

次世代アロマ用品の開発

—香り物質によるプラントコントロール剤—

報告者	大学院総合理工学研究科 物質系工学専攻 教授	宮澤三雄
学内共同研究者	総合理工学研究科 シニアサイエンティスト	堀部 功
	総合理工学研究科 シニアサイエンティスト	小野美光
	総合理工学研究科 東大阪モノづくり専攻 M2	高橋俊之
	総合理工学研究科 東大阪モノづくり専攻 M1	須崎大介
	総合理工学研究科 東大阪モノづくり専攻 M1	増田篤則
	総合理工学研究科 物質工学専攻 D3	河田純一
	総合理工学研究科 物質工学専攻 D2	坂田一樹
共同研究企業	総合理工学研究科 物質工学専攻 D1	丸本真輔
	株式会社 ミリオナ化粧品、株式会社 ルック	
	高砂薬業 株式会社、扶桑薬品工業 株式会社	
	エアアロマ 株式会社、その他 数社	

1. 背景

ヒトは「香り」によって気分がリラックスしたり食欲が増すなどの反応を無意識に起こす。このように我々が今日まで自然に身につけてきた「香り」の効用が、近年、科学的に解明され、現在、食品、嗜好品、化粧品などの分野で実用化されている。我々はこの「香り」をひとつの化学物質として捕らえ、その機能性と効用について先導的に研究を行い、「香り」を構成する化合物から種々の生理活性成分を特定し、その本体を解明してきた。そして、この香り成分の中には発がん抑制などヒトに対して非常に強い生理活性機能が発現している事を明らかにしてきた。この機能性発現機構を有効的に利用するならば現在のようにヒトが、病気治療の為に薬を経口投与や静脈投与などの攻撃的な方法で体内に取り込むのではなく、近い将来には自然に「香りを嗅ぐ」という動作で鼻や口から香気成分を体内に取り入れるなど体にとってより優しい方法で、病気の予防や治療が可能になるのではないかと期待している。

一方、動植物が放つ揮発性物質(香り物質)の中には、コミュニケーション手段の一つとして生物が利用しているものも少なくない。植物を例にあげると、食害ストレスにより植物から放出された揮発性物質は「天敵を誘引するシグナル」として作用したり、「周りの同種の植物の抵抗性増大を促す植物間コミュニケーション化合物」として働くことが証明されている。この研究事実から、揮発性物質の中にはプラントコントロール剤の基剤となるも

のがあると考えられる。特に、植物生育促進作用を有す揮発性物質は、化学肥料や化学農薬の代替品として使用できるため、環境保全型農業を進めていく中では非常に貴重な技術であると考えられる。しかしながら、揮発性物質の植物生育促進作用の研究報告は非常に少なく、特に菌類が放つ揮発性物質に関しては、ほとんど明らかとなっていない。

2. 目的

本研究では、微生物が産生する”香り”の機能性を科学的に解明し、植物生育促進作用を示す香気物質を利用した全く新しいスタイルのプラントコントロール剤の開発を目指すと共に、香気物質の機能性を応用した環境対応型スポーツ関連製品および次世代認知機能賦活剤の開発を行うことを目的とした。その中でも平成 20 年度においては、微生物が産生する揮発性物質の植物生育促進作用の解明。孟宗竹に含有されるセロトニン誘導体の有効利用の検討及びスポーツ関連製品の開発。番紅花(バンコウカ)の特徴香気成分であるサフラナルの生物変換反応の検討。テルペノイド及び植物精油の β -セクレターゼ阻害活性スクリーニングを行った。

3. 研究組織

- ・近畿大学理工学部応用化学科生物工学研究室
- ・株式会社 ミリオナ化粧品
- ・株式会社 ルック
- ・高砂薬業 株式会社
- ・扶桑薬品工業 株式会社
- ・エアアロマ 株式会社

4. 研究方法

①香り物質によるプラントコントロール剤の開発

1) 植物生育促進作用の活性成分の探索及び植物生育促進剤の開発。

(担当：株式会社ミリオナ化粧品、近畿大学理工学部応用化学科生物工学研究室 (宮澤教授))

