

## 植物で美白になりたいっ!!

生物資源科学部 応用生物科学科

1年 河田 秋音

1年 細川 由惟音

1年 原田 侑奈

環境生物科学科

1年 長谷部 菜々

指導教員 生物資源科学部 応用生物科学科

准教授 常盤野 哲生

准教授 水野 幸一

### 【目的・背景】

体内では、「糖化」というタンパク質と糖が結合する反応が起こっていることが知られている。糖化反応により生成する最終糖化生成物（advanced glycation endproducts: AGEs）は褐色色素を含んでおり、肌に蓄積すると肌がくすんで透明感が失われてしまう。また、美肌成分であるコラーゲンは糖でできており、コラーゲンの糖化もたるみやしわの原因となる。

さらに、体内ではチロシナーゼが存在し、これはシミの原因になるメラニンを作り出す酵素である。皮膚に紫外線が当たると皮膚の表面で活性酵素が生まれ、その活性酵素は色素細胞であるメラノサイトを刺激しチロシナーゼの生産を活性化させる。そしてチロシナーゼがメラノサイトの中のチロシンと結合して黒色メラニンを生成する。これが肌に沈着したままになるとシミやそばかすの原因になる。

これらの糖化やチロシナーゼ生成などの現象を抑制することが美白に近づく方法であると考えられるので、私たちは植物からこの現象を抑制する成分を見つけたいと思い、自主研のテーマに選んだ。近年、美白についての研究が進み、糖化やチロシナーゼの働きを抑制する食品やサプリメントが多く販売されている。身近な植物に含まれる美白効果のある成分については、すでに調べられているため、本実験では地元の山菜に注目した。秋田県産の山菜では何に美白に効果的な成分が含まれているのか、抗糖化やチロシナーゼ生成を抑制する強さはどれくらいなのかを、いくつかの山菜を選んで比較し、どのくらいの効果が期待できるのかを本実験で調べることにした。

### 【実験方法】

#### (1) 山菜の抽出

山菜を凍結乾燥後に粉碎して粉末状にした、各試料 1 g あたりに 20 ml のメタノール

を加え、15×100 rpm で 5 分間ボルテックスした。その抽出液を、濾紙を使い濾過した。濾液をエバポレーターで濃縮し、真空ポンプで乾固させた。乾固させた各試料を 10 mg/ml の濃度となるよう DMSO に溶解し、被験試料とした。

表 1) 使用した山菜のメタノール抽出量

山菜名	乾燥粉末量	抽出量	抽出量/乾燥重量 1g
モウソウ皮	34.07 g	6.95 g	0.20 g
ソバスプラウト	1.95 g	0.59 g	0.30 g
アイコ	7.42 g	3.28 g	0.44 g
ネマガリ筍	8.65 g	2.83 g	0.33 g
じゅんさい	4.93 g	0.96 g	0.19 g
しどけ	11.54 g	4.03 g	0.35 g
ネマガリ筍皮	13.20 g	1.07 g	0.08 g
ゼンマイ	16.55 g	3.95 g	0.24 g
モウソウ	18.24 g	3.26 g	0.18 g
みず	9.15 g	1.65 g	0.18 g
サシボ	14.04 g	1.45 g	0.10 g

### (2) チロシナーゼ阻害活性化試験

0.1 M リン酸緩衝液 (pH6.8) を用いて、マッシュルームチロシナーゼ溶液 (20 unit/ml)、L-DOPA 溶液 (40 mM)、各被験試料 (1 mg/ml) を調製した。96 ウェルプレートに 100  $\mu$ l の L-DOPA 溶液と、50  $\mu$ l の被験試料を入れ、50  $\mu$ l のチロシナーゼ溶液を加えた。25°Cにおいて、波長 475 nm の吸光度を 30 秒おきに 10 分間測定した。時間軸に対して吸光度をプロットし、初速度を求め、コントロールに対する比活性 (%) として算出した。

### (3) 抗糖化反応試験

各試料を 50 mM リン酸緩衝液 (pH7.4、0.06%NaN<sub>3</sub>) に溶解し、被験試料 (0.1 mg/ml)、BSA (Bovine Serum Albumin) 溶液 (30 mg/ml)、フルクトース (1.5 M) を調製した。

ポジティブコントロールとしてアミノグアニジン、コントロールとして 1% DMSO 溶液を用いた。プラスチックチューブに、フルクトース、BSA、被験試料溶液を等量ずつ加え、ボルテックスした。それらを 50°Cで約 24 時間~72 時間静置後、96 ウェルブラックマイクロプレートに 200  $\mu$ l ずつ注入し、励起波長 340 nm、測定波長 420 nm で蛍光を測定した。AGEs の濃度は、静置前の蛍光強度をブランクとし、コントロール

