



Title	酸性官能基の導入による「辛くない」カプサイシン誘導体の開発
Author(s)	
Citation	令和6（2024）年度学部学生による自主研究奨励事業研究成果報告書．2025
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/101282
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

令和6年度大阪大学未来基金「学部学生による自主研究奨励事業」研究成果報告書

ふりがな	しみずいつき	学部	薬学部	学年	1年
氏名	清水一希	学科	薬学科		
ふりがな	しのだいち	学部	薬学部	学年	1年
共同	篠田大地		薬学科		
研究者氏名					年
					年
アドバイザー教員氏名	おおさわたかし 大澤昂志	所属	薬学研究科		

研究課題名 酸性官能基の導入による「辛い」カプサイシン誘導体の開発

研究成果の概要

研究目的、研究計画、研究方法、研究経過、研究成果等について記述すること。必要に応じて用紙を追加してもよい。(先行する研究を引用する場合は、「阪大生のためのアカデミックライティング入門」に従い、盗作剽窃にならないように引用部分を明示し文末に参考文献リストをつけること。)

【研究目的】

カプサイシンは唐辛子に含まれる辛み成分で、代謝亢進、嚥下促進、鎮痛、食欲増進など様々な作用がある。このような特性からカプサイシンは嚥下障害の患者に対する投薬や食事を補助するための嚥下反射促進法などに利用されている。カプサイシンは細胞内カルシウムイオン (Ca^{2+}) 濃度を調節する TRPV1 チャンネルのアゴニストであり、嚥下反射はチャンネルの活性化をきっかけに誘導される。一方で、カプサイシン特有の辛みによる刺激が患者の負担となっている。そこで、私はカプサイシン以上に TRPV1 を活性化し、かつ辛味も感じにくいカプサイシン誘導体を開発できれば、嚥下促進をより低負担に行えるだけでなく、先述した様々な利点の効果を向上できると考えた。それを実現することを目的に、辛味を抑えるアプローチとして酸味に着目した。辛い物を食べたときに酸味を摂取すると辛味が和らぐことが経験的によく知られている。プロトン (H^+) は酸味の原因であると同時に、TRPV1 の活性化因子でもある。そのため、 H^+ を放出する官能基を導入すれば、辛味を抑えつつアゴニスト活性を高いものにできるのではないかと考えた。そこで本研究では、 H^+ を放出する官能基を取り付けた新規カプサイシン誘導体の合成と TRPV1 アゴニスト活性評価を行うことにした。

【研究計画・方法】

カプサイシンを①ベンゼン環、②ベンジル位、③側鎖それぞれにカルボキシ基を導入した新規カプサイシン誘導体を合成する(図1)。得られた誘導体の TRPV1 アゴニスト活性を細胞内への Ca^{2+} 流入量を指標に評価する。研究立案当初は、カプサイシン誘導体の合成を7~10月に、活性評価を11~12月に行う予定で計画を立てた。

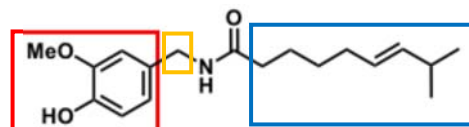


図1 カプサイシンの構造とカルボン酸の導入部位

①ベンゼン環(赤)、②ベンジル位(橙)、③側鎖(青)

【研究経過・成果等】

○新規カプサイシン誘導体の合成

以下の(i)から(iii)に示す反応スキームに従い、カルボキシ基を導入した新規カプサイシン誘導体を合成した(図2-7)。

(i) ベンゼン環に導入する誘導体

4M 水酸化ナトリウム水溶液中でベンジルアミン誘導体とノナノイルクロリドを反応させて合成した(図2)。

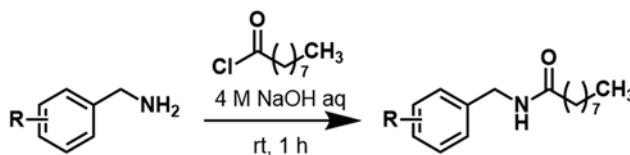


図2 ベンジルアミン誘導体とノナノイルクロリドの縮合

(ii) ベンジル位に導入する誘導体

芳香族 α アミノ酸(DL-フェニルグリシン誘導体)とノナノイルクロリドを用いて合成した(図3)。一方で、市販のフェニルグリシン誘導体を手でできなかったもの(天然カプサイシンをカルボン酸修飾した化合物)についてはバニリンからイミン形成後のシアノ化、加水分解、アシル化を経て合成することを試みたが(参考文献1)、望みのカプサイシン誘導体を得ることはできなかった(図4)。

