

マイコスポリン様アミノ酸誘導体の電荷共鳴吸収を基盤とする新規天然由来サンスクリーン材料

大阪大学大学院工学研究科

森 直

The UV-protective ability of mycosporine-like amino acids (MAAs) has been well documented, but not much explored nor investigated. Indeed, this effect is believed to serve as a protecting capability of marine organisms from solar radiation. Nevertheless, the effective UV absorption by MAAs has not been easily correlated to neutral MAA structures. In this study, the origin of UV-protecting ability of MAAs was elucidated by experimental spectroscopy and theoretical investigations. The absorption maxima of mycosporine-related molecules in the UVA region were practically unaffected over a wide range of pH 4-10 and only slightly blue-shifted at pH 1-2. It was revealed that the zwitterionic nature of the amino acid residue facilitates the protonation to the chromophoric 3-aminocyclohexenone and 1-amino-3-iminocyclohexene moieties and the operation of the charge resonance in the protonated species well accounts for their allowed low-energy transitions in the UVA region. The theoretical calculations for the protonated forms well reproduced the observed transition energies and oscillator strengths of MAAs with slight systematic overestimations. This study clearly demonstrated that the 3-aminocyclohexenone as well as 1-amino-3-iminocyclohexene moieties, which are readily protonated at a wide range of pH, are responsible for the UV-protective ability of aqueous solution of MAAs. Based on these considerations, together with the study on the stability and photolability of the species, we further tried to develop the novel sunscreens that absorb in the different wavelength that covers whole the UVA regions.

1. 緒言

紫外線 (UV) は、急性皮膚反応や皮膚がんなどを誘発することが知られており、特に太陽光の大半を占める UVA (320 ~ 400nm) は、天候に関わらず年中一定量が地表に達するため、また、ガラスをも透過して室内に侵入することが問題となっている。したがって、「日常的な UVA からの保護」が社会的ニーズとなってきている。国内外において、様々な種類の UV 防御剤 (サンスクリーン) が市販されているが、現行製品は、主に芳香族系合成有機化合物が使用されており、

- ①光励起によるメラニンの生成、付随するかゆみやアレルギーの誘発の問題
- ②合成化学物質が化粧品に利用されることによる消費者イメージの悪化
- ③光安定性・分解物の副作用などの問題

などの課題が残っている。一方、サンスクリーン市場は国内だけで 340 億円にも達しており、国外市場も考えると、その改善策を確立することができればコスメトロジーに与えるインパクトは極めて大きいものと考えられる。

マイコスポリン様アミノ酸 (MAA、図 1) は芳香族基を有しない天然物であり、UVA2 (320 ~ 340nm) の効果的

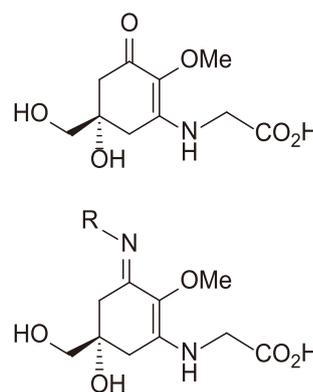


図 1

な吸収材となることが古くより知られている。MAA は海産藻類が産することが知られていたが、天然からはごく微量しか得ることができず、またいわゆる有機合成的手法による生成は困難であった。ところが最近、遺伝子組換え放線菌を用いた生物学的合成 (微生物による合成) により、代表的な MAA であるシノリンの大量生産が可能となり、工業化への展望が開けた。しかしながら、サンスクリーンとしての製品化やさらなる開発・改良に必要とされる MAA の物性研究は、ほとんどなされていないのが現状である。また、シノリン単独の素材のみで UVB (280 ~ 320nm) や UVA1 (340 ~ 400nm) といった全波長領域の紫外線をカバーすることはできないため、MAA の吸収機構を活用した、より広範なサンスクリーン剤の開発が望まれている。本研究では、MAA に特徴的な吸収機構を解明し、それを活用することで類縁体構造を有するこれら波長域の新たな紫外線吸収材の開発を行い、これまでの有機系サンスクリ



New Natural Sunscreens based on Biologically Produced Mycosporine-like Amino Acids through their Efficient Charge Resonance Absorption

