

次世代アロマ用品の開発

—認知機能を高める芳香療法剤—

報告者 近畿大学理工学部応用化学科 教授 宮澤三雄
学内共同研究者 大学院総合理工学研究科 PD 奥野祥治
大学院総合理工学研究科 M1 河田純一
理工学部応用化学科 B4 永井紗耶香
共同研究企業 アース・スタジオ株式会社
株式会社 大阪製薬
株式会社 ユタカファーマシー
小川香料株式会社

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、化学的に解明され、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」を一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、病気の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、我が国において高齢化が認識されるようになって久しく、2015年には65歳以上の老人は全人口の4人に1人を占めることが予想されている。人口の高齢化に伴いわが国の老人性痴呆症患者数は増加の一途を辿り、痴呆症の防止が社会的にも重要な課題になってきている。痴呆症には、脳血管性痴呆とアルツハイマー型痴呆（アルツハイマー病）の2種類があるが、アルツハイマー型痴呆がその大部分を占めている。アルツハイマー病患者の脳内では、神経伝達物質であるアセチルコリン（ACh）の低下がみられることから、予防・改善法として、AChを分解するアセチルコリン分解酵素（アセチルコリンエステラーゼ（AChE））の働きを阻害することにより脳内のACh濃度が増加して、神経伝達系が改善され、知能機能が改善されるのではないかとという仮説（コリン仮説）に基づきアセチルコリンエステラーゼ阻害剤の研究が進められている（図1）。

