

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19300244  
 研究課題名（和文） 認知機能賦活に関する植物香気物質の探索と応用  
 研究課題名（英文） Search and application of plant aroma chemicals for improvement in cognitive function  
 研究代表者  
 宮澤 三雄 (MIYAZAWA MITSUO)  
 近畿大学・理工学部・教授  
 研究者番号：40140305

## 研究成果の概要：

日本伝統野菜・帰化植物・生薬等計 21 種の植物から香気物質（精油）を得、精油構成成分及び香気特性を解明した。AChE 阻害活性については、モミジガサ及びヨブスマソウの精油が強い阻害活性を示した。 - セクレターゼ（BACE1）阻害活性については、数種の精油において阻害活性を有することを見出し、精油香気物質や生物変換生成物の一部にも有効な活性を有する物質があることを明らかにした。本研究成果から、認知機能賦活の生化学的要因に植物香気物質が有効である可能性を示唆した。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

## 研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・生活科学一般

キーワード：植物精油、認知症、アセチルコリンエステラーゼ阻害、 - セクレターゼ活性阻害、アミロイド

## 1. 研究開始当初の背景

認知症の根本的治療薬は未開発な状態であり、予防・改善法が全世界的に求められている。申請者は双環性モノテルペン類の一部にアセチルコリンエステラーゼ阻害活性を見出す等、認知症改善関与する生化学的実績が有しており、本件では植物が示す心地好い“香り”を楽しみながら、強力な生理活性物質（脳内アセチルコリン濃度の上昇、脳内老人斑生成の抑制等）認知症改善・予防両面へのアプローチ集束を行う画期的な「新芳香療法」の開発研究であると言える。

## 2. 研究の目的

本課題は植物由来の香気物質を用いて、認知機能を高める新しいタイプの「アセチルコリンエステラーゼ阻害剤及び - セクレターゼ阻害剤」開発研究である。植物がもつ香気物質の強力な生理活性機能の全貌を明らかにする研究の一環として、本件では、認知症改善・予防両面へのアプローチ集束を行う画期的な「新芳香療法」の開発である。実用化に対しては内服薬等の医薬品開発や化粧品としての開発とは異なり、一般生活環境下での

空間活用による用途も可能であり、摂取量も自然状態で少なくすみ、国民の一般生活環境空間活用で、機能性を発現させることができるまったく新しい方法である。副作用、毒性等は摂取量から考えて問題なく、実用化は容易と考えられる。臨床試験の代替は、試作品を介護施設等でテスト使用し、容易に効果評価できる。本研究の目的である認知症予防方法は現在、全世界的に広く求められており、一日も早く本研究を完成させる必要がある。

### 3. 研究の方法

#### (1) アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害活性を有する植物香気物質の解明

日本伝統野菜・帰化植物・インド生薬・タイハーブ等の数十種類の植物から連続水蒸気蒸留法により植物精油を得た。

上記で得た精油を GC/MS および GC/O (匂い嗅ぎ装置) を測定することにより精油構成成分及び香気特性を解明した。

AChE に対する上記で得た精油の阻害活性を Ellman らの方法を用いて検討した。

#### (2) - セクレターゼ (BACE1) 阻害活性物質の検索

- セクレターゼ阻害活性の測定は蛍光原性の セクレターゼ基質を用い in vitro での酵素阻害試験を行った。

(1) で得た精油に対する BACE1 阻害活性試験を行った。

精油香気物質の BACE1 に対する阻害活性試験について検討を行った。

#### (3) AChE または BACE1 阻害活性を示す香気物質からの新規活性物質の生産

新規物質の生産方法としては生体触媒 (微生物・昆虫) による生物変換の方法を用いて行った。

### 4. 研究成果

#### (1) アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害活性を有する植物香気物質の解明

連続水蒸気蒸留法により日本伝統野菜・帰化植物・インド生薬・タイハーブ計 21 種より植物香気物質 (精油) を得た。

上記で得た精油を GC/MS および GC/O (匂い嗅ぎ装置) を測定することにより精油構成成分及び香気特性をそれぞれ解明した。

上記で得た精油の一つであるコウモリソウ属の山菜であるモミジガサ (*Cacalia delphiniifolia*) ・ヨブスマソウ (*Cacalia hastata* var. *orientalis*) の精油に対する AChE 阻害活性値について検討した。その結果、モミジガサ及びヨブスマソウから 70、60 成分の香気成分を解析し、モミジガサの主成分が  $\beta$ -caryophyllene (25.25%)、 $\alpha$ -curcumene (20.05%)、(E)-farnesene (12.75%)、ヨブス

マソウの主成分が germacrene D (21.09%)、myrcene (12.98%)、 $\alpha$ -caryophyllene (9.80%) であることを明らかにした。また、各精油および各精油主成分 ( $\beta$ -caryophyllene、germacrene D) に対する AChE 阻害活性については、モミジガサ精油で  $IC_{50}=87.5 \mu\text{g/mL}$  を示し、ポジティブコントロールとして用いた (-)-pulegone より強い阻害活性を示した。一方、ヨブスマソウ精油の阻害活性は (-)-pulegone と同等の活性を示した。各精油主成分  $\beta$ -caryophyllene、germacrene D の阻害活性値は  $16.3 \mu\text{g/mL}$ 、 $25.0 \mu\text{g/mL}$  とそれぞれ強い阻害活性を確認した。

