Anticancer Res*, 13: 2165-70. 1993

【非特許文献 4 7】Lion M, Ono Y, Kai S, as well as milk xanthine oxidation of flavonoids on cytochrome c reduction by xanthine oxidase Fukumoto M. Effects. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 32: 635-42. 1986

【非特許文献 4 8】Calo on Ying Li M, et al. Xanthine oxidase and structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of superoxide scavenging. *J Nat Prod* 61 : 71 -6 1998

【非特許文献 4 9】Frieseneck B, Tsai AG, Allegra C Intagliet micronized purified flavonoid fraction of the implementation of K. orally, ischemia-reperfusion injury, leukocyte adhesion suppresses hamster in vivo observations in the folds. *Int J Clin Exp Microcirc* 14: 50-5. 1994

【非特許文献 5 0】Frieseneck B, Tsai AG, Allegra C Intagliet micronized purified flavonoid fraction of the implementation of K. orally, ischemia-reperfusion injury, leukocyte adhesion suppresses hamster in vivo observations in the folds. *Int J Clin Exp Microcirc* 14: 50-5. 1994

【非特許文献 5 1】Ferrandiz ML Gil B, Sanz MJ, et al. Bakuchiol Effect on leukocyte functions and some inflammatory responses in mice. *J. Pharm Pharmacol* 48: 975-80. 1996

【非特許文献 5 2】Bennett JP Gomperts BD, Wollenweber of natural flavonoids is without mast cells and neutrophils secreted E. preventive effects. *Arzneimittelforschung* 31: 433-7.1981

【非特許文献 5 3】Frieseneck B, Tsai AG, inflammation, edema and cellular basis for the Intagliet Daflo K. 500 mg activity. *Int J Clin Exp Microcirc*; 15 (Suppl) : 17-21. 1995

【非特許文献 5 4】Middleton EJ, immune and inflammatory Kandaswa my C. Effect of flavonoids on cell functions. *Biochem Pharmacol* 43: 1 167- 1 179. 1992

【非特許文献 5 5】Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory flavonoids activity and arachidonic acid metabolism inhibition. *Agents Actions*, 32: 283-8. 1991

【非特許文献 5 6】Kerry NL Abbey phenolic compounds derived from fragmented red wine and red wine, in vitro, inhibit oxidation of low density lipoprotein. *Atherosclerosis*, 135: 93- 102 1997

【非特許文献 5 7】Shoskes. Bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal damage Effect: a new class of tenoprotective agents. *Transplantation* 66: 147-52. 1998

【非特許文献 5 8】Dehmlow C Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell fun

10

20

30

40

50

ctions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology*, 23: 749-54. 1999

【非特許文献 5 9】Shoskes. Bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal damage Effect: a new class of renoprotective agents. *Transplantation* 66: 147-52. 1998

【非特許文献 6 0】Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory flavonoids activity and arachidonic acid metabolism inhibition. *Agents Actions*, 32: 283-8. 1991

【非特許文献 6 1】Ferrandiz ML, Nair AG, Alcaraz MJ. Spanish and Indian medicinal herbs Inhibition of sheep platelet arachidonate metabolism by flavonoids. *Pharmacazie*, 45: 206-8. 1990

【非特許文献 6 2】Formica JV, quercetin and related bioflavonoids Regelson W. Review of the biology. *Food Chem Toxicol* 33: 1061-1080 1995

【非特許文献 6 3】Remacle-Volo Damas J Bourdon V G, which are inhibitors of prostaglandin biosynthesis Lecomte, J. Pro-inflammatory flavonoids. *Prostaglandins Med Leukot*; 19:11-24 1985

【非特許文献 6 4】Hollman PC, Katan MB. Absorption of dietary flavonoids man, metabolism and health effects. *Biomed Pharmacother* 51: 305-10 1997

【非特許文献 6 5】Hollman PC, Katan MB. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food Chem Toxicol* 37: 937-42. 1999

【非特許文献 6 6】Hegarty VM, May HM, Khaw KT. Tea drinking and bone mineral density in older women. *Am J Clin Nutr* 71: 1003-7 2000

【非特許文献 6 7】Hollman PC JM Van Trijp Buys financing MN, et al. Antioxidant flavonoid quercetin from various foods in humans relative bioavailability. *FEBS Lett* 18: 152-6. 1997

【非特許文献 6 8】Hollman PC, Gaag M, Mengelers MJ, van Trijp JM, de Vries JH, Katan MB. Absorption and distribution kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Radic Biol Med* 21: 703-7. 1996

【非特許文献 6 9】Hollman PC, van Trijp JM, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB. Adam dietary antioxidant flavonoids quercetin bioavailability. . *Cancer Lett*, 114: 139-40. 1997

【非特許文献 7 0】Manach C Morand C Demign C from Texier O Regerat K, rutin and Quercetin Remesy C bioavailability in rats. *FEBS Lett* 409: 12-6. 1997

【非特許文献 7 1】Hollman PC JM Van Trijp Buys financing MN, et al. Antioxidant flavonoid quercetin from various foods in humans relative bioavailability. *FEBS Lett* 418: 152-6, 1997

【非特許文献 7 2】Young JF Nielsen, SA is Haraldsdot J et al. Urinary excretion of quercetin and antioxidative status of the effect of fruit juice intake on biomarkers. *Am J Clin Nutr* 69: 87-94. 1999

【非特許文献 7 3】Moroney MA, Alcaraz MJ, Forder RA, Carey F Hoult JR. An anti-inflammatory and related flavonoid aglycone glycoside flavonoids neutrophil 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitory selectivity. *J. Pharm Pharmacol* 40: 787-92..1988

【非特許文献 7 4】Formica JV, quercetin and related bioflavonoids Regelson W. Review of the biology. *Food Chem Toxicol*, 33: 1061 -1080 1995

【非特許文献 7 5】Skibol CF, Smith MT. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic Biol Med*; 29: 375-83. 2000

【非特許文献 7 6】A Modern Herbal .Pengu. Penguin ISBN 0- 14-046-440-9 1984

【非特許文献 7 7】Mabey. R. Free Food. Collins 1974 ISBN 0-00-219060-5

【非特許文献 7 8】Okushi K, Matsumoto N, Nanjo K Kohrin T Suzuki M, Hara Y. Absorption of tea catechins into rat portal vein. *Biol Pharm Bull*; 19: 326-9 1996

10

20

30

40

50

【非特許文献 7 9】Plakas SM, Lee TC, Wolke RE. Rainbow trout (*Salmo gairdneri*), the flavonol, quercetin fed absence of overt toxicity. *Food Chem Toxicol*, 23: 1077-1080 1985

【非特許文献 8 0】Ertrurk E Hatcher JF weevil AM. Carcinogenesis and bracken fern Proc quercetin.fed; 43: 2344 (Abstr). 1984

【非特許文献 8 1】B. Starvic food mutagenic flavonoids. *Fed Proc*; 43: 2344 (Abstr). 1984

【非特許文献 8 2】Hertog MG, Hollman PC, Katan MB, potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands Kromhout D. *Intake. Nutr Cancer* 20: 21 -9 1993

【非特許文献 8 3】MG Hertog Aravanis Kromhout D C, et al. Flavonoid intake and coronary heart disease in seven countries study and long-term risk of cancer. *Arch Intern Med* 155: 381 -6 1995

【非特許文献 8 4】Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J Mol Med* 1996; 74: 297-312. (Published erratum appears in *J Mol Med*; 75: 67-8). 1997

【非特許文献 8 5】Pryor, WA. Cigarette smoke radicals and chemical carcinogens role of free radicals. *Environmental Health Perspect* 1997; 105 (Suppl): 875-82. 1997

【非特許文献 8 6】P Deneo Boffet Stefani ED-Pellegrini, H., et al. Dietary antioxidants and lung cancer risk: a case-control study in Uruguay. *Nutr Cancer* 1999; 34: 100- 10 1999

【非特許文献 8 7】Wang HK, Xia Yin Yang ZY, Natschi SL, Lee KH. Flavonoids and antitumor, the discovery of analogues as anti-FflV agents and recent advances for improvement. *Adv Exp Med Biol*; 439: 191 -225. 1998

【非特許文献 8 8】Kaul TN, Middleton E Jr, Ogre PL. The antiviral effect of flavonoids on human viruses. *J Med Virol*, 15:71-9. 1985

【非特許文献 8 9】Bae EA, Han MJ, Lee M, Kim DH. Rotavirus infectivity in vitro inhibitory effect of some flavonoids. *Biol Pharm Bull*; 23: 1 122-4. 2000

【非特許文献 9 0】Ng TB, Huang B, Fong WP, Yeung HW. HIV reverse transcriptase inhibitors with special emphasis on the immune anti-human immunodeficiency virus (anti-HTV) natural products. *Life Sci*, 61: 933-49 1997

【非特許文献 9 1】Vlietinck AJ, De Bruyne T, Apers S, Pieters LA. Plant-derived human immunodeficiency virus (HIV) infection of the lead compound for chemotherapy. *Planta Med* 64: 97- 109.

【非特許文献 9 2】Hoult JR, Moroney MA, lipoxygenase and cyclooxygenase Paya M. Actions of flavonoids and coumarins. *Methods Enzymo*, 234: 443-54.

【非特許文献 9 3】Tordera Ferrandiz ML Alcaraz MJ ME. Rat neutrophils degranulation and anti-inflammatory effects of flavonoids on the release of arachidonic acid. *Z. Naturforsch [C]*; 49: 235-40. 1994

【非特許文献 9 4】Knektar P Jarvinen R Seppanen R, et al. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant. *Am J Epidemiol* 146: 223-30 1997

【非特許文献 9 5】Oikawa T Shimamura M, Ashino, H, et al. Staurosporine, angiogenesis inhibition is a powerful inhibitor of protein kinase. *J Antibiot (Tokyo)* 45: 1155-1160. 1992

【非特許文献 9 6】Pepper MS Fotsis T Aktas E, et al. Flavonoids, cell proliferation and in vitro angiogenesis inhibitors are derived from the diet. *Cancer Res* 57: 2916-21. 1997

【非特許文献 9 7】Fan TP, Jaggar R check Bicknell R vasculature: angiogenesis, anti-angiogenesis and vascular targeting of gene therapy. *Trends Pharmacol Sci* 16

10

20

30

40

50

: 57-66. 1995

【非特許文献 9 8】Pepper MS Fotsis T Aktas E, et al. Flavonoids, cell proliferation and in vitro angiogenesis inhibitors are derived from the diet. *Cancer Res*; 57: 2916-21 1997 Kagit DH. Natural products as angiogenesis inhibitors. *Planta Med* 64: 686-95. 1998

【非特許文献 9 9】Paper DH. Natural products as angiogenesis inhibitors. *Planta Med* 64: 686-95. 1998

【非特許文献 1 0 0】in the RJ .Gryglews Korbut R Robak J antithrombotic mechanism of flavonoids on Swies, J.. *Biochem Pharmacol*; 36: 317-22. 1987

【非特許文献 1 0 1】Alcaraz MJ, Ferrandiz ML. Replacement of arachidonic metabolism by flavonoids. *J Ethnopharmacol*, 21:209-29 1987 10

【非特許文献 1 0 2】Tzerig SH, Ko WC, Ko FN, Teng CM. Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. *Thromb Res*; 64: 91-100. 1991

【非特許文献 1 0 3】Landolfi R, Mower RL, platelet function, and eicosanoids are by Steiner M. Modification of bioflavonoids. Structure-activity relationships. *Biochem Pharmacol*; 33: 1525-1530 1984

【非特許文献 1 0 4】Van Wauwe cyclooxygenase and lipooxygenase activity in human platelets J pristine antioxidants Goossens, J. Effects: comparison with indomethacin and EDY to. *Prostaglandins*, 26: 725-30. 1983

【非特許文献 1 0 5】JM ORGOGOZO Dartigues JF Lafont S, et al. wine consumption, and dementia: a prospective community study in the Bordeaux region. , 153: 185 1983 20

【非特許文献 1 0 6】Commenges D Scotet V Renaud S, Jacq of-Gadda H, Barberger is Dartigues JF-Gateau PE. Flavonoid intake and risk of dementia. *Eur J Epidemiol*, 16: 357-63. 2000

【非特許文献 1 0 7】Arai Y, Watanabe S, kimire M, Shimoda K, Mochizuki R, Japanese women and quercetin intake and plasma flavones by the inverse correlation between the concentration of LDL cholesterol, flavones and isoflavones Kinan N. *Dietary intakes. J Nutr* 130: 2243 to 50.109, 2000

【非特許文献 1 0 8】Lek. 46 (12): 856-60 [Experimental study of possible hypolipemic effect of resveratrol found in red wine and flavonoids in terms of]. Kollar P 1, Kotolova H, J Necas, P. Karpisek M Bartosikova L Karesova, 2000 30

【非特許文献 1 0 9】Young JF Nielsen, SA is Haraldsdot J et al. Urinary excretion of quercetin and antioxidative status of the effect of fruit juice intake on biomarkers. *Am J Clin Nutr* 69: 87-94. 1999

【非特許文献 1 1 0】Lou FQ, Zhang MF, XG Liu Zhang JM, Yuan WL. A study on the prevention of atherosclerosis tea pigments. *Chin Med J (Engl)*; 102: 579-83 1989

【非特許文献 1 1 1】Mr. Osman, Maalej N, Shanmuganayaga D Folts JD. Grape juice but not orange or grapefruit juice inhibits platelet activity in dogs and monkeys. *J Nutr*, 128: 2307-12, 1998 40

【非特許文献 1 1 2】Clinical Nutrition flavonoids 2001 by American Society of action and potential applications 1, 2, 3 possible mechanisms Robert J Nijveldt, Els van Nood, Danny AK van Hoorn, Petra G Boelens, classy van Norra and Paul AM van Leeuwen a comment

【非特許文献 1 1 3】Baker, John R., biological Microtechnology, Methuen, London, England Policy. 1958

【非特許文献 1 1 4】Bosma, without toxic chemicals useful Robin hematoxylin. *Histologically*, 18 V, No. 1, January 1988

【非特許文献 1 1 5】from Flow, D., Harris hematoxylin histological, V.21, No.2 oxidant new 1991 50

【非特許文献 1 1 6】Horob RW and Kiernan JA, Connor Biological Dyes, 10th ed. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK, 2002

【非特許文献 1 1 7】Bohm, A. & Opel, A., Manuel de technical microscopiqu Ed. 4 1907

【非特許文献 1 1 8】Molnar, LN, Mayer's hematoxylin-eosin method modification. Histologically, there are 6, Number 4, October, 1976

【非特許文献 1 1 9】Lange, NA, Handbook of Chemistry, Lange, Revised 10th ed., McGraw-Hill.

