

アフリカ産食用葉, ノゲイトウに含まれる化粧品・美白作用物質

沢辺昭義*, 野村正人**, 藤原義人**, 多田貴広***, 服部文弘***, 塩原智子***
下村健次***, 松原義治*, 米虫節夫*, 岡本 忠*, 川村三郎*

Cosmetic Substances for Skin Depigmentation
from African Dietary Leaves, *Celosia argentea* L.

Akiyoshi Sawabe*, Masato Nomura**, Yoshihito Fujihara **, Takahiro Tada ***
Fumihiro Hattori ***, Satoko Shiohara ***, Kenji Shimomura ***, Yoshiharu Matsubara *
Sadao Komemushi *, Tadashi Okamoto *, and Saburo Kawamura *

Synopsis

Sierra Leone is a country located in the Middle West of Africa, where people enjoy longevity. It is interesting, therefore, to know what may be the cause of their long lives. Assuming that their foods may be related to the longevity, we started to investigate the constituents in the leaves of *Celosia argentea* L., which is used for diet in the country. *Celosia argentea* L. grows in the torrid zone of Africa by origin, and is also found in a warm place of the westward of Japan. Some terpenoids and saponins in the roots, and flavonoids in the leaves and stems have been implicated as active constituents in *Celosia argentea* L.. Here we describe an investigation of functional molecules in the leaves of African *Celosia argentea* L., and their effect on the skin depigmentation.

Six compounds were isolated from the leaves of *Celosia argentea* L. and their structures were determined based on UV, MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopic data as 1-(4-O-β-glucopyranosyl-3-methoxyphenyl) propan-2-ene (citrusin C, 1), 3-O-β-glucopyranosyl-1H-indole (indican, 2), (3Z)-hexenyl-1-O-(6-O-α-rhamnopyranosyl-β-glucopyranoside) (3), (3Z)-hexenyl-1-O-β-glucopyranoside (4), (7E)-6,9-dihydromegastigma-7-ene-3-one-9-O-β-glucopyranoside (5), and trans-ferulic acid (6). Among them, compound 1 (citrusin C) showed good skin depigmentation effect. The presence of compounds 1-6 in the leaves of *Celosia argentea* L. is reported here for the first time.

* 近畿大学 農学部農芸化学科 〒631-8505 奈良県奈良市中町 3327-204

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kinki University, Nakamachi 3327-204, Nara 631-8505, Japan.

** 近畿大学 工学部化学環境工学科 〒739-2116 広島県東広島市高屋うめの辺 1 番

Department of Chemistry and Environmental Technology, Faculty of Engineering, Kinki University, Umenobe 1, Takaya, Higashihiroshima 739-2116, Japan

*** 御木本製薬 〒516-0018 三重県伊勢市黒瀬1425

Natural Material Group, Research & Development Division, Mikimoto Pharmaceutical Co., Ltd., Kurose 1425, Ise, Mie 516-0018, Japan

1. はじめに

植物の精油は古くから美容健康などを目的とした香粧品原料として用いられており、最近その薬理効果が明らかにされることにより重要性が増大している。これらは、経皮吸収とその消長ならびに皮膚表面における理学的作用などにおいても、絶対的な安全性が求められている。一般的に皮膚を通して吸収される精油は、グルクロン酸と複合して排出されるので体内に蓄積されることはほとんどないものと考えられる。そこで、アフリカ中西部に位置する長寿国であるシェラレオネ (Sierra Leone) の人々は周辺他国の人に比べて肌の色が白いことから、その原因について広く関心が持たれている。著者らは、食べ物が長寿や肌の色に関連するのではないかと考え、現地で食用葉として用いられているノゲイトウ (*Celosia Argentea* L.) の葉の成分について探索することにした。