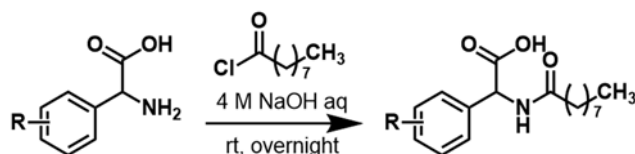


図3 芳香族 α アミノ酸とノナノイルクロリドの縮合

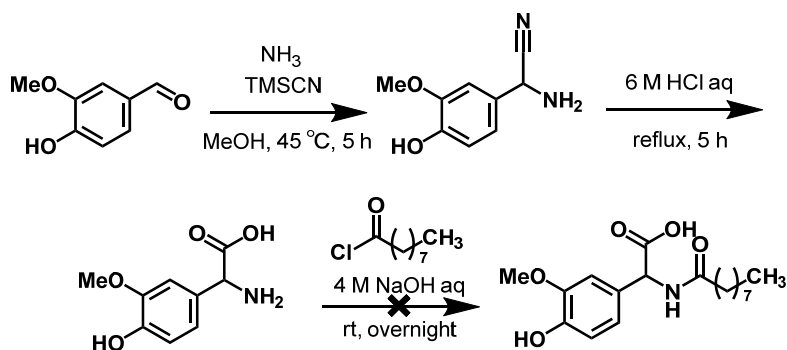


図4 バニリンを出発原料としたカプサイシン誘導体の合成

(iii) 側鎖に導入する誘導体

側鎖の炭素数が3のものについてはベンジルアミン誘導体とグルタル酸無水物を縮合し(図5)、炭素数が9のものについてはベンジルアミン誘導体、ノナン二酸、縮合剤であるEDC \cdot HCl(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩)を反応させて合成した(図6)。

