

氏名	高橋 俊之		
学位の種類	博士(工学)		
学位記番号	工第193号		
学位授与の日付	平成24年3月22日		
学位授与の要件	学位規程第5条第1項該当		
学位論文題目	Development of Functional Cosmetics Using Naturally Occurring Serotonin Derivatives (天然型セロトニン誘導体を利用した機能性化粧品開発に関する研究)		
論文審査委員 (主査)	教授	宮澤	三雄
(副主査)	教授	南	武志
(副主査)	准教授	古南	博

本研究では、天然型セロトニン誘導体を利用した機能性化粧品開発を目的として、以下二章からなる研究を行っている。一章では、美白化粧品への応用の観点から抗酸化試験、チロシナーゼ阻害活性試験、また低刺激性化粧品開発を目的とし、抗炎症試験を行いその有効性についての検討し、またさらなる機能性開発を目的として、認知機能改善効果を目的としたβ-セクレターゼ阻害活性試験、糖尿病予防効果及び治療として期待されるα-グルコシダーゼ阻害活性の検討も行っている。さらにセロトニン誘導体の代謝研究の一環としてハスモンヨトウ (*S. litura*) を用いた生物変換について検討している。第二章では、植物資源の有効利用の観点から三種類の天然物(孟宗竹、紅花、及びヤマブシタケ)からの有用成分の抽出と有効利用について検討している。

第一章 セロトニン誘導体の生理活性

本章では、天然型セロトニンの有用性を見出すべく、始めに化粧品への利用の観点から、抗酸化試験、チロシナーゼ阻害試験、抗炎症試験を行っている。その結果、抗酸化試験においては、どのセロトニン誘導体においても強い抗酸化活性が確認された。特にカテコール構造を有する4に強い抗酸化活性が確認された。セロトニン、及び一連のケイヒ酸誘導体(1a-8a)に関しては比較物質として用いた

BHTより強い抗酸化活性が確認されなかったことから、セロトニン誘導体のアミド結合が抗酸化活性に大きく関与することを明らかにしている。また還元体であるジヒドロセロトニン誘導体においても強い抗酸化能を見

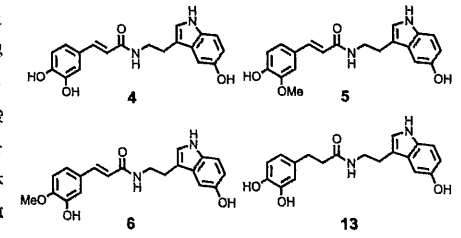


Fig. 1. Chemical structures of compounds 4, 5, 6 and 13

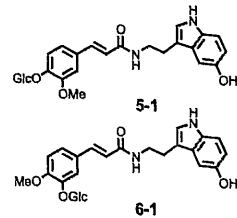
出している。さらに、チロシナーゼ阻害活性については、*N*-feruloyl serotonin (5) ($IC_{50}=8.0 \mu M$), *N*-isoferuloyl serotonin (6) ($IC_{50}=5.4 \mu M$)において比較物質として用いたアルブチン($IC_{50}=201.2 \mu M$)よりも遥かに強い阻害活性を有している事を明らかにしている。構造活性相関については、オルトメトキシ基を有する構造において、高い阻害効果がある事を明らかにしている。さらに *N*-dihydro caffeoyl serotonin (13) ($IC_{50}=0.2 \mu M$)においては、両化合物を遥かに凌ぐチロシナーゼ阻害活性を有している事を明らかにしている。一連の天然型セロトニン誘導体において、非常に強い阻害活性を示した6および13についての阻害形式をLineweaver-Burkプロットによって検討した結果、両者とも、非拮抗阻害である事を明らかにしている。

抗炎症試験においては、*N*-caffeoyl serotonin (4) および *N*-sinapoyl serotonin (8)が比較物質のアスピリンと比較して、強いCOX-2阻害効果を示した。特に4においては、非常に高いCOX-2

阻害効果が確認され、副作用の少ない抗炎症剤としても有用である事を見出している。セロトニン構造の重要性について精査するため、ケイヒ酸誘導体、及びセロトニンの評価を行った結果、4はセロトニン誘導体になることで阻害活性が向上することを明らかにしている。また、ケイヒ酸部分である caffeic acid (4a)においても、選択的 COX-2 阻害効果が確認された事より、4の COX-2 選択的阻害効果はケイヒ酸構造に起因している考察している。4および4aについては、Lineweaver-Burk プロットによって阻害形式について検討した結果、反拮抗阻害である事を確認している。