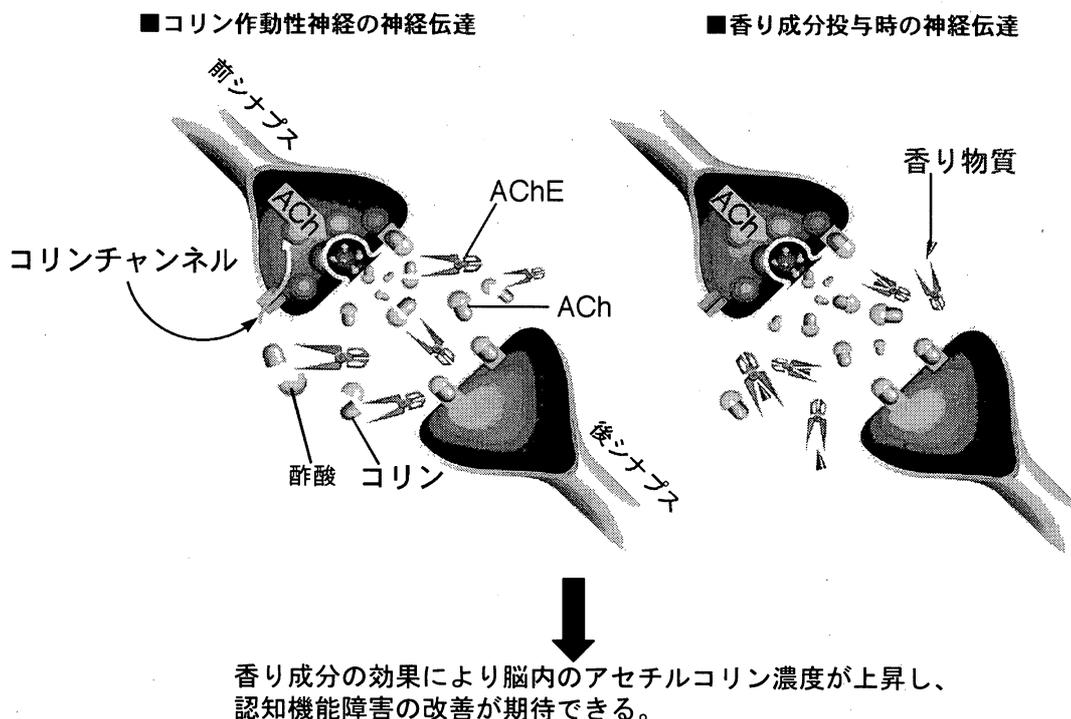


図 1. 脳内において期待できる香り成分の作用機序

我々はこれまでに「香り」の機能性として、ハッカ、グレープフルーツなどの精油成分による痴呆症予防効果（アセチルコリンエステラーゼ阻害活性）について見いだしてきた。本研究では、痴呆の進行を抑制する「香り」を探求し、その物質を、高齢者が生活する居住空間（病院，老人ホーム，一般家庭など）にディフューザーを用いて計画的に拡散する方法を研究している。この方法は、従来の薬物療法や、運動療法など人体への影響を伴うものとは異なり、日常の生活空間で香りを楽しむと同時に呼吸器官より体内に吸収された物質が、痴呆予防効果を発揮するものである。

2. 目的

本研究の目的は、香りの機能性を科学的に解明し、それを用いてさまざまな疾患予防のため生活空間に“香りを演出”することにより、生活の質の向上（Quality of Life）を目指す全く新しいスタイルの製品を開発することである。その中でも、本年度においては認知機能を高める芳香療法剤に開発を目指した。

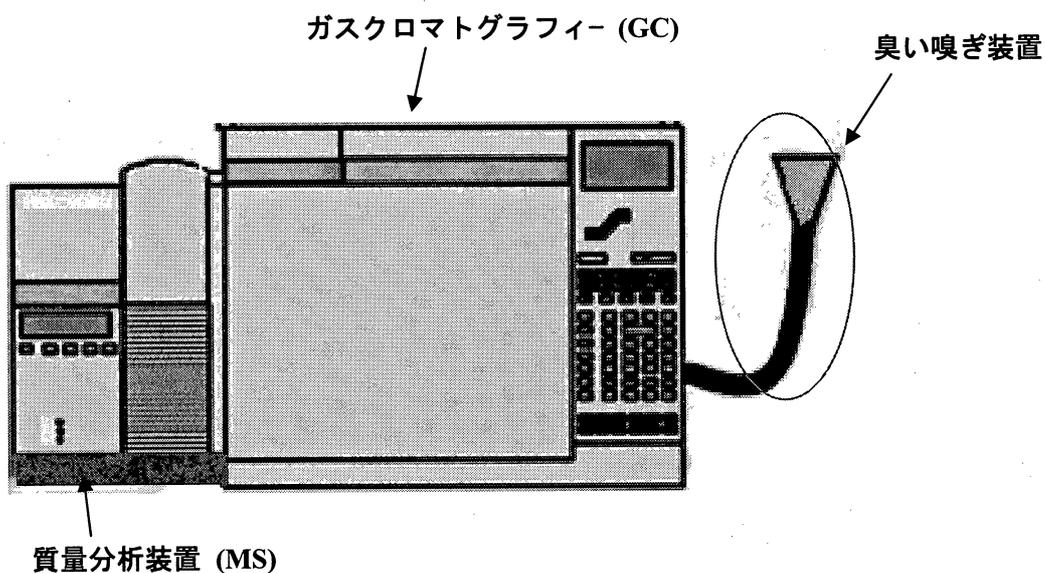
3. 研究組織

- ・近畿大学工学部応用化学科生物工学研究室
- ・アース・スタジオ株式会社
- ・株式会社大阪製薬

- ・株式会社 ユタカファーマシー
- ・小川香料株式会社

4. 研究方法

- 1) 植物から連続水蒸気蒸留法により精油を採取し、質量分析装置付きガスクロマトグラフィー (GC-MS) により精油成分の同定を行うとともに、臭い嗅ぎ装置付きガスクロマトグラフィー (GC-Olfactometry (図 2)) により香気寄与成分を決定する。
(担当：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) 採取した精油のアセチルコリンエステラーゼ阻害活性 (図 3) について検討する。
(担当：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) アセチルコリンエステラーゼ阻害活性を示した精油中の活性成分について検討する。
(担当：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) 研究成果をベースに新規機能性香り製品の開発。
(担当：小川香料株式会社、アース・スタジオ株式会社)