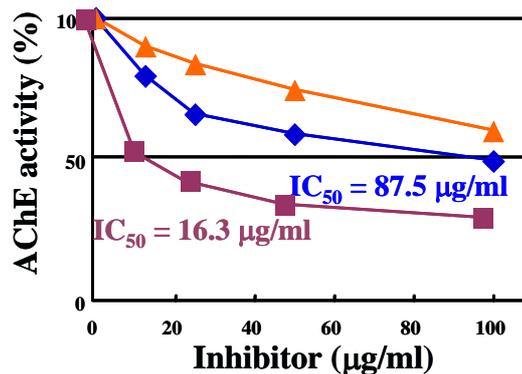


Figure. Inhibition of AChE activity by the essential oil from *C. delphiniifolia* ( ),  $\beta$ -caryophyllene ( ) and (-)-pulegone ( ).

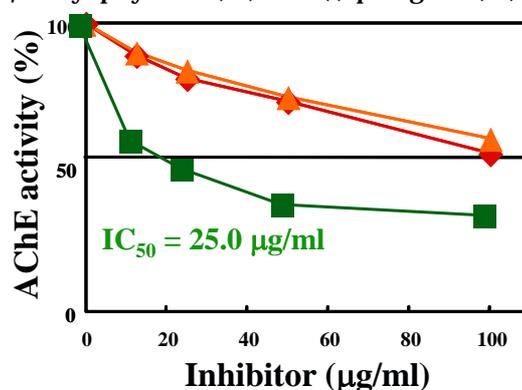


Figure. Inhibition of AChE activity by the essential oil from *C. hastata* var. *orientalis* ( ), germacrene D ( ) and (-)-pulegone ( ).

#### (2) - セクレターゼ (BACE1) 阻害活性物質の検索

植物精油に対する BACE1 阻害活性に検討した。その結果、数種の精油において BACE1 阻害活性を有することを見出した。

各種精油香気物質 (テルペン等) について BACE1 阻害活性の検討を行った。数種の香気物質に BACE1 阻害活性を有することを明らかにした。

### (3) 精油香気物質からの新規活性物質の生産

新規物質の生産方法として昆虫 (*Spodoptera litura*) を生体触媒として用いた carene 類の生物変換について検討した。アセチルコリンエステラーゼ阻害を有する 3-carene を基質とした場合、単一の新規化合物(+)-3,4-epoxycaran-9-ol を得ることに成功した。

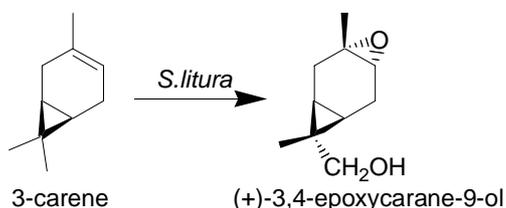


Figure. Biotransformation of 3-carene by *S.litura*.

微生物を生体触媒として用いたセスキテルペノイドの変換について検討し、新規化合物の生産法を開発した。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 10 件)

1) Mitsuo Miyazawa, Jyunichi Kawata, Kanako Kohno, Mari Imai, Toshiro Ono Essential Oil and Headspace Constituents from Aerial Part of *Aster ageratoides* var. *ovatus*, *J. Essent. Oil. Res.* 査読有, 20, 2008, 9-11.

2) Mitsuo Miyazawa, Notaka Tamura Characteristic odor components in the essential oil from yacon tubers (*Polymnia sonchifolia* Poepp. et Endl.), *J. Essent. Oil. Res.* 査読有, 20, 2008, 12-14.

3) Mitsuo Miyazawa, Sayaka Nagai, Teruo Osahima Volatile Components of the straw of *Oryza zativa* L., *J. Oleo Sci.* 査読有, 57, 2008, 139-143.

4) Mitsuo Miyazawa, Tomohiko Takahashi, Kazuki Sakata Isao Horibe, Biotransformation of three aromadendrane-type sesquiterpenoids by *Aspergillus wentii*, *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 査読有, 57, 2008, 139-143.

5) Sukhonthara Sukhontha, Theerakulkait Chockchai, Mitsuo Miyazawa, Characterization of volatile aroma compounds from red and black rice bran., *J. Oleo Sci.* 査読有, 58, 2009, 155-161.

6) Mitsuo Miyazawa, Naoki Matsuda, Naotaka Yamura, Characteristics flavor of volatile oil from dried fruiting bodies of *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers, *J. Essent. Oil Res.* 査読有, 20, 2008, 420-423.

7) Mitsuo Miyazawa, Minako Kimura, Yoshito Yabe Use of solid phase microextraction (SPME) for profiling the volatile metabolites produced by *Glomerella cingulata*., *J. Oleo Sci.* 査読有, 57, 2008, 585-590.

