

# “香り”の機能性 — 発ガン予防 —

*Biological Function of Fragrance — Cancer Prevention at the Initiation Stage —*

近畿大学 大学院総合理工学研究科 / 近畿大学 理工学部応用化学科 教授 宮澤 三雄

MITSUO MIYAZAWA

*Kinki University, Interdisciplinary Graduate School of Science and Technology, Professor*

*Kinki University, Department of Applied Chemistry, Professor*

近畿大学 大学院総合理工学研究科 博士研究員 奥野 祥治

YOSHIHARU OKUNO

*Kinki University, Interdisciplinary Graduate School of Science and Technology, Postdoctoral*

## 1. はじめに

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、化粧品等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(香気成分と称する)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、この香気成分の中に、発ガン抑制等、非常に強い生理活性機能が発現していることを明らかにしてきた。これ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内投与等の攻撃的な方法で体内に取り込むのではなく、近い将来にはごく自然に「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等、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我々は期待している。

本稿では、今まで我々が、科学的に明らかにしてきたこの香気成分の各種生理活性に関する研究を、数回に分けて紹介する。

## 2. 香気成分の発ガン予防に関する研究

### 2-1 香気成分による抗変異原性の研究

発ガンの要因は種々あるが、その大部分は外因性の環境因子によるものである。人間の正常細胞は、幾つもの段階を経てガン化するが、その第一段階では、まず正

常細胞が発ガン物質の影響を受け、DNA及び染色体に突然変異が起こる。我々は、このように突然変異を起こす物質(変異原物質)を失活させたり、この変異原物質によって生じた突然変異の修復を助ける物質(抗変異原物質)を見出すことが、ガン予防の観点からも大変重要なことと考えている。ここでは、香気成分テルペノイドなどの抗変異原性に関する我々の研究を概説する。

### 2-2 抗変異原性試験法

抗変異原性試験法には大きく分けて、微生物、培養動物細胞、昆虫類、および動物を用いる方法がある。微生物試験法では1975年に米国Ames博士らによって開発されたサルモネラ菌を試験菌株とする変異原性物質を検出する復帰突然変異試験法(Ames テスト)が、試験の簡便さから抗変異原性試験法として、現在世界中で広く用いられている。しかしながら、この方法でも2日間の日数を要する。これに比べて1985年に開発された *umu* テスト(図1)では数時間でDNA損傷の有無の検出を可能にした。*Umu* テストはDNA損傷によって誘導されるSOS反応(図2)を指標とする試験であり、我々はこの *umu* テストを応用し、変異原性物質の検出ではなく抗変異原性試験法としてシステムを構築し、抗変異原性物質を約5時間で検出することに成功した。それ以来、我々はこの方法で天然物の抗変異原性を多数明らかにしている。<sup>1)~23)</sup>

### 2-3 モノテルペンの抗変異原性<sup>10)</sup>

モノテルペン炭化水素の抗変異原性については、表1に示した8種(1~8)の化合物について我々が行った変異原物質Furylfuramide(AF-2)に対する抑制効果の結果

Culture of bacteria (*Salmonella typhimurium* TA1535/ρSK1002)  
 Overnight culture of bacteria strain was diluted 50-fold into TGA medium  
 and incubated at 37°C until the bacteria density reached at 0.25-0.30 in A600.