②環境対応型スポーツ製品の開発

1) 孟宗竹に含有される成分の解明。

(担当：株式会社ルック、近畿大学理工学部応用化学科生物工学研究室 (宮澤教授))

2) 孟宗竹含有成分(セロトニン誘導体)の生理活性試験。

(担当：株式会社ルック、近畿大学理工学部応用化学科生物工学研究室 (宮澤教授))

3) 孟宗竹含有成分(セロトニン誘導体)を配合した環境対応型スポーツ製品の開発。

(担当：株式会社ルック、近畿大学理工学部応用化学科生物工学研究室 (宮澤教授))

③生薬関連機能性原料の開発

1) ハスモンヨトウを生体触媒として用いたサフラナルの変換反応の検討。

(担当：高砂薬業 株式会社、近畿大学理工学部応用化学科生物工学研究室 (宮澤教授))

④香り物質による次世代認知機能賦活剤の開発

1) テルペノイド及び植物精油について β -セクレターゼ阻害活性試験の検討。

(担当：アットアロマ 株式会社、近畿大学理工学部応用化学科生物工学研究室 (宮澤教授))

2) Ninchi+ の改良品の開発。

(担当：アットアロマ 株式会社、近畿大学理工学部応用化学科生物工学研究室 (宮澤教授))

5. 研究成果

①香り物質によるプラントコントロール剤の開発

植物生育促進作用の活性成分の探索及び植物生育促進剤の開発

平成 19 年度にて、タバコ植物を用いた新しい試験系を指標に、微生物が生産する揮発性代謝物の植物成育促進作用の検討を行ない、*Phoma* sp. GS8-3 菌株が培養初期段階に産生する揮発性物質が植物成育促進作用を示すことを見いだした。また、*Phoma* sp. GS8-3 菌株の培養初期段階に産生される揮発性物質であった 2-メチルプロパノール、3-メチルプロパノール、メタクリル酸及びチグリン酸が植物成育促進作用に大きく関与していることを明らかにした。さらに、人工的に調製した植物生育促進剤においても、0.018 ng~1.8 ng 範囲内の濃度で植物成育促進作用を有することが確認できたため、これらの研究成果の特許申請を行った (平成 20 年 1 月 11 日出願、特願 2008-3885)。

②環境対応型スポーツ製品の開発

孟宗竹に含まれる成分の解明

孟宗竹(*Phyllostachys pubescence*)は中国、朝鮮半島、日本等に分布する竹の一種であり、日本で最も広く見られる竹である。現在、日本の竹林の約 65%を占める孟宗竹は、竹林の整地、生育を維持する観点から年間で約 16 万 t 伐採、廃棄されている。一部では伐採された孟宗竹の有効活用として肥料や竹炭等に利用されているが、更なる有効活用が望まれている。そこで本研究は、これら孟宗竹に含まれる化学成分の新たな機能性を探索及びスポーツ製品への応用を行なうことにより、天然資源の有効活用及び環境対応型スポーツ製品の開発を目指した。

孟宗竹をメタノールで抽出を行い、各種溶媒(ヘキサン・ジクロロメタン・酢酸エチル・ブタノール)によって各転溶部を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて酢酸エチル転溶部より、セロトニンとケイヒ酸誘導体がアミド結合したセロトニン誘導体である *N-p*クマロイルセロトニン(2)を単離した。また種々のセロトニン誘導体の探索を目的とし、6 種のケイヒ酸誘導体を用い、活性化剤として HOBT、脱水縮合剤として EDC を用いて、各種ケイヒ酸のカルボキシル基とセロトニンのアミノ基とを縮合させ、化合物 1-6 を得た(図 1)。合成したセロトニン誘導体を用いて、孟宗竹内での各種セロトニン誘導体の存在確認を HPLC 分析により行った。その結果、酢酸エチル抽出部を酸処理して得た塩基性フ