Tadashi Mori

Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University

ーンに置き換わる、天然由来の新規サンスクリーン材を開発することが目的である。

2. 方法

本課題では新規な天然由来UV防御材(サンスクリーン)の開発にあたり、主として次に挙げる3つの目標を定めて研究を進めた。

2.1. マイコスポリン様アミノ酸(MAA)誘導体の吸収機構の解明

- ・各種分光測定に加え、最先端の量子化学計算を併用し、通常では容易に理解できないMAAの吸収メカニズムを解明し、以下の研究に資する理論的基盤を得る。

高精度の量子化学計算を用いることで、様々な化学種の電子状態の予測が可能となってきた。しかしながら、よく用いられるTD-DFT計算などは、比較的良好な結果が高速で得られるという報告が散見される一方、電子状態の記述において様々な不具合も指摘されている。本研究ではより高精度なクラスター展開型の計算を併用することで、より厳密に遷移エネルギーを見積もることを検討する。また、溶媒効果についても理論的なアプローチを試みる。実験的には、有機溶媒と水中でのスペクトル変化を考察するとともに、水溶液のpH依存性を検討し、吸収機構の足掛かりを得る。

2.2. より吸収特性の良いMAA誘導体の創出

- ・先の結果を踏まえ、量子化学計算を併用しながら、280～400nmにおける特定の波長の紫外線を強く吸収する複数の誘導体の最適構造を設計、または設計指針を取得する。
- ・吸光度の確保に関して、溶媒極性など環境因子の効果の検討を進める。
- ・吸収波長、吸収能力を担保しながら生物合成の優位性を活かせる設計へと転換する。

シノリンはMAAの一種であり、芳香環は有していないが、330nm付近に極大吸収波長を有し、特に皮膚へUVの影響が大きいUVA2(320～340nm)の効果的なサンスクリーンとなる。このような単一の化学種の吸収は、通常1つの吸収帯のみで構成されているため、単独の素材のみでUVB(280～320nm)やUVA1(340～400nm)といった全波長領域の紫外線をカバーすることは難しい。MAA類縁体構造を有するこれら波長域の新たな紫外線吸収材の開発が進めば、例えば複数の誘導体を混在させるなどにより、サンスクリーンとしての用途の飛躍的な拡大が見込まれる。そのためには、シノリンの吸収帯であるUVA2領域のモ

ル吸光係数の向上と、他の波長領域(UVBやUVA1)に大きな吸収能を有する化合物の設計および開発が必要である。量子化学計算を用いる分子構造・スペクトル予測を活用した先述の方法論により、合理的なターゲット誘導体を提案し、高機能材料の開発スピードの向上に結び付ける。

2.3. MAA誘導体の分解挙動、物性研究を鍵とする人体に優しいサンスクリーンへの展開

- ・熱、酸素などに対する安定性を精査し、分解様式の特定を進める。
- ・分解物に関し各種分光的手法を用いてその物性を明らかにする。
- ・種々の要因による分解機構を解明、フィードバックし、より安定な誘導体を設計する。

MAAは実験的には一定の安定性を有することがわかっているが、商品化においては長期的な保存や多様な条件下での安定性評価など、さらなる詳細な検討が必要である。MAAは電子密度の高いオレフィン部位を持ち、酸素やラジカルに対し不安定となりうるため、保存状態によっては分解物を生成する。このような分解産物の特定と物性研究は、化粧品素材として展開する予定のMAAの安全性を担保する上で必須であるだけでなく、分解を抑制する条件探索にも資すると期待できる。複雑な分解機構すべてを解明することは難しいが、その主要なプロセスを明らかとすることで、将来的には屋外壁面部材の退色防御剤といった汎用的工業用製品だけでなく、生体適合性を発揮でき得る医療用光学材料などへの展開をも視野に入れることができ、経済的波及効果も大きいものと考えられる。

3. 結果と考察

3.1. マイコスポリン様アミノ酸(MAA)誘導体の吸収機構の解明

本研究の主たる検討対象であるMMAのUV吸収帯を形成する基本骨格は、3-アミノシクロヘキセノン、または1-アミノ-3-イミノシクロヘキセンである。中性状態において、これらの系では、単純な置換アルケンに比較すればπ系の共役のため遷移エネルギーの低下が期待されるものの、サンスクリーンとして機能するほどのエネルギー領域には到底及ばない。理論計算による予測では、置換基などの存在により吸収波長の多少の移動は認められるものの、最大300nmまでの吸収にとどまると示唆された。すなわち、この化合物の構造そのままで作用する機構は考えにくい。また、極めて高いUV吸収能を考えると、この化合物から分解して生成する不純物による機能とも考えにくい。

