

嘉南藥理大學 105 年度教師研究補助計畫成果報告

計畫類型	<input type="checkbox"/> 與業界廠商合作研究 <input checked="" type="checkbox"/> 重點研究 <input type="checkbox"/> 一般個人型研究				
本(子)計畫主持人	李冠漢	單位	藥學系	職級	教授
聯絡電話	分機：2000		E-mail	kuanhanlee@mail.cnu.edu.tw	
本(子)計畫名稱	以 3D QSAR 與半合成方法由紅麴色素開發新穎性之黑色素生成抑制劑				
重點研究總計畫名稱	以物理性、生物性因子誘導及化學半合成方法探討紅麴二次代謝物於功能性化粧品之應用				
重點研究總計畫主持人	李冠漢	單位	藥學系	職級	教授
「與業界廠商合作研究計畫」填寫	廠商名稱				
	廠商出資金額				
執行期限 (核定公告日由研發處填寫)	自核定公告日起至民國 105 年 12 月 31 日止				



研究計畫內容

(一) 摘要

Filamentous fungi are known to be prolific producers of secondary metabolites, such as penicillin, lovastatin, and cyclosporine, and are an important resource for discovering small molecules of pharmaceutical and industrial value. *Monascus* spp. produced several well-known polyketides such as monacolin K, citrinin, and azaphilone pigments. Azaphilone pigments are a class of fungal metabolites characterized by a highly oxygenated pyrano-quinone bicyclic core and exhibiting a broad range of bioactivities. In this study, the orange pigments will be transformed into red pigments by replacing the oxygen moiety of orange pigments with various nitrogen-containing derivatives. The optimal side chain will be selected by using 3D QSAR approaches, such as pharmacophore development and molecular simulation. The amino acid and amino alcohol derivatives will be tested as the inhibitors of melanogenesis for novel cosmeceuticals.

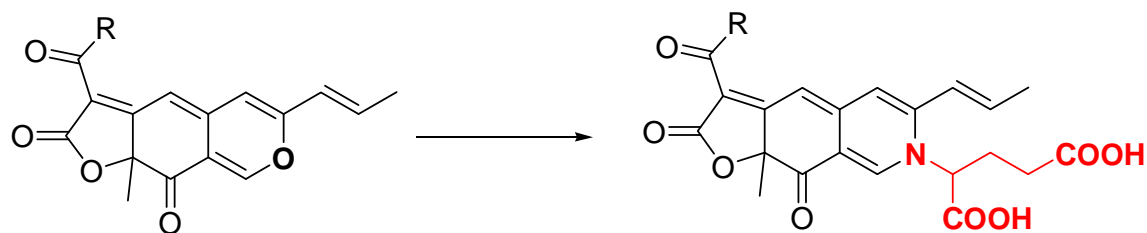
(二) 研究動機與研究問題

紅麴在發酵過程中，會產生醇、酸、酯與其他酵素水解物質，這些發酵產物，能造成發酵產品的芳香味與甘甜口感，因而成為常用的食品材料。紅麴發酵過程所產生的二次代謝物具有許多有益於人體的活性成分，更成為近年來生技藥粧產業研發重點項目，如：紅麴色素與 monacolin，可分別用為食用色素與膽固抑制劑。目前的研究與產品開發多集中在食品加工、降膽固醇、降血壓等代謝症候群的應用。

紅麴色素是經衛福部認可的天然色素，由紅麴菌 *Monascus* sp 生產，經萃取純化而得。主成分依色澤分為紅麴紅色素、紅麴黃色素、紅麴紫色素等 3 類，隨著各類色素所佔之比例不同，因而產生由橙色到暗紅色等多樣化之紅麴色素產品系列，是安全性極高的食用色素或食品著色劑。

色素	成分
紅色素	Monascorubramine, rubropunctamine
橙色素	Monascorubin, rubropunctatin
黃色素	Ankaflavin, monascin, xanthomonascin A

2014 年 Jo DJ 等人發表了有關於紅麴橙色素的含氮衍生物可抑制黑色素生成的文章，其中提到 glutamic acid 的衍生物對於 melanin-synthesis pathway 中的 tyrosinase 有 dose-dependent 的抑制效果。上述的研究成果，引起我們對紅麴色素與美白活性成份的開發的興趣，累積多年對藥用真菌的研究，擬定了針對紅麴二次代謝物作為化粧品活性成分研發的系列計畫，尤其對於美白功能性的探討，聚焦為近期的研發重點。



由 Jo DJ 的報導，上圖紅麴色素的 glutamic acid (紅色部分) 衍生物，具有美白潛力。因此，本研究將聚焦於具有 azaphilone 核心結構的紅麴色素的含 N 衍生物與美白功能的探討。