ガスクロマトグラフィー中で分離され、臭い嗅ぎ装置から出てくる成分を直接鼻で臭って測定する

図 2. 臭い嗅ぎ装置付きガスクロマトグラフィー

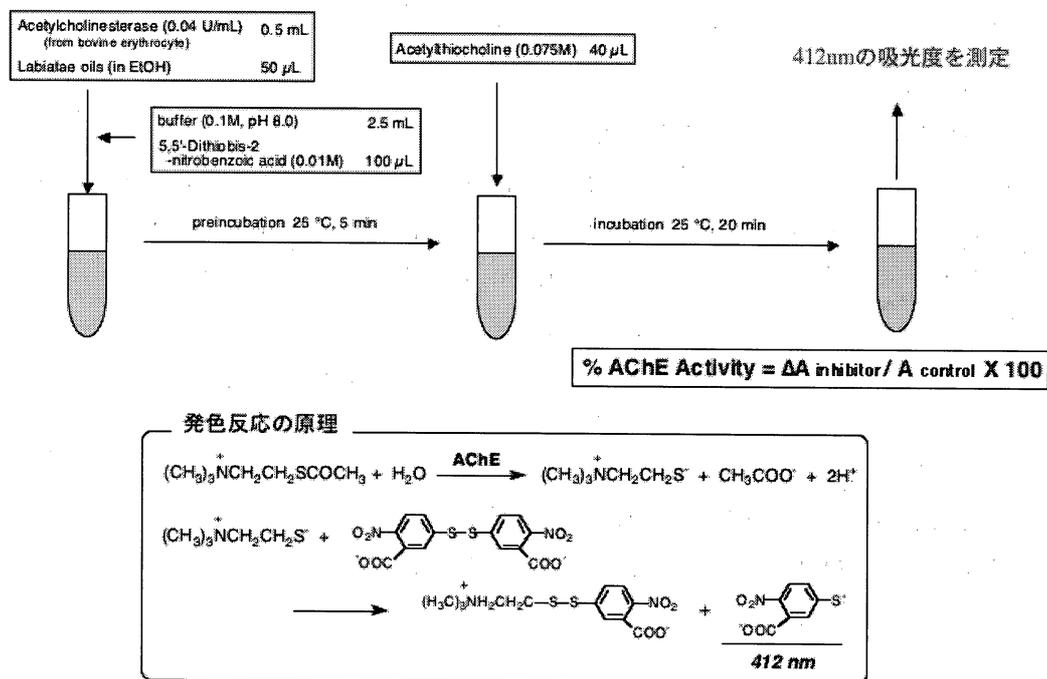


図 3. アセチルコリンエステラーゼ阻害試験

5. 研究成果

ティーツリーオイルによるアセチルコリンエステラーゼ阻害活性

ティーツリーオイルは強い防腐，抗菌性を持ち香料や化粧品に用いられている。ティーツリーオイルの GC-MS 分析による主成分を表 1 に示す。

表 1. ティーツリーオイルの主成分

Compounds	Peak area ^a (%)
Terpinene-4-ol (1)	35.6
γ-Terpinene (2)	19.5
α-Terpinene (3)	8.3
p-Cymene (4)	7.2
1,8-cineole (5)	4.4

^a Peak area were quantified using a HP 3396 series II integrator.