ノゲイトウは熱帯アフリカの原産ともいわれているが、古くから世界の熱帯各地に広がり、日本でも中部地方以西の暖地によく野生している。シェラレオネではこのノゲイトウを *Shokoto Yokoto* と呼んでおり、スープに用いられている。ノゲイトウの成分については、Shah¹⁾ が根および種にテルペノイド、サポニン、根に糖類、ならびに葉および茎にフラボノイドの存在を推定しているにすぎない。その生物活性としては、ノゲイトウの葉のアルコール抽出物に抗菌活性が認められているほか、種にはラットおよび人間に対する利尿作用が認められている¹⁾。また、植物の発芽に対する影響について、Pandya^{2,3)} はノゲイトウの葉、茎および根の抽出液がチカラシバ (*bajra*, *Pennisetum americanum*) の茎の生長を抑制することが報告されている。著者らもレタスの種子発芽に対する影響について検討したところ、2, 3 の興味ある知見を得ている⁴⁾。今回、著者らはアフリカ産ノゲイトウの葉の成分探索を行い、6種類の成分の分離に成功するとともに、これら化合物の新たな分野での利用^{5,6)} として、化粧品・美白効果について検討した。また、美白効果が顕著な成分については合成を行ったので、これらの結果に

についても紹介する。

2. 分離・精製

ノゲイトウの葉 (789.9g, 乾燥物) を70%エタノールで浸漬した。浸漬後の濾液を減圧下濃縮後、ヘキサン、1-ブタノールで順次抽出し、得られた1-ブタノール抽出部に塩基性酢酸鉛の飽和水溶液を加えて選択的に酸性化合物を沈殿させ酸性画分および中性画分を得た。このようにして得られた酸性画分 (15.06g) あるいは中性画分 (3.75g) をTSKゲルHW-40Fを用いたゲル濾過およびシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離、精製し、化合物1 (9.6mg), 2 (6.3mg), 3 (9.2mg), 4 (9.2mg), 5 (5.5mg) および 6 (3.3mg) の6成分を得た (Fig. 1)。

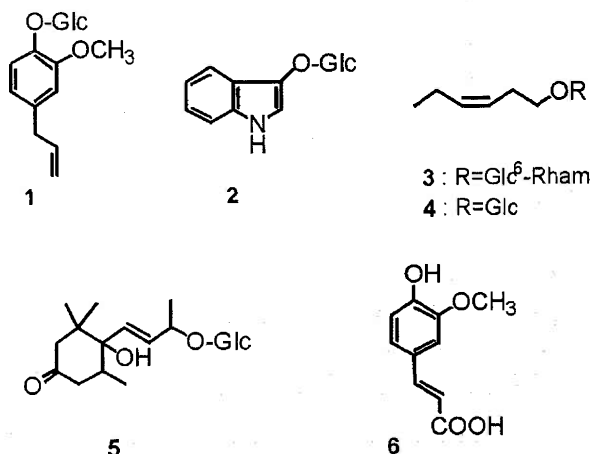


Fig. 1 Structures of isolated compounds 1 - 6.

3. 構造解析

化合物1は mp 130~131°C, $[\alpha]_D^{20} -54.0^\circ$ ($c=0.1$, MeOH) を示す白色針状結晶で、その Positive FAB/MS スペクトルでは m/z 327 $[M+H]^+$ に、また Negative FAB/MS スペクトルでは m/z 325 $[M-H]^-$ に基づくイオンピークが認められ、分子量が326と確認された。¹H-NMR スペクトルでは、 δ 6.71 (1H, dd, $J=8.0$, 2.0Hz), 6.82 (1H, d, $J=2.0$ Hz) および 7.07 ppm (1H, d, $J=8.0$ Hz) に ABX タイプの芳香環プロ

トン, δ 3.81 (3H, s) にメトキシ基ならびにアリル基に由来する δ 5.03 (1H, dd, $J=10.0$, 1.5Hz), 5.05 (1H, dd, $J=16.0$, 1.5Hz) および 5.95 ppm (1H, ddt, $J=16.0$, 10.0, 7.0Hz) が認められた。 δ 4.84 ppm に β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値 7.5Hz のダブルレットで認められた。さらに ^{13}C -NMR スペクトルでは, グルコースに由来する 6 個の炭素シグナルとアグリコン部に由来する 10 個の炭素シグナルが観測された。以上の諸事実から化合物 1 は, さきに著者らがハッサクおよびオレンジ果皮中から見出した 1-(4- O - β -glucopyranosyl-3-methoxyphenyl) propan-2-ene (citrusin C)⁷⁾ と同じものであることを確認した。