ラクシオンより、新たにフェルロイルセロトニン(3)及び、新規セロトニン誘導体化合物であるシナポイルセロトニン(6)の存在を確認した。

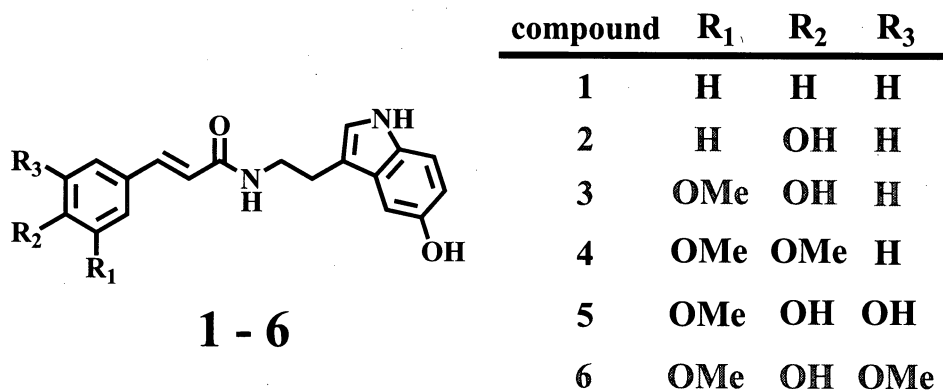


図 1. セロトニン誘導体の構造

孟宗竹含有成分(セロトニン誘導体)の生理活性試験

孟宗竹に含有されていたセロトニン誘導体及び合成したセロトニン誘導体について化学的有用性を明らかにする目的で、抗酸化活性試験、チロシナーゼ阻害活性試験、β-セクレターゼ阻害活性試験を実施した。

抗酸化活性試験は、ラジカル捕獲能試験である DPPH 試験において検討を行った。その結果、各種セロトニン誘導体は一般的な抗酸化剤である BHT と比較して 2-5 倍の強い抗酸化活性を有していることが確認できた。特に、孟宗竹に存在した *N*-*p*-クマロイルセロトニン(2)及びフェルロイルセロトニン(3)は強い抗酸化活性を有しており、それぞれの IC₅₀ 値は 21.8 μM 及び 20.9 μM であった(図 2)。