検討の経緯の詳細は省略するが、最終的に、3-アミノシクロヘキセノンあるいは1-アミノ-3-イミノシクロヘ

キセン骨格がプロトン化され、連続する5元素間で電荷共鳴を起こすことで遷移エネルギーの著しい低下がみられ、サンスクリーンに必要とされるUV吸収能を取得することが明らかとなった(図2)。この状態では、分子全体にHOMOおよびLUMO軌道が非局在化することで、遷移エネルギーの低下が引き起こされるとともに、吸光係数も飛躍的に増大する。このような化学種を想定した理論計算を行うと、見事に実験的に得られるスペクトルを再現することができた。すなわち、MAAの特異的なUV吸収能はそのプロトン化体の電荷移動共鳴が鍵であることを世界で初めて明らかとすることができた¹⁾。また、さらに興味深いことに、アミノ酸残基のツピッターイオン性により、水中では広範なpH領域(pH=4~10)で、MAA誘導体がプロトン化状態を維持できることも明らかとなり、このことが本質的な溶液状態における強いUV吸収能の獲得につながっていることも明らかとすることができた。このような作用機構に基づくUV吸収は斬新でありかつインパクトの強いものであったため、関連分野内外において様々な研究に引用されている。また、総説や書籍にも発表直後から引用され始め、本分野での先導的な研究となったものと自負している^{2,3)}。

3.2. より吸収特性の良いMAA誘導体の創出

より吸収特性の良いマイコスポリン様アミノ酸(MAA)誘導体の創出に関しては、種々のシロリン誘導体候補に関して、まずは従来型の経験的考察による分子設計を行い、それらのうちの代表的な選定化合物に関して汎密度関数

法、クラスター展開法による高精度量子化学計算を行った。母体シロリンのカバーするUVA2(320~340nm)以外の波長領域に吸収を持つ化合物として、一群の誘導体が見出され、UVB(280~320nm)とUVA1(340~400nm)をそれぞれ吸収領域とする有効な誘導体に分類するとともに、構造物性相関を詳細に検証した。さらに多角的に解析によって、相当数の候補化合物群を提案するとともに、吸収波長や吸光度における物性マッピングを達成することができた。今後のバイオ技術改良により入手ルートにおける問題解決を図りつつ、より容易かつ安価に入手可能な誘導体の分子設計へとフィードバックすることで、より効果的、効率的な材料開発へとつなげたい。

3.3. 分解挙動、物性研究を鍵とする人体に優しいサンスクリーンへの展開

より人体に優しいサンスクリーンへと発展させるためには、サンスクリーンを実際に利用するシーンにおける安定性などがあわせて問題となる。そこで、MAA誘導体の種々の要因(加熱や光など)による分解機構を解明するとともに、より安定な誘導体の設計へとフィードバックし、また、分解物に関し各種分光学的手法を用いてその物性を明らかにすることとした。多数の少量分解物が含まれており困難を極めたが、反応系における可能な化学反応プロセスの考察、質量分析、紫外可視、円二色性、蛍光スペクトル、核磁気共鳴スペクトルによる追跡、ならびにクロマトグラフィーなどの結果を総合的に勘案することで、少なくとも主要な複数の酸化性分解物の特定に至った。これを足掛か

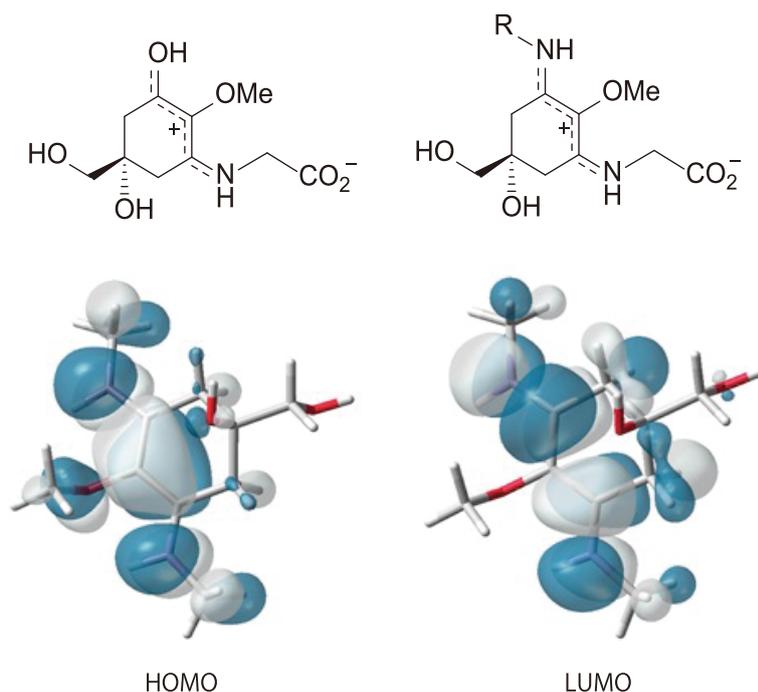


図2

りに、作用機構の考察へとフィードバックし、一連の分解物の推定が可能となった。また、これら分解物の各条件下での生成量の追跡などの詳細を検討することで、その作用機構の詳細をも明らかとすることができた。これらの知見を活用して合理的にシノリンの安定性向上を検討することが可能となり、必要条件も明らかとなった。今後の継続検討により、商品化へもつながるものと期待している。また、本研究の主題であるコスメトロジー、即ち化粧品材料への展開にとどまらず、コスト面での問題が解決すれば、工業用・建材用UV防衛剤(壁面などの退色防止剤)への展開も視野に入ってきた。