【非特許文献 1 2 0】Clarke, G. and Dodds, HM, Lugol's hematoxylin .Sta Technology, v 58, No. 4, p. 232 1983

【非特許文献 1 2 1】McNulty, JM, Kambo is, MJ and Smith, AA, Barrett's esophagus diagnosis of an improved zirconyl hematoxylin use of paint. J. Cell. Mol. Med., A. 8, No. 3, p. 382. 2004

【非特許文献 1 2 2】Lillie, RD Histopathologic techniques and practical histotechnology Ed.2 Blakiston, New York, USA, (1954)

【非特許文献 1 2 3】(Bryan is done by Llewellyn source for histotechnologists) online (<http://stainsfile.info>)

【非特許文献 1 2 4】Pusey modified Mayer's hematoxylin, Journal Histologically, v.2 A, No.2, p.54, Cute Garvey, Mayer hematoxylin stain Modification, histological Journal, v.14, No.3, p.163, 1979

【非特許文献 1 2 5】Roach, JB and Allen, A. Bismuth hematoxylin arginine residues. Biotechnical & Histochemistry, V.72, N° 1, p. 49, 1997

【非特許文献 1 2 6】Smith, AE, a vanadate hematoxylin for basic proteins. Biotechnical and Histochemistry, c. 70, n° 5, p.5. 1995

【非特許文献 1 2 7】Smith, A. acidic mucin, zirconyl hematoxylin staining. Histochemistry, and cytochemistry, v. 47, pp Magazine. 1645, 1999

【非特許文献 1 2 8】Cotter, Journal of Pathology and Bacteriology histological purposes, v. 16, p increased SG about double staining 390-398.1912

【非特許文献 1 2 9】Bancroft, JD and Stevens A. Theory and practice of histological techniques, Ed. 2 Churchill Livingstone, Edinburgh and London, England. 1982

【非特許文献 1 3 0】Hine, Ian F Block with hematoxylin and eosin staining of mammalian tissues. Stain Technology, v 56, p 1 19 1981

【非特許文献 1 3 1】Bolles Lee, a.. Gatenby, JB and Beams, HW Microtomet Edited by the maturity-Mecum. 11 th ed., Churchill, London, UK, 1950

【非特許文献 1 3 2】Horob RW and Kiernan JA, Connor Biological Dyes, 10th ed. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK 2002

【非特許文献 1 3 3】F. A. Putt Histopathological Staining Methods John Wiley & Sons, New York, NY FA Manual, USA. Tissue sections

【非特許文献 1 3 4】Harris hematoxylin modification with a double nitrocellulose and paraffin embedded. Histologically, there are 5, No. 1, January, 1975

【非特許文献 1 3 5】Culling CFA, histopathological techniques, 2nd ed CFA Handbook. Butterworths, London, 1963

【非特許文献 1 3 6】Demonstration techniques .Histolojik Cook, H C. Butterworths, London, England, 1974

【非特許文献 1 3 7】Drury, R.A.B. and Wallington, EA Carleton's histological technique, Ed. 5 Oxford University Press, Oxford, 1980

【非特許文献 1 3 8】Mallory, FB & Wright, JH Pathological technique, Ed.3 WB Saunders, Philadelphia, USA. 1904

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

10

20

30

40

50

【0026】

診断、教育及び研究目的のための組織病理学及び細胞学において、固定され及び生存する組織及び細胞サンプルを染色して顕微鏡検査及び評価を行い、特異的な病理学的特徴を特定して、組織及び細胞における診断特徴を決定する。まず、顕微鏡的評価のために組織又は細胞サンプルのスライドガラスを置く。パパベル ロエアス (Papaver rhoeas) 処方では染色する前のこれらのサンプルは、無色、半透明又は透明である。新しい処方では組織層に積極的に浸透し、細胞膜に達し、その後、核に達する。内容物の処方によって提供される染料は着色方法であり、適切な顕微鏡評価が提供され、構造について必要な情報間の関係を示す特徴を理解するために、再度、組織及び細胞における構造を区別するために適切で必要な着色を確実にしなければならない。

10

【課題を解決するための手段】

【0027】

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】組織及び細胞染色分析法のためのパパベル ロエアス処方である。

【図2】パパベル ロエアス処方の調製フェーズである。

【図3】パパベル ロエアスの前駆体の調製技術である。

【図4】パパベル ロエアスのバイオフィラボノイドのシスートランス化学構造である。

【図5】分子の名称及び生化学的構造である。

【図6】パパベル ロエアス処方染色パターンである。

20

【図7】パパベル ロエアス処方染色法の段階である。

【図8】染色の種類及び相違である。

【図9】染色パターンに基づくパパベル ロエアス細胞及び組織染料の種類である。

【図10】パパベル ロエアス処方調製物の例である。

【図11】パパベル ロエアス処方が肺組織における細胞核を特異的に強調することを示す図である。

【図12】パパベル ロエアス処方が肺組織における細胞核を特異的に強調することを示す図である。

【図13】エオシンを伴うパパベル ロエアス処方が肺組織における核及び組織の詳細を明らかにすることを示す図である。

30

【図14】エオシンを伴うパパベル ロエアス処方が肺組織における核及び組織の詳細を明らかにすることを示す図である。

【図15】パパベル ロエアス処方が真菌の構造的詳細を染色することを示す図である。

【図16】パパベル ロエアス花卉内の比例らせん管状構造を示す図である。

【図17】原子間力顕微鏡法によるパパベル ロエアス花卉内の槽内構造である図である。

【図18】パパベル ロエアス分子のNMR分析である図である。

【発明を実施するための形態】

【0029】

用語及び定義

40

I. 本発明は、生物学的サンプル中の細胞の核の染料に関し、新規細胞組織色素を記載する (パパベル ロエアス細胞組織染色 (Papaver rhoeas Cell Texture Paint))。この染色は、新規反応性バイオフィラボノイドを含むことが見出された。

【0030】

II. 実施のために本発明をよりよく記載し、都合よく説明するために、用語を使用する。

【0031】

III. 新しい特定の専門用語がある場合、その新しい用語の特性を説明し、詳細を説明することで記載する。

50

【0032】

I V. 定義は単数形又は複数形で表す。値は例示した値に限定されない。

【0033】

V. 「誘導体」は、1、2、3を有する分子の数の点で対応し、この数は4以下まで減少させ得るか、又は特定の実施形態まで増加させ得る。

【0034】

V I. 「相乗的分子」は1、2、3を有する分子の数を意味し、この数は4以上まで、又は本発明の目的に特異的なものについて増加させることができる。

【0035】

V I I. 典型的には、染色プロトコルにおいてリンス溶媒として水道水が非常に経済的に使用される。実際、本明細書中で使用する場合、「水」という語には、例えば、蒸留水又は脱イオン水等の適用が含まれ、特定された水道水と同様に使用される。

10

【0036】

V I I I. 「生物学的サンプル」は原核生物起源、古細菌又は真核性起源（例えば、昆虫、原生動物、鳥類、魚類、爬虫類）である。あるいは哺乳類（例えば、ラット、マウス、ウシ、イヌ、ロバ、モルモットもしくはウサギ）又は霊長類（例えば、チンパンジーもしくはヒト）があり得る。生体内又は生体外生物学的組織又は液体から得ることができる。そのようなサンプル、体液（例えば、血液、血漿、血清もしくは尿）、例えば、細胞、細胞オルガネラ、単離された器官、生物学的標本。組織及び断片はその全部又は一部を含み得るが。生物学的サンプルはまた、生物学的サンプルの一部から抽出される。生物学的サンプルタンパク質は炭水化物及び核酸を含み得る。

20

【0037】

I X. 本発明で細胞学的に評価される生物サンプル、組織及び体液はサンプリングに限定されない。体腔洗浄液、眼洗浄液、皮膚バリヤ、頬の唾液腺、血液および腺、骨髓、尿、preejakulat乳頭吸引、精液、乳、痰、粘液、胸水、骨盤液（pelvic fluid）、滑液、腹水、パップスメア、直腸綿棒、吸引、針生検、手術または剖検液、組織標本、血漿、血清、髄液、リンパ液、汗、涙、痰、唾液、腫瘍、液体、器官および生体外細胞系および組織培養物。生物学的細胞および組織サンプルをパラフィン中に包埋する等により固定した後、染色過程で使用することができる。この調製物を調査するためにドキュメントガラス（document glass）上に置く。サンプルは、真

30

【0038】

X. 色素溶液は、水又は化学的溶媒等の液体を用いて、溶媒中、室温にて保管する。水（およそ50体積%以上）は液体又は1つ以上の低級アルカノール及び水を含むポリオールを含む。修飾に応じて異なる。使用する溶媒としては、エタノール、蒸留水、メタノール、流水、エチレングリコール、プロピレングリコール、メタノール及びホルムアルデヒドを挙げることができる。

【0039】

X I. 高い酸化物を有する分子の抗酸化能力の用語を記載し、その分子は、他の分子の酸化を防止する同じ環境中にある。

40

【0040】

X I I. 低級アルカノール分子；OH基、アルキル基（メチル基、エチル基、n-含有は1～5個の炭素原子を有するアルキル基である）-プロピル基、（イソプロピル基、n-ブチル基、ブチル基、t-ブチル基、n-基、イソペンチル基、ネオペンチル基、またはペンチル）、及び低級（アルカノールはメタノール、エタノール及びイソプロパノールである）を加えてもよい。

【0041】

X I I I. 第2酸化剤（secondary oxidant）分子の用語は、他の分子よりも強力な還元電位を有するものを指す。異なる化学酸化剤を異なる処方に使用する

50

ことができる。ヨウ素塩及びヨウ素酸カリウム、ヨウ素酸ナトリウム、酸化亜鉛、過マンガン酸塩又は過マンガン酸カリウム、過ヨウ素酸ナトリウム、過ヨウ素酸カリウム塩及び過酸化物、過酸化水素、過ヨウ素酸塩、次亜塩素酸カルシウム、クロラミット (kloramit)、さらし粉 (lime chloride)、ヨウ素酸ナトリウム、酸化亜鉛、ヨウ素、次亜塩素酸ナトリウム、酸化例塩酸塩 (oxide example hydrochloride)、及び水酸化バリウム。

【0042】

XIV. 媒染剤は、金属である色素分子のカチオン性錯体と結合することができる。新規分子は細胞内のDNA、ミエリン、エラスチン及び筋肉縞のコラーゲン繊維を検出することができる、ミトコンドリアは分子の相乗効果にも関連している。媒染剤の例としては、以下のものを挙げることができる：硫酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム、硫酸アルミニウムアンモニウム、塩化アルミニウム、鉄、タングステン、ジルコニウム、ビスマス、モリブデンホスホモリビン酸 (fosfomolibic acid) 又はモリブデン酸、バナジウム (バナデート) アルミニウム又はアンモニウムミョウバン、硫酸アルミニウム、カリウムミョウバン、酢酸アルミニウム、塩化カルシウム、硝酸アルミニウム、鉄、硫酸アンモニウム、硫酸第一鉄、フェロシアン化カリウム、フェリシアン化カリウム、塩化第二鉄、酢酸銅、鉄ミョウバン、アルミニウム、硝酸ビスマス、モリブデン酸及びホスホモリブデン酸。媒染剤の異なる金属は、異なる色のフラクションを生成する。例えば；アルミニウム；紫－青、鉄；青－黒、クロム；青－黒、銅；青－緑、ニッケル；紫、スズ；赤、鉛；暗褐色；オスミウム；緑褐色。

【0043】

XV. 染料処方混合物は、生物学的サンプルの細胞に酸を添加することによって調製され、核染色特異性を増加させる。この目的のために、酢酸、サリチル酸、クエン酸、塩酸、硫酸、飽和エタノール性ギ酸、及びアスコルビン酸を使用することができる。

【0044】

XVI. 抗酸化剤という語は、安定化の意味で使用され、色素酸化の最適期間を保つのに役立ち、貯蔵寿命を延長する。安定剤としてグリセロール、抱水クロール、ジエチレングリコール、ヨウ化カリウム、エチルグリコールが求められる。

【0045】

XVII. 「分子」は有機分子であり、様々な結合点により他の分子と連結することができる、複雑な構造を形成することができる。新規組成物及び分子構造は、特に、色素複合組成物の分子を用いて多様に作製することができる。これらの分子に結合した異なる分子構造及び合成された構造並びに異なる特性は、示している誘導体を形成することができる。これらの多糖類数例は意味する。アミロース及びシクロデキストリン及び多くのアルドース環、単糖類、グルコース、フルクトース、及びガラクトース、二糖類 (スクロース)、他の結合分子は更にクリプトエーテル (crypts ether)、例えばマルトース及びラクトース、デンドリマー、ナノチューブ、カリサネレ (kalisanere)、バリノミク (valinomyk) 及びニゲリシンが考えられる。

【0046】

XVIII. 発明を開示する明細書全体及びクレーム全体にわたって、用語は特定の言語表現で使用される。「約」という語は、特定された値が、この語によって修飾される正確な値に限定されないことを意味する。特に記載しない限り、そのような本明細書中で用いられる分子量、反応条件及び成分等、例えばクレーム中の特徴の量を表す全ての数等、各々の場合でこの語によって修飾されると理解されるべきである。従って、特に別段の記載がない限り、少なくとも所望の特性によって特定される数値パラメータの有効桁数及びその数値パラメータが記載される以下の説明で詳述する。

【0047】

XIX. 「アルキル」という語は、分枝、直鎖アルキル基 (例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル等) を意味し、飽和脂肪族基を指す。鎖状アルキル基 (イソプロピル、tert-ブチル、イソブ

チル等)。直鎖又は6以下の炭素原子のアーム(例えば、C3～C6分枝鎖についてはC1～C6、直鎖)に対する分枝鎖アルキル骨格中、脊髄(例えば、C3～C4分枝鎖については、C1～C4直鎖または4個以下の炭素原子)。「C1～C6」アルキルとは、1～6個の炭素原子を含むアルキル基を指す。本明細書中で使用する場合、「C1～C4」アルキルという語は、1～4個の炭素原子を含むアルキル基を意味する。更に、アルキルという語は、「非置換アルキル」及び置換された炭化水素骨格の後半の「置換アルキル」のどちらも意味し、1又は複数の炭素上の水素を置換する置換基を有するアルキルを意味する。そのような置換基としては、例えば、(C1～C4)アルキル、(C1～C4)アルコキシ、アミノ、(C1～C4)アルキルアミノ、(C1～C4)ジアルキルアミノ)、シクロアルキル、アリール(例えば、フェニル、ナフチル)、ヒドロキシル、シアノ、ハロゲン、又はニトロが挙げられる。上述したように、アリールアルキル及びシクロアルキル置換基も示される。