を 100%として算出した。

### 【実験結果と考察】

#### (1) チロシナーゼ阻害活性化試験

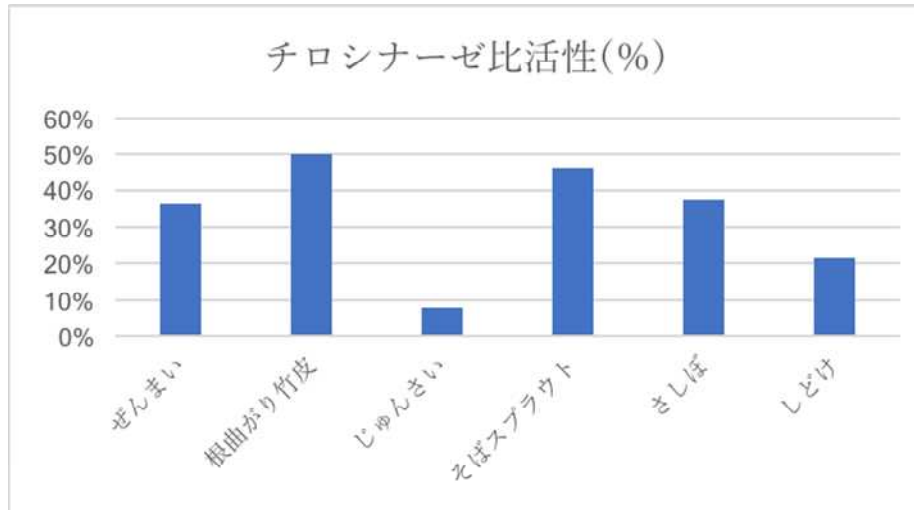


図 1 各サンプルにおけるチロシナーゼ比活性

11 種のサンプルの中からチロシナーゼ活性が阻害されているものを図 1 に示した。上記のグラフより、実験に使用した山菜の中では、じゅんさいが強くチロシナーゼ活性を阻害した。しどけ、ぜんまいもじゅんさいに続く阻害活性が見られた。他の山菜については、阻害活性が弱いか、または、活性が見られなかった。

#### (2) 抗糖化反応試験

各試料がどの程度 AGEs の生成を抑制しているのかを図 2 に示した。

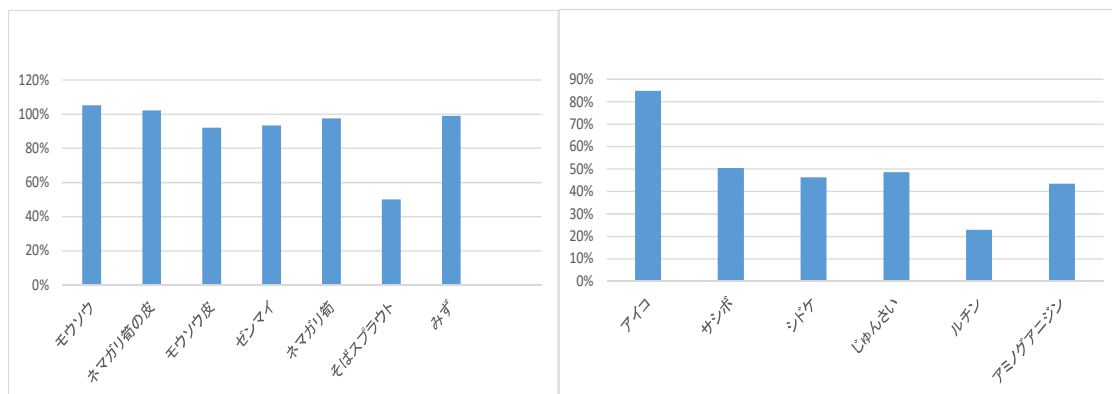


図 2 抗糖化反応の比較

上記の図より、そばスプラウト、サンボ、しどけ、じゅんさいが抗糖化活性を示していることが分かった。ほかの試料は特に強い抗糖化反応を示すものは見られなかった。

そばスプラウトにはルチンを含む類緑のフラボノイドが含まれているため、標品としてルチンを試験したところ、10 µg/ml で 23% と強い抗糖化活性を示した。よって、ルチン等のフラボノイドが活性に寄与していると考えられる。

さらに、サシボ、しどけ、じゅんさいに関しては、抽出物を ODS カラムで分画し、水、50%メタノール、100%メタノールで溶出し、それぞれのフラクションについて再度抗糖化の実験を行った。その結果を図 3 に示す。

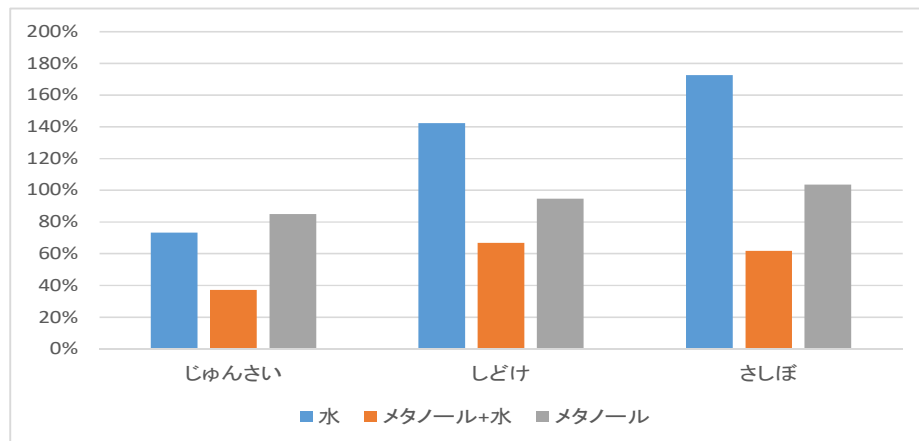


図 3 じゅんさい、しどけ、サシボの ODS 分画の各溶出成分の抗糖化活性の比較

図 3 より、いずれの試料でも 50%メタノール水溶液溶出画分に抗糖化活性を示す物質が含まれていると考えられる。

#### 【まとめ】

以上の結果より、チロシナーゼの活性阻害が強かったものはじゅんさいであり、しどけ、ゼンマイもチロシナーゼの活性阻害があることが分かった。抗糖化反応を強く示すものは、サシボ、じゅんさい、しどけであり、さらに、ODS カラム分画で 50%メタノール水溶液溶出画分に活性成分が含まれていることが示唆された。

以上より、じゅんさいはチロシナーゼ阻害活性および抗糖化活性の両方を強く示すため、今後の美容の発展、美白成分の研究などの研究対象になるのではないかと考えられる。今後はチロシナーゼ阻害活性、抗糖化活性物質を特定し、美白効果のある化粧品の研究に応用していきたい。