さらに機能性食品への応用の観点から、β-セクレターゼおよびα-グルコシダーゼの阻害効果について検討している。β-セクレターゼ阻害試験からは、二種のセロトニン (1 および 9) における阻害効果を確認している、また、α-グルコシダーゼ阻害試験より、2 および 4 において強い阻害効果を確認し比較物質として用いたアカルボースの20倍もの阻害効果がある事を見出している。以上の事よりβ-セクレターゼ阻害試験

結果より認知機能改善効果、α-グルコシダーゼ阻害試験結果より糖尿病予防、治療効果のある機能性食品への応用の可能性を見出している。さらに有用性だけでなくセロトニン誘導体の代謝研究の一環として、昆虫(*Spodoptera litura*)を用いた生物変換について検討している。化合物3からは、



脱メチル化が進行した、化合物2を、また Fig. 2. Metabolites from biotransformation by *S. litura* 化合物5および6からは、3'および4'位に糖化反応が進行した5-1 および6-1をそれぞれ得ている。一連の結果より、ハスモンヨトウの糖化反応に関与する酵素が、ケイヒ酸構造のオルトメトキシ基を認識し代謝している事を示している。また、植物においては、5位に糖が結合した化合物が報告されているが、ハスモンヨトウにおいては、5位ではなく4' および3'位を特異的に糖化が進行することを明らかにしている。

第二章 天然物の有効活用

本章では、天然資源の有効利用として、環境側面から植物廃棄物である、孟宗竹および紅花種子脱脂粕の有用性を見出すべく、孟宗竹からは、揮発成分、不揮発性分を用いて認知機能改善として期待されるβ-セクレターゼ阻害活性試験を行っている。また、紅花種子脱脂粕においては、α-グルコシダーゼ阻害効果について検討している。また、新規有用性物質を見出すことを目的とし、近年注目されているキノコ(ヤマブシタケ)の構成成分およびその有用性について検討している。

孟宗竹からは、2種のセロトニン化合物(2および5)を含む5種の化合物を単離している。一方、揮発性油については、収率0.1%で得ている。得られた化合物、揮発性油についてβ-セクレターゼ阻害効果を検討したところ、揮発性油においては、濃度依存的に阻害効果が確認され、そのIC₅₀値は78.4 μg/mlである事を示している。この事より、竹の揮発性油の香りを嗅ぐ事によって、認知機能の改善効果の可能性を示し、単なる植物資源から有用資源へと繋げる可能性を見出している。

次に紅花種子脱脂粕については、3種のセロトニン化合物を含む4種の化合物を単離し、そのα-グルコシダーゼ阻害効果について検討し、非常に有用なセロトニン化合物2、および5を大量に含有している植物資源であることを見出し、有用なセロトニン誘導体を大量に得る上で非常に有用な植物資源であると示している。

ヤマブシタケからは、新規化合物3種を含む、計5種の化合物を単離し、有用性開発の一環としてα-グルコシダーゼ阻害効果について検討している。その結果、2種の新規化合物23, 24, および 既知化合物26, 27 においては、非常に強いα-グルコシダーゼ阻害活性を見出し、それぞれのIC₅₀値は12.3, 12.3, 11.7 および12.5 μMである事を示している。この結果より、ヤマブシタケの更なる有用性を見出している。

以上、本論文において、天然型セロトニン誘導体を用いた抗酸化活性、チロシナーゼ阻害活性、シクロオキシゲナーゼ阻害活性、さらには天然型セロトニン誘導体の更なる新規有用性を見出すべく、β-セクレターゼ阻害活性、α-グルコシダーゼ阻害活性を評価し、その構造の特異性、重要性、また構造活性相関を明らかにしている。これら天然型セロトニン誘導体は置換基によってもその作用も大きく異なる。これら一連の活性を有する天然型セロトニンを利用することで極めて付加価値の高い化粧品への応用の可能性を見出している。また、植物資源、特に竹、紅花のオイルケーキより利用できるセロトニン誘導体は植物資源を有用資源へと発展させる足がかりになると考え、一連のセロトニン誘導体の有用性から、天然型機能性化粧品への開発に貢献できる可能性を見出している。