10

【0048】

XX. 「アルコキシ」という語は、置換及び非置換アルキル、アルケニル及びアルキニル基に共有結合した酸素原子を指す。アルコキシ基の例としては、メトキシ、エトキシ、イソプロポキシ、プロポキシ、ブトキシ、ペントキシが挙げられるが、これらに限定されるものではない。いくつかの実施形態では、4以下の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルコキシ、分岐骨格(例えば、C1～C4直鎖、C3～C4分枝鎖)を有する。本明細書中で使用する場合、「C1～C4」アルキルは、1～4個の炭素原子を含むアルキル基を指す。

20

【0049】

XXI. 本明細書中で使用する場合、「アミン」または「アミノ」は、少なくとも1個の炭素又は窒素原子がヘテロ原子と共有結合している構造を意味する。アルキル基は4又はそれ以下の炭素原子の骨格(例えば、C1～C4直鎖、C3～C4分枝鎖)中にあり得、(C1～C4)アルキルアミノ窒素は、アルキル基に結合した少なくとも1個の更なるC1～C4であり、その基及び化合物を意味する。「(C1～C4)アルキルアミノ」において、窒素が少なくとも2つの更なるC1～C4アルキル基に結合し、基及び化合物を指す。

【0050】

XXII. 「アリール」という語には、例えば、ベンゼン、フェニル、ピロール、フラン、チオフェン、チアゾール、0～4個のヘテロ原子を含む基が含まれ、例えば、5及び6員単環芳香族基、イソチアゾール、イミダゾール、トリアゾール、テトラゾール、ピラゾール、オキサゾール、イソオキサゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジン及びピリミジン等を指す。加えて、「アリール」は、三環式、二環式等の多環式アリール基、例えば、ナフタレン、ベンズオキサゾール、ベンゾビスオキサゾール、ベンゾチアゾール、ベンズイミダゾール、ベンゾチオフェン、メチレンジオキシフェニル、キノリン、イソキノリンを指し、そのような基には更に、インドール、ベンゾフラン、プリン、ベンゾフランも含まれ、デアザプリン構造またはインドリジン中のヘテロ原子も含まれる。これらのアリール基、「アリール複素環式」、「ヘテロアリール」または「ヘテロ芳香族」は以下のように表すこともできる。「上述の芳香環、例えば1マタハ複数の環の位置で見られるもの、(C1～C4)アルキル、(C1～C4)アルコキシ、((C1～C4)アルキルアミノおよびジアルキルアミノを含む(C1～C4))アミノ、ヒドロキシ、シアノ、ハロゲン、またはニトロなどの置換基。アリール基は、多環(例えば、テトラリン)と縮合させることもでき、充分な非芳香族脂環式を創出する。ヘテロアリール(heteroaril)には、例えばラザルス(Lazarus)複素環が含まれ、オキシラン、ジチエト(dithietto)、ピロリン、ピロール、フラン、ジヒドロフラン、ジヒドロチオフェン、チオフェン、ピラゾール、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、イソチアゾール、1,2,2,3-トリアゾールが含まれ、1,2,4には、不飽和環状化合物、トリアゾール、ジチアゾール、テトラゾール、ピリジン、ピラン、ピリミジン、ピラン、チアピルバルブ(thiapyrvalve)、ジアジン、チアジン、ジオキシン、トリ

30

40

50

アジン及びテトラセンが含まれる。

【0051】

XXIII. 「抗体」という語は、特定の空間及び極性に特異的に結合し、従って更に、有機体に対して相補的と定義される免疫グロブリン分子を指す。抗体はモノクローナル又はポリクローナルであり得、分泌されたタンパク質の集団の連続したハイブリッド細胞（モノクローナル）又は宿主血清の集団によって形成される（ポリクローナル）のいずれかが得られる。抗体は完全免疫グロブリンであるか、またはその断片、例えばIgA、IgD、IgE、IgG1、IgG2a、IgG2b及びIgG3、IgM、クラス及びアイソタイプ、機能的抗体断片を含んでもよく、類似した親和性で全長に対する結合を保持できる部分（例えば、Fab、Fv及びF(ab')₂、又はFab'）を含んでもよい。

10

【0052】

XXIV. バインダーという語は、生物学的サンプル中の1又は複数の標的を結合することができる分子を指す。バインダーは、目的に対して独自の方法で連結させることができる。好適なバインダーとしては、天然又は修飾ペプチド、タンパク質（例えば、抗体であり、それらはアフィボ（afibio）又はアプタマー）、核酸（例えば、ポリヌクレオチド、DNA、RNA、又はアプタマー）が挙げられる。多糖類（例えば、レクチン、糖）、脂質、酵素、酵素基質若しくは阻害剤、リガンド、受容体、抗原、又はハプテン。分析されるサンプルの好適なバインダーは、本発明の標的に応じて選択し決定することができる。

20

【0053】

XXV. 分析されるサンプルの好適なバインダーは、本発明の標的に応じて選択し決定することができる。例えば、標的はサンプル中のリガンドを含んでもよく、バインダーは受容体を含んでもよい、あるいは標的は受容体を含んでもよく、バインダーはリガンドを含んでもよい。同様に、標的は、抗原及び抗体若しくはその結合フラグメントを含んでもよく、又はその逆であってもよく、あるいは抗体を含んでもよい。いくつかの実施形態では、標的は核酸を含んでもよく、バインダーは相補性核酸を含んでもよい。いくつかの実施形態では、標的及びバインダーはどちらも互いに結合することができるタンパク質を含んでもよい。

【0054】

30

XXVI. 新しい官能基及び分子オープン生成物に関するいかなる変化も本発明を限定するものではなく、本発明の可能性と考えられる。

【0055】

発明の詳細

パパベル ロエアス抽出物から得られる新規細胞核染料を本発明で記載する。この新規組織学塗料は非常に活性且つ機能的なバイオフィラボノイドを含む。パパベル ロエアス処方、組織病理学、細胞学及び微生物学において適用される特有のパターンの生物学的特性を示す新規核染料として、細胞及び組織サンプルの特性を示す（図11、12）。

【0056】

細胞核の特徴は、病理学者によって診断、特に悪性又は転移性細胞の検出のために評価されるが、通常の知見、特に術後外科手術標本及び生検、細針生検、塗抹標本、洗浄液中、又は侵襲的若しくは非侵襲的方法のサンプルでの病理学的知見を助けるための診断からの分離を用いて、剖検調製物を検査する。

40

【0057】

パパベル ロエアスは自然界で自発的に生育し、組織細胞核処方を産生するために染料を維持するために容易に生産可能である。染料処方は、細胞核の核を目立たせるための分子から構成される。該分子は分析され、提示し、説明する他の基礎研究に進められた。

【0058】

媒染剤（金属）を組み入れて充分且つ安定な染色を提供し、酸を添加する。パパベル ロエアス（Papaver rhoeas）処方は、明確な細胞形態及び簡単な方法で恒

50

久的な染色特性を示した。特に、エオシン染料と組み合わせた場合、Papaver rhoeas 処方は、組織及び細胞、組織層、膜、筋肉組織、核内又は細胞質内構造を染色し、細部まで着色する（図13、14）。

【0059】

色素溶液に関する保存期間が長いと自然に又は化学的に酸化される（113、114）。最適な効率及び量の酸化剤の使用によって、過酸化からの生成物の形成が防止される（115、116）。

【0060】

色素濃度の変動は染色の安定性を損なう（117）。この時間は染料の適用によって置換しなければならない、修正しなければならない。染料の強度は視覚的に評価する。訓練された専門家が染色を評価し、望ましい染色品質に達するまで染色強度を調節する。

10

【0061】

フラボノイドは一般に2つの芳香環を含む。これらの環の各々は少なくとも1つのヒドロキシル基及び3個の炭素橋を有する6-複素環のデザインを形成する。フラボノイドサブグループは、特性又は官能基及びヘテロ環の構造及び結合フラクションの酸化状態に応じて、結合した芳香環に対するヘテロ環により形成される。

【0062】

天然または修飾ペプチド、タンパク質（例えば、抗体、又はアプタマー）、核酸（例えば、ポリヌクレオチド、DNA、RNA、又はアプタマー）、多糖類（例えば、レクチン、糖）、脂質、酵素、酵素基質マタハ阻害剤、リガンド、受容体、抗原又はハプテンである異なる基および原子に結合するためにバインダーを使用するこの分子。同様に、結合した標的基は、抗原及び抗体又は抗体フラグメントであり得る。この処方中のパパベル ロアエスは核酸を標的とする。

20

【0063】

パパベル ロアエスは、顕微鏡による、分子及び原子間力顕微鏡検査法に関連し、調節された（図1）。ろ過した抽出物の分子分析のために、溶液を熱エタノール中、半量でインキュベートすることによって乾燥する。乾燥サンプルを3回摩砕し、次いでメタノール浴中に1時間曝した。再度、液体フラクションを一晩30～60℃のインキュベータ中で蒸発させ、乾燥させる。1gの結果として得られる粉末を100ccのエタノール中に溶解させ、ファイバプレート上に吸着させる。ピンク色プレートと1%アンモニウム溶液は青味がかっていることが、特異的に観察される。この青色の色素を酢酸中に溶解させる。液体フラクションを除去した。そして残存する乾燥粉末を分析のために処理する（図2、3）。

30

【0064】

分子解析はバイオフラボノイドの特徴を示し（図18）、構造的生化学的名称は；5-ヒドロキシ-2-（3-（テトラヒドロ-6-（（テトラヒドロ-3，4，5-トリヒドロキシ-6-メチル-2H-ピラン-2-イルオキシ）メチル）-2H-ピラン-2，3，4，5-テトラオール）-4-メトキシフェニル）-7-メトキシ-4H-クロメン-4-オンである。

【0065】

それは、バイオフラボノイドの特徴的な生化学的構造を有する（図4，5）。

40

【0066】

パパベル ロアエス処方及びエオシン（118）を組み合わせとして使用してもよい。分子及びその誘導体相乗的バイオフラボノイド及び新しい分子は、組織層、膜、筋肉細胞を染色し、細胞質内及び核内構造物並びにムチン及び神経膠繊維を詳細に示す。

【0067】

染料処方は、媒染剤、溶媒、酸、酸化剤又は酸化剤及び防腐剤を組み入れた処方を利用するように修飾することができる（119）。

【0068】

酸は、概して、溶液のpHを調節するために用いられ、より耐久性のある染料処方を維

50

持することができ、細胞をより選択的に着色し、過剰な酸化物を防止する。従って、酸は沈殿の形成を防止する。自動又は手動染色法を選択することができる。

【0069】

安定化添加剤は超高速酸化を防止し、基本的には最適化によってより長い貯蔵寿命を提供する。この目的のために、アミロース、シクロデキストリン、クリプタンド、クリプトフィシン、カビタンド、クラウンエーテル、カリックスアレーン、バリノマイシン、シクロデキストリン、又はナイジェリアが用いられる。

【0070】

液体溶媒は水中に可溶性であり、抗酸化剤と結合する。例えば、*n*-プロピル、*n*-オクチル及び*n*-ドデシル、*n*-アルキルガレートガレートを還元することができ、例えばソルビトール及びマンニトールは糖である；ベンゾエート及びヒドロキシベンゾエート；亜硫酸塩及びメタ重亜硫酸塩；クエン酸、酒石酸、乳酸、エリソルビン酸、アスコルビン酸、尿酸、タンニン酸、及び塩基性塩（ Mg^{2+} 、 NH_4^+ 、 Na^+ 、 K^+ 及び Ca^{2+} 塩）；EDTA及び抱水クロールが添加される。

【0071】

1又は複数の溶媒をパパベル ロアエス処方のために使用することができる。水、エタノール等の低級アルカノール、ポリオールが含まれていてもよい。ポリオールの例としては、グリセロール、エチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール及びポリプロピレングリコールが挙げられ、これらを適用することができる。

【0072】

ホルマリンは組織及び細胞サンプルの適切な定着剤である。パラフィン組織カセットを調製のために使用し、サンプルを充填し埋め込み、次いで凍らせる。固定された組織をパラフィンと共にミクロトームカッタで薄い切片に切断し、顕微鏡スライドガラス上に置く。次いで、調製物をオープン中に入れて、過剰のパラフィンを溶融させ、残存するワックス上に溶かす。キシレン及びトルエンで脱ろうして、スライドを完全に定着させなければならない。

【0073】

凍結組織サンプルを染色過程の切片とすることができる。短期間凍結組織切片を10%ホルマリン中で保持する。染色法、タイミング及びシーケンシングは処方法及び他の条件に応じて変わり得る。エオシンY、オレンジIG、ライトグリーンSFイエローイッシュビスマルクブラウン、ファストグリーンFCF、O-6、EA25、EA36、EA50、及びEA65に対する対抗細胞質染色も用いることができる（122）。

【0074】

染料処方には以下の色素処方で修飾することができる：Anderson、Baker、Bennett、Bohmer、Bosma、Bullard、Carazz、Coca Cola、de Groot、Debi、Delafield、Duval、Ehrlich、Friedlander、Gadsdo、Gage、Galigh、Garvey、Gills、Graham、Mitchell、Mayer、Masson、Martinotti、Mann、Mallory、McLachlan、Lillie、Lee、Launoy、Langeron、Krutsay、Kleinenberg、Horneyold、Haug、Hamilton、Harris、Harris & Power、Haugen、Molnar、Papamiltiades、Pusey、Rawitz、Reddy、Sass、Schmorl、Sliders、Unna、Watson、Weigert、Wright；鉄媒染ヘマトキシリン、Anderson、Cretin、Faure、Goldman、Hansen、Heidenhain、Janssen、Kefalas、Krajina、Manna、Lillie、Lillie、Earle、Masson、More & Bassal、Murray、Paquin and Goddard、Rozas、Seidel、Thomas、WeigertおよびYasvoyn；ピスマス媒染ヘマトキシリン、Roach & Smith；銅媒染ヘマトキシリン、Bensley、Cook及びFaure；モリブデン媒染ヘマトキシリン

ン、H e l d ; バナジウム媒染ヘマトキシリン、H e d e n h a m、S m i t h ; ジルコニウム媒染ヘマトキシリン、M c N u l t y & S m i t h (1 2 3) を考慮することができる。