化合物 2 は mp 58°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -27.49° ($c=0.075$, MeOH) を示す無色の結晶で, その Positive FAB/MS スペクトルでは m/z 296 $[\text{M}+\text{H}]^+$ に, また Negative FAB/MS スペクトルでは m/z 294 $[\text{M}-\text{H}]^-$ に基づくイオンピークが認められ, 分子量が 295 と確認された。 ^1H -NMR スペクトルでは, δ 6.87 (1H, ddd, $J=8.0$, 7.5, 1.0Hz), 6.98 (1H, s), 6.98 (1H, ddd, $J=8.0$, 7.5, 1.0Hz), 7.17 (1H, dd, $J=7.5$, 1.0Hz) および 7.58 ppm (1H, dd, $J=7.5$, 1.0Hz) にインドール環に基づくシグナルが認められた。 δ 4.62 ppm に β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値 7.8Hz のダブルレットで認められた。さらに ^{13}C -NMR スペクトルでは, グルコースに由来する 6 個の炭素シグナルとアグリコン部に由来する 8 個の炭素シグナルが観測された。以上の諸事実から化合物 2 は 3- O - β -glucopyranosyl-1H-indole (indican) であることを確認した。

化合物 3 は $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -28.26° ($c=0.5$, MeOH) を示す無色油状物で, その Positive FAB/MS スペクトルでは m/z 409 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 263 $[\text{M}-\text{Rham}]^+$ および 501 $[\text{M}+\text{Glycerol}]^+$ に, また Negative FAB/MS スペクトルでは m/z 407 $[\text{M}-\text{H}]^-$ および 261 $[\text{M}-\text{H}-\text{Rham}]^-$ に基づくイオンピークが認められ, 分子量が 408 と確認された。 ^1H -NMR スペクトルでは, δ 0.87 ppm (3H, t, $J=7.5\text{Hz}$) にメチル基, δ 1.98 (2H, qt, $J=7.5\text{Hz}$) および 2.28 ppm (2H, q, $J=7.5\text{Hz}$) に不飽和結合に隣接したメチレンプロトンのシグナルが観測された。また, δ 5.32 ppm にマル

チブレットで Z 体のオレフィンプロトンが特徴的に観測されるほか, δ 4.16 ppm (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$) に β -グルコースおよび δ 4.64 ppm (1H, d, $J=1.5\text{Hz}$) に α -ラムノースのアノメリックプロトンが観測された。さらに ^{13}C -NMR スペクトルでは, グルコースおよびラムノースに由来する 12 個の炭素シグナルが観測されるほか, 2 個のオレフィン炭素を含む合計 18 個の炭素シグナルが観測された。グルコースとラムノースの結合位置としては, ^{13}C -NMR スペクトルでグルコース C-6 位の炭素シグナルが通常のグルコースの δ 値⁸⁾と比較して約 5 ppm 低磁場シフトしており, さらにグルコース C-5 位の炭素シグナルも約 1 ppm 高磁場シフトしていることからラムノースがグルコースの C-6 位に結合していることが判明した。以上の諸事実から化合物 3 は (3 Z)-hexenyl-1- O -(6- O - α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside) であることを決定した。

化合物 4 は $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -35.5° ($c=0.2$, MeOH) を示す無色油状物である。その ^1H -NMR および ^{13}C -NMR スペクトルは Miyase らがイカリソウ (*Epimedium grandiflorum* MORR. var. *thumb-ergianum* (MIQ) NAKAI) から単離した (3 Z)-hexenyl-1- O - β -glucopyranoside の δ 値と一致した。以上の諸事実から化合物 4 は (3 Z)-hexenyl-1- O - β -glucopyranoside^{8, 9)} と同一成分であることを確認した。

化合物 5 は $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -35.49° ($c=0.245$, MeOH) を示す無色油状物で, その Positive FAB/MS スペクトルでは m/z 389 $[\text{M}+\text{H}]^+$ に, また Negative FAB/MS スペクトルでは m/z 387 $[\text{M}-\text{H}]^-$ に基づくイオンピークが認められ, 分子量が 388 と確認された。 ^1H -NMR スペクトルでは, δ 0.84 (3H, s) および 1.02 ppm (3H, s) に geminal のメチル基のシグナルが, δ 1.11 および 1.13 ppm にメチル基のシグナルがダブルレットで観測された。さらに δ 5.57 (1H, dd, $J=15.5$, 5.5Hz) および 5.82 ppm (1H, d, $J=15.5\text{Hz}$) に E 体のオレフィンプロトンが観測された。 δ 4.24 ppm に β -グルコースのアノメリックプロトンが J 値 7.8Hz のダブルレットで認められた。さらに ^{13}C -NMR スペクトルでは, グルコースに由来する 6 個の炭素シグナル, 2 個のオレフィン炭素, 2 個の酸素原子

