

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07113

研究課題名(和文)カバノアナタケを素材とした新しい発毛・育毛剤の開発研究

研究課題名(英文) Study for development of new hair care product for the treatment of hair loss from the sclerotium of *Inonotus obliquus*

研究代表者

田中 直伸 (TANAKA, Naonobu)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(薬学域)・准教授

研究者番号：40455598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らはこれまでに、カバノアナタケ菌核から単離した数種のトリテルペンにヒト毛乳頭細胞に対する増殖促進活性を見出している。本研究では、カバノアナタケ菌核を素材とした新しい発毛・育毛剤の開発を目指して、その含有成分であるトリテルペンとステロールに着目し、詳細な成分探索研究を実施した。すなわち、カバノアナタケ菌核の抽出エキスについて各種クロマトグラフィーを用いて分画し、12種トリテルペンとステロールを分離したのち、それらの化学構造を同定した。これらのうち、1種のステロールについては、未報告であった絶対立体配置を帰属した。2種のトリテルペンは、ユニークなC31骨格を有することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薄毛は老若男女を問わず多くの人の一般的な関心事であり、その改善はQOLを向上させるため、新しい発毛・育毛剤の開発には多くの国民の関心が寄せられるとともに、大きな経済効果が期待される。本研究では、新しい発毛・育毛剤の開発を目指して天然素材カバノアナタケの菌核に着目し、その成分探索を行なったものである。カバノアナタケ菌核エキスの活性評価から、カバノアナタケの含有成分は、男性型脱毛症のみならず、女性の薄毛も含む種々の脱毛症に効果がある可能性が示唆されている。今後、本研究で得たトリテルペンやステロールの生物活性について詳細な解析を行うとともに、さらなる成分探索を実施する予定である。

研究成果の概要(英文)： *Inonotus obliquus* is a fungus belonging to the Hymenochaetaceae family. We have previously found a proproliferative activity of five lanostane-type triterpenes isolated from the sclerotium of *I. obliquus*. In this study, further detailed phytochemical investigation on constituents of the sclerotium of *I. obliquus*, aiming at development of new hair care product for the treatment of hair loss. Repeated chromatographic separation of the extract prepared from the sclerotium of *I. obliquus* gave 12 triterpenes and sterols, whose structures were assigned by spectroscopic analysis. In addition, the absolute configuration of 4-hydroxyergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one was elucidated by comparison of the experimental and TDDFT calculated ECD spectra as well as detailed analysis of NMR spectra. Two compounds were identified as triterpenes with a unique C31 carbon skeleton.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然資源 カバノアナタケ 発毛・育毛剤

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 薄毛は老若男女を問わず多くの人の一般的な関心事である。現在日本では、高齢化の進展や社会的ストレスの増大を背景として薄毛人口が増加している。薄毛の改善はQOLを向上させるため、新しい発毛・育毛剤の開発には多くの国民の関心が寄せられるとともに、大きな経済効果が期待される。2016年の我が国におけるヘアケア市場の規模は4,408億円であり、このうち発毛・育毛剤の市場規模は675億円と大きく、今後も拡大することが見込まれた。

(2) このような背景のもと、研究代表者等はこれまでに、天然素材・カバノアナタケ(タバコウロコタケ科のキノコ)の菌核にヒト頭髪毛乳頭細胞(HFDPC)の増殖促進活性を見出し、その抽出物に含有される5種のラノスタン型トリテルペンが、同増殖促進活性に関与することを明らかにしている[文献1]。これらの活性は、陽性対照のミノキシジルを上回るものであった。加えて、これらのトリテルペンは発毛に関与する細胞増殖因子(FGF-7、VEGF、IGF-1、HGF)の遺伝子発現を促進することを明らかにしていた。

(3) 一方、カバノアナタケの菌核には上記5種のトリテルペン以外にも数多くのトリテルペンや、それらと化学構造の類似するステロールが報告されている。実際に研究代表者等もそれらの存在を確認しているが、単離には至っていなかった。

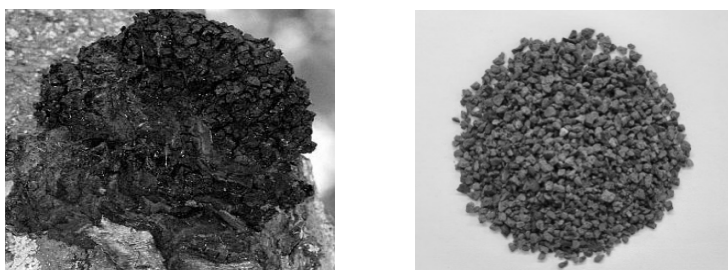


図1 (左) カバノアナタケ菌核、および(右) ロシア産カバノアナタケ菌核(刻み)

### 2. 研究の目的

(1) 本研究ではカバノアナタケ菌核を素材とした新しい発毛・育毛剤の開発を目指して、カバノアナタケ菌核等の含有成分について検討する。すなわち、カバノアナタケ菌核等のトリテルペンやステロール成分について詳細な成分探索研究を行い、その組成と化学構造を解明し、HFDPCに対する増殖促進活性についての構造活性相関を明らかにすることで、顕著な活性を示す発毛・育毛剤リード化合物を得ることを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) カバノアナタケ菌核等に含まれるトリテルペンおよびステロールの最適な抽出・分離条件を探索したのち、各種クロマトグラフィーを用いた成分探索を実施し、トリテルペンおよびステロール類を単離する。