【0075】

他の染料、例えば、アクリジン色素、アントラキノン色素、アリールメタン色素、アゾ色素、ジアゾニウム色素を組み合わせることができ、ニトロ色素等の色素（特に、芳香族の使用法）は、フタロシアニン色素、キニンイミン色素、テトラゾリウム色素、色素およびチアゾール色素、キサントテンを組み合わせることができる。組織学的染色のためのトランスレーションペイントサンプル、酢酸、イエローアシッド、1ブラックアシッド、22ブルー93、アシッドフクシン、アシッドグリーン、アシッド、アシッド、1グリーン5、アシッドレッド、オレンジアシッド10、アシッドレッド4、アシッドレッド26、アシッド、アシッド、アシッドレッド29、アシッドレッド44、アシッドレッド51、アシッドレッド66、アシッドレッド73、アシッドレッド87、アシッドレッド91、アシッドレッド92、アシッドレッド94、101レッド103、アシッドロセアジアシッドルビン、アシッドバイオレット19、アシッド、アシッド、1イエローアシッド、9イエローアシッド、23イエローアシッド、24イエローアシッド、36イエローイエロー73、アシッドイエローS、アシッドイエローT、アクリジン、アクリフラビン、アルシアンブルー、アルシアンイエロー、アルコール・ソリュブル・エオシン、アリザリン、アリザリンブルー、アリザリンブルー2RC、アリザリンカーマイン、アリザリンシアニンBBSアリザロールシアニンR、アリザリンレッドS、アリザリンプルプリン、アルミナ、アミドブラック10B、レッドアミドナフトール、アミドシュワルツ、アニリンブルーWS、モーブ、アントラセンGアゾエオールブルーSWR、アントラセンブルーSWX、オーラミン0、アゾエオシン、アゾカルムB、アゾカルムG、アゾイックジアゾ5、アゾイックジアゾ48、アゾフロックス (a z o p h l o x t o)、アゾブブルー (a z o v b l u e)、ディーブブルー、アズールB、アズールC、ベーシックブルー8、ベーシックファンデーション、9ブルーファンデーション、12ブルーファンデーション、15ブルーファンデーション、17ブルーファンデーション、20ブルーファンデーション、26ブルーブラウンワン、ベーシカリー・ユー・フッシュ、ベーシック、4ベーシック5レッド・ベーシック・レッド2ベーシックグリーン、オレンジ14、ベーシック、5グリーン、ベーシックエッセンシャルズ、9レッド・バイオレット2、ベーシック・バイオレット4、ベーシック・バイオレット10、ベーシック・バイオレット14、ベーシックエッセンシャルズ、1イエローイエロー2、ビーブリックR、ビスマルクブラウンY、ブラジル、ブラジル、シャイニー・クロック、ブリリアント・クリスタル・スカーレット6Rスカーレット・ビーブリック・スカーレット、カルシウム、レッド、カーマイン、カルミン酸カルモイシン6、セレスチンブルーB、チャイナブルー、クロラント・ファスト・レッド5B、レッド、ブルー・コエレスト・ザ・シカゴブルー4B、クロムバイオレットCG、2クロモトロボからクロモクスからシアニンRまで、コンゴ・コリント、コンゴ・レッド、コットン・ブルー・コットン、レッド、クロッカー・オン・レッド・レッド3D、クロッカーのレッド・ムーン、スケッチ、クリスタル・ポンソー6R、クリスタル・レッド、クリスタル・バイオレット、ダヒラ、ダイヤモンド・グリーンB、ダイレクト・ブルー14、ダイレクト・ブルー58、クロッカー・ダイレクト・ダイレクト・レッド28レッドディレクトリ、10レッド、ダイレクト、7イエローディレクトリ、81レッドディレクトリ、80レッド、ブルー4デュラゾール (d u r a z o l)、ブルー8G、イエローイッシュ、エオシノール、エオシンYエオシンエオシンB、ブルーイッシュエオシン、エオシン、デュラゾール、エリーガーネットB、エリオクロからシアニンR、エリスロシンBエチルエオシン、エチルグリーン、エチルバイオレット、エバンスブルー、ファストブルーB、ファストグリーンFCF、ファストレッドB、ファストイエロー、ファスト・イエロー・エクストラ・ファスト・イエローG、オイリーブラックHB、フルオレセイン、フードグリーン3、ガレオン、ガラミン・ブルー・ガロシー、ゲンチャン・バイオレット、イエロー、リサミン・ファスト・イエロー1、INT、ケルメス、ケルメス酸

10

20

30

40

50

、ケメクトロット、ラック、ラッカイン酸、L A U T H ザ・バイオレット、ライトグリーン、トゥ・ルート、1 ブルー・トゥ・ルート、クイックリ・ラブ・ザ B B L、ヘルベシア・ブルー、ホフマン・バイオレット、ヒドラジンイエロー、インペリアル・レッド・ヘリオ・リサミン・グリーン S F、ルクソール・ファスト・ブルー、マゼンタ、0、マゼンタ I I、マゼンタ I I、マゼンタ I I I、マラカイトグリーン、マンチェスタ・ブラウン、マルチウス・イエロー、ライラック、モーブ・トゥ、マープロ・マイ、マーキュロクロム、メタニルイエロー、メチレンブルーメチレンアズール B、メチレンブルー C、メチレンブルー、メチレングリーン、ブルー、メチル、メチルグリーン、メチルバイオレット、メチルバイオレット 2 B、メチルバイオレット 1 0 B、イエロー 3 G ミリング、媒染剤ブルー 3、媒染剤ブルー 1 0、ブルー 1 4 媒染剤、媒染剤ブルー 2 3、ブルー 3 2 媒染剤、媒染剤 4 レッド・ナチュラル媒染剤、4 5 ブルー・パープル、レッド・パープル・トゥ 1 1、3 2 5 レッド・バイオレット、パープル・トゥ・バイオレット 3 9、ナフタレン・ブルー、ブラック、ナフトールブルー、ブラック、ナフトールグリーン B、ナフトール・イエロー S、1 ナチュラル・ブラック、ナチュラル・レッド、ナチュラル・レッド 3、ナチュラル・セニック、2 8 レッド・ナチュラル、2 5 レッド・ナチュラル、2 4 レッド・ナチュラル、1 6 レッド・ナチュラル、8 レッド、イエロー 6、N B T、ナチュラルレッド、ゲット・ニュー・フクシン、ナイアガラ・ブルー 3 B、ブルー・ナイト、ナイル・ブルー、ナイル・ブルー a、ナイル・ブルー・スルフェート、ナイル・レッド、ニトロ B T、ニトロブルーテトラゾリウム、ニュークレア・ファスト・レッド、オイル・レッド O、オレンジ G、オルセイン、パラロスアニリン・パーキン・バイオレット、フロキシシン B、ピクリン酸、ポンソー 2 R、ポンソー 6 R、ポンソー B、ポンソー・デ・キシリジン、ポンソー S、ポンタ・ザ・スカイブルー 5 B、プリムローズ、プリムラ・トゥ、プルプリン、ピロ B、G ピロニン Y、ローダミン B、ロサニル・ザ・ピロ、O R、レッド R イン・レッド、スカーラック (S c h a r l a c h) R、シェラック、シリウスレッド F 3 B、シリウスレッド 4 B サフラニン、ベンガル、サフロンのローズ・シリウス・ブルー・アバブ F 3、ソロクロ・トゥ・シアニン Rー・ソリュブル・ブルー、ソルベント；3 ブラック・ソルベント・ブルー 3 8 ソルベント、2 3 レッドソルベント、2 4 レッドソルベント、2 7 レッドソルベント、4 5 レッド、イエロー 9 4、スピリット・ソリュブル・エオシン、スーダン I I I、スーダン I V スーダンブラック B、スーダンレッド B K、サルファーイエロー S、スイスブルー、タートラジン、S チオフラビン T、チオン (t i o n)、ブルー、トルイジン・レッド・トルエン、トロパエオール (t r o p a e o l) G、トリパフラブ・ザ・チオフラビン (t r y p a f l a v t h e t h i o f l a v i n e)、ブルー、ウラニントリパン、ピクトリアブルー 4 R、ピクトリアブルー B、ピクトリアブルー R、ピクトリアグリーン B、水溶性エオシン、ウッドスタレッド (w o o d s t a r e d)、キシリジンポンソーおよびエオシン・イエローイッシュ、およびそれらの組み合わせ (1 2 3 ~ 1 2 8)。

【0076】

組織学において、相乗的分子としての媒染剤として最も一般的な 2 つの金属はアルミニウムおよび第二鉄である。媒染剤色素は共有結合または配位錯体とキレートを形成する。媒染剤および色素分子の多価金属イオンは配位錯体を形成する。キレート形成は、色素ー媒染剤多価錯体と定義される「レーキ」を構成する。この分子は、1 より多い結合点を有し、結果として多様性および官能性が異なる錯体を形成する。

【0077】

処方の pH レベルの変更は、非常に急速かつ大規模な色の変化を示す。突然の色の変化は、非局在化電子との置換及び金属電子での低いエネルギーレベルによって説明される。金属は、錯体分子構造と比較して比較的低いエネルギーレベルを有し、即ち、金属添加によって、溶液中でのエネルギーレベルが急速に降下する。

【0078】

D N A の塩基構造において、増加したデオキシリボースリン酸の後ろに位置する、チミンシトシン、グアニン及びアデニンがマッピングと相補的にらせん構造を形成する。リン

10

20

30

40

50

酸基は組織学的染料の基本である。媒染剤を色素と混合し、DNA中のリン酸はキレート形成する。

【0079】

配位結合アセンブリを形成するために必要な電子は、媒染剤色素をリン酸酸素と結合させる。DNA及びタンパク質は、ヒドロキシル及びカルボキシル基を含み、核クロマチン同様に、タンパク質成分及びDNA複合体を含む。従って、DNA核成分から染料を除去した後でも見ることができる。

【0080】

不適切に固定された組織は最適に染色することができない。急速処理技術は染色の質に影響を及ぼす。10%中性緩衝ホルマリンを数時間適用する場合、タンパク質の固定化は不適切である。エタノールは安定化剤及び脱水剤である。ホルマリン溶液での固定化はこの目的にとって十分である。エタノールを単独で使用する場合、もろくゆがんだ切片は組織のアーチファクトを残す。

10

【0081】

前進的染色法は、後退的方法とは逆にディファレンシエートする必要がある。細胞核の染色以外に、バックグラウンド染色も様々な程度で望ましい可能性がある。前進的溶液はムチンなしでバックグラウンド染色をほとんどまたは全く示さない。

【0082】

しかしながら、酸添加で更に高い色素濃度(1.5~2.0 g/l)は、透明なバックグラウンド染色も同様に提供する。後退的塗料(特に上記処方中5 g/l色素濃度)はより色が強いように見える。後退的染色後、ディファレンシエーションによって明確できれいな核の形態外観が得られる。後退的処方は大型の研究所及び病院に好まれる可能性がある。

20

【0083】

アンモニウム及びカリウムのアルミニウム(Aluminum)は、単独又はアルミニウムと溶媒で、低いpHレベルを示す。しかしながら、緩衝能力が非常に限定される場合、pHは最終的に増加する。しかしながら、処方の酸色素のpHに調節し、短時間液体と接触したアルカリ溶液は液体のpHに影響を及ぼさない。色素溶液の寿命は、アルカリ液体の保持量に跳ね返る媒染剤又は色素に関連する。このように、塗料は活性を減少させ始める。分解の最初の徴候は、不透明な赤桜色の赤~明紫色からの染料溶液の変化である。酸色素の色素溶液への活性化によって関与する量が少なくなる。この目的のために、25%酢酸、0.1%クエン酸(citric)又は0.5%塩酸(hydrochloric)、更に酒石酸、乳酸、エリソルビン酸、アスコルビン酸、尿酸、タンニン酸を、pH制御に必要な量に基づいて1リットルの溶液で決定しなければならない。他の酸もpHを制御するために選択することができる。溶液のpHは2.5付近でなければならない。しかしながら、修飾は、処方によってpH1~4に調節することができる(図6)。

30

【0084】

強酸の添加は、組織中のカルシウム貯蔵を溶解させ、染色されたカルシウムの組織沈着は、診断(例えば、乳がん)を誤らせる可能性がある場合に、診断にとって重要である。従って、強酸の非常に低いpH値は避けなければならない。例えば、酢酸及びクエン酸は、酸クリーナーを含む処方及び顕著なコア染色を提供することが期待される。言い換えると、弱酸を含む前進的理想的処方での核の染色を達成することができる。対照的に、処方に含まない酸は、より良好なバックグラウンドを示し、核がはっきりしない。処方中の酸の後退的添加は、染色に貢献するが、色素溶液の酸性pHを再度増加したレベルにし、染料の寿命を延ばすことを明確にする。

40

【0085】

染色プロトコルのステップは、1. 脱パラフィン化、2. 再水和(アルコールを使用)、3. 水でリンス、4. Papaver rhoeas 処方実施、5. 水でリンス、6. ディファレンシエーション、7. 水でリンスする、8. 青色化、9. 水でリンス、10. アルコールでリンス、11. エオシン、12. 脱水(アルコールを使用)、13. 水(又

50

はキシレン)で洗浄を含む(図7)。

【0086】

染色時間は他の色素と同様に適用され、処方率に応じて調節することができ、30分から1または2分に及ぶ(131~133)。非常に短いインキュベーション期間では、不完全且つ一貫性のない染色となる。適切な調製物を作製できない場合は攪拌によって修正することができる。酸はスライド上のアーチファクトを除去することができる。しかしながら、これは媒染剤色素複合体の有効性を減少させる可能性がある。染料とともに15秒間攪拌(振とう)することで、総染色時間が減少した。攪拌しない場合、期間は長くなるはずである。

【0087】

染色には5分間の適用で十分である。時間の調節による染色時間の長さが、前進的染料の質を調節する。理想的には、染色時間は5~10分である。前進的ペインティングはまず迅速に開始し、タイミングについてはより独立であり、後で平衡点に関して自身を制限する。後退的技術については、5~10分が十分な時間であり、過剰の色素は酸アルコールによって除去する。

【0088】

エタノールでの弁色(Differentiation)の目的のために、酸エタノールの濃度を変えて適用する。サンプル;70%エタノール(標準的酸アルコール)0.5%塩酸混合物を30~45秒間使用する。クリップボードを完全に除去するためには強酸色素の希釈が必要である。ここでは、エタノールの代わりに、70%蒸留水を使用してもよい。水は酸を希釈することができ、ディファレンシエーションは最適染色をもたらし得る。しかしながら、アルコールの代わりに水を使用することで染色のばらつきが起こる。n-イソプロパノールを選択することができる。