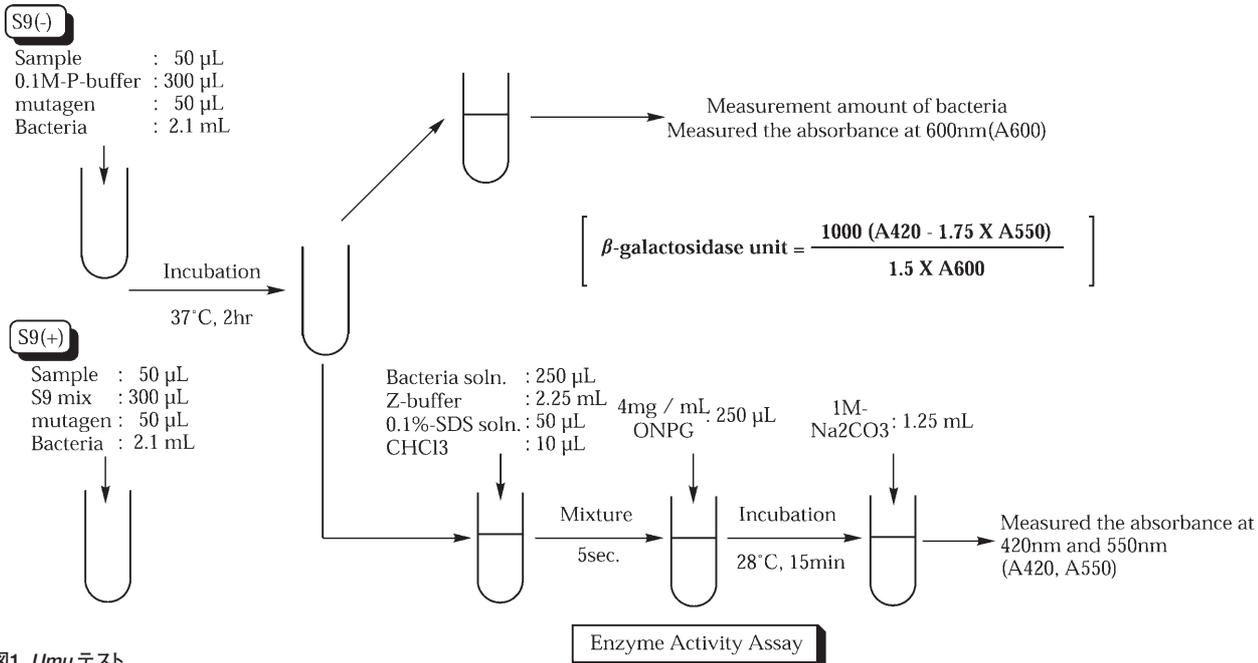


図1 Umuテスト

が知られているのみである。(+) -  
 Limonene (1) は柑橘類の代表的な香気成分として知られ、ヒトは日常生活においてかなりの量を摂取している。抗変異原性に関しては *umu* テスト図1において 0.7μmol/mLの濃度で8.2%の抑制効果を示した。(-) -体(2) は天然物には少なく、ミント油、シトロネラ油に少量存在するのみで、抗変異原性は認められていない。Limoneneの異性体である(1*R*) - (+) -*trans*-Isolimonene (3) では4.1%の抑制効果を示した。γ-Terpinene (5) および (+) -*p*-Menth-1-ene (7) は、炭化水素類のなかでは比較的強い抑制効果を示し、それぞれ14.6%、20.2%であった。α-Terpinene (4), Terpinolene (6) および α-Phellandrene (8) においては若干の抑制効果を確認した。

モノテルペンアルコールでは1.0μmol/mLの濃度において、(+)-Menthol (9)、(-)-Menthol (10)、(+)-Isomenthol (11) および (-)-Dihydrocarveol (15) はモノテルペ