(2) 単離したトリテルペンやステロールについて、NMRスペクトルおよびMSスペクトルを中心とした各種スペクトル解析を行い、化学構造を明らかにし、トリテルペンおよびステロールのライブラリを作成する。

(3) 作成したライブラリについて、HFDPCに対する増殖促進活性を評価する。また、活性と構造の相関を検討することで、同活性発現のための最適な化学構造を明らかにする。顕著な活性を示す化合物については、発毛・育毛に関与する各種増殖因子のmRNA発現率等を評価し、活性発現のメカニズムについても検討する。

### 4. 研究成果

(1) ロシア産カバノアナタケ(刻み、図1右)について、各種溶媒を用いて抽出条件を検討した。その結果、抽出溶媒として80%含水エタノールを選定し、同ロシア産カバノアナタケ(刻み)21kgについて抽出作業を行い、抽出エキス768gを得た。なお、新型コロナウイルス感染症による行動制限等の影響により、国内産のカバノアナタケについては入手できていない。

(2) (1) の抽出エキスを水に懸濁したのち、酢酸エチルで分配した。この酢酸エチル可溶部について、MCigel CHP-20P、Toyopearl HW-40C、Sephadex LH-20、シリカゲル等を用いたクロマトグラフィーならびに逆相分取 HPLC を用いた分画操作を行い、8 種のトリテルペンと 4 種のステロールを単離した。

(3) 単離したトリテルペンについて、NMR スペクトルを主とするスペクトル解析を実施し、それらを、inotolactone B、24-methylenecycloartanol、betulonal、lupeol、inotodiol、trametenolic acid、3 $\beta$ -hydroxy-lanosta-8,24-dien-21-al、および lanosterol と同定した。このうち、inotolactone B [文献 2]と 24-methylenecycloartanol [文献 3]は、ユニークな C<sub>31</sub>炭素骨格を有するトリテルペンである。

(4) 単離したステロールについても同様にスペクトル解析を実施し、ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one、ergosterol peroxide、および  $\beta$ -sitosterol と同定した。このうち、ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one (**1**) については、そのスペクトルデータの報告がなかったため詳細な構造解析を実施した。

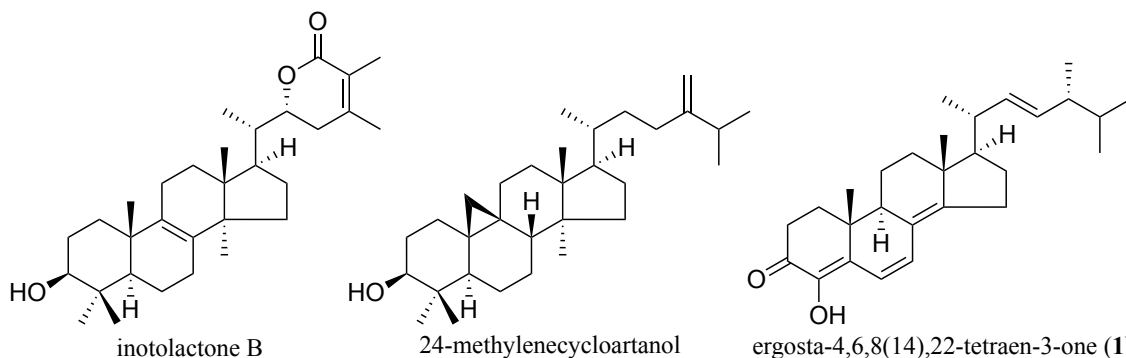


図2 Inotolactone B、24-methylenecycloartanol、および ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one (**1**)の構造

(5) Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one (**1**) について、各種二次元 NMR スペクトルを解析し、平面構造と相対立体配置を確認した。さらに、TDDFT を用いて **1** の ECD スペクトルを解析し、実測値と比較した。両者がよく対応したため、**1** の四環性部分の絶対立体配置を 9*R*,10*R*,13*R*,17*R*,20*R* と帰属した。

