

トピックス

クルクミンの生理作用解析ツールとしての代謝産物および構造類似体 Metabolites and structural analogs of curcumin as tools for analyzing its physiological effects

はじめに

クルクミン ((1E,6E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione; C₂₁H₂₀O₆, 図1) はウコン (*Curcuma longa*) に含まれる黄色の疎水性ポリフェノールである。カレーが黄色いのはスパイスとして用いられるターメリックにクルクミンが含まれるからである。ウコンにはクルクミンの他にデメトキシクルクミンおよびビスデメトキシクルクミンが含まれており、これらは総称してクルクミノイドと呼ばれる。様々

なウコン品種のクルクミノイド含有比率に関する調査の結果、調べた全ての品種において、デメトキシクルクミン (19～26%) やビスデメトキシクルクミン (19～28%) の含有比率よりも、クルクミン (52～63%) の含有比率が高いことが明らかになっている¹⁾。クルクミンはケト-エノール互変異性化を受けるため、ケト型またはエノール型 (図1) として存在する²⁾。クルクミンは抗酸化作用や抗炎症作用、抗がん作用など多岐にわたる生理作用を発揮し、動物試験および臨床試験でのクルクミンの有効性を示す報告がある³⁾。その

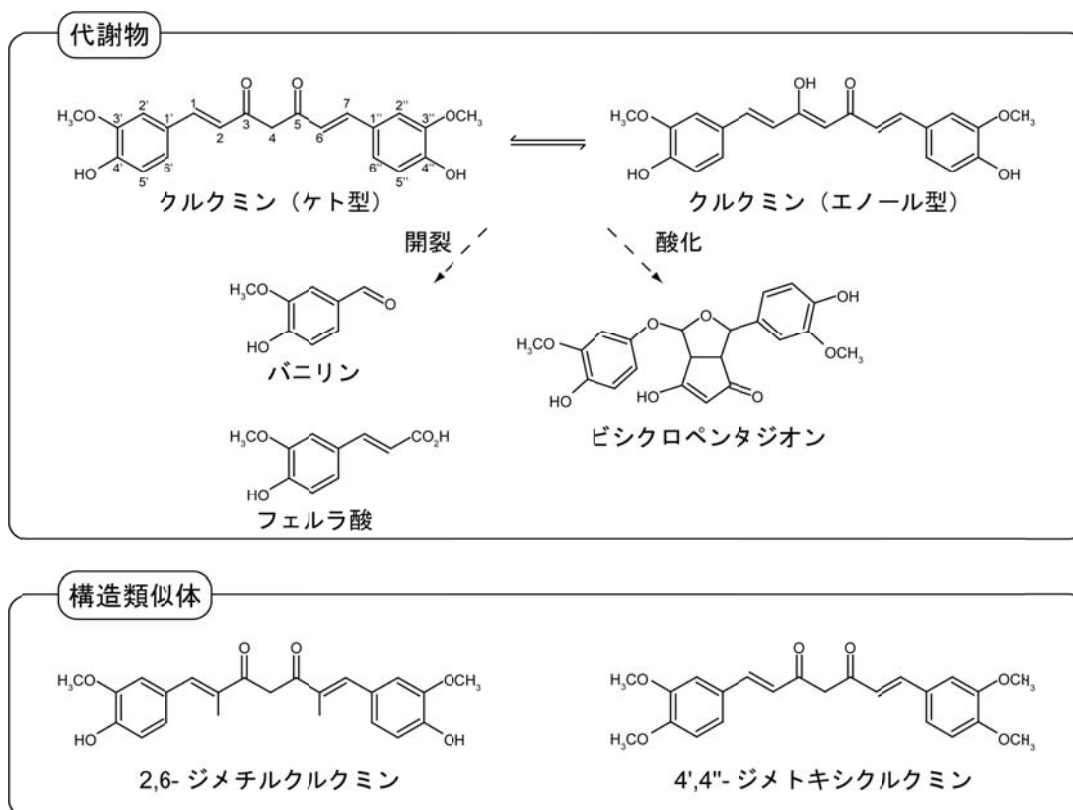


図1 クルクミンの代謝産物と構造類似体の構造

一方で、薬物スクリーニングでクルクミンがヒットしても臨床試験では効能を示さない場合があるという注意喚起もあり⁴⁾⁵⁾、クルクミンの効能と作用機序に関してはまだ議論の余地が残っている。試験管内や培養細胞試験で認められた効果が動物試験で認められない原因のひとつには、難溶解性や低吸収率といったクルクミンのバイオアベイラビリティの低さによる量的な問題が挙げられる。もうひとつの原因としては、クルクミンの構造の不安定さや急速な代謝による分解といったクルクミンの構造の変化が挙げられる。そのため、特に後者の問題の関与を明らかにするためには試験管内や培養細胞試験の結果がクルクミンによるものであるのか、クルクミンの代謝産物や分解産物によるものであるのかを明らかにすることが重要である。