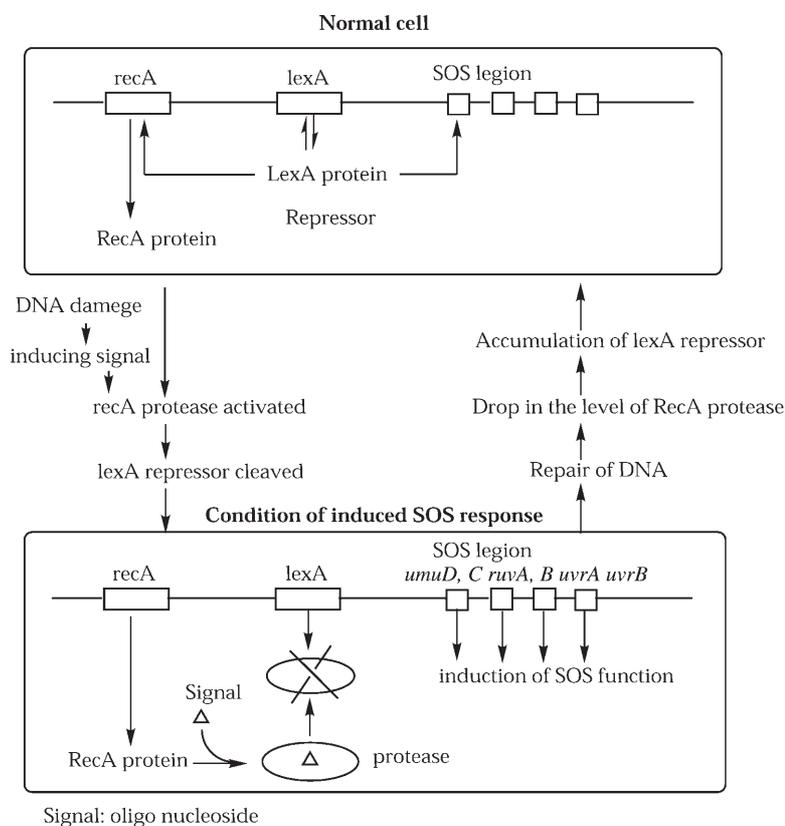


図2 SOS反応

ンケトン類とほぼ同様の強い抑制効果を示し、それぞれ77.2%, 79.5%, 70.0%および67.1%であった。また(+)-Terpinen-4-ol (13), (-)-Terpinen-4-ol (14), およびCuminy alcohol (16)においては化合物9, 10, 11, 15に比べ若干低い値を示している。

モノテルペンケトンでは1.0 $\mu$ mol/mLの濃度において、(+)-Pulegone (17), (-)-Menthone (20), (-)-Isomenthone (21) およびPiperitenone (23) はかなり強い抑制効果を示し、その値は67.4%, 61.1%, 61.3%および79.6%であった。また(+)-Carvone (18), (-)-Carvone (19), (+)-Piperitone (22) においても強い抑制効果が認められた。

モノテルペンアルデヒドである(-)-Perilla aldehyde (24) およびCuminaldehyde (25) においては、モノテルペンケトン、モノテルペンアルコールとほぼ同等の強い抑制効果を我々は見出し出している。これら*p*-menthan骨格を有する化合物(図3)の構造活性相関についての検討から、モノテルペンケトンおよびモノテルペンアルコールでは六員環内のオレフィンの有無が抑制効果の発現に影響を与えており、オレフィンを持たない方が強い抑制効果を発現することを示している。またアルデヒド類では環内にオレフィンを有するにも関わらず強い抑制効果を示していることから、アルデヒド基が抑制効果の発現因子であると考えられる。

表1. モノテルペノイドの抗変異原活性

compound	suppressive effect (0.1 $\mu$ mol/mL)	ID50 <sup>c</sup> ( $\mu$ mol/mL)
1 (+)-Limonene	8.2	-
2 (-)-Limonene	0	-
3 1 <i>R</i> -(+)- <i>trans</i> -Isolimonene	4.1	-
4 $\alpha$ -Terpinene	2.8	-
5 $\gamma$ -Terpinene	14.6	-
6 Terpinolene	2.5	-
7 (+)- <i>p</i> -Menth-1-ene	20.2	-
8 $\alpha$ -Phellandrene	6.3	-
9 (+)-Menthol	77.2	0.52
10 (-)-Menthol	79.5	0.65
11 (+)-Isomenthol	70.0	0.60
12 Isopulegol	55.9	0.80
13 (+)-Terpinen-4-ol	41.2	-
14 (-)-Terpinen-4-ol	57.3	0.92
15 (-)-Dihydrocarveol	61.5	0.85
16 Cuminy alcohol	29.3	-
17 (+)-Pulegone	67.4	0.52
18 (+)-Carvone	51.8	0.90
19 (-)-Carvone	44.6	-
20 (-)-Menthone	61.1	0.79
21 (-)-Isomenthone	61.3	0.80
22 (+)-Piperitone	21.7	-
23 Piperitenone	79.6	0.52
24 (-)-Perilla aldehyde	70.3	0.60
25 Cuminaldehyde	75.4	0.52