8) Mitsuo Miyazawa, Yousuke Suzuki, Yoshiharu Okuno,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitor from *Bergenia ligulata*, *J. Oleo Sci.* 査読有, 57, 2008, 431-435.

9) Mitsuo Miyazawa, Cyclooxygenase-2 inhibitory effects and composition of the volatile oil from the dried roots of *Lithospermum erythrorhizon*, *J. Nat. Med.* 査読有, 62, 2008, 239-243.

10) Jyunichi Kawata, Mitsuo Miyazawa, Yuya Utsumi, Jyunichi Kawata, Comparison of the Essential Oils from Wilde type and Cultiver type of *Hosta sieboldiana*, *J. Essential oil Bearing Plants*, 査読有, 11, 2008, 413-422.

[学会発表](計 25 件)

1) 河田純一、宮澤三雄、コウモリソウ属山菜(モミジカサ・ヨブスマソウ)の香気物質による認知症予防、第46回日本油化学会年会、平成19年9月7日、京都。

2) 宮澤三雄、香りは救命の"命綱"となりうるか-その生理活性作用と効用-、第8回アロマ・サイエンス・フォーラム2007、平成19年9月21日、東京。

3) 内海優也、宮澤三雄、山菜(オオバギボウシ)の精油成分及び香気特性、日本化学会第51回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成19年11月11日、滋賀。

4) 高谷由紀、宮澤三雄、こひげ(*Juncus effuses* L. var. *decipiens* Buch. forma *utilis* Makino)の香気特性、日本化学会第51回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成19年11月11日、滋賀。

5) 穂満菜里、宮澤三雄、ダイコン(*Raphanus sativus*)・キャベツ(*Brassica oleracea* var. *capitata*)種子の香気特性、日本化学会第51

回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成19年11月11日、滋賀。

6) 田上桃子、宮澤三雄、ナルトサワギク (*Senecio madagascariensis*) の精油成分及び香気特性、日本化学会第51回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成19年11月11日、滋賀。

7) 松田直樹、宮澤三雄、キノコ(コウタケ・ハタケシメジ)に含まれる香気特性、日本化学会第51回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成19年11月11日、滋賀。

8) 吉田周平、宮澤三雄、ヤマフジの香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月25日、群馬。

9) 内海優也、宮澤三雄、山菜(青ミズ、赤ミズ)の香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月25日、群馬。

10) 高橋俊之、宮澤三雄、孟宗竹の揮発精油とその香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月25日、群馬。

11) 松井優香、宮澤三雄、夕顔 (*Lagenaria siceraria* var. *hispida*)・西瓜 (*Citrullus lanatus*) の種子に含まれる精油とその香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月25日、群馬。

12) 藤本貴之、宮澤三雄、ノコンギク (*Aster ageratoides* var. *ovatus*) の精油と香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

13) 西野勝博、宮澤三雄、熊柳 (*Berchemia recemosa*) の精油およびその香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

14) 河田純一、宮澤三雄、和漢生薬(ボウコン・ロコン)の香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

15) 鹿島悠生、宮澤三雄、パンヤンベ (*Bergenia ligulata*) の精油およびその香気特性、日本化学会第52回香料・テルペン

および精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

16) 藤原真由、宮澤三雄、イエローバタイ (*Peltophorum dayrachi*) の香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

17) 河内由美、宮澤三雄、きのこ(ナラタケ・ハツタケ)の香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

18) 松田直樹、宮澤三雄、きのこ(ホウキタケ・アマタケ)の香気特性、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

19) 坂田一樹、宮澤三雄、生体触媒として微生物を用いた(-)-*Isolongifolene*の生物変換、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

20) 加野治樹、宮澤三雄、生体触媒としてハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) を用いたCarene類の生物変換、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

21) 丸本真輔、宮澤三雄、生体触媒として微生物を用いたFuranocoumarin類の生物変換、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

22) 館春菜、宮澤三雄、生体触媒として *Aspergillus wentii* を用いたEudesmolの微生物変換、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

23) 前田真哉、宮澤三雄、肝ミクロソーム中のシトクロムP450によるCedrolの変換、日本化学会第52回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、平成20年10月26日、群馬。

24) Shinsuke Marumoto, Mitsuo Miyazawa, Suppression of SOS-inducing Activity of Chemical Mutagens by Coumarins from *Angelica dahurica*, 日本環境変異原学会第37回大会、平成20年12月4日、沖縄。

25) Kazuki Sakata, Mitsuo Miyazawa,  
Suppression of SOS-inducing Activity of  
Chemical Mutagens by Metabolites from  
Microbial Transformation of (-)-isolongifolene,  
日本環境変異原学会第37回大会、平成2  
0年12月4日、沖縄。

〔図書〕(計1件)

宮澤三雄(編著者)、共立出版、身近に  
学ぶ化学の世界、2009年、104ページ

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称： -セクレターゼ阻害剤、発明者：宮  
澤三雄、権利者：近畿大学、アットアロマ株  
式会社、特許権、特願 2009-105327、平成2  
1年4月23日、国内。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮澤 三雄 (MIYAZAWA MITSUO)

近畿大学・理工学部・教授

研究者番号：40140305