【0089】

組織スライド上の酸媒体の最初の色は明赤紫色である。これは恒久的な色ではなく、永続的な青色に変わる。赤色相は下にある搭載ガラスににじみ出る。青色層は溶媒に対して抵抗性、不溶性であり、水及び穏やかな溶媒を含み、pHを調節することにより恒久的に変換される。水道水又は他のアルカリ性溶液は青色化をもたらす。水は、0.1~1%炭酸リチウム溶液、0.5%酢酸ナトリウム、2%重炭酸ナトリウム、及びスコットの水道水代替物等の他のアルカリ溶液と同様に、核を青色にするのに充分であり得る(図8)。

【0090】

水中の塩素はスライド上の塗料の退色の原因となる可能性があり、染色及び漂白を完全に除去する可能性がある。塩素処理水を使用する場合、水道水による洗浄を排除するか、あるいは非塩素処理水を使用しなければならない。青色化のために強アルカリを使用する場合、高pHはその後のエオシン染色を阻害する可能性がある。弁色は、pH制御、定着剤、酸化剤、及び他の色素によって提供される溶媒で維持することができる。

【0091】

過剰の染料は媒染剤の使用により減少させることができる。組織に対する結合の競合によって、溶液に含まれる媒染剤色素がより多く入り、色素を組織からゆっくりと分離する。染料調製物に対してこの方法で競合除去が可能である。熟成により染料溶液の効率が増加する。熟成は、自然の酸化過程によって達成することができ、より信頼性があり耐久性がある。上部から空気が入るように綿でゆるく閉じた大き目のフラスコが適している。ゆっくりとした酸化を可能にするために、フラスコを温かくて暗く風通しの良いところに置かなければならない。

【0092】

化学酸化剤を化学熟成で使用すると、より早く効率的な成熟をもたらす。沸騰は操作を加速し、沸騰後、ヨウ素酸ナトリウム、次亜塩素酸カルシウム、過酸化水素、USP、過マンガン酸カリウム、フェリシアン化カリウム、ヨウ化ナトリウム、酸化亜鉛を、過ヨウ素酸カリウム及び次亜塩素酸ナトリウムに加えて化学的酸化剤として使用できる。

【0093】

硫酸アルミニウムカリウム等のアルミニウム塩と結合させた場合、溶液は淡色（未熟）不透明のクリアな青紫色であり、酸化されると明るい濃紫色（熟成）に変わる。それらは鉄塩と結合させることもできる。これらは非常に濃い紫色であり、通常、濃密な色彩である。用いられる化合物に応じて、シュウ酸、フェリシアン化ボラックス、過マンガン酸カリウムを酸化剤（oxidant）として使用できる。

【0094】

硫酸アルミニウム又は硫酸アルミニウムカリウム、硫酸アンモニウムアルミニウム、硫酸ナトリウムアルミニウム、酢酸アルミニウム及び硝酸アルミニウムの溶液を、染色するための主な媒染剤とすることができる。1リットルあたり5グラムの塗料粉末を使用し、水性溶媒として、蒸留水を使用すべきである。媒染剤色素比はおよそ10倍又は若干低いレベルで有り得る。過剰且つ連続した酸化によって沈殿が生じる。この沈殿は、通常、酸化により結果として得られる不活性な誘導体である媒染剤も含む。染料処方を定期的にろ過する。

【0095】

抽出物から得られるパパベル ロアエス（Papaver rhoeas）液体処方は暗赤色であり、異なる方法で取り扱われる。生成物自体の粉末は市販するのに好適であり（特に輸送の容易さの点で）、病院や研究所の技術者によって調製される。試験した溶液は、直ちに使用できるパッケージで輸送が容易であり、暗色容器中で適切な病院に送達することができる。

【0096】

酢酸と反応させることによって、核クロマチンコアはより一貫性があり明確な核画像を提供する。媒染剤アルミニウム塗料処方は酸性pH（pH=3.3〜2.5）を有する。長さでペイントした構造の有効性は、染色で複数回洗浄する間に色素容器が移動する場合は減少する可能性がある。新しい溶液の添加はコーティングを強化する。酸化後に溶液内で有効性の低い誘導体が形成され、その結果、若干の沈殿が生じる。液体処方は、空気酸化を防止するために薄い油層で覆われたバレル又は容器内で保管できる。

【0097】

エオシンY又は他の色素は、細胞質の対比染料として使用することができる。一般的な原則をここで適用することができるが、結果は主観評価である。造影剤は、核の外側の青色のコア成分でよく見えるだけでなく、組織が互いに明確に区別できるようになるので理想的であり（図14）、コラーゲンサンプルから新しい筋肉組織を区別できなければならない。エオシンYは通常、95%エタノール中に可溶性であり、ラメラ調製物CAがいったん閉じられアルコールが非常に長時間残った場合、染料は無色になる。従って、95%エタノールが非常に長時間残った場合、染色されたEOが無色組織にされる可能性があり、Eonの溶液における100%エタノールよりは可能性は低いものの、それでも染料は組織から取り除かれる。この問題を回避するために、好エオシン（eosinophilic）調製物を7〜10回急速に浸漬した後、95%エタノールサブトラクション又はフォーム（subtraction or form）で洗浄しなければならない。subtraction or form. エオシンレッドは青色のコアに対して好適な対比を提供する。エオシンYは、通常、若干黄色〜オレンジ色を有するが、酢酸で赤くなる。

【0098】

赤色の強さは、核の外側の構造を区別することにおいて重要である。不適切な染料は薄い染色の原因となり、一方、染料が核に多すぎると組織構造間の区別が困難になる。エオシン色素対比の組み合わせにより、コラーゲン；淡ピンク色、筋肉；暗ピンク色、好酸性細胞質；赤、好塩基性細胞質；紫、コア；暗紫色がかった青、赤血球；赤色に染色される。エオシンはパパベル ロアエス処方の染色後約1分でスライドに適用しなければならない。

【0099】

エオシン色素のより多くをその後洗い流さなければならない（129、130）。好ましくは、一連のエチルアルコール溶液中50%、75%及び95%濃度がこの目的のため

に選択される。

【0100】

染色過程の終了は重要な基準であるが、色強度及びコントラストの視覚的評価のための最良のアプローチである。標準の調製及び染色の品質管理の経験が染色の効率の改善をもたらす（134～138）。

【0101】

パパベル ロアエス処方を用いた非ヒト組織生物学的サンプルの染色のために使用する。例えば酵母ボールからのサンプル中の酵母菌を細部まで染色する（図15）。

【0102】

ここでも、顕微鏡法で調べることに伴う花卉の光及び原子間力花卉は、優れた比例らせん管によって生じた、液体で満たされた完璧な配列で配列された槽内構造を示すことが観察された（図16、17）。

【実施例】

【0103】

実施例1

前駆体の調製：抽出された色素の調製で使ったパパベル ロアエスの凍結、生、又は乾燥花卉（花卉）の調製（図9）。葉を断片化する。蒸留水、次いで一晩放置し、この手順を加え、次いで圧縮して、液体色素前駆体を得る。最初の色素は紫色、赤色、紫がかった赤色、赤味がかった紫色及び赤みがかった青色である。その後、溶液は、例えば1/10の割合のホルマリン、エタノール、メタノールを提供するようなものであり、溶媒を他のエーテルとして組み入れ、インキュベータ中、30～60℃で加熱しながら乾燥する。乾燥した粗物質を再度メタノールで処理し、そして沈殿を分離する。この沈殿を使用して、粗粉末を調製する。この沈殿を冷又は沸騰エチルアルコール（1g塗料/100エチルアルコール）中に添加し、溶解させる。この液体混合物（冷または沸点）を1000mlの脱イオン水に添加する。

【0104】

実施例2

分子解析のために、抽出溶液を濾過し、エタノールで処理し、インキュベータ中で乾燥させる。乾燥サンプルを粉砕し、次いでメタノール浴に3回通し、30～60℃のインキュベータ中に一晩入れ、液体フラクションを蒸発させる。1gの結果として得られる粉末を100ccのエタノール中に溶解させ、プレート上の繊維上に吸収させる。1%アンモニア溶液でピンク色のプレートが青色になるのが観察される。この青色素を酢酸中に溶解させる。液体フラクションを除去した。そして残りの乾燥粉末分析に。

【0105】

実施例3

部分的又は完全にこの新規分子の組成物中で使用される化学酸化剤。酸化の結果として分子の誘導体が生じる。しかしながら、活性の低い複合体も形成される可能性がある。酸化剤と分子とのモルバランスは4:1～1:1である。溶媒内の色素は複数の媒染剤を有する（アルミニウム、鉄ビスマス媒染剤、銅、モリブデン、クロムおよびバナジウム、ならびにジルコニウム）（120、121）。分子及び媒染剤のモル比は2:1及び1:100であり、この比は処方に応じて異なり、例えば1:20～1:5の間で変わる。処方は更に、酢酸等の酸も含み得る。最終媒染剤色素および溶媒溶液（例えばAlCl₃ 80%、10～50g/リットル）は酸性pHを有する。酸を処方に添加することで、核染色の特異性を調節し、貯蔵寿命を増加させた。青み付けによって細胞核の形状を目立たせる。酢酸を色素処方に添加すると、色が明るい褐色がかった紫色になる（図10）。

【0106】

実施例4

処方の理想的pHは2.5であるが、pHは1から4まで変化する。いくつかの特定の実施形態では、酸化剤は組成物中のヨウ素酸ナトリウム、媒染剤としての硫酸アルミニウム、β-シクロデキストリンとしての塩化アルミニウム抗酸化剤、溶媒として60～90

10

20

30

40

50

%の水であり、10～40%エチレングリコール混合物の割合で使用することができる。例えば、n-プロピルガレート、ヒドロキノン、及び1又は複数の水溶性抗酸化剤を使用することができる。

【0107】

実施例5

着色は、前進的又は後退的方法で確立される。生物学的サンプルを顕微鏡スライドに担持させる。当該方法はさらに、顕微鏡スライド上に載せた細胞学サンプルについても使用することができる。対比染色、エオシンを選択する。

【0108】

実施例6

安定剤は、過酸化、蒸発及び最終的には沈殿を防止する。溶媒および色素／溶媒の量の比を1リットルに対して1～20グラムに設定して、染料処方を調製する。前進的溶液については1リットル当たり最低1グラムの色素、そして後退的塗料は1リットルあたり少なくとも5グラムの溶媒を含む。媒染剤の量が一定のままである場合、溶液中であまり濃縮されていない色素は、細胞核のより選択的な染色を明らかにする。例えば5mLの色素の10%溶液及び10%を超えるまで量を増加させたアルコール性色素溶液を添加して最適選択性に達する。

【0109】

実施例7

濃度が低く、溶液中の色素の媒染剤色素／色素比が高い場合、溶液中に残存し、少量の色素が組織に付着する。0.1%又は2%酢酸、クエン酸等の酸を添加すると、貯蔵寿命が延びる。

【0110】

実施例8

非常に低いpHレベルの溶液は、組織石灰化も溶解し得るので、診断にとって重要である。従って、診断はエラーを引き起こす可能性があり、強酸を含む溶液を省略する。0.2mLの水酢酸の濃度を増加させて、又は0.1mLのHCl酸、5gの色素及び50gの媒染剤（硫酸アルミニウム）を添加することによって試験することができる。後退的染色処方の使用により酸性にし（1／10の割合）、染色処方を使用して1gの色素および50gの媒染剤（硫酸アルミニウム）前進的酸を得る（比1／50）（図9）。

【0111】

実施例9

1000mLの脱イオン水沸点を大きなフラスコに入れる。これは、50gの硫酸アンモニウムを含むのを添加し、混合物を冷却させる。4gの乾燥粉末を攪拌したフラスコ内に入れ、0.4gのヨウ化ナトリウムを50mLの冷水中に溶解させる。100ccのエチレングリコールを添加し、それと混合し、10ccの酢酸を添加する（pH単位は2.7～3.1である）。ストック溶液を互いに混合する。塗料は使える状態である。塗料の塗布時間を試験によって最適化しなければならない。

【0112】

実施例10

修正も可能である。染料と共に5gの媒染剤を含む酸フリーの後退的染料100gに酸を添加する。ここで、割合は1／20（5g色素＋100gの硫酸アルミニウム）である。1リットルあたり1～2グラムの前進的及び5～6gの後退的。中間体処方は3～4グラムの染料を含む。色素の調製及び適用は技術者には十分に理解されるはずである。色素の含有量の変更によって、結果として得られる色素の質を調節できる。

【0113】

実施例11

生じた粉末は赤れんが色がかった紫褐色であり、エタノールで溶解し、水ではあまり溶解しない（100ccの水、しかし、1gの色素は100gのエチルアルコールに溶解し、35～50gは除去塗料を溶解する）。グリセリンを抗酸化剤として組み入れることが

10

20

30

40

50

でき、過度の酸化処方を防止し、更に真菌の発生も防止する。任意の抗菌剤、例えば Proclon 300 (登録商標) アジ化ナトリウム、Proclon 150 (登録商標)、抗菌剤、例えば Proclon Proclon 200 (登録商標) 及び 950 (登録商標) を添加して、2.0～5.0 の pH ユニット内の微生物増殖を阻害する。(例えば) 溶液に約 0.04% Proclon 300 (登録商標) (Sigma Aldrich, St Louis, MO) の量で (図 10)。

【0114】

参考文献

1. Quebe Trim, Canada plant diseases Name City, Canada. 288 pp. 197
2. Alex, JF, in cayouette, R., Mulligan, D, Ottawa, Ont., Canada. 132 pp. Canada's Common and botanical names of weeds. Agric.1980. 10
3. L. H. Bailey, Bailey, E. z.hortus. 3. revision. MacMillan, New York, NY, US A. 1290, p. 1976
4. Scogg who, H. J., Canada flora. Nat. Muse. Nat. Sci. (Ottawa) Yay. Bot. 7 (1) -7 (4). 1711, p. 1979
5. Van Wijk, HL plant names dictionary. Martinus Nijhoff, The Hague, The Netherlands. 1444, p. 1911
6. Victor M. Flore Laurentienn to 1. 2nd edition. Univ., Montreal, Que., Canada. 952 pp., 1964
7. Inoc Taxonomic Code database (version 8) Notes: Papaver rhoeas: 1996 20
8. Plants Database, database Earned (version 4.0.4): National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-4490 ABD.1996
9. Plants Database, database Earned (version 5.1.1) :: National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-4490 USA. 2000
10. John Kartesz Notes: North America Project (BONAP), University of North Carolina Reference Biota: Papaver rhoeas
11. Chevallier. A. The Encyclopedia of Medicinal Plants Dorling Kindersley. London 1996 ISBN 9-780751 - 303148
12. Bown. D. Encyclopedia of Herbs and use. Dorling Kindersley, London. 1995 ISBN 0-75 13-020-31 30
13. Papaver rhoeas L. behavioral and pharmaco-toxicological studies in rats. Soulim NEW R Younos, Jarmo the C-Idriss S, D Khaoluk F Bouse, Laila C. Journal of Ethnopharmacology, 74 (3): 265-74 2001
14. Papaver rhoeas Effects mouse Hedayat Sahraei year in the acquisition and morphine examining welded on conditioned place preference expression, Ethnopharmacology Volume 103 Sayedeh Maedeh Fatimid B, Shahrokh Pasha of-RADC, Zehra Faghih-Monzav of Seyyed Hossein Salimi and Muhammad Kamalinejad Magazine, Issue 3, Pages 420-424 February 20, 2006,
15. Ali Pourmotabbed, Baharak Rostami, the Gille Manouchehr of Gille Pirzadeh-Jahromi B, Hedayat Sahara, Hasan Ghoshoonib, Homeir to Zardooz and Ethnopharmacology Volume 95 Muhammad Kamalinejad Magazine, Issues 2-3, Pages 431-435 40
16. Facciola. S. Cornucopia - A Source Book of Edible Plants. Kampong Publications 1990 ISBN 0-9628087- 0-9 2004
17. Chiej. R.sifal Plants R. Encyclopedia. MacDonald ISBN 0-356-10541.1984 1984.
18. F. Chittenden. ST Dictionary of Plants plus Supplement. 1956 Oxford University Press 1951
19. Hedrick. UP Sturtevant the world of edible plants. Dover Publications ISBN 0-486-20459-621. 1972
20. de Groot, H Rauan, Fundam reactive oxygen species and the protective effect 50

ts of flavonoids Clin Pharmacol 1998; 12: 249-55.