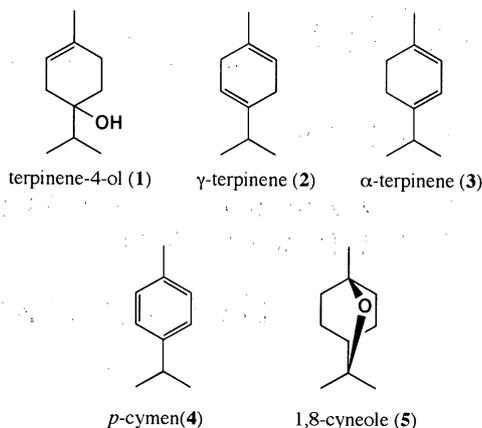


図 4. ティーツリーオイルの主要テルペノイド

まず、ティーツリーオイルおよびその成分を炭化水素部と含酸素部に分画した各フラクションについてアセチルコリンエステラーゼ阻害活性試験を行った。その結果、ティーツリーオイルにのみ強い阻害活性が見られ、その 50%抑制濃度である IC₅₀ は 51.2 μg/mL であった (表 2)。ティーツリーオイルは主成分として terpinen-4-ol、 γ -terpinene、 α -terpinene、*p*-cymene、1,8-cineole を含有していることから、これらの各成分と精油の阻害活性を比較したところ、表 2 に示すように単一成分よりも精油のそのものに強い阻害活性が見られた。そこで精油主成分が混合することにより強い活性が発現されるのではないかと考え、それらの競合作用について検討した。精油主成分をティーツリーオイル中での存在比になるように混合した mixture (terpinen-4-ol: γ -terpinene: α -terpinene:*p*-cymene:1,8-cineole = 36:20:8:7:4) はアセチルコリンエステラーゼ阻害試験において 69.5 μg/mL の濃度で IC₅₀ 値を示し、単独成分よりも強い活性が強められることを見いだした。

表 2. ティーツリーオイル、主要テルペノイドおよびその混合物によるアセチルコリンエステラーゼ阻害活性

	IC ₅₀ (μg/mL) or percentage inhibitory activity (50 μg/mL)
Tea tree oil	51.2
Hydrocarbon Fr.	(33.3%)
Oxgan-carbon Fr.	(25.5%)
Terpinen-4-ol (1)	(32.0%)
γ -Terpinene (2)	(31.7%)
α -Terpinene (3)	(34.0%)
<i>p</i> -Cymene (4)	(38.3%)
1,8-cineole (5)	49.0
Mixture	65.5

^a Concentration of compound (treatment) required for 50% enzyme inhibition as calculated from the dose-response curve.

^b The % AChE inhibition values (50 μg/mL) were calculated as compared to control (without terpenoids) enzyme activity (assumed to be 0% inhibition).

^c terpinen-4-ol: γ -terpinene: α -terpinene: *p*-cymene: 1,8-cineole = 36:20:8:7:4

