

海洋生物に由来する機能性化粧品素材の探索

熊本大学大学院生命科学研究部

塚本 佐知子

In Japan, we have used medicinal plants for the efficient ingredients in functional cosmetics so far. Recently, thalassotherapy has been popular in Japan, and marine algae, dried material of seawater, and marine mud are used for the therapy. However, only a few marine-derived compounds, e.g. pseudopterosin, astaxanthin, chitin, chitosan, and sodium alginate, are used for the efficient ingredients in functional cosmetics. Marine organisms inhabit under strong ultraviolet rays, and they may contain antioxidants, radical scavengers, and ultraviolet-absorbing substances. Since many drug leads were isolated from marine organisms, leads of efficient ingredients in functional cosmetics may also be discovered from marine sources. We screened the DPPH radical scavenging activity of extracts of marine organisms (360 samples) and found that the extracts of 22 samples showed more than 30% radical scavenging activity. The bioassay-guided purification of the extracts of two marine sponges (06M046, 07M105) afforded 4,7-dihydrotribastrine (1), epinine-3-*O*-sulfate (2), 5-hydroxyindole-3-aldehyde (3), 5-hydroxy-3-(2-hydroxyethyl)indol (4), 5-hydroxytryptophane (5), hyrtioerectin B (6), and hyrtiosulawesine (7). Their IC₅₀ values of the DPPH radical scavenging activity were 5.0, 50, 49, 5.2, 9.0, 49, and 9.5 μg/mL, respectively.

1. 緒言

我国においては、民間薬や漢方薬を古くから利用してきた歴史がある。その関係もあって、従来、アロエやオリーブエキスなど多くの植物成分が機能性化粧品素材として利用されてきた。そして最近では、ヨーロッパを中心として広く普及していた海洋療法（タラソテラピー）が、我国においても急速に広まってきている。タラソテラピーとは、海藻、海水乾燥物、海泥などを利用することにより、新陳代謝の促進による解毒効果や皮膚の保湿効果による美肌効果を得ることを目的とするとともに、さらに循環器や神経系統の障害を解消することにより健康を増進することを目的としたものである。我国においても最近、女性を中心としてタラソテラピーに対する関心が高まっている。しかし我国は周りを海に囲まれているにもかかわらず、現在化粧品素材として用いられている海洋資源由来の機能性化粧品素材は、抗酸化・抗炎症効果を示すシュードプテロシン、抗酸化作用を示すアスタキサンチン、保湿作用を示すキチン・キトサンやアルギン酸ナトリウムなどに限られていて、それ以外の海洋資源由来の成分については研究がほとんど行われていないのが現状である。機能性素材の中でも特に抗酸化物質は、皮脂の酸化やメラニンの産生を抑制するので、美白やアンチエイジング効果が期待できるということ



Search for leads of efficient ingredients in functional cosmetics from marine organisms

Sachiko Tsukamoto

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University

で注目されている。私たちは、現在、インドネシアのスラウエシ島北部にあるサムラトランギ大学と共同研究を行うことにより、熱帯サンゴ礁海域に棲息する海洋生物や微生物からの医薬品シーズの探索を行っている。そして、研究室において自ら各種アッセイを行いながら化合物の探索を進めることにより、生物活性を有する多くの新規天然低分子化合物を発見してきた。そこで本研究においては、これまで研究室で独自に構築した海洋資源ライブラリーを用いて、新規な機能性化粧品素材を探索することを目的とした。特に海洋生物は、強い紫外線から身を守るために、抗酸化、ラジカル消去、紫外線吸収などの各作用を示す成分を生体内に豊富に蓄えていると考えられるが、これまでに、そのような成分が発見された例はあまり知られていない。当研究室で所有するライブラリーは、機能性化粧品素材の探索資源として従来あまり利用されてこなかった海洋生物の抽出物を多く含むので、本研究の遂行により、これまでに用いられてきた化粧品素材とは全く異なったタイプの新規機能性素材が発見されると考え、本研究課題を遂行した。