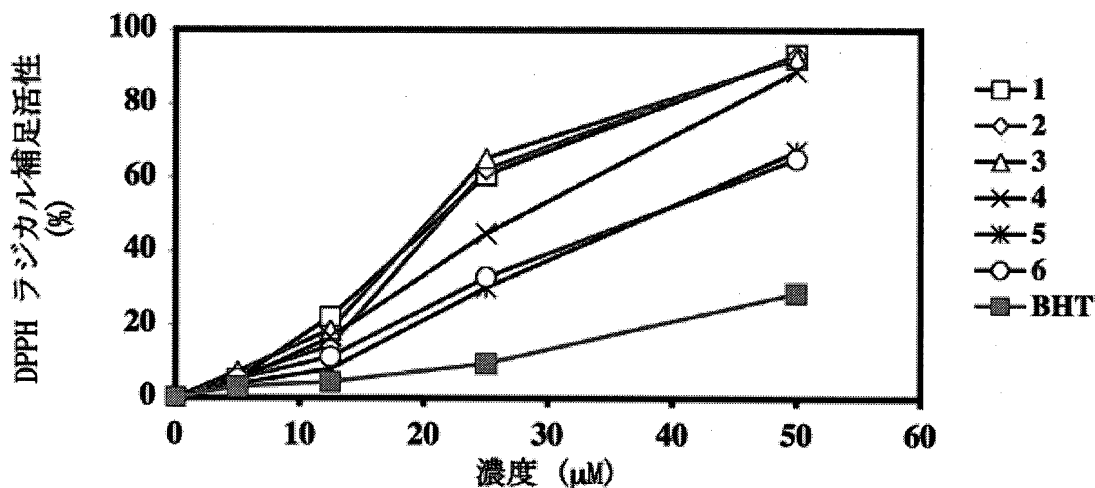


図 2. セロトニン誘導体の DPPH ラジカル補足活性

次に、化粧品への有効利用に向けて、美白効果が期待されるチロシナーゼ阻害活性試験

の検討を行った。女性にとってシミ、ソバカスはシワや白髪と並んで、美容上の大きな悩みの一つであり、肌を白くしたいと言う消費者のニーズから、多くのメラニン生成抑制剤が開発されている。メラニン色素は生体内アミノ酸であるチロシンを基質として、紫外線によって誘発されるチロシナーゼの作用により生合成されることからチロシナーゼ活性に対し抑制作用があれば、日焼けによる色素沈着、シミ、ソバカスを防止することが可能であると考えられる。各種セロトニン誘導体のチロシナーゼ阻害活性試験の結果、孟宗竹に存在していた *N-p*-クマロイルセロトニン(2)及びフェルロイルセロトニン(3)は、比較標準物質であるアルブチンより 10 倍以上の強いチロシナーゼ阻害活性を示すことが明らかになった(図 3)。また、チロシナーゼ阻害活性のセロトニン誘導体構造活性相関としては、4'位の水酸基がチロシナーゼ阻害活性に強く関与していることが示唆され、また 4'位に水酸基を有していても化合物 5 及び 6 の様に両端に置換基が存在すると活性が失われることが示唆された。また、これらの研究成果については特許申請を行っている(平成 21 年 1 月 29 日出願、特願 2009-17757)。

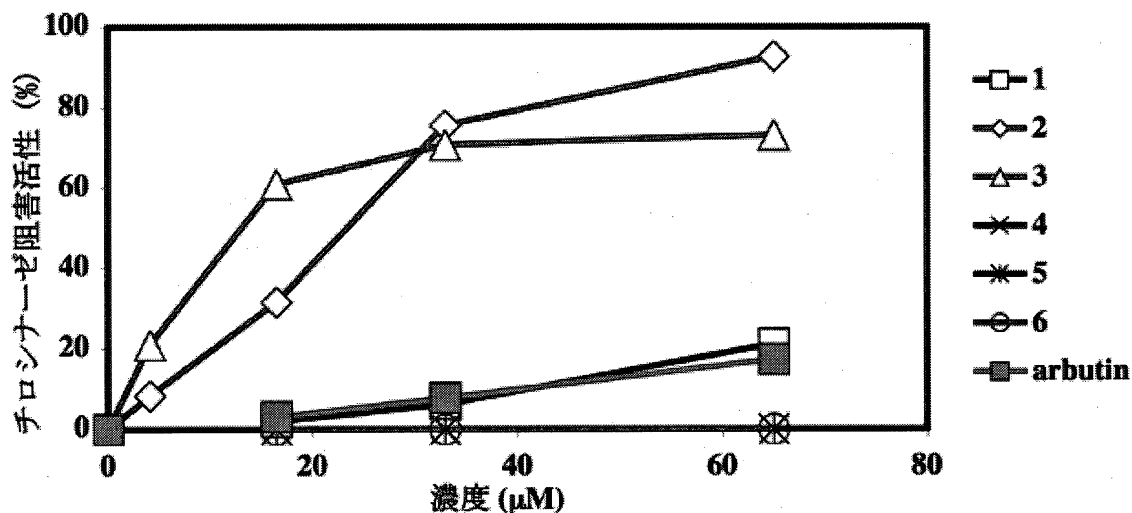


図 3. セロトニン誘導体のチロシナーゼ阻害活性

次に、認知機能賦活効果が期待されるβ-セクレターゼ阻害活性試験の検討を行った。人口の高齢化に伴い、老人性認知症患者数は増加の一途を辿り、認知症の防止が社会的にも重要な課題になってきている。認知症には、脳血管性認知症とアルツハイマー型認知症の 2 種類があるが、アルツハイマー型認知症がその大部分を占めている。アルツハイマー病発症患者に見られ、認知症の原因と考えられる老人斑は、脳内のアミロイド前駆体タンパクがセクレターゼによって切断されアミロイドβ蛋白質が生成、その後アミロイドβ蛋白質が凝集、蓄積され、形成される。これによって神経細胞死が起こり、アルツハイマー病を発症すると考えられる。そのため、セクレターゼ酵素を阻害することによって、アルツハイマー型認知症を予防できると考えられている。各種セロトニン誘導体のβ-セクレターゼ

阻害活性試験の結果、シンナモイルセロトニン(1)、N-*p*クマロイルセロトニン(2)及びシナポイルセロトニン(6)は他の誘導体と比較して、強いβ-セクレターゼ阻害活性が確認できた(図 4)。