双環性モノテルペノイドによるアセチルコリンエステラーゼ阻害

植物精油中に多く含まれる双環性モノテルペノイドのアセチルコリンエステラーゼ阻害活性について検討した。今回は図 5 に示した 17 種類の化合物を用いた。

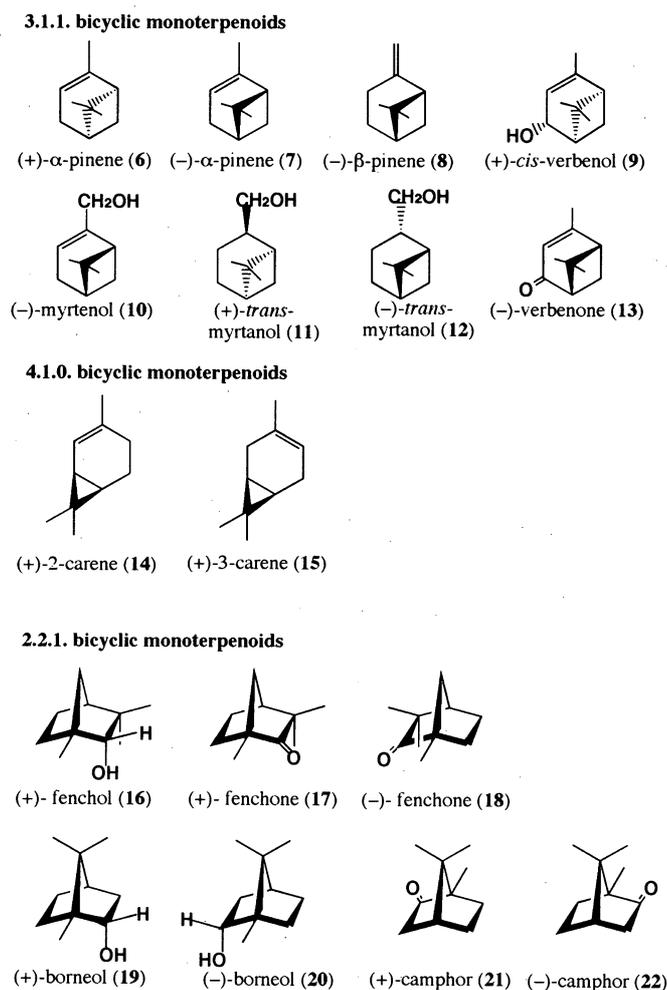


図 5. 双環性モノテルペノイド

その結果を表 3 に示した。ピナン骨格を有する (+)- および (-)- α -pinene (6, 7)、カラン骨格を有する (+)-3-carene (15) が強いアセチルコリンエステラーゼ阻害活性を示し、その IC₅₀ 値はそれぞれ 0.40、0.44、0.20mM であった。阻害活性における構造活性相関について検討したところ、アリル位のメチルを有する炭化水素が強い活性を示す傾向が見られた。

さらに、活性の強かった化合物 6、7 および 15 の酵素阻害形式について Lineweaver-Burk plot 法および Dixon plot 法を用いて検討した。図 6 には化合物 15 の結果を示す。化合物 6 および 7 においても同様の結果が得られ、これらの化合物のアセチルコリンエステラーゼに対する阻害形式は、酵素-基質複合体に作用して活性を示す非競合的阻害であることが明らかとなった。

表3. 双環性モノテルペノイドのアセチルコリンエステラーゼ阻害活性

Compounds	IC ₅₀ (mM) ^a or % inhibitory activity (1.0mM)
3.1.1. bicyclic (pinane skeleton)	
(+)- α -pinene (6)	0.40
(-)- α -pinene (7)	0.44
(-)- β -pinene (8)	(48.5%)
(+)- <i>cis</i> -verbenol (9)	(17.7%)
(-)-myrtenol (10)	(15.0%)
(+)- <i>trans</i> -myrtenol (11)	(37.1%)
(-)- <i>trans</i> -myrtenol (12)	(37.4 %)
(-)-verbenone (13)	(12.6 %)
4.1.0. bicyclic (carane skeleton)	
(+)-2-carene (14)	0.90
(+)-3-carene (15)	0.20
2.2.1. bicyclic (fenchane skeleton)	
(+)-fenchol (16)	(37.7 %)
(+)-fenchone (17)	(23.3 %)
(-)-fenchone (18)	(28.2 %)
2.2.1. bicyclic (camphane skeleton)	
(+)-borneol (19)	(22.2 %)
(-)-borneol (20)	(22.6 %)
(+)-camphor (21)	(26.4 %)
(-)-camphor (22)	(21.2 %)

^a Concentration of compound (treatment) required for 50% enzyme inhibition as calculated from the dose-response curve.

^b The % AChE inhibition values (1.0 mM) were calculated as compared to control (without terpenoids) enzyme activity (assumed to be 0% inhibition).

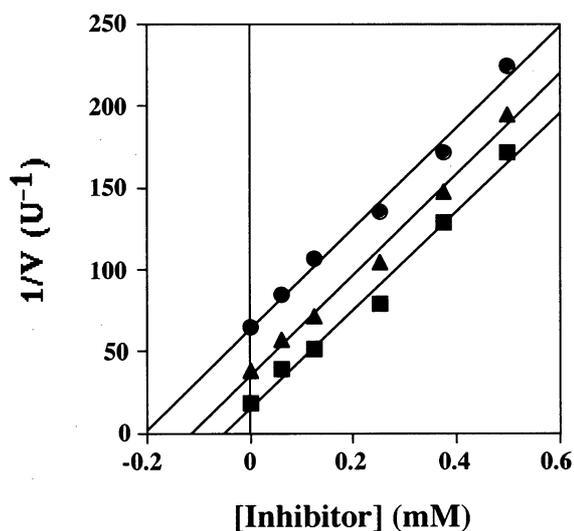


図 6. (+)-3-Carene (15)によるアセチルコリンエステラーゼ阻害活性における Dixon plots のグラフ

The Concentration of ATC are (●) 0.163 mM; (▲) 0.325 mM; and (■)0.650 mM.