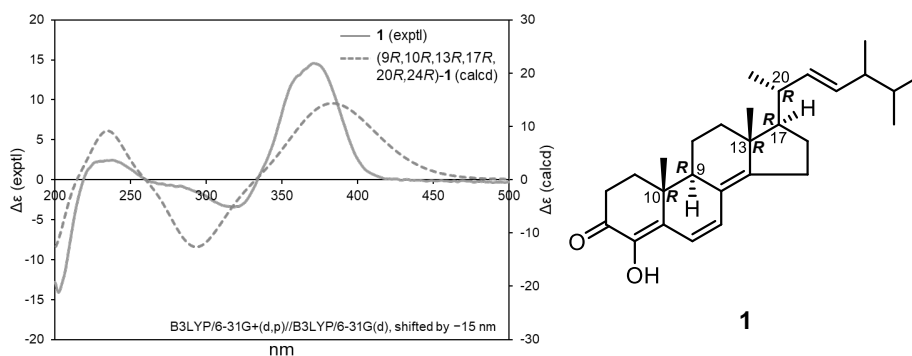


図3 **1** の実測および計算 ECD スペクトル

<引用文献>

- [1] Sagayama, K.; Tanaka, N.; Fukumoto, T.; Kashiwada, Y. “Lanostane-type triterpenes from the sclerotium of *Inonotus obliquus* (Chaga mushrooms) as proliferative agents on human follicle dermal papilla cells” *J. Nat. Med.* 2019, 73, 597-601.
- [2] Ying, Y.-M.; Zhang, L.-Y.; Zhang, X.; Bai, H.-B.; Liang, D.-E; Ma, L.-F.; Shan, W.-G.; Zhan, Z.-J. “Terpenoids with aloha-glucosidase inhibitory activity from the submerged culture of *Inonotus obliquus*” *Phytochemistry* 2014, 108, 171-176.
- [3] Lee, S.-Y.; Choi, S.-U.; Lee, J.-H.; Lee, D.-U.; Lee, K.-R. “A new phenylpropane glycoside from the rhizome of *Sparganium stoloniferum*” *Arch. Pharm. Res.* 2010, 33, 515-521.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tanaka Naonobu, Takahashi Sakura, Yoshino Yuki, Nakatani Megumi, Ahmed Fakhruddin Ali, Hossain Gazi Mosharof, Chen Chin-Ho, Lee Kuo-Hsiung, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 85
2. 論文標題 Tigliane-Type Diterpene Esters from the Fruits of <i>Shirakiopsis indica</i> and Their Anti-HIV Activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 2687 ~ 2693
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.2c00752	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Naonobu, Yoshino Yuki, Nakano Fusako, Kurimoto Shin-ichiro, Kawazoe Kazuyoshi, Tsuji Daisuke, Itoh Kohji, Li Shun-Lin, Sun Han-Dong, Takaishi Yoshihisa, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 85
2. 論文標題 Lanicepines A and B, Sesquiterpenes with Amino Acid-Derived Substituents from the Flowering Aerial Parts of <i>Saussurea laniceps</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 1180 ~ 1185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.1c01069	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshino Yuki, Tanaka Naonobu, Tsuji Daisuke, Itoh Kohji, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 77
2. 論文標題 Communiferulins, farnesylated coumarins from the roots of <i>Ferula communis</i> and their anti-neuroinflammatory activity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 173 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-022-01657-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Naonobu, Amuti Saidanxia, Takahashi Sakura, Tsuji Daisuke, Itoh Kohji, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 152
2. 論文標題 Studies on non-medicinal parts of plant materials: Triterpenes from the roots of <i>Schisandra chinensis</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Fitoterapia	6. 最初と最後の頁 104939 ~ 104939
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fitote.2021.104939	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Naonobu, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 75
2. 論文標題 Phytochemical studies on traditional herbal medicines based on the ethnopharmacological information obtained by field studies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 762 ~ 783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-021-01545-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Niwa Kanji, Tanaka Naonobu, Shimomoto Yusei, Tsuji Daisuke, Kim Sang-Yong, Kojoma Mareshige, Itoh Kohji, Chen Chin-Ho, Lee Kuo-Hsiung, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 75
2. 論文標題 Hyperdioxanes, dibenzo-1,4-dioxane derivatives from the roots of Hypericum ascyron	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 907 ~ 914
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11418-021-01540-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Naonobu, Yamada Kenta, Shimomoto Yusei, Tsuji Daisuke, Itoh Kohji, Kawazoe Kazuyoshi, Daminjav Davaadagva, Dorjval Enkhjargal, Kashiwada Yoshiki	4. 巻 146
2. 論文標題 Lophachinins A-E, abietane diterpenes from a Mongolian traditional herbal medicine Lophanthus chinensis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Fitoterapia	6. 最初と最後の頁 104702 ~ 104702
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fitote.2020.104702	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tanaka Naonobu, Niwa Kanji, Kajihara Seita, Tsuji Daisuke, Itoh Kohji, Mamadalieva Nilufar Z., Kashiwada Yoshiki	4. 巻 22
2. 論文標題 C28 Terpenoids from Lamiaceous Plant Perovskia scrophulariifolia: Their Structures and Anti-neuroinflammatory Activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 7667 ~ 7670
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.0c02855	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tanaka Naonobu, Takahashi Sakura, Kajihara Seita, Tsuji Daisuke, Itoh Kohji, Mamadalieva Nilufar Z., Kashiwada Yoshiki	4. 巻 149
2. 論文標題 Diterpenes from an Uzbek medicinal plant <i>Perovskia scrophulariifolia</i> : Their structures and anti-neuroinflammatory activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Fitoterapia	6. 最初と最後の頁 104826 ~ 104826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fitote.2021.104826	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	柏田 良樹  (KASHIWADA Yoshiki)  (30169429)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部 (薬学域)・教授    (16101)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

#### 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
中国	広西植物研究所		