<sup>a</sup>Furylfuramide was added at 0.05 mg. Positive control was added at furylfuramide without terpenoids. <sup>b</sup>Hydrocarbons were added at a concentration of 0.07mmol/mL. <sup>c</sup>Dose for 50% inhibition

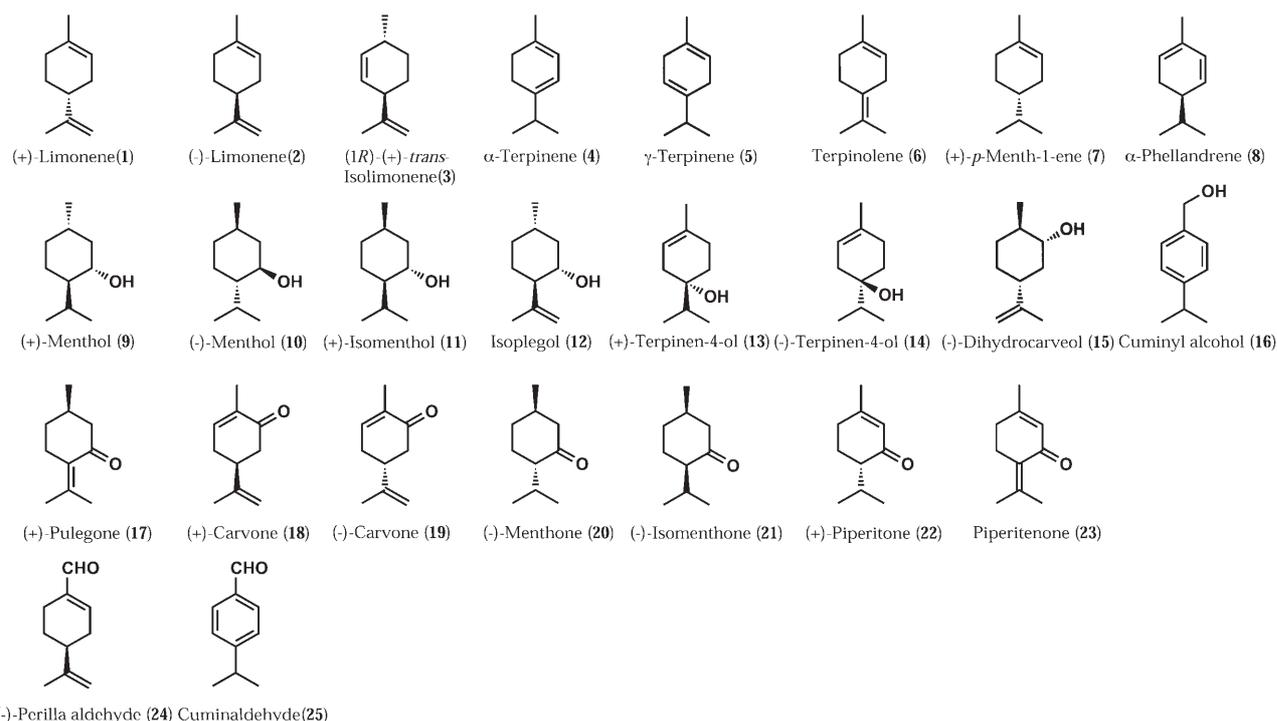


図3 *p*-Menthan骨格を有するモノテルペノイド

## 2-4 セスキテルペンの抗変異原性<sup>24, 25)</sup>

モノテルペン類と同様に変異原物質であるFurylfuramideに対する抑制効果について、7種のセスキテルペン類を調べた。その結果を表2に示す。この結果から、比較的強い抑制効果を示した化合物は、(-)-Aristolene (30)、(-)- $\alpha$ -Copaene (32)であり、0.1 $\mu$ mol/mLの濃度で、50%以上の抑制効果を示した。