21. E. Hamlyn Edible plants. ISBN 0-600-37216-2, 1981

22. Formica JV, quercetin and related bioflavonoids Regelson W. Review of the biology. Food Chem Toxicol 33: 1061-1080. 1995

23. Computational and Theoretical Chemistry, a quantum mechanical approach to Mina Ghiasi, Afsaneh Azadnia to, Masoud Arabiehb, Mansour Zahedib Volume 996, routine and resist oxidation (vitamin P) Pages 28-36 The protective effect of:

24. Frieseneck B, Tsai AG, inflammation, edema and cellular basis for the Intagliet Daflo K. 500 mg activity. Int J Clin Exp Microcirc 15 (Suppl): 17-21. 2012 1995

25. Clinical Nutrition flavonoids American Society: action and potential applications 1,2,3 possible mechanisms Robert J Nijveldt, Els van Nood, Danny AK van Hoorn, Petra G Boelens, classy van Norra and Paul AM van Leeuwen in a review in 2001

26. Robak J Gryglews the RJ. Flavonoids bioactivity. Pol J Pharmacol; 48: 555-64. 1996

27. DOI: 10.1007 in the book / 978-3-642-22144-6_53: Natural Products: Phytochemistry, Botany and alkaloids, phenolics and terpenes Metabolism Section: 54, Publisher: Springer Berlin Heidelberg, Editors:, . Kishan Gopal Ramawat, Jean-Michel MERILLON , pp.1647-1682_Need-to-know news and monitoring for UB faculty and staff

28. UB Reporter This article is from the archives. Ellen GoldbOu contributing Editor By: ARCHIVE genetically engineered microorganisms into tiny factories Published in 2007

29. UNODC Szendre K. Pages: 5 1 -54 Creation Date: K. opium Szendre Faculty of Pharmacy, Laboratory Pharmacognostical, Szeged, Hungary porphyrox a method to isolate 1968

30. Merck, E., Ann. Pharmacy, 21201, Physical Sciences, 18, 379, 1839 Annual Progress Report. 1847

31. Hesse, O., Liebig Ann. Chem. 153, 47, 1870.

32. akshit, N. J. Chem. Soc. (London) 1 15 (1), 455, 1919.

33. Rajagopol, S., Current Science. 12, 24, J. Org. Chem. 10, 175, 1945.

34. Fulton, C, E / CN.7 / 1 17, 1948; Narcotics IV, No. 1, 15, Bulletin on 1952. 1948

35. Klayman, DL Thesis, Rutgers University, 1956

36. van Acker SA, Tromp MN. Haenen GR, van der Vijgh WJ, Bast A. Flavonoids as free radical nitric oxide cleaner. Biochem Biophys Res Commun 214: 755-9 1995

37. Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hoult JR, flavonoids and phenolic dietary supplements mammalian 5-lipoxygenase and Sikoloksijenaz Halliwell B. Prevention. With antioxidant activity and to iron ion-reducing ability relationship. Biochem Pharmacol 1991; 42:1673-1681 1991

38. Epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase obtained with flavonoids and bioflavonoids naturally occurring effects of the guinea pig. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1998; 58: 17-24).. 1998

39. An update: allwell B how to characterize an antioxidant. Biochem Soc Symp 61 : 73-101 1995

40. KorkinAfanas'ev IB LG. Flavonoids, antioxidants and chelating properties. Adv Pharmacol 38: 151-63. 1997

41. Sanhueza Garrido J Valdes J Campos R, Valenzuela in ischemia-reperfusion rat kidney been stressed xanthine dehydrogenase / xanthine oxidase Changes: some

10

20

30

40

50

inhibitory effect of flavonoid. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 78: 21 1 -8.19 92

42. Robak J Gryglews the RJ. Flavonoids bioactivity. *Pol J Pharmacol* 48: 555-64. Kim HP, Mani I, Iversen L, Ziboh VA. 1996

43. Huk I Nanobash Brovkovich V VJ, et al. Bioflavonoid quercetin scavenges su peroxide and nitric oxide in ischemia-reperfusion increases the concentration of damage: an experimental study. *Br J Surg*; 85: 1080-5. 1998

44. Shutenko Z, Henry Y Pinard M, et al. Global ischemia and reperfusion in ra t brain during electron paramagnetic resonance determined by the level of nitric oxide in vivo antioxidant effect of quercetin. *Biochem Pharmacol* 57: 199-208. 1 999 10

45. van Acker SA, Tromp MN, Haenen GR, van der Vijgh WJ, Bast A. Flavonoids as free radical nitric oxide cleaner. *Biochem Biophys Res Commun*; 214: 755-9. 1995

46. Chang WS, Lee YJ, Lu FJ, Chiang HC. Xanthine oxidase inhibitory effects of flavonoid. *Anticancer Res*, 13: 2165-70. 1993

47. Lion M, Ono Y, Kai S, as well as milk xanthine oxidation of flavonoids on cytochrome c reduction by xanthine oxidase Fukumoto M. Effects. *J Nutr Sci Vitam inol (Tokyo)* 32: 635-42. 1986

48. Calo on Ying Li M, et al. Xanthine oxidase and structure-activity relation ship and classification of flavonoids as inhibitors of superoxide scavenging. *J Nat Prod* 61 : 71-6 1998 20

49. Frieseneck B, Tsai AG, Allegra C Intagliet micronized purified flavonoid f raction of the implementation of K. orally, ischemia-reperfusion injury, leukocy te adhesion suppresses hamster in vivo observations in the folds. *Int J Clin Exp Microcirc* 14: 50-5. 1994

50. Frieseneck B, Tsai AG, Allegra C Intagliet micronized purified flavonoid f raction of the implementation of K. orally, ischemia-reperfusion injury, leukocy te adhesion suppresses hamster in vivo observations in the folds. *Int J Clin Exp Microcirc* 14: 50-5. 1994 30

51. Ferrandiz ML Gil B, Sanz MJ, et al. Bakuchiol Effect on leukocyte function s and some inflammatory responses in mice. *J. Pharm Pharmacol* 48: 975-80. 1996

52. Bennett JP Gomperts BD, Wollenweber of natural flavonoids is without mast cells and neutrophils secreted E. preventive effects. *Arzneimittelforschung* 31: 433-7.1981

53. Frieseneck B, Tsai AG, inflammation, edema and cellular basis for the Inta gliet Daflo K. 500 mg activity. *Int J Clin Exp Microcirc*; 15 (Suppl): 17-21. 199 5

54. Middleton EJ, immune and inflammatory Kandaswa my C. Effect of flavonoids on cell functions. *Biochem Pharmacol* 43: 1167- 1179. 1992 40

55. Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory flavonoids activity and arachi donic acid metabolism inhibition. *Agents Actions*, 32: 283-8. 1991

56. Kerry NL Abbey phenolic compounds derived from fragmented red wine and red wine, in vitro, inhibit oxidation of low density lipoprotein. *Atherosclerosis*, 135: 93- 102 1997

57. Shoskes. Bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal damage Eff ect: a new class of tenoprotective agents. 1 Transplantation 66: 147-52. 1998

58. Dehmlow C Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology*, 23: 7 49-54. 1999 50

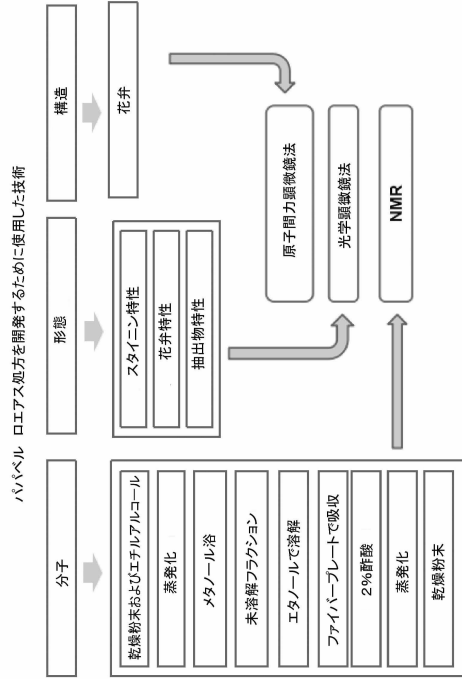
59. Shoskes. Bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal damage Effect: a new class of renoprotective agents. *Transplantation* 66: 147-52. 1998
60. Ferrandiz ML, Alcaraz MJ. Anti-inflammatory flavonoids activity and arachidonic acid metabolism inhibition. *Agents Actions*, 32: 283-8. 1991
61. Ferrandiz ML, Nair AG, Alcaraz MJ. Spanish and Indian medicinal herbs Inhibition of sheep platelet arachidonate metabolism by flavonoids. *Pharmazie*, 45: 206-8. 1990
62. Formica JV, quercetin and related bioflavonoids Regelson W. Review of the biology. *Food Chem Toxicol* 33: 1061-1080 1995
63. Remacle-Volo Damas J Bourdon V G, which are inhibitors of prostaglandin biosynthesis Lecomte, J. Proⁱⁿ inflammatory flavonoids. *Prostaglandins Med Leukot*; 19:11-24 1985 64. Hollman PC, Katan MB. Absorption of dietary flavonoids man, metabolism and health effects. *Biomed Pharmacother* 51: 305-10 1997
65. Hollman PC, Katan MB. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food Chem Toxicol* 37: 937-42. 1999
66. Hegarty VM, May HM, Khaw KT. Tea drinking and bone mineral density in older women. *Am J Clin Nutr* 71: 1003-7 2000
67. Hollman PC JM Van Trijp Buys financing MN, et al. Antioxidant flavonoid quercetin from various foods in humans relative bioavailability. *FEBS Lett* 18: 152-6. 1997
68. Hollman PC, Gaag M, Mengelers MJ, van Trijp JM, de Vries JH, Katan MB. Absorption and distribution kinetics of the dietary antioxidant quercetin man. *Free Radic Biol Med* 21: 703-7. 1996
69. Hollman PC, van Trijp JM, Mengelers MJ, de Vries JH, Katan MB. Adult dietary antioxidant flavonoids quercetin bioavailability. *Cancer Lett*, 114: 139-40. 1997
70. Manach C Morand C Demign C from Texier O Regerat K, rutin and Quercetin Remesy C bioavailability in rats. *FEBS Lett* 409: 12-6. 1997
71. Hollman PC JM Van Trijp Buys financing MN, et al. Antioxidant flavonoid quercetin from various foods in humans relative bioavailability. *FEBS Lett* 418: 152-6, 1997
72. Young JF Nielsen, SA is Haraldsdot J et al. Urinary excretion of quercetin and antioxidative status of the effect of fruit juice intake on biomarkers. *Am J Clin Nutr* 69: 87-94. 1999
73. Moroney MA, Alcaraz MJ, Forder RA, Carey F Hoult JR. An anti-inflammatory and related flavonoid aglycone glycoside flavonoids neutrophil 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitory selectivity. *J. Pharm Pharmacol* 40: 787-92..1988
74. Formica JV, quercetin and related bioflavonoids Regelson W. Review of the biology. *Food Chem Toxicol*, 33: 1061-1080 1995
75. Skibol CF, Smith MT. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic Biol Med*; 29: 375-83. 2000
76. A Modern Herbal .Pengu. Penguin ISBN 0-14-046-440-9 1984
77. Mabey. R. *Free Food*. Collins 1974 ISBN 0-00-219060-5
78. Okushi K, Matsumoto N, Nanjo K Kohrin T Suzuki M, Hara Y. Absorption of tea catechins into rat portal vein. *Biol Pharm Bull*; 19: 326-9 1996
79. Plakas SM, Lee TC, Wolke RE. Rainbow trout (*Salmo gairdneri*), the flavonol, quercetin fed absence of overt toxicity. *Food Chem Toxicol*, 23: 1077-1080 1985
80. Ertrurk E Hatcher JF weevil AM. Carcinogenesis and bracken fern Proc quercetin.fed; 43: 2344 (Abstr). 1984