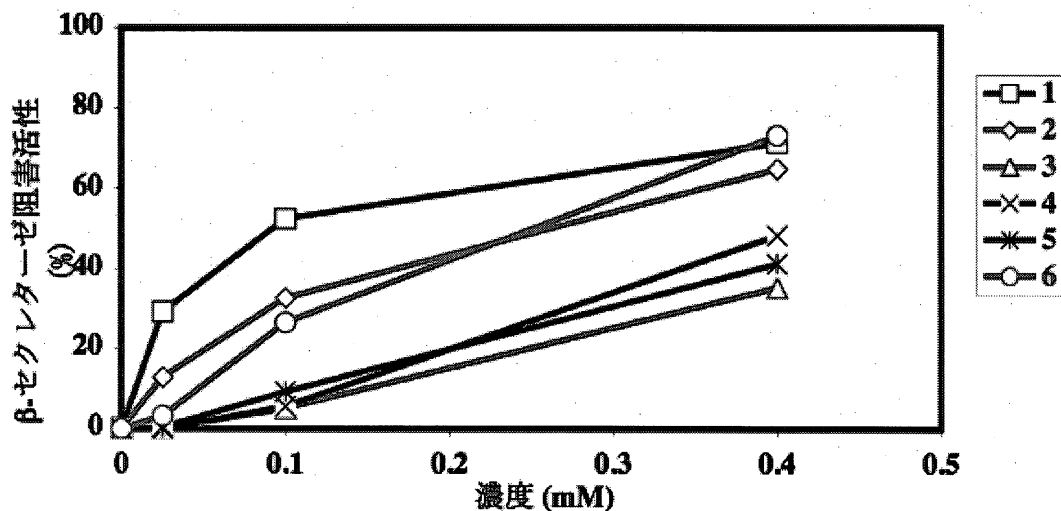


図 4. セロトニン誘導体のβ-セクレターゼ阻害活性

孟宗竹含有成分(セロトニン誘導体)を配合した環境対応型スポーツ製品の開発

孟宗竹より見いだしたセロトニン誘導体について、環境対応型スポーツ製品への応用研究として、野球グラブの保革油の検討を行った。保革油は、製造時や経時的な酸化を受け、劣化という現象を起こすため、人体に対して安全で、生分解性を有した抗酸化物質が求められている。そこで、DPPH 試験において強い抗酸化活性が見いだされたセロトニン誘導体を使用し、実際に油の酸化を防止するかの試験を行った。試験方法としては、製品である保革油に対して N-*p*クマロイルセロトニン(2)またはフェルロイルセロトニン(3)を 1 重量%添加し、室温にて一ヶ月間放置し、その後、油の酸化によって生じたアルデヒド化合物の量をカルボニル試験により測定し、酸化劣化の進行を確認した。その結果、無添加の保革油と比較して、セロトニン誘導体を添加した系では、酸化によるアルデヒドの生成が 90%以上抑制されていた(図 5)。この結果より、孟宗竹の特徴的成分であるセロトニン誘