2. 実験、結果

2・1 研究材料

これまでインドネシアにおいて、海洋無脊椎動物を1,400サンプル、海洋微生物を1,300サンプル収集している。また、前任地である金沢大学在任中に能登半島で海洋微生物を1,000サンプル単離している。当研究室では、それぞれのサンプルをアルコール抽出し、濃縮後に得られた水溶液を酢酸エチルと分配することにより、脂溶性画分と水溶性画分に分離しそれぞれを海洋資源ライブラリーとしている。本研究では、ライブラリーの中から360サンプルを用いてスクリーニングを行った。

2・2 スクリーニング

抗酸化作用は、DPPHラジカル消去能により検定した。私たちは、既にこの方法を用いて、キノコから新規骨格を有する抗酸化物質の単離と構造決定に成功している¹⁾。初めにDPPHを 6×10^{-5} Mになるようにメタノールに溶かし、96穴プレートに200 μ Lずつ入れ、そこにサンプルのDMSO溶液を1 μ Lずつ添加した(サンプルの最終濃度は50 μ g/mLとなる)。そして、DPPH試薬を加えずにサンプル溶液のみ加えたものをブランクとし、サンプル溶液の代わりにDMSOを1 μ L加えたものをコントロールとした。反応液を25度で30分間インキュベートした後、492nmでの吸光度を測定し、以下の式を用いてDPPHラジカル消去能を計算した。

$$\text{DPPHラジカル消去能(\%)} = \frac{[\text{ABS}_D - (\text{ABS}_S - \text{ABS}_B)]}{\text{ABS}_D} \times 100$$

ABS_D: コントロールの吸光度

ABS_S: サンプルの吸光度

ABS_B: ブランクの吸光度

スクリーニングを行った360サンプルのうち、DPPHラジカル消去能を示したサンプルの数は表1に示す通りである。

2・3 抗酸化物質の精製と構造決定

DPPHラジカル消去能を示したサンプルのうち2種類の海綿(06M046, 07M105)について、活性を指標にして抗酸化物質の精製を行った。精製には、各種カラムクロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーを用いた。得られた成分の構造決定は、核磁気共鳴(NMR)スペクトルを中心とした各種機器分析により行った。

2・3・1 インドネシア産海綿06M046から得られた抗酸化物質の精製

2006年にインドネシアのスラウエシ島北部に位置するマンテハゲ島において採集した海綿06M046(湿重量1200g)のエタノール抽出液を濃縮し、濃縮後の水溶液を酢酸エチルで分配した。得られた2つの画分を用いて、50 μ g/mLの濃度でDPPHラジカル消去能を測定したところ、17%(酢酸エチル画分)および30%(水画分)の阻害

表1 360サンプル中、スクリーニングによりDPPHラジカル消去能を示したサンプル数

DPPHラジカル消去能(%)*	サンプル数(個)
30-39	16
40-49	2
50-59	3
60-69	1

*サンプル濃度50 μ g/mL

作用を示した。活性を指標にして分画を行い、水画分から4,7-dihydrotubastrine²⁾(**1**, 604mg)およびepinine-3-O-sulfate³⁾(**2**, 2.9mg)を単離した(図1)。*n*-ブタノール画分は、TLCで水画分とほぼ同じ成分を含んでいると判断したので精製は行わなかった。化合物**1**と**2**のDPPHラジカル消去能は表2に示す通りである。

2・3・2 インドネシア産海綿07M105から得られた抗酸化物質の精製

2007年にインドネシアのスラウエシ島北部に位置するマンテハゲ島において採集した海綿07M105(湿重量800g)のエタノール抽出液を濃縮し、濃縮後の水溶液を酢酸エチルと*n*-ブタノールで分配した。得られた3つの画分を用いて、50 μ g/mLの濃度でDPPHラジカル消去能を測定したところ、84%(酢酸エチル画分)、72%(*n*-ブタノール画分)および45%(水画分)の阻害作用を示した。活性を指標にして分画を行い、酢酸エチル画分から5-hydroxyindole-3-aldehyde⁴⁾(**3**, 1.7mg)、5-hydroxy-3-(2-hydroxyethyl)indol⁵⁾(**4**, 5.3mg)、hyrtiosulawesine⁵⁾(**7**, 3.4mg)が、また水画分からは5-hydroxytryptophane⁶⁾(**5**, 5.6mg)およびhyrtioerectin B⁷⁾(**6**, 1.5mg)が得られた(図2)。*n*-ブタノール画分もDPPHラジカル消去能を示したが、TLCにより水画分とほぼ同じ成分を含んでいると判断されたので精製は行わなかった。化合物**1**–**5**のDPPHラジカル消去能は表3に示す通りである。