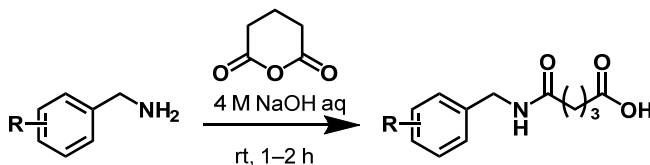


図5 ベンジルアミン誘導体と無水グルタル酸の縮合

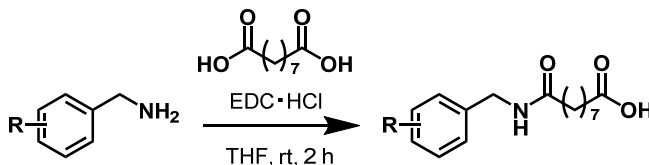


図6 ベンジルアミン誘導体とノナン二酸の縮合

図2から図6に示した合成法により、合計13種類の新規カプサイシン誘導体を合成した(図7)。

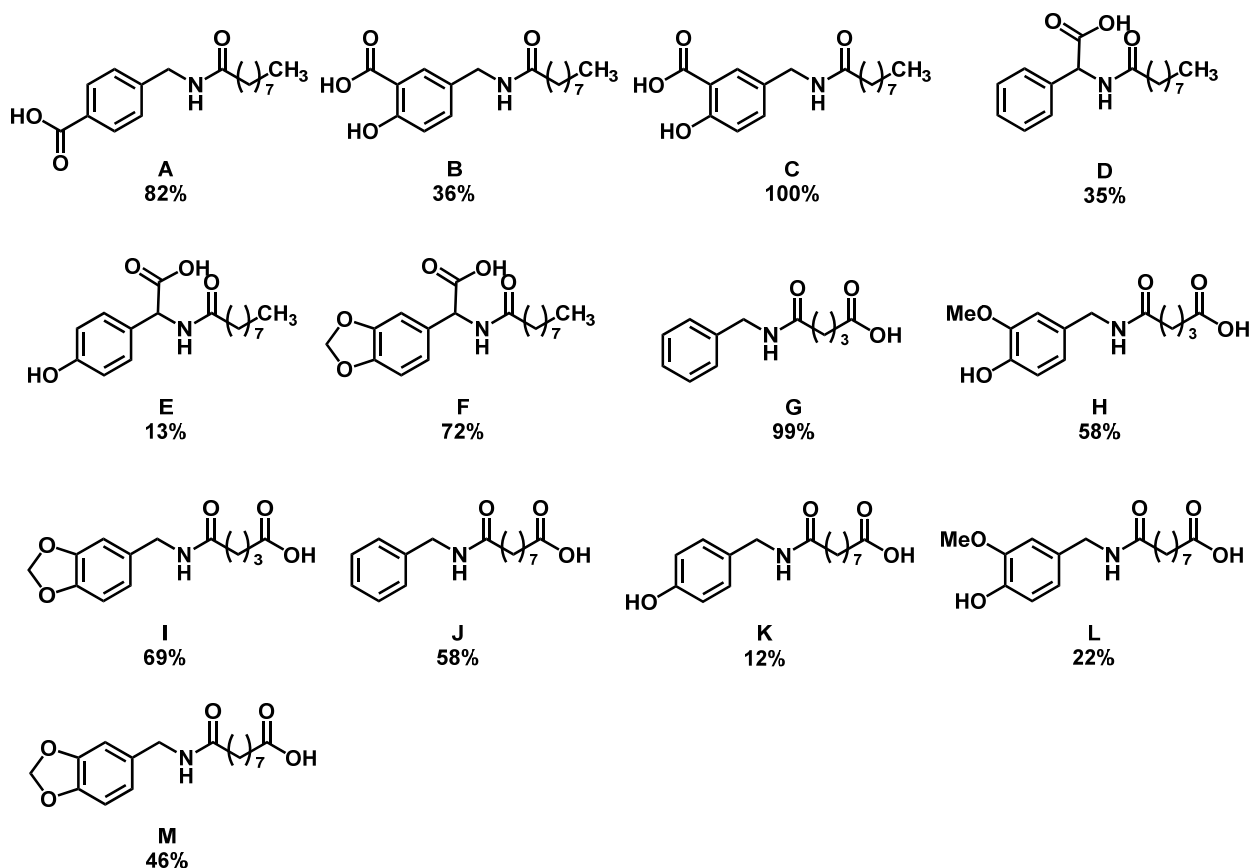


図7 合成した新規誘導体一覧(％は収率)

○活性評価

HEK-293T 細胞にヒト TRPV1 ベクターをトランスフェクションし一過的に過剰発現させた後、 Ca^{2+} 蛍光指示薬 Cal-520® AM を細胞に取り込ませ、蛍光カイネティックプレートイメージャ FDSS7000 を用いてカプサイシン誘導体の刺激による蛍光強度の計時変化を測定した。刺激として与えるカプサイシン誘導体と DMSO の終濃度は、それぞれ 2.5 μM と 0.025vol%とした。ポジティブコントロールとして天然カプサイシン (Natural Capsaicin, NC) と人工のカプサイシン誘導体である N-バニリルノナンアミド (Synthetic Capsaicin, SC) を、ネガティブコントロールとして DMSO (DM) を用いた。結果、合成したすべてのカプサイシン誘導体において、DM と有意な差がみられず、活性は検出されなかった(図8)(図9)。

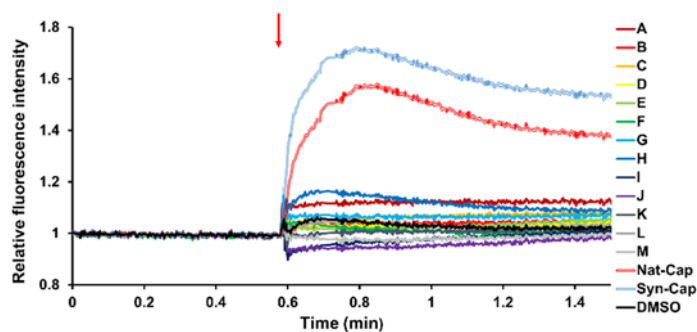


図8 FDSSで測定したカプサイシン誘導体の蛍光強度計時変化
(赤矢印はカプサイシン誘導体を添加した時間)