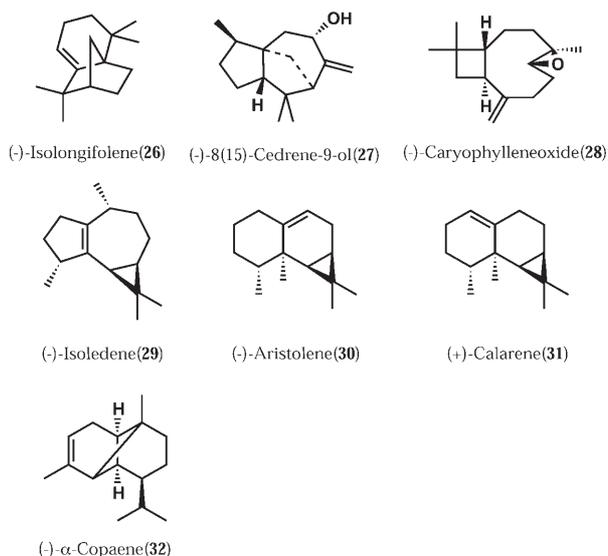


図4 抗変異原活性を示したセスキテルペノイド

表2. セスキテルペノイドの抗変異原活性

compound	suppressive effect (0.1 $\mu$ mol/mL)	ID50 <sup>b</sup> ( $\mu$ mol/mL)
26 (-)-Isolongifolene	50.9	0.10
27 (-)-8(15)-Cedrene-9-ol	53.4	0.08
28 (-)-Caryophyllene oxide	58.1	0.08
29 (-)-Isolatedene	51.9	0.10
30 (-)-Aristolene	66.6	0.07
31 (+)-Calarene	57.5	0.08
32 (-)- $\alpha$ -Copaene	60.0	0.07

<sup>a</sup>Furylfuramide was added at 0.05 mg. Positive control was added at furylfuramide without terpenoids. <sup>b</sup>Dose for 50% inhibition.

以上、モノ、セスキテルペン類の研究から各種変異原物質に対する抗変異原性の物質を見出してきた。現在、植物中の抗変異原物質に関する報告は、フラボノイド、カテキン類などのポリフェノール系化合物において、抗変異原性の作用機序に関する研究が盛んに行われて来ているが、テルペン類についてはここで述べてきたように、最近になってようやく *in vitro* での抗変異原性が見い出されたものが殆んどであり、作用機序について、あまり明らかになっていないのが現状である。

## 3. 植物成分の発ガン予防に関する研究

### 3-1 山薬の抗変異原性<sup>26)</sup>

我々の抗変異原性に関する一連の研究において、和漢生薬「山薬」から活性成分としてセスキテルペノイドである  $\beta$ -Eudesmol (33) を単離した(図5)。試料として用いた山薬はヤマノイモ科ヤマイモ (*Dioscorea japonica*) の根茎の外皮を除去して乾燥させたものであり、滋養・強壯薬として用いられている。化合物33は *umu* テストにおいて、Furylfuramideおよび肉などの焼げ焦げから単離された変異原物質である Trp-P-1 (3-amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indol) に対して0.18 $\mu$ mol/mLで80%、48%の抑制効果を示した(図6)。また化合物33は *Salmonella typhimurium* TA100を用いた Ames テストにおいても両変異原物質に対して強い抗変異原活性を確認した。生薬の香気成分に含まれるこれらの抗変異原物質は、今後、漢方製剤の香りが発ガン予防をもたらす可能性を示唆しているものと考えられる。

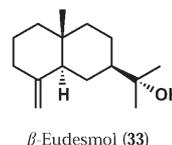


図5 山薬から単離された抗変異原性セスキテルペノイド

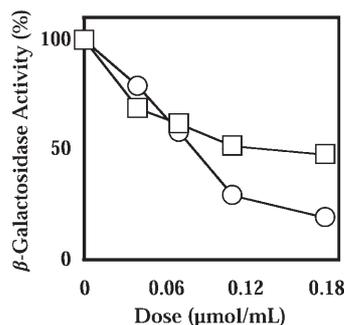


図6  $\beta$ -Eudesmolの抗変異原活性 ○: Furylfuramide □: Trp-P-1

### 3-2 黒米の抗変異原性<sup>27)</sup>

植物成分から抗変異原物質を探索することは、前述の生薬同様、新たな抗変異原物質の解明につながる。現在、我々が食している現代米のルーツを探ると「赤米」、「黒米」と呼ばれる古代米に辿り着く。このような野生種には現代米への新品種開発の過程で失った古代米特有の生理活性成分が存在するものと考えられている。