81. B. Starvic food mutagenic flavonoids. Fed Proc; 43: 2344 (Abstr). 1984
82. Hertog MG, Hollman PC, Katan MB, potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands Kromhout D. Intake. Nutr Cancer 20: 21 -9 1993
83. MG Hertog Aravanis Kromhout D C, et al. Flavonoid intake and coronary heart disease in seven countries study and long-term risk of cancer. Arch Intern Med 155: 381-6 1995
84. Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA damage in man. J Mol Med 1996; 74: 297-312. (Published erratum appears in J Mol Med; 75: 67-8). 1997
85. Pryor, WA. Cigarette smoke radicals and chemical carcinogens role of free radicals. Environmental Health Perspect 1997; 105 (Suppl): 875-82. 1997 10
86. P Deneo Boffet Stefani ED-Pellegrini, H., et al. Dietary antioxidants and lung cancer risk: a case-control study in Uruguay. Nutr Cancer 1999; 34: 100- 10 1999
87. Wang HK, Xia Yin Yang ZY, Natschi SL, Lee KH. Flavonoids and antitumor, the discovery of analogues as anti-FflV agents and recent advances for improvement. Adv Exp Med Biol; 439: 191-225. 1998
88. Kaul TN, Middleton E Jr, Ogre PL. The antiviral effect of flavonoids on human viruses. J Med Virol, 15:71-9. 1985
89. Bae EA, Han MJ, Lee M, Kim DH. Rotavirus infectivity in vitro inhibitory effect of some flavonoids. Biol Pharm Bull; 23: 1122-4. 2000 20
90. Ng TB, Huang B, Fong WP, Yeung HW. HIV reverse transcriptase inhibitors with special emphasis on the immune anti-human immunodeficiency virus (anti-HTV) natural products. Life Sci, 61: 933-49 1997
91. Vlietinck AJ, De Bruyne T, Apers S, Pieters LA. Plant-derived human immunodeficiency virus (HIV) infection of the lead compound for chemotherapy. Planta Med 64: 97-109.
92. Hoult JR, Moroney MA, lipoxygenase and cyclooxygenase Paya M. Actions of flavonoids and coumarins. Methods Enzymo, 234: 443-54.
93. Tordera Ferrandiz ML Alcaraz MJ ME. Rat neutrophils degranulation and anti-inflammatory effects of flavonoids on the release of arachidonic acid. Z. Naturforsch [C]; 49: 235-40. 1994 30
94. Knektar P Jarvinen R Seppanen R, et al. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant. Am J Epidemiol 146: 223-30 1997
95. Oikawa T Shimamura M, Ashino, H, et al. Staurosporine, angiogenesis inhibition is a powerful inhibitor of protein kinase. J Antibiot (Tokyo) 45: 1155- 1 1 60. 1992
96. Pepper MS Fotsis T Aktas E, et al. Flavonoids, cell proliferation and in vitro angiogenesis inhibitors are derived from the diet. Cancer Res 57: 2916-21. 1 997 40
97. Fan TP, Jaggar R check Bicknell R vasculature: angiogenesis, anti-angiogenesis and vascular targeting of gene therapy. Trends Pharmacol Sci 16: 57-66. 1995
98. Pepper MS Fotsis T Aktas E, et al. Flavonoids, cell proliferation and in vitro angiogenesis inhibitors are derived from the diet. Cancer Res; 57: 2916-21 1 997Kagit DH. Natural products as angiogenesis inhibitors. Planta Med 64: 686-95. 1998
99. Paper DH. Natural products as angiogenesis inhibitors. Planta Med 64: 686-95. 1998
100. in the RJ .Gryglews Korbut R Robak J antithrombotic mechanism of flavonoi 50

- ds on Swies, J.. *Biochem Pharmacol*; 36: 317-22. 1987
101. Alcaraz MJ, Ferrandiz ML. Replacement of arachidonic metabolism by flavonoids. *J Ethnopharmacol*, 21:209-29 1987
102. Tzerig SH, Ko WC, Ko FN, Teng CM. Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. *Thromb Res*; 64: 91-100. 1991
103. Landolfi R, Mower RL, platelet function, and eicosanoids are by Steiner M. Modification of bioflavonoids. Structure-activity relationships. *Biochem Pharmacol*; 33: 1525- 1530 1984
104. Van Wauwe cyclooxygenase and lipoxxygenase activity in human platelets J pristine antioxidants Goossens, J. Effects: comparison with indomethacin and EDY to. *Prostaglandins*, 26: 725-30. 1 83 10
105. JM ORGOGOZO Dartigues JF Lafont S, et al. wine consumption, and dementia: a prospective community study in the Bordeaux region. , 153: 185 1983
106. Commenges D Scotet V Renaud S, Jacq of-Gadda H, Barberg is Dartigues JF-Gateau PE. Flavonoid intake and risk of dementia. *Eur J Epidemiol*, 16: 357-63. 20 00
107. Arai Y, Watanabe S, kimire M, Shimoda K, Mochizuki R, Japanese women and quercetin intake and plasma flavones by the inverse correlation between the concentration of LDL cholesterol, flavones and isoflavones Kinan N. Dietary intakes. *J Nutr* 130: 2243 to 50.109, 2000 20
108. Lek. 46 (12): 856-60 [Experimental study of possible hypolipemic effect of resveratrol found in red wine and flavonoids in terms of]. Kollar P 1, Kotolova H, J Necas, P. Karpisek M Bartosikova L Karesova, 2000
109. Young JF Nielsen, SA is Haraldsdot J et al. Urinary excretion of quercetin and antioxidative status of the effect of fruit juice intake on biomarkers. *Am J Clin Nutr* 69: 87-94. 1999
110. Lou FQ, Zhang MF, XG Liu Zhang JM, Yuan WL. A study on the prevention of atherosclerosis tea pigments. *Chin Med J (Engl)*; 102: 579-83 1989
111. Mr. Osman, Maalej N, Shanmuganayaga D Folts JD. Grape juice but not orange or grapefruit juice inhibits platelet activity in dogs and monkeys. *J Nutr*, 12 8: 2307- 12, 1998 30
112. Clinical Nutrition flavonoids 2001 by American Society of action and potential applications 1 ,2, 3 possible mechanisms Robert J Nijveldt, Els van Nood, Danny AK van Hoorn, Petra G Boelens, classy van Norra and Paul AM van Leeuwen a comment
113. Baker, John R., biological Microtechnology, Methuen, London, England Policy. 1958
114. Bosma, without toxic chemicals useful Robin hematoxylin. *Histologically*, 18 V, No. 1, January 1988
115. from Flow, D., Harris hematoxylin histological, V.21, No.2 oxidant new 1 991 40
116. Horob RW and Kiernan JA, Connor Biological Dyes, 10th ed. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK, 2002
117. Bohm, A. & Opel, A., Manuel de technical microscopique Ed. 4 1907
118. Molnar, LN, Mayer's hematoxylin-eosin method modification. *Histologically*, there are 6, Number 4, October, 1976
119. Lange, NA, Handbook of Chemistry, Lange, Revised 10th ed., McGraw-Hill.
120. Clarke, G. and Dodds, HM, Lugol's hematoxylin .Sta Technology, v 58, No. 4, p. 232 1983
121. McNulty, JM, Kambo is, MJ and Smith, AA, Barrett's esophagus diagnosis of 50

- an improved zirconyl hematoxylin use of paint. J. Cell. Mol. Med., A. 8, No. 3, p. 382. 2004
122. Lillie, RD Histopathologic techniques and practical histochemistry Ed.2 B lakiston, New York, USA, (1954)
123. (Bryan is done by Llewellyn source for histotechnologists) online (<http://stainsfile.info>)
124. Pusey modified Mayer's hematoxylin, Journal Histologically, v.2 A, No.2, p.54, Cute Garvey, Mayer hematoxylin stain Modification, histological Journal, v .14, No.3, p.163, 1979
125. Roach, JB and Allen, A. Bismuth hematoxylin arginine residues. Biotechnic al & Histochemistry, V.72, N ° I, p. 49, 1997 10
126. Smith, AE, a vanadate hematoxylin for basic proteins. Biotechnical and Hi stochemistry, c. 70, n ° 5, p.5. 1995
- 127 Smith, A. acidic mucin, zirconyl hematoxylin staining. Histochemistry, and cytochemistry, v. 47, pp Magazine. 1645, 1999
128. Cotter, Journal of Pathology and Bacteriology histological purposes, v. 1 6, p increased SG about double staining 390-398.1912
129. Bancroft, JD and Stevens A. Theory and practice of histological technique s, Ed. 2 Churchill Livingstone, Edinburgh and London, England. 1982
130. Hine, Ian F Block with hematoxylin and eosin staining of mammalian tissue s. Stain Technology, v 56, p 1 19 1981 20
131. Bolles Lee, a .. Gatenby, JB and Beams, HW Microtomist Edited by the matu rity-Mecum. 11 th ed., Churchill, London, UK, 1950
132. Horob RW and Kiernan JA, Connor Biological Dyes, 10th ed. BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK 2002
133. F. A. Putt Histopathological Staining Methods John Wiley & Sons, New York , NY FA Manual, USA. Tissue sections
- 134 Harris hematoxylin modification with a double nitrocellulose and paraffin embedded. Histologically, there are 5, No. I, January, 1975
135. Culling CFA, histopathological techniques, 2nd ed CFA Handbook. Butterwor ths, London, 1963 30
136. Demonstration techniques .Histologik Cook, H C. Butterworths, London, Eng land, 1974
137. Drury, R.A.B. and Wallington, EA Carleton's histological technique, Ed. 5 Oxford University Press, Oxford, 1980
138. Mallory, FB & Wright, JH Pathological technique, Ed.3 WB Saunders, Philad elphia, USA. 1904

【図 1】



【図 2】

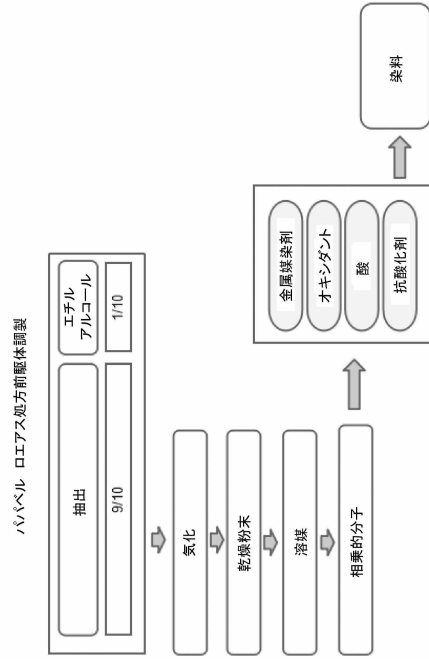


Figure 1

Figure 2

【図 3】

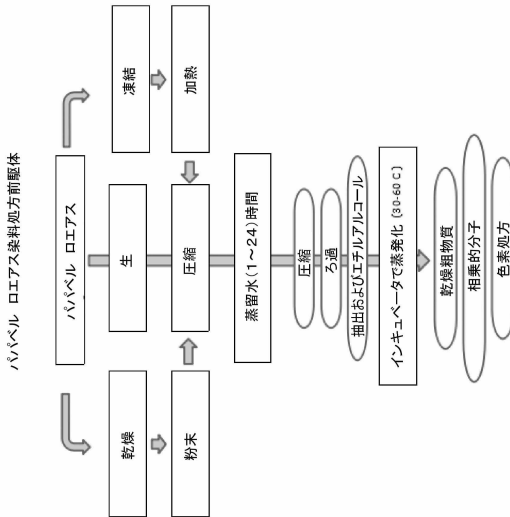


Figure 3

【図 4】

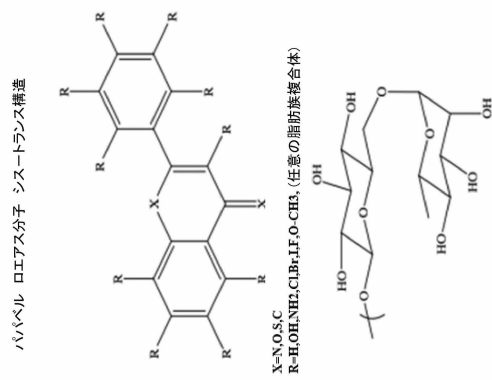
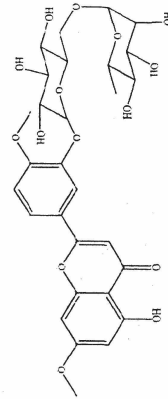


Figure 4

【図 5】

Figure 5: ハバベル ロエアス分子の名称および構造



5-ヒドロキシ-2-((3-(テトラヒドロ-6-((テトラヒドロ-3, 4, 5-トリヒドロキシ-6-メチル-2H-ピラン-2-イルオキシ)メチル)-2H-ピラン-2, 3, 4, 5-テトラオール)-4-メトキシフェニル)-7-メトキシ-4H-クロメン-4-オン

【図 6】

ハバベル ロエアス染色処方の導線

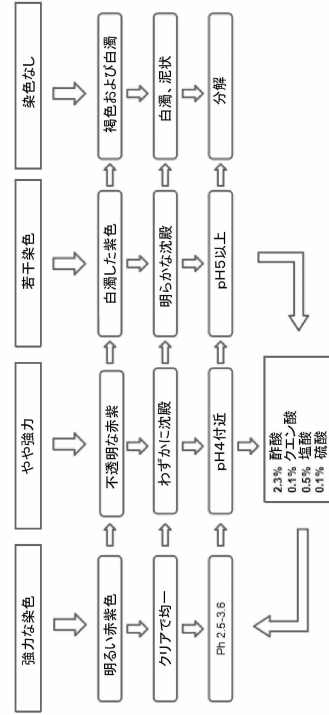


Figure 6

【図 7】

ハバベル ロエアス処方染色法

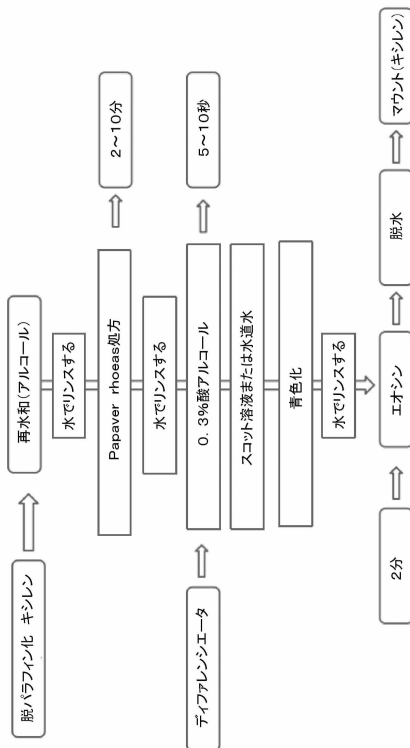


Figure 7

【図 8】

ハバベル ロエアス処方ディファイレンシエーション

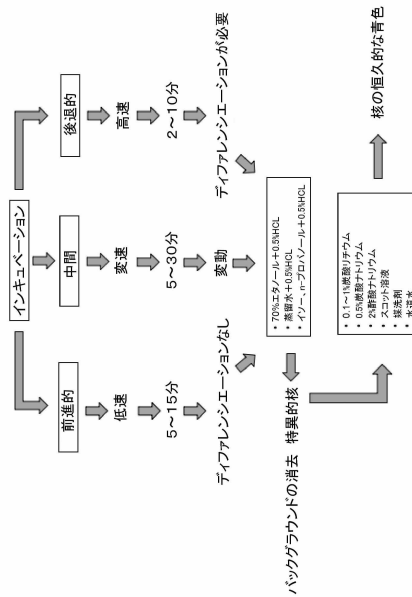
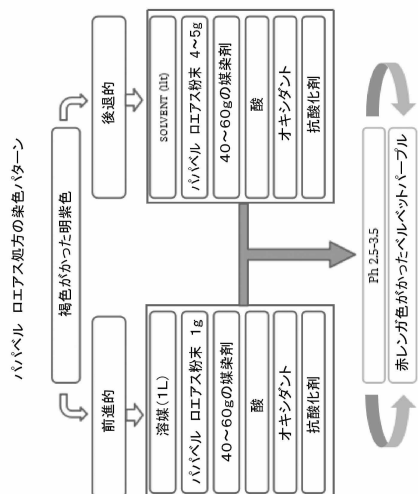
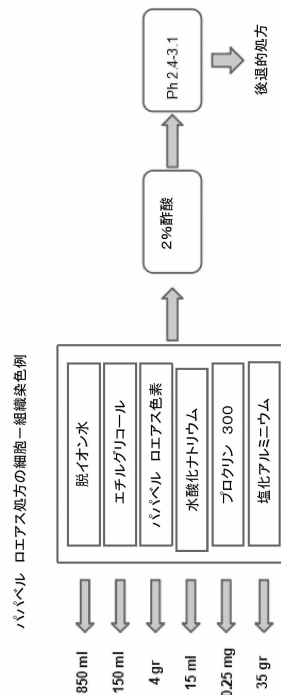