3. 考察

現在、海洋資源由来の機能性化粧品素材の多くは、海藻、海水乾燥物、海泥を原料としたものである。海藻から得られるものとして、多糖類であるアルギン酸ナトリウム、カラギーナン、寒天、フコイダンなどが保湿剤として用いられている。また、海水乾燥物はミネラル分を多く含むが、その組成はヒトの体液組成に類似しているため、タラソテ

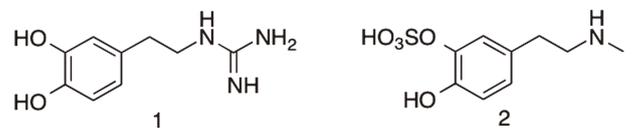


図1 7,8-Dihydrotubastrine(**1**)およびepinine-3-O-sulfate(**2**)の構造

表2 インドネシア産海綿06M046から得られた抗酸化物質のDPPHラジカル消去能

サンプル	DPPHラジカル消去能 IC ₅₀ (μ g/mL)
4,7-Dihydrotubastrine (1)	5.0
Epinine-3-O-sulfate (2)	50
Ascorbic acid*	3.0

*ポジティブ・コントロール

ラピーではミネラル成分が体内に吸収されることにより新陳代謝を促し解毒効果が得られると考えられている。海泥は、海水中の各種成分と海藻などの有機物が海底に堆積して形成されたもので、洗浄剤やパック剤として用いられている。一方、海藻、海水乾燥物、海泥以外の海洋資源由来の機能性化粧品素材として、最近、魚や甲殻類などの生物資源を起源とするものが製品化されている。たとえば魚の表皮から得られる加水分解コラーゲンや、サメの軟骨から得られるコンドロイチン硫酸、甲殻類から得られるキチンやキトサンが保湿剤などに用いられている。また、サメの

スクワランが油分や皮膜形成成分として用いられている。以上に示した機能性素材はいずれも高分子化合物であるのに対して、低分子の機能性化粧品素材としては、カリブ海に生息する腔腸動物から得られたシュードプテロシン⁸⁾ (pseudopterosin C, **8**) (図3) が、強い抗酸化・抗炎症効果を示す成分としてアメリカでスキンケアクリームに配合されている。また、甲殻類やヘマトコッカス(藻類)に豊富に含まれるアスタキサンチン⁹⁾ (astaxanthin, **9**) も、強い抗酸化効果を示すことからシミやしわの防止(アンチエイジング)を目的としてスキンケアクリームに配合されている。海洋資源から多くの医薬品シーズが発見されていることを考慮すると、機能性化粧品素材の多くが未だ海洋資源に埋もれていると考えられる。本研究課題では、1年間の研究期間内でDPPHラジカル消去能についてスクリーニングを行い、さらにラジカル消去能を示した2種類の海綿(06M046, 07M105)から合計7種類の抗酸化物質を発見することができた。特に06M046の海綿からは、IC₅₀値で5.0μg/Lというアスコルビン酸に匹敵するラジカル消去能を有する4,7-dihydrotubastrineを604mgという高い収量で得ることができた。今後も研究を継続することにより、抗酸化物質を初めとする有用な機能性化粧品素材が海洋資源から発見できると考えられる。

表3 インドネシア産海綿07M105から得られた抗酸化物質のDPPHラジカル消去能

サンプル	DPPHラジカル消去能 IC ₅₀ (μg/mL)
5-Hydroxyindole-3-aldehyde (3)	49
5-Hydroxy-3-(2-hydroxyethyl)indol (4)	5.2
5-Hydroxytryptophane (5)	9.0
Hyrzioerectin B (6)	49
Hyrtilowawesine (7)	9.5
Ascorbic acid*	3.0