培養細胞を用いた試験において、培養液中に血清が存在しない場合、クルクミンは顕著に分解されるが、血清存在下ではクルクミンの安定性は著しく向上する⁶⁾。具体的には無血清培地中においてクルクミンは約90%が30分以内に分解するのに対し、10%のウシ胎児血清を含む培地やヒトの血液中では、1時間以内に分解するクルクミンは20%未満に留まり、8時間でもクルクミンは約50%以上が残存する⁶⁾。加えて、中性～塩基性条件下よりも酸性条件下でクルクミンの安定性は向上する⁶⁾。生理的pHのリン酸緩衝液中において、クルクミンは12分間で80～90%分解するが、ビタミンCやtroloxなどの抗酸化剤存在下において安定性が向上する⁷⁾ことから、クルクミンは酸化分解を受けると考えられる。一方で、クルクミンは水溶液中と比較して有機溶媒中では比較的安定であり、30℃における代謝分解はエチレングリコール、1,4ジオキサン、イソプロパノール溶液中では0.4～1.4%/日程度であり、ジメチルスルホキシド(0.2%/日)やエタノール(0.05%/日)溶液中ではさらに低下する⁸⁾。本稿では近年明らかになってきたクルクミンの代謝機構および代謝産物が引き起こす生理作用、さらに構造活性相関の特定に役立つ構造類似体について紹介する。

クルクミンの酸化代謝産物

クルクミンは、フェノール環をつなぐヘプタジエノン鎖の開裂による非酵素的な分解によりバニリンやフェルラ酸(図1)などを生成することが知られていたが、Griesserら⁹⁾はクルクミンの別の代謝機構として、ヘプタジエノン鎖の自動的あるいはシクロオキシゲナーゼ2による酸化的環化を介してビスクロペンタジオン誘導体の形成につながる経路の存在を提唱した。この新たに見いだされたクルクミンの酸化的代謝経路

は、フェノール性水酸基からの水素引き抜きによって開始され⁹⁾、スピロエポキシド中間体の形成を経て、主要な安定代謝生成物であるビスクロペンタジオン(図1)を形成する¹⁰⁾。自動酸化変換は、試験管内における生理的pH下でのクルクミン代謝の主要な経路であると推察されている⁹⁾。つまり、これまでにクルクミンを用いた実験において報告されている様々な作用が、クルクミン自体に由来する作用ではなくクルクミン酸化代謝産物に由来する作用である可能性が生じたのである。そして、実際に近年クルクミンを用いて観察された効能が酸化代謝産物によるものであったとの例が報告された。例えばAlli-Oluwafuyiら¹¹⁾は、クルクミンが酸化依存性メカニズムを介してグルカゴン様ペプチド-1の分泌を誘導し、血糖降下作用を発揮する可能性を見いだした。また、詳細は後述するが、Edwardsら¹²⁾はクルクミンによるNF-κBの阻害作用が酸化代謝産物に由来すると報告している。