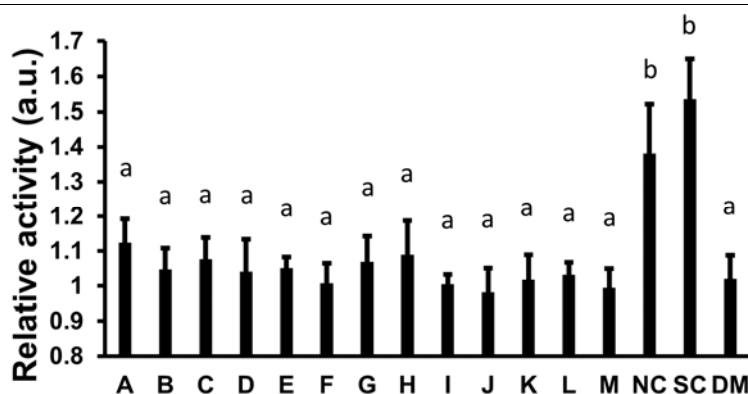


図9 カプサイシン誘導体の活性測定値

縦軸の値は、FDSS 測定開始時点の各ウェルの蛍光強度を 1 として、刺激後に蛍光強度が安定した 20 ポイント(開始から 1.45~1.50 min)の蛍光強度の平均値との比とした。各化合物 4 ウェルで試験を行い、平均値±標準偏差で結果を示した。a, b は Tukey-Kramer 法による検定結果 ($p < 0.05$) を示す。

【考察】

図 4 に示したバニリンを出発原料とした誘導体合成がうまくいかなかった原因として、イミン形成前にアルデヒドにシアニドが求核攻撃したために、シアノヒドリンが生成したと考えられる (図 10)。

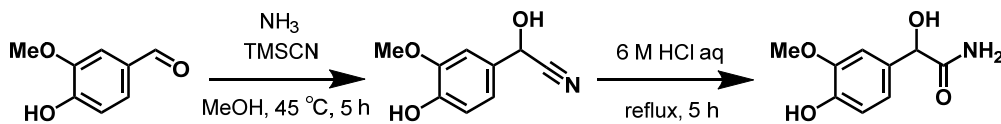


図 10 バニリンのシアノ化において実際に起こった反応の予測

本研究で合成したカプサイシン誘導体は、どれも活性を示さなかった。その理由として、カルボキシ基が中性条件下で脱プロトン化してカプサイシン分子に負電荷が乗るため、TRPV1 との疎水性相互作用が小さくなったと考えられる。また、TRPV1 はカプサイシンのベンゼン環と結合する部位の選択性が高いことが文献調査から分かった (参考文献 2)。これよりカルボキシ基をベンゼン環に導入するアプローチは不適切だと考察できる。一方、本研究の範囲では、先行研究のないベンジル位へのカルボキシ基導入による活性変化はわからなかった。

以上を踏まえて、今後はまず、天然カプサイシンのベンジル位を修飾したカプサイシン誘導体の合成を改めて試み、その活性評価によりベンジル位にカルボキシ基が導入可能かを判断したい。もしカルボキシ基の導入がカプサイシンの活性向上につながらないと結論づけられた場合には、生体環境下で H^+ を放出する官能基としてアンモニウム基 (NH_4^+) を選択し、辛味を抑えたカプサイシン分子の合成に取り組みたい。また、ベンジル位に様々な官能基を導入した誘導体を合成することで構造活性相関をとり、より TRPV1 との親和性が高いカプサイシン誘導体を開発したい。

【参考文献】

1. Wang, H.; Byun, Y.; Barinka, C.; Pullambhatla, M.; Bhang, H. C.; Fox, J. J.; Lubkowski, J.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Bioisosterism of urea-based GCPII inhibitors: Synthesis and structure-activity relationship studies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 392–397.
2. Walpole, C. S. J.; Wrigglesworth, R.; Bevan, S.; Campbell, E. A.; Dray, A.; James, I. F.; Perkins, M. N.; Reid, D. J.; Winter, J. Analogs of capsaicin with agonist activity as novel analgesic agents; structure-activity studies. 1. The aromatic "A-region". *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2326–2372.