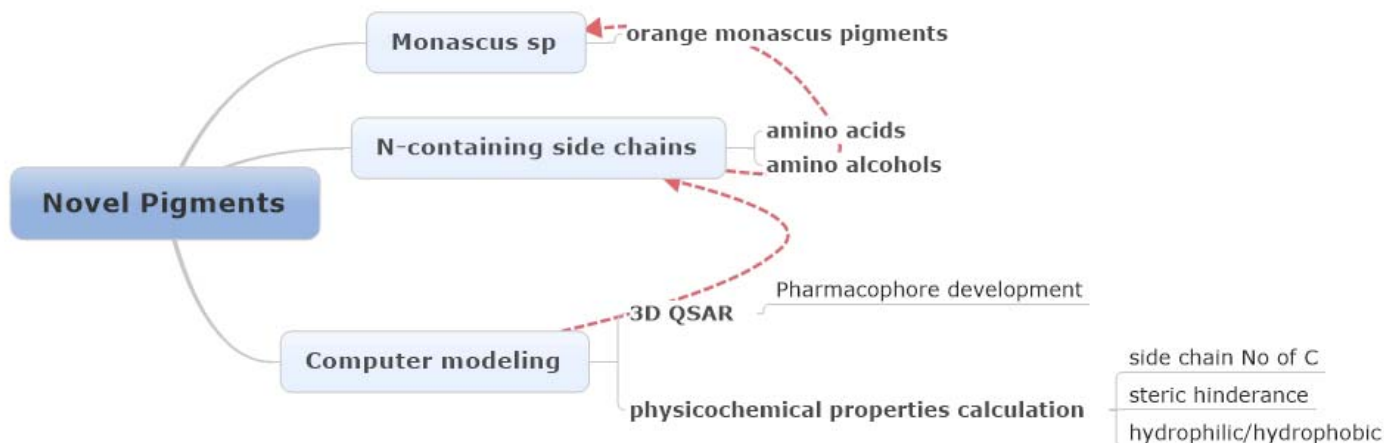
研究問題歸納為以下 3 個重點：

1. 利用理論計算(藥效團建立)推導最適當的含 N 側鏈
2. 由理論計算而得的含 N 側鏈，建立半合成方法，將紅麴色素轉換成為含氮衍生物
3. 提供紅麴色素含氮衍生物給子計畫三，進行生物活性評估與後續產品開發。

(三) 研究方法與步驟

計畫中利用電腦理論計算與模擬對接方法，找出在理論中最適當的含 N 側鏈，半合成出含 N 的紅麴橙色素衍生物，亦即新穎性的色素，作為美白化粧品之功能性成分，研究方法流程，如下圖所示。



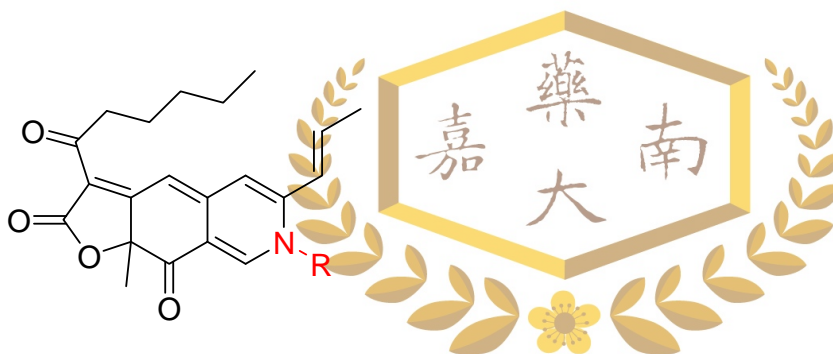


(四) 實驗結果及討論

1. **最適側鏈的理論計算與選擇**：本研究在市售的化學物中先選取適當的 amino acid，如 glutamic acid 等 17 種與 amino alcohol，如 2-amino-1-propanol 等 3 種，對這 20 種化合物進行理論探討，得到初步數據如下：

- (1) 圖型工作站：Intel® Xeon® CPU W3565@3.20GHz；RAM 20.0GB；windows 64 位元作業系統
- (2) 軟體：以 BIOVIA (Accelrys) Discovery Studio 2.5
- (3) 計算模組
 - a. Molecular Properties Calculation
 - b. Conformation--- Generate Conformation
 - c. Pharmacophore--- Common Feature Pharmacophore Generation
 - d. Pharmacophore--- Ligand Pharmacophore Mapping

選取 glutamic acid, leucine, tryptophan 等 3 種 amino acid 與 2-amino-4-picoline, theanine, 2-amino-1-propanol 等 3 種 amino alcohol，進行計算，結果如下：