Figure 8

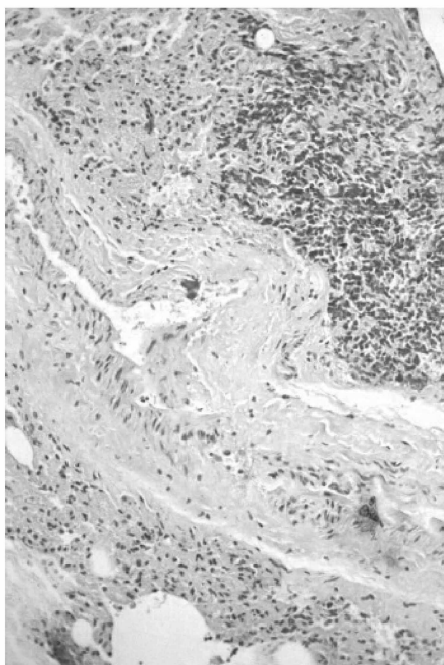
【図 9】



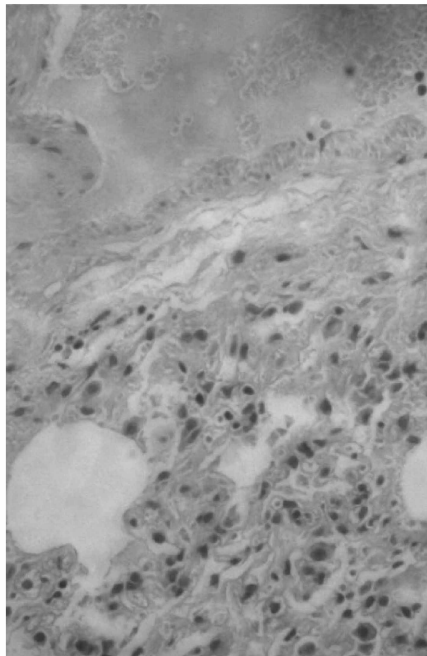
【図 10】



【図 1 1】



【図 12】



【図 1 3】

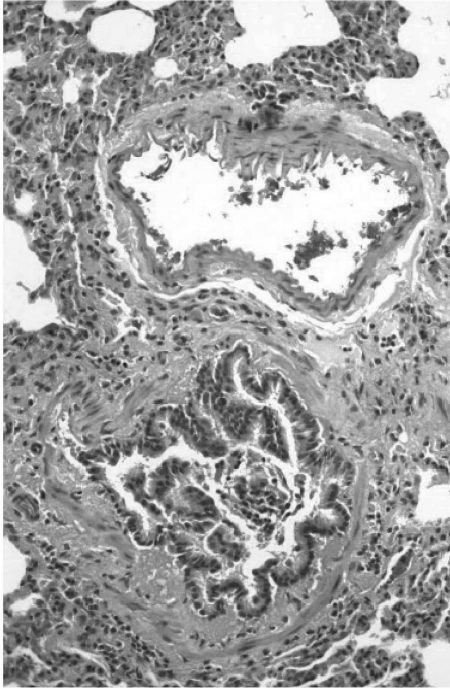


Figure 13

【図 1 4】

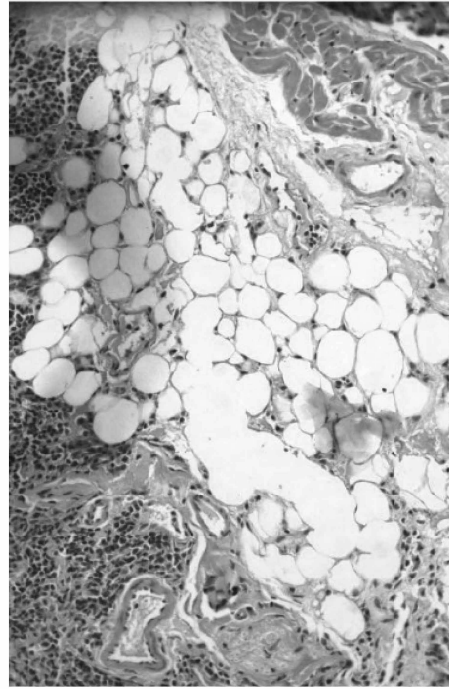


Figure 14

【図 1 5】

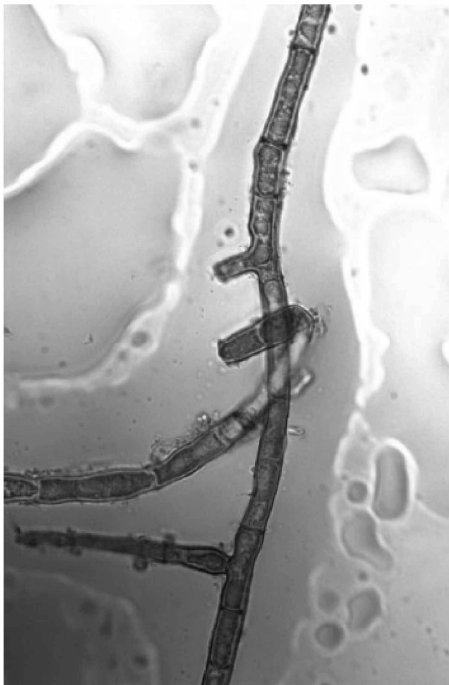


Figure 15

【図 1 6】



Figure 16

【図 17】

原子間力顕微鏡法
水性内容物で満たされた花弁内の槽内構造

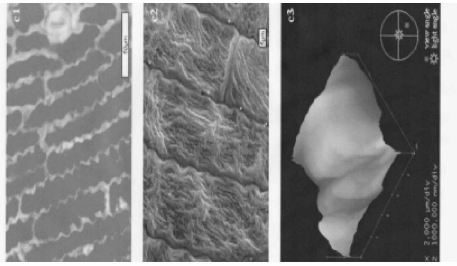


Figure 17

【図 18】

NMR結果
バビベル ロシアス

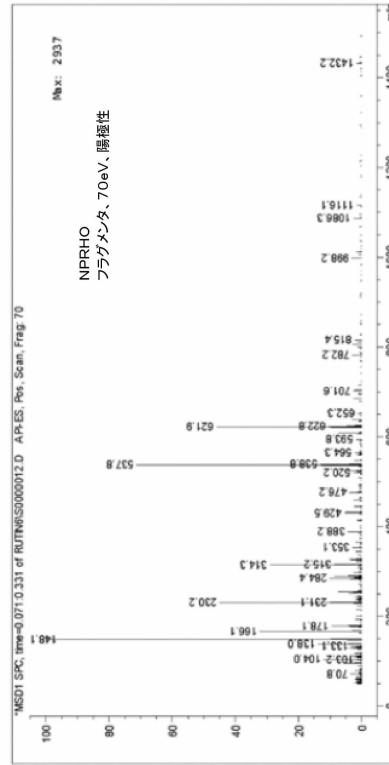


Figure 18

フロントページの続き

(73)特許権者 517137723

ブダク, ギュレル ギュベン

Budak, Gurer Guven

トルコ共和国 チャンカヤーアンカラ-06830, ムツルケント マハッレシ, アトラス ジャ
ッデシ, No: 5

Mutlukent Mahallesi, Atlas Caddesi, No. 5, Cankaya-Ankara-TURKEY-06830

(74)代理人 110000659

特許業務法人広江アソシエイツ特許事務所

(72)発明者 ブダク, メフメト

トルコ共和国 ユカリ ディクメン マハッレ. オラン-チャンカヤーアンカラ-06450, ト
ウラン ギュネス ブルバリ, 638. ジャッデ, No: 3/13

(72)発明者 ブダク, ギュレル ギュベン

トルコ共和国 チャンカヤーアンカラ-06830, ムツルケント マハッレシ, アトラス ジャ
ッデシ, No: 5

審査官 布川 莉奈

(56)参考文献 特表平09-501440 (JP, A)

JOURNAL OF MEDICINAL PLANTS RESEARCH, 2010年 9月 4日, V4 N17, P1727-1732, UR
L, file:///M:/Downloads/Phenolic_contents_antioxidant_and_antimicrobial_ac.pdf

PHYTOCHEMISTRY, 英国, PERGAMON PRESS, 1984年 8月21日, VOL:23, NR:9,, PAGE(S):2
053 - 2056, URL, [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)84969-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)84969-9)

JOURNAL OF CYTOLOGY & HISTOLOGY, 2014年, VOL:5, NR:6, P1-4, URL, <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7099.1000275>

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12Q 1/00- 3/00

C07H 1/00-99/00

Caplus/REGISTRY/MEDLINE/WPIDS/BIOSIS (STN)

专利名称(译)	含有来自罂粟 (Papaver rhoeas) 的新分子的组织和细胞染料制剂		
公开(公告)号	JP6564030B2	公开(公告)日	2019-08-21
申请号	JP2017522199	申请日	2014-11-18
[标]申请(专利权)人(译)	布达克Mehmet		
[标]发明人	ブダクメフメト ブダクギュレルギュベン		
发明人	ブダク,メフメト ブダク,ギュレル ギュベン		
IPC分类号	C12Q1/00 C07H15/26 G01N1/30 G01N33/48 G01N33/53		
CPC分类号	A01N43/80 A61K31/7048 A61P3/06 A61P3/10 A61P7/02 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P25/24 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/12 A61P31/18 A61P35/00 A61P39/06 A61P43/00 C07D311/30 C07H15/ /26 C09B13/06 C09B65/00 G01N1/30 G01N2001/302		
FI分类号	C12Q1/00.B C07H15/26.CSP G01N1/30 G01N33/48.P G01N33/53.Y		
审查员(译)	丽娜Nunokawa		
优先权	201412329 2014-10-21 TR		
其他公开文献	JP2018505649A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

配制了来自红景天细胞和组织染色的罂粟，其中掺入了一种新的生物类黄酮，该类黄酮专门对细胞核染色，以便在组织病理学，微生物学和细胞学方面进行显微镜评估。对于日常使用，它似乎是苏木精的替代品。该化合物的生化名称是羟基-7-甲氧基-2- (4-甲氧基-3- ((((2R , 3R , 4S , 5S , 6R) -3.4.5-三羟基-6- (((, 4R , 5R , 6S) -3.4.5-三羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) 甲基) 四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) 苯基) -4H-chromen-4 -一。NMR分析表明分子的生化结构是生物类黄酮。(图4, 5) 罂粟属内的分子与协同分子和其他分子一起穿透生物和非生物样品。结合其他协同机制，制备了染色配方。媒染剂的数量和类型以及pH值是影响染色结果的质量和时间的参数。

(19) 日本国特許庁 (JP)	(12) 特 許 公 報 (B2)	(11) 特許番号 特許第6564030号 (P6564030)
(45) 発行日 令和1年8月21日 (2019. 8. 21)	(24) 登録日 令和1年8月2日 (2019. 8. 2)	
(51) Int. Cl.	F I	
C 1 2 Q 1 / 0 0 (2 0 0 6 . 0 1)	C 1 2 Q 1 / 0 0 B	
C 0 7 H 1 5 / 2 6 (2 0 0 6 . 0 1)	C 0 7 H 1 5 / 2 6 C S P	
G O 1 N 1 / 3 0 (2 0 0 6 . 0 1)	G O 1 N 1 / 3 0	
G O 1 N 3 3 / 4 8 (2 0 0 6 . 0 1)	G O 1 N 3 3 / 4 8 P	
G O 1 N 3 3 / 5 3 (2 0 0 6 . 0 1)	G O 1 N 3 3 / 5 3 Y	
請求項の数 7 (全 39 頁)		
(21) 出願番号 特願2017-522199 (P2017-522199)	(73) 特許権者 517137712	
(86) (22) 出願日 平成26年11月18日 (2014. 11. 18)	ブダク, メフメト	
(65) 公表番号 特表2018-505649 (P2018-505649A)	Budak, Mehmet	
(43) 公表日 平成30年3月1日 (2018. 3. 1)	トルコ共和国 ユカリ ディクメン マハッレ・オラン・チャンカヤー・アンカラ・O 6 4 5 0 , トゥラン ギュネス・ブルバリ , 6 3 8 . ジャッパ, No : 3 / 1 3	
(86) 国際出願番号 PCT / TR2014 / 000410	Turan Gunes Bulvari , 6 3 8 . Caddes, No. 3 / 1 3 ,	
(87) 国際公開番号 W02016 / 064353	Yukari Dikmen Mah. O ran -Cankaya -Ankara -TURKEY -0 6 4 5 0	
(87) 国際公開日 平成28年4月28日 (2016. 4. 28)		
(87) 審査請求日 平成29年8月31日 (2017. 8. 31)		
(31) 優先権主張番号 2014 / 12329		
(32) 優先日 平成26年10月21日 (2014. 10. 21)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関 トルコ (TR)		
最終頁に続く		
(54) 【発明の名称】 パパベル ロエアス (Papaver rhoeas) から得られる新規分子を含む組織及び細胞染料処方		