4. 総括

有機物や無機物を用いたサンスクリーンの開発は、国内外で精力的に進んでおり、とくに企業での研究が盛んである。製品としても、化粧品業界から多数のものが市場に出回っている。日焼け止め化粧品は、国内外ともに、今後大きな発展が見込まれる市場であるのは言うまでもなく、国内市場は340億円程度【富士経済・化粧品マーケティング要覧2014より】、世界市場としては58億ドル【Chipalkatti, 13th International Sun Protection Conference, 2015, London】であり、さらに成長する可能性が高い。一方、これらのほとんどは、芳香族性の有機物合成化学品を基盤にしたものであり、アレルギーなどの実害にもつながっているなど、人体に優しい生物由来の製品とはなっていない。一時的な利用であれば十分な性能を有しているが、有害な紫外線のうち、太陽光の大半を占めるUVA (320～400nm)は、天候に関わらず年中一定量が地表に達し、ガラスをも透過して室内に侵入するため、UVAからの保護の目的としては、「日常使い」可能なサンスクリーンの開発が急務といえる。また、幼児などへの用途も急増している。このような点で、現在主流な有機物、無機物を主成分とするサンスクリーンに代わる、生物由来のサンスクリーンの開発が望まれている。しかしながら、その学術的、応用的研究は、国内外ともにほとんど進んでいない。本研究は、放線菌を利用する生体的な合成法が最近になり確立された、マイコスポリン様アミノ酸(MAA)の主成分である、シノリンに着目したものであり、代替サンスクリーン開発への実現可能性が最も高いものと期待される。

本研究では、その特異な吸収機構を、理論的検証を交えながら世界で初めて明らかとすることができた。また、類縁体の構造・スペクトル予測による新規構造体の探索に関して、化学的、理論的考察に基づいた種々のシノリン誘導体に対して、汎密度関数法、クラスター展開法による高精度量子化学計算を行い、母体シノリンのカバーするUVA2 (320～340nm)以外の波長領域として、UVB (280

～320nm)やUVA1 (340～400nm)をそれぞれ吸収領域とする有効な誘導体も確認できた。さらに、化学構造とスペクトルの波長シフトの相関、典型的な置換基効果などに関する知見も得ることができた。また、MAAの精製、安定性、および分解物の解明に関して、化学反応プロセスの考察、質量分析、紫外可視、円二色性、蛍光スペクトル、核磁気共鳴スペクトルによる追跡、ならびにクロマトグラフィなどの結果を総合することで、いくつかの酸化性分解物の特定に至り、主要なプロセスの確立に成功した。また、これら分解物の各条件下での生成量の追跡などの詳細を検討することで、その作用機構の一端を明らかとすることも成功した。これらの知見を用いて安定性を向上させる条件探索を合理的に行い、分解を一定程度遅延させる保存条件をも見出すことができた。

本研究で得られた知見は効果的なUV防御能を有するMAA誘導体の設計指針となり、世界的なトレンドである「天然由来」・「環境にやさしい」・「安全・安心」といった付加価値のあるサンスクリーンの開発を可能とするものである。さらに解析、開発が進めば、現存のサンスクリーン市場に置き換わる技術・製品ともなりうるものと期待される。本研究の成果が今後のサンスクリーン業界、ひいてはコスメトロジーにわずかならず影響を与えることを期待する。

謝辞

本研究にご支援をいただきました公益財団法人コスメトロジー研究振興財団に篤く御礼申し上げます。また、実質的な共同研究者である長瀬産業松山恵介氏、大阪大学西嶋政樹氏に感謝いたします。

(引用文献)

- 1) Matsuyama, K.; Matsumoto, J.; Yamamoto, S.; Nagasaki, K.; Inoue, Y.; Nishijima, M.; Mori, T. pH-Independent charge resonance mechanism for UV protective functions of shinorine and related mycosporine-like amino acids. *J. Phys. Chem. A* **119**, 12722-12729 (2015).
- 2) Shailendra, R.; Jainendra, P. S.; Sinha, P. R. P Cyanobacterial factories for the production of green energy and value-added products: An integrated approach for economic viability renewable and sustainable *Energy Reviews* **69**, 578-595 (2017).
- 3) Kageyama, H.; Waditee-Sirisattha, R. Mycosporine-like amino acids as multifunctional secondary metabolites in cyanobacteria: From biochemical to application aspects, *Studies in Natural Products Chemistry*, **59**, 153-194 (2018).