付け根の炭素および1個のカルボニル炭素を含む合計19個の炭素シグナルが観測された。以上の諸事実から化合物 **5** は vomiforol 9-*O*- β -glucopyranoside^{10,11)} の4位の不飽和結合が飽和結合になった(7*E*)-6,9-dihydromegastigma-7-ene-3-one-9-*O*- β -glucopyranoside であることを推定した。

化合物 **6** は mp 168°C を示す白色結晶で、その ¹H-NMR スペクトルでは、 δ 6.80 (1H, d, *J*=8.2Hz), 7.06 (1H, dd, *J*=8.2, 2.0Hz) および 7.17 ppm (1H, d, *J*=2.0Hz) に ABX タイプの芳香環プロトンならびに δ 4.62 ppm (3H, s) にメトキシ基が認められた。さらに δ 6.31 (1H, d, *J*=15.8Hz) および 7.57 ppm (1H, d, *J*=15.8Hz) に *E* 体のオレフィンプロトンが観測された。以上の諸事実ならびに既知標品とのTLC分析からも化合物 **6** は *trans*-ferulic acid であることを

確認した。

4. 美白効果試験¹²⁾

美白効果試験は、Table 1に示すようにチロシンおよび L-DOPA を基質とするチロシナーゼ活性阻害試験^{13, 14)}を行うとともに、NBT還元法を用いた活性酸素抑制試験¹³⁾を行った。その結果、化合物 **1** (citrusin C) に顕著な活性が認められた (Table 1)。この化合物はチロシン・DOPA からメラニンを生成する反応 (Raper-Mason pathway¹⁵⁾, Fig. 2) に関する酵素チロシナーゼに作用し、チロシンの段階で47.20%, チロシンの酸化によってできるDOPAの段階で87.93%と段階的に高効率で酵素チロシナーゼの活性を阻害することがわかった。

また、化合物 **1** (citrusin C) の B-16 細胞に

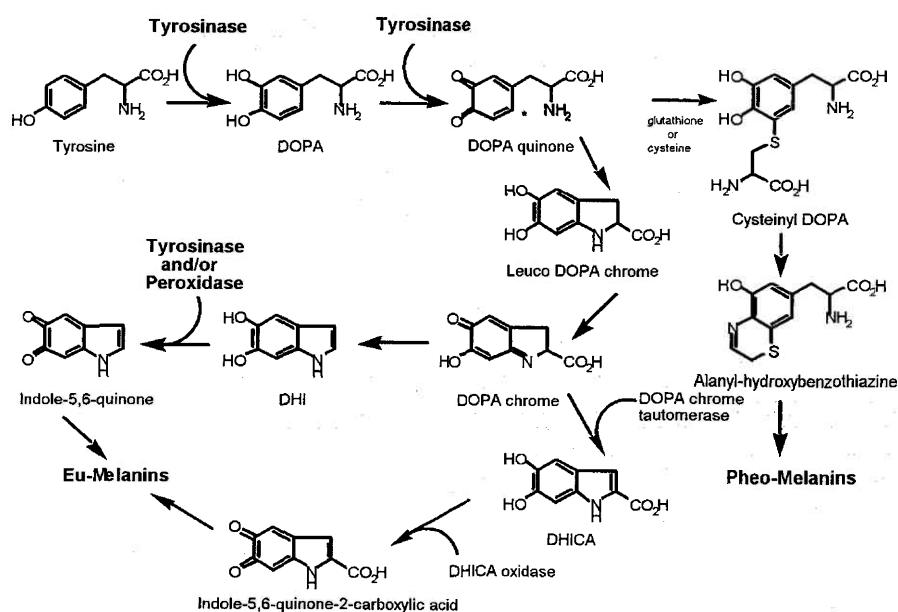


Fig. 2 Raper-Mason pathway.

Table 