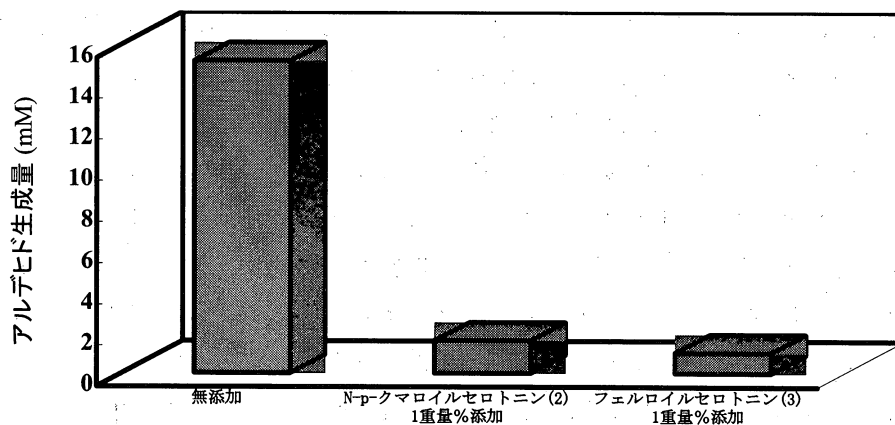


図 5. 保革油におけるセロトニン誘導体の抗酸化活性

導体を用いることで、実際の製品である保革油の酸化劣化を抑制する働きがあることが確認できた。また、有効利用の可能性が見いだせた N-*p*-クマロイルセロトニン(2)及びフェルロイルセロトニン(3)は、孟宗竹 1 kg に対して 32 及び 11 mg/kg の収量で得られることより、年間予想される廃棄物量(12 万 t/年)から計算すると、年間約 5.2 t の有用なセロトニン誘導体を得ることが可能と考えられた。

③生薬関連機能性原料の開発

ハスモンヨトウを生体触媒として用いたサフラナールの変換反応の検討

サフラン(*Crocus sativus*)を基源とする番紅花は、古くより鎮静、鎮痛、通経作用に用いられてきた生薬であり、精油中にサフラナールを主成分として含有していることが知られている。また、この特徴的な香気成分であるサフラナールにも鎮静、鎮痛作用がある。そこで、サフラナールをリード化合物として天然型の新規生理活性物質を生産する目的で、昆虫であるハスモンヨトウの幼虫を生体触媒として用いた変換反応の検討を行った。ハスモンヨトウ(*Spodoptera litura*)はヤガ科昆虫で、温帯地域に広く分布し農作物の害虫として知られている。種々の植物を常食していることから、ハスモンヨトウの生体内酵素は植物成分を代謝する能力が高いと考え、4~5 齢まで育成したハスモンヨトウ幼虫を生体触媒として使用した。変換反応には、サフラナールを 5 mg/g diet の濃度で混入した人工飼料(トウロク豆:100 g、寒天:12 g、水:600 mL)を、ハスモンヨトウ幼虫(4~5 齢)に経口投与することにより行った。その結果、幼虫より得られた排出物のジエチルエーテル抽出物において、基質由来の変換生成物が GC-MS 測定により観測された。

④香り物質による認知機能賦活剤の開発

テルペノイド及び植物精油についてβ-セクレターゼ阻害活性試験の検討

人口の高齢化に伴い老人性認知症の患者数は増加の一途を辿り、日本では現在 180 万人と推測されており大きな社会問題である。現在、認知症に対する研究は精力的に行われているが、病態成立の中核をなす神経細胞死の抑制・防止を可能とする根本的治療薬は未だ開発されていない。認知症は、脳内アセチルコリン量の脳内低下が直接的な原因であると考えられている。従って、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害活性を発現する成分を用いて、脳内アセチルコリン量を高めることができれば、症状改善が期待できる。また昨今、AChE 活性の低下には、患者の脳内に沈着する老人斑の主成分アミロイドβ蛋白質の切断が関与し、一方、アミロイドβ蛋白質生成にはβ-セクレターゼ (BACE1)が深く関与している事が判明した。β-セクレターゼ阻害活性を示す成分を用いて、このアミロイドβ蛋白質生成を抑制すれば、症状改善の可能性があると考えられている。そこで本研究は、香り物質であるモノテルペノイド及びセスキテルペノイドについてβ-セクレターゼ阻害活性試験を行い、香り物質による認知機能賦活剤の開発を目指した。40 種類のモノテルペノイド及び 22 種類のセスキテルペノイドについて、LanthaScreen™ TR-FRET BACE1 Assay

(invitrogen 社)を用いた β -セクレターゼ阻害活性検討の結果、一部の化合物において強い活性を見いだすことに成功した。また、平成 19 年度にて構成成分を明らかにした孟宗竹精油について β -セクレターゼ阻害活性の検討を行った結果、孟宗竹精油が β -セクレターゼ阻害活性を示し、その IC_{50} 値は 98 mg/mL であることが明らかになった。

6. 今後の展開

- 1) 香り物質による植物生育促進剤の最終製品化を行う。
- 2) 孟宗竹に含まれる化学成分の機能性を応用した環境対応型スポーツ関連製品の開発。
- 3) 認知症の原因のひとつといわれるアミロイドタンパクの脳内への蓄積を予防する植物精油の検討および次世代認知機能賦活剤の開発。