クルクミンの構造類似体を用いた検討

クルクミンをリード化合物とした創薬の実現、クルクミン生理作用の構造活性相関の解明、クルクミンが持つ効能がクルクミンと代謝産物のどちらに由来するのかの同定のために、様々なクルクミン構造類似体を用いた検討が行われている(図1)。Kooら¹³⁾は、クルクミンのC2およびC6位置にメチル基を導入することで、クルクミン還元作用を持つアルコールデヒドロゲナーゼに対する立体障害を作り出すことにより、ビニル基への還元的代謝を防ぐことを期待して2,6-ジメチルクルクミン(図1)を合成した。この化合物はアルコールデヒドロゲナーゼによる還元を抵抗を示して安定となった結果、U87MGグリア芽腫を用いた担がんマウスモデルにおいてクルクミンよりも強い腫瘍増殖抑制作用を示した¹³⁾。また、クルクミンのフェノール性水酸基がメトキシ基で置換されたメチル化アナログ4,4'-ジメトキシクルクミン(図1)は、クルクミンと比較して培養細胞試験条件で安定であり、HCT116ヒト結腸がん細胞に対するアポトーシス誘導作用が強いこと¹⁴⁾、MDA-MB435S悪性乳がん細胞を用いた担がんマウスモデルにおいてクルクミンよりも強くパラプトーシスを誘導して強力な抗がん効果を示すことが明らかになった¹⁵⁾。これらの結果は、クルクミン自身が直接作用を発揮することを示唆するものである。

Edwardsら¹²⁾は、リポポリサッカライドにより刺激したRAW264.7マクロファージ細胞における抗炎症作用が、クルクミンに由来する作用であるのか、酸化代謝産物に由来する作用であるのかについて、様々なク

ルクミン構造類似体を用いた検討を行った。デメトキシクルクミンはクルクミンと比較して自動酸化速度が遅く安定となり、ビスデメトキシクルクミンはさらに安定であったという報告¹⁶⁾から、彼らは芳香環にメトキシ基を導入すると自動酸化が促進し、メトキシ基を脱離すると自動酸化が減少すると予測した。加えて、自動酸化がフェノール性水酸基のひとつから水素が引き抜かれることで開始することから⁹⁾、化学修飾によってフェノール性水酸基の一方または両方をブロックするとクルクミンの安定性が向上することを予測した。これらの予測に基づいて、様々な化合物を合成して検証を行った結果、ヘプタジエンジオン鎖が修飾された化合物群の自動酸化は、芳香環のメタ位にメトキシ基を配置することで増加すること、フェノール性水酸基をブロックした化合物群ではクルクミンと比較して安定性が高いことが実験的に証明された¹²⁾。酸化変換を受ける合成クルクミン類似体は IKK β 活性を阻害することで NF- κ B を強力に阻害するが、酸化変換を受けない類似体は IKK β 活性に対する阻害活性が低く、酸化変換の速度と NF- κ B の阻害との間に強い相関関係が観察された。この機構にはクルクミンおよびクルクミン酸化代謝産物の IKK β への直接的結合能が関与していた。これらの結果は、クルクミンの抗炎症作用が酸化代謝産物によって媒介されることを示唆するものである。

おわりに

本稿では、クルクミンの代謝機構およびクルクミンの構造活性相関の解明に役立つクルクミン構造類似体について紹介した。試験管内における試験や培養細胞を用いた試験においてクルクミンは酸化反応を起こし、生じる産物が活性本体である可能性が近年明らかになってきた。これまでに報告されたクルクミンの生理作用に代謝産物が関与している可能性があり、どちらが作用するのかについて再検証が必要な場合もあるだろう。一方で、このクルクミンの酸化反応が生体内で生じるということは未だ確認されていない。構造類似体を用いた検討でみられたクルクミンとの作用の違いが、安定性に由来するのか、構造の変化による標的因子へのアフィニティーの変化に由来するのかは議論の余地がある。これを明らかにするためには、クルクミンの作用標的因子を同定するというミッションも必要になる。本稿で紹介した様々なクルクミン構造類似体を用いてクルクミン、還元代謝産物、酸化代謝産物のどの化合物が関与しているのかを予測することで、クルクミンによる様々な生理作用の発揮メカニズムの

解明につながることを期待される。

Key words :curcumin, metabolites, oxidative degradation, stability, structure-activity relationship

Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University

Yumi Arahori, Naoki Harada, Ryoichi Yamaji

大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻

荒堀 有美, 原田 直樹, 山地 亮一

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2021.2.4 受付)

文 献

- 1) Madsen B, Garcia VH, Vera LH (2005) Purification process for improving total yield of curcuminoid coloring agent. *Bioorg Med Chem Lett* **25**, 5067-5071
- 2) Lee WH, Loo CY, Bebawy M, Luk F, Mason RS, Rohanizadeh R (2013) Curcumin and its derivatives: their application in neuropharmacology and neuroscience in the 21st century. *Curr Neuropharmacol* **11**, 338-378
- 3) Heger M (2017) Don't discount all curcumin trial data. *Nature* **543**, 40
- 4) Baker M (2017) Deceptive curcumin offers cautionary tale for chemists. *Nature* **541**, 144-145
- 5) Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA (2017) The essential medicinal chemistry of curcumin: miniperspective. *J Med Chem* **60**, 1620-1637
- 6) Wang YJ, Pan MH, Cheng AL, Lin LI, Ho YS, Hsieh CY, Lin JK (1997) Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. *J Pharm Biomed Anal* **15**, 1867-1876
- 7) Nimiya Y, Wang W, Du Z, Sukamtoh E, Zhu J, Decker E, Zhang G (2016) Redox modulation of curcumin stability: Redox active antioxidants increase chemical stability of curcumin. *Mol Nutr Food Res* **60**, 487-494
- 8) Mondal S, Ghosh S, Moulik SP (2016) Stability of curcumin in different solvent and solution media: UV-visible and steady-state fluorescence spectral study. *J Photochem Photobiol B* **158**, 212-218
- 9) Griesser M, Pistis V, Suzuki T, Tejera N, Pratt DA, Schneider C (2011) Autoxidative and cyclooxygenase-2 catalyzed transformation of the dietary chemopreventive agent curcumin. *J Biol Chem* **286**, 1114-1124

- 10) Gordon ON, Luis PB, Sintim HO, Schneider C (2015) Unraveling curcumin degradation autoxidation proceeds through spiroepoxide and vinyl ether intermediates en route to the main bicyclopentadione. *J Biol Chem* **290**, 4817-4828
- 11) Alli-Oluwafuyi AM, Luis PB, Nakashima F, Giménez-Bastida JA, Presley SH, Duvernay MT, Iwalewa EO, Schneider C (2019) Curcumin induces secretion of glucagon-like peptide-1 through an oxidation-dependent mechanism. *Biochimie* **165**, 250-257
- 12) Edwards RL, Luis PB, Varuzza PV, Joseph AI, Presley SH, Chaturvedi R, Schneider C (2017) The anti-inflammatory activity of curcumin is mediated by its oxidative metabolites. *J Biol Chem* **292**, 21243-21252
- 13) Koo HJ, Shin S, Choi JY, Lee KH, Kim BT, Choe YS (2015) Introduction of methyl groups at C2 and C6 positions enhances the antiangiogenesis activity of curcumin. *Sci Rep* **5**, 14205
- 14) Tamvakopoulos C, Dimas K, Sofianos ZD, Hatziantoniou S, Han Z, Liu ZL, Wyche JH, Pantazis P (2007) Metabolism and anticancer activity of the curcumin analogue, dimethoxycurcumin. *Clin Cancer Res* **13**, 1269-1277
- 15) Yoon MJ, Kang YJ, Lee JA, Kim IY, Kim MA, Lee YS, Park JH, Lee BY, Kim IA, Kim HS, Kim SA, Yoon AR, Yun CO, Kim EY, Lee K, Choi KS (2014) Stronger proteasomal inhibition and higher CHOP induction are responsible for more effective induction of paraptosis by dimethoxycurcumin than curcumin. *Cell Death Dis* **5**, e1112
- 16) Gordon ON, Luis PB, Ashley RE, Osheroff N, Schneider C (2015) Oxidative transformation of demethoxy- and bisdemethoxycurcumin: products, mechanism of formation, and poisoning of human topoisomerase II α . *Chem Res Toxicol* **28**, 989-996