我々は古代米である「黒米」について抗変異原物質の探索を行った。

この研究では、黒米の糠のアルコール抽出物を、前述のテルペン類と同様に、抗変異原性試験法(2-2)を用いて、抗変異原活性成分を単離したところ、香り成分であるVanillic acid (34)とProtocatechuic acid (35)(図7)を得た。化合物34は薄いビターテイストの香りを有する。

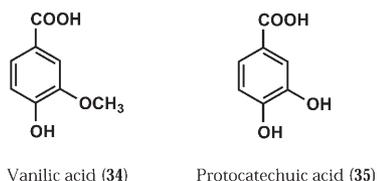


図7 黒米の糠から単離された抗変異原性物質

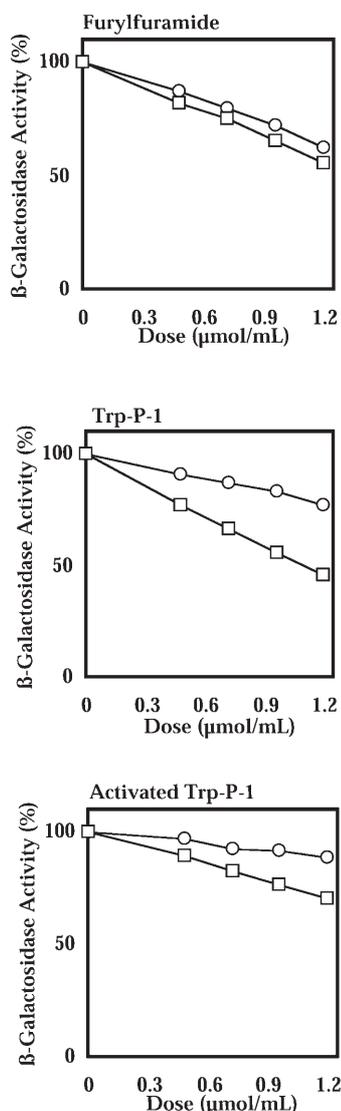


図8 Vanillic acidおよびProtocatechuic acidの抗変異原活性  
○ : Vanillic acid □ : Protocatechuic acid

化合物34、35のFurylfuramideおよびTrp-P-1に対する抗変異原活性について検討した結果、両変異原物質に対し化合物35が化合物34よりも強い抑制効果を示した(図8)。このことより、3位の水酸基が活性の発現に重要な要因であると考えられた。またこれらの化合物のTrp-P-1に対する阻害機構を検討するために、Trp-P-1を事前にラット肝臓の酸化酵素群であるP450を含むS9mixにより代謝活性化させた活性化Trp-P-1を用いた *umu* テストを行った(図8)。その結果、化合物34、35の抑制効果は大きく減少した。このことから両化合物のTrp-P-1に対する抑制効果はS9 mixによる代謝活性化を阻害することに起因していることが明らかになった。

「米」は、日本の気候風土に適した素晴らしい作物である。我々日本人の食文化の根底となる伝統的な食品に存在する抗変異原物質・抗発ガン物質を解明することは、発ガン予防に向けた食品素材研究に於いても、大変重要な課題であると考えられる。

#### 4. おわりに

テルペン類は多種多様の複雑な化学構造を有する化合物群である。また、ポリフェノール系化合物等の他の二次代謝産物群と比較して、動植物には微量ではあるが、多種多様存在しているところに特徴がある。これら一つ一つの化合物について、それぞれの機能性と効用を解明していくことは大変重要ではあるが、その為には膨大な時間が必要である。多数の揮発性テルペン類で構成される植物精油は、単品では表現することが出来ない独特の香りを醸し出し、この複合効果は現代科学でも解明しがたい部分である。最近の我々の研究において、精油の主要構成成分の単品から精油の構成組成に近づくにしたい生理機能が向上する植物精油の持つ不思議な相乗効果を見出しており、その神秘性も我々の研究によって徐々に解明されつつある。今後も我々は、ここに示した揮発性テルペン類の抗変異原性・抗発ガン性の他に、アセチルコリンエステラーゼ阻害活性などの各種生理活性や生体内動態、代謝に関与するヒトP450分子種の決定などについて探究を続け、それらの作用機序を解明するとともに、香りの機能性の全貌を明らかにしたいと考えている。