上記の結果は、現在特許申請中である。

- ・アセチルコリンエステラーゼ阻害剤

(平成 16 年 11 月 9 日出願, 特願 2004-325219, 近畿大学)

6. 本研究費を用いた研究成果の発表

(特許) 1 件

アセチルコリンエステラーゼ阻害剤

(平成 16 年 11 月 9 日出願, 特願 2004-325219, 近畿大学)

(学術論文) 10 件

1. M. Miyazawa, H. Ando, Y. Okuno, H. Araki, Biotransformation of Isoflavones by *Aspergillus niger*, as Biocatalyst, *J. Mol. Catalysis B: Enzymatic*, 27, 91-95 (2004).
2. M. Miyazawa, Y. Miyamoto, Biotransformation of (1*R*)-(+)- and (1*S*)-(-)-Camphor by the Larvae of Common Cutworm (*Spodoptera litura*), *J. Mol. Catalysis B: Enzymatic*, 27, 83-89 (2004).
3. Y. Okuno, M. Miyazawa, Suppressive Components in *Salvia miltiorrhiza* against Trp-P-1 and Activated Trp-P-1-Induced SOS Response Using *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 Umu Test, *Lett. Drug Design and Discovery*, 1, 66-68 (2004).
4. M. Kubota, M. Hyakumachi, M. Miyazawa, Influence of Root Exudates from *Cucumis sativus* and *Daucus cartota* on Arbuscular Mycorrhizal Colonization, *J. Oleo Sci.*, 53, 207-210 (2004)
5. M. Miyazawa, Y. Miyamoto, Biotransformation of (+)-(1*R*,2*S*)-Fenchol by the Larvae of Common Cutworm (*Spodoptera litura*), *Tetrahedron*, 60, 3091-3096 (2004).
6. T. Ono, M. Miyazawa, Aroma Chemical Emitted from *Gerris paludum insularis*, *Nat. Prod. Res.*, 18, 215-217 (2004).
7. M. Miyazawa, T. Tsukamoto, J. Anzai, Y. Ishikawa, Insecticidal Effect of Phthalides and Furanocoumarins from *Angelica acutiloba* against *Drosophila melanogaster*, *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4401-4405 (2004).
8. Y. Okuno, M. Miyazawa, Biotransformation of Sinesetin by the Larvae of the Common Cutworm (*Spodoptera litura*), *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 1289-1292 (2004).
9. M. Miyazawa, T. Fujita, C. Yamafuji, M. Matsui, N. Kasahara, Y. Takagi, Y. Ishikawa, Chemocal Composition of Volatile Oil from the Roots of *Periploca sepium*, *J. Oleo Sci.*, 53, 511-513 (2004).
10. M. Miyazawa, J. Kawata, C. Yamafuji, Components of Essential Oil from Rootstock of *Coptis chinensis*, *Nat. Medicines*, 58, 222-225 (2004).

(学会発表等)

1. 日本化学会 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会

(平成 16 年 10 月 30 日～11 月 1 日)

- ・古代米蕈の精油成分
- ・和漢生薬（黄蓮・升麻・威靈仙）の精油成分

2. テクノメッセ 2004

(平成 16 年 11 月 10 日～11 日)

- ・生物による新規機能性香料原料の開発

7. 今後の展開

- 1) 16 年度出願した特許および研究成果をベースにして商業的入手可能な精油の調査を行うとともに、商品化の為のティーツリー精油と双環性モノテルペン炭化水素（得にカレン、ピネン類）を基本とした“香りのブレンドと痴呆予防機能性向上を目指した製品の開発。

- 2) 従来のディフューザー（香り噴霧装置）を改良し、用途に適したスタイルにする。

- 3) 試作品を老人介護施設等でテスト的に使用し、効果の評価を行なう。

- 4) 痴呆症の原因の一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

- 5) 植物成分からの新規有用性インセクトコントロール物質の探索

1～4) とは別途に、我々のこれまでの研究成果より、ある植物特有の香気物質に昆虫に対して強力な殺虫効果が見出されている。この成果を本研究の第 2 のテーマとして“香りで昆虫忌避・殺虫関連製品化を目指す。