論文審査結果の要旨

本論文では、天然型セロトニン誘導体を利用した機能性化粧品開発を目的として、以下二章からなる研究を行った。一章では、有用成分として期待される天然型セロトニン誘導体の生理活性として、美白化粧品への応用の観点からチロシナーゼ阻害活性試験、また低刺激性化粧品開発を目的とし、抗炎症試験を行いその有効性について述べている。また、サプリメントなどの機能性食品の開発を目的として、認知機能改善効果を目的とした β -セクレターゼ阻害活性試験、糖尿病予防効果及び治療として期待される α -グルコシダーゼ阻害活性について、さらにセロトニン誘導体の代謝研究の一環としてハスモンヨトウ (*S. litura*) を用いた生物変換について述べている。二章では、植物資源の有効利用の観点から三種類の天然物 (孟宗竹、紅花、及びヤマブシタケ) からの有用成分の抽出と有効利用について述べている。

第一章では、まず、化粧品利用の観点から、抗酸化試験、チロシナーゼ阻害試験、抗炎症性試験を行い、一連のセロトニン誘導体に強い抗酸化活性を見出し、そのセロトニン構造の重要性についても述べている。次にチロシナーゼ阻害試験においては、二種のセロトニン化合物 *N*-feruloyl serotonin (5) ($IC_{50}=8.0 \mu M$)、*N*-isoferuloyl serotonin (6) ($IC_{50}=5.4 \mu M$) が比較物質として用いたアルブチン ($IC_{50}=201.2 \mu M$) よりも遥かに強い阻害活性を有している事を明らかにしている。またその構造の重要性についても明らかにしている。さらに、*N*-dihydro caffeoyl serotonin (13) ($IC_{50}=0.2 \mu M$) においては、両化合物を遥かに凌ぐチロシナーゼ阻害活性を有している事を明らかにするとともに、チロシナーゼ阻害活性の高い化合物 6 および 13 の酵素阻害形式についても明らかにしている。さらに抗炎症試験においては、*N*-caffeoyl serotonin (4) が比較物質のアスピリンと比較して、非常に強い COX-2 阻害効果を有している事を明らかにしている。特に 4 においては、セロトニン構造の重要性について精査し、ケイヒ酸部において COX-2 選択阻害効果があること、更にはセロトニン誘導体とすることによる阻害活性の向上にも成功している。

次にサプリメント等の機能性食品への応用の観点から β -セクレターゼおよび α -グルコシダーゼの阻害効果について検討し、 β -セクレターゼ阻害試験からは、二種のセロトニン (1 および 9) における阻害効果を見出す事に成功している。また、 α -グルコシダーゼ阻害試験より、2 および 4 においては比較物質として用いたアカルボースの 20 倍もの阻害効果が強い阻害効果を見出している。これらの結果より β -セクレターゼ阻害試験結果からは認知機能改善効果、 α -グルコシダーゼ阻害試験結果から糖尿病予防、治療効果のある機能性食品開発の可能性を見出している。次に一連の天然型セロトニン誘導体の代謝研究の一環として、昆虫 (*Spodoptera litura*) を用いた生物変換について検討し、化合物 3 からは、脱メチル化が進行した、化合物 2 を、また化合物 5 および 6 からは、3' および 4' 位に糖化反応が進行した 5-1 および 6-1 の生産に成功している。また、その結果より、ハスモンヨトウの糖化反応に関与する酵素が、ケイヒ酸構造のオルトメトキシフェノール基を認識し代謝している事を明らかにしている。

第二章では、天然資源の有効利用として、3種の天然物 (孟宗竹、紅花およびヤマブシタケ) の成分に着目し、孟宗竹、紅花からは、環境側面からの有効利用について、ヤマブシタケからは新規有用物質についての検討を行っている。孟宗竹から得た揮発性油が、濃度依存的に β -セクレターゼを阻害している事を示し、孟宗竹の香気を嗅ぐことによる認知症の化学予防への可能性を見出すことに成功している。紅花からは、非常に有用性の高いセロトニン誘導体を効率的に得、その植物資源が有用資源として活用できる可能性を見出している。ヤマブシタケにおいては、3種の新規化合物を単離したことに加えて、それらの α -グルコシダーゼ阻害効果を示し非常に有用な天然資源である事を明らかにしている。

これらの研究内容は学術誌 *Phytochem. Anal.*, *Pharmazie.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, *Med. Chem. Res.*, *Phytother. Res.* および *Tetrahedron* で公表されており、学位論文として高く評価される。

以上、本論文で述べられた知見は、多数の独創性と優れた結果を含み、学術的にも工業的にも価値があり、博士 (工学) 論文として値すると認めた。