## 文 献

- 1) M. Miyazawa, H. Shimamura, S. Nakamura, H. Kameoka, *J. Agric Food Chem.*, **43**, 284 (1995).
- 2) M. Miyazawa, H. Shimamura, S. Nakamura, H. Kameoka, *J. Agric Food Chem.*, **43**, 1428 (1995).
- 3) M. Miyazawa, H. Shimamura, S. Nakamura, H. Kameoka, *J. Agric Food Chem.*, **43**, 3012 (1995).
- 4) M. Miyazawa, H. Shimamura, S. Nakamura, H. Kameoka, *J. Agric Food Chem.*, **44**, 3444 (1996).
- 5) F. Uenobe, S. Nakamura, M. Miyazawa, *Mutat. Res.* **373**, 197 (1997).
- 6) M. Miyazawa, H. Shimamura, S. Nakamura, H. Kameoka, *J. Agric Food Chem.*, **45**, 2849 (1997).
- 7) H. Shimamura, M. Miyazawa, K. Emonoto, S. Nakamura, H. Kameoka, *Nat. Prod. Lett.* **10**, 261 (1997).
- 8) M. Miyazawa, Y. Okuno, S. Nakamura, H. Kameoka, *J. Agric Food Chem.*, **46**, 904 (1998).
- 9) M. Miyazawa, Y. Okuno, K. Oshiro, H. Kasahara, H. Shimamura, S. Nakamura, H. Kameoka, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 1425 (1998).
- 10) M. Miyazawa, Y. Okuno, S. Nakamura, H. Kosaka, *J. Agric. Food Chem.* **48**, 5440-5443 (2000).
- 11) M. Miyazawa, Y. Okuno, S. Nakamura, H. Kosaka, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 642-647 (2000).
- 12) M. Miyazawa, H. Shimamura, S. Nakamura, W. Sugiura, *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 4377-4380 (2000).
- 13) M. Miyazawa, K. Sakano, S. Nakamura, H. Kosaka, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 336-341 (2001).
- 14) M. Miyazawa, Y. Nakamura, K. Sakano, S. Nakamura, H. Kosaka, *J. Oleo Sci.*, **50**, 485-489 (2001).
- 15) M. Miyazawa, K. Sakano, S. Nakamura, H. Shimamura, H. Kosaka, *J. Oleo Sci.*, **50**, 545-554 (2001).
- 16) M. Miyazawa, M. Hisama, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 4019-4025 (2001).
- 17) M. Miyazawa, H. Kinoshita, Y. Okuno, *J. Food Sci.*, **68**, 52-56 (2003).
- 18) M. Miyazawa, T. Yamada, H. Utsunomiya, *Nat. Prod. Res.*, **17**, 319-323 (2003).
- 19) M. Miyazawa, M. Hisama, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 2091-2099 (2003).
- 20) M. Miyazawa, M. Hisama, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 6413-6422 (2003).
- 21) Y. Okuno, M. Miyazawa, *Lett. Drug Design and Discovery*, **1**, 66-68 (2004).
- 22) M. Miyazawa, G. Kohno, *Nat. Prod. Res.*, **19**, 29-36 (2005).
- 23) M. Miyazawa, Y. Okuno, K. Imanishi, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 2312-2315 (2005).
- 24) 嶽崎まゆ子、宮澤三雄、第44回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会・講演要旨集、p. 64-66 (2000).
- 25) 奥野祥治、嶽崎まゆ子、宮澤三雄、第46回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会・国際精油シンポジウム (ISEO) 合同大会要旨集、p. 95-97 (2002).
- 26) M. Miyazawa, H. Shimamura, S. Nakamura, H. Kameoka, *J. Agric Food Chem.*, **44**, 1647 (1996).
- 27) M. Miyazawa, T. Oshima, M. Tokura, M. Hisama, *J. Oleo Sci.*, **52**, 471-481 (2003).