*ポジティブ・コントロール

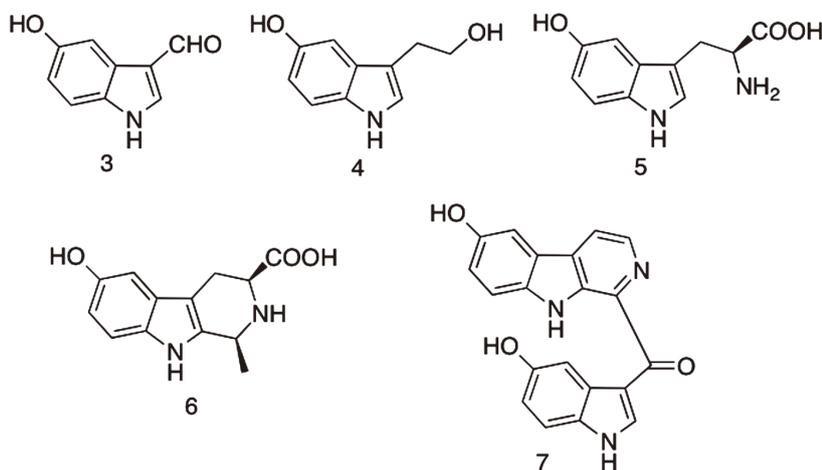


図2 5-Hydroxyindole-3-aldehyde (**3**)、5-hydroxy-3-(2-hydroxyethyl) indol (**4**)、5-hydroxytryptophane (**5**)、hyrtioerectin B (**6**)およびhyrtiosulawesine (**7**)の構造

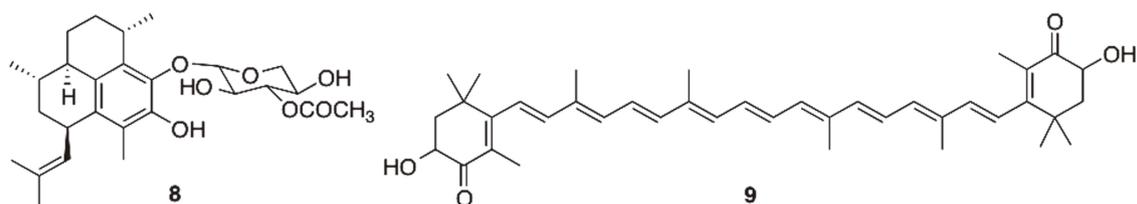


図3 Pseudopterosin C (**8**) および astaxanthin (**9**) の構造

(参考文献)

- 1) Tsukamoto S, Macabalang AD, Abe T, *et al.*: Thelephorin A: a new radical scavenger from the mushroom *Thelephora vialis*. *Tetrahedron*, **58**, 1103-1105, 2002.
- 2) Sakai R, Higa T: Tubastrine, a new guanidinostyrene from the coral *Tubastrea aurea*. *Chem. Lett.*, 127-128, 1987.
- 3) Ferrini R, Merlo L, Miragoli G: Pharmacological characterization of epinine 3-*O*-sulphate and 4-*O*-sulphate. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **289**, 37-45, 1987.
- 4) Kobayashi J, Murayama T, Ishibashi M, *et al.*: Hyrtiosins A and B, new indole alkaloids from the Okinawan marine sponge *Hyrtios erecta*. *Tetrahedron*, **46**, 7699-7702, 1990.
- 5) Salmoun M, Devijver C, Daloze D, *et al.*: 5-Hydroxytryptamine-derived alkaloids from two marine sponges of the genus *Hyrtios*. *J. Nat. Prod.*, **65**, 1173-1176, 2002.
- 6) Morin D, Monteau R, Hilaire G: 5-Hydroxytryptamine modulates central respiratory activity in the newborn rat: an in vitro study. *Eur. J. Pharmacol.*, **192**, 89-95, 1991.
- 7) Youssef DTA: Hyrtioerectines A-C, cytotoxic alkaloids from the Red sea sponge *Hyrtios erectus*. *J. Nat. Prod.*, **68**, 1416-1419, 2005.
- 8) Look SA, Fenical W, Jacobs RS, *et al.*: The pseudopterosins: Anti-inflammatory and analgesic natural products from the sea whip *Pseudopterogorgia elisabethae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 6238-6240, 1986.
- 9) Mortensen A, Skibsted LH: Importance of carotenoid structure in radical scavenging reactions. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2970-2977, 1997.