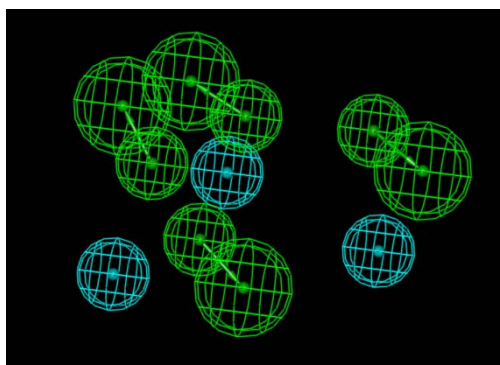


a. Molecular Properties

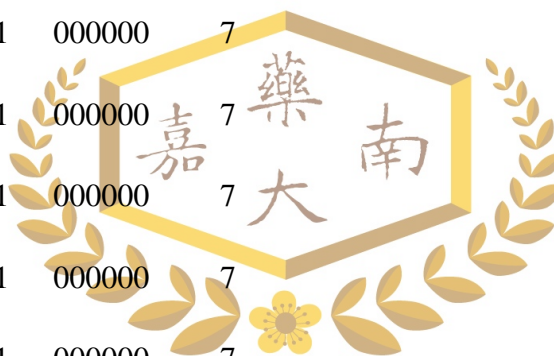
含 N 側鏈 R=	ALogP	MW	H acceptors	H donors	Rotatable bonds	Rings	Ar Rings	Molecular Fractional Polar Surface Area
glutamic acid	2.875	483.51	9	2	11	3	0	0.293
leucine	4.404	467.554	7	1	10	3	0	0.215
tryptophan	5.022	540.606	7	2	10	5	2	0.226
2-amino-4-picoline	4.134	444.522	6	0	7	4	1	0.175
theanine	2.802	510.579	8	2	12	3	0	0.256
2-amino-1-propanol	3.045	411.491	6	1	8	3	0	0.203

b. Generate conformations: Conformation generation for 6 molecules yielded 1490 conformations. Average is 248.33 conformations per molecule.

c. Pharmacophore

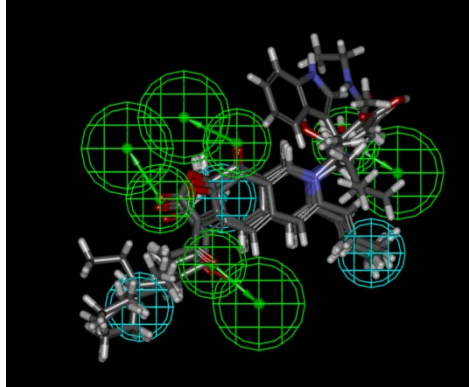


Features	Rank	Direct Hit	Partial Hit	Max Fit
01 HHHAAA	107.417	111111	000000	7
02 HHHAAA	106.211	111111	000000	7
03 HHHAAA	105.539	111111	000000	7
04 HHHAAA	105.539	111111	000000	7
05 HHHAAA	105.292	111111	000000	7
06 HHHAAA	104.943	111111	000000	7
07 HHHAAA	103.112	111111	000000	7



08	HHHHAAA	102.994	111111	000000	7
09	HHHHAAA	99.995	111111	000000	7
10	HHAAAA	99.268	111111	000000	6

d. Ligand Pharmacophore Mapping

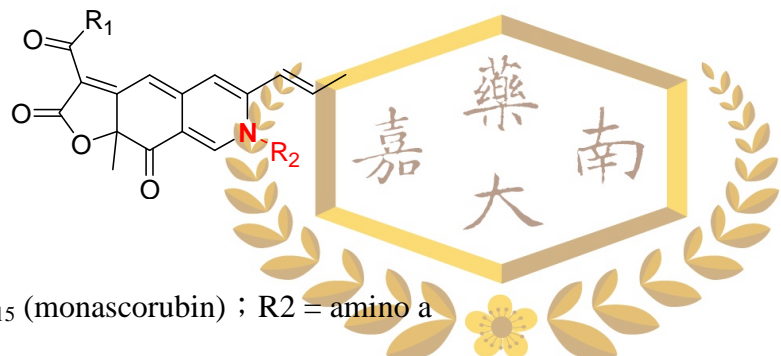


由化合物與藥效團模型對接後 fit value 與 relative energy 的理論值，挑選出最有潛力的側鏈，作為半合成的指引。

2. 具含 N 側鏈新穎性色素的半合成：將理論計算中建議的 amino acid 或 amino alcohol 與紅麴橙色素 (molar ratio=1:1) 溶於乙醇，60 °C 加熱，可以得到預期的新穎性色素。

(五) 結論

1. 研究中以 commom feature pharmacophore generation 計算後得到 10 種 pharmacophoric hypothesis，其中 scoring 最高的是 HHHAAAA，具有 3 個 hydrophobic pharmacophore 以及 4 個 aromatic pharmacophore，以此藥效團模型，進行篩選，得到最佳的候選側鏈分子。
2. 經由本藥效團模型建議，以候選側鏈分子，進一步合成出具有含 N 衍生物的紅麴色素，結構式如下圖，進行化粧品功能性分析與提供化粧品開發。



$R_1 = C_5H_{11}$ (rubropunctatin), C_7H_{15} (monascorubin); $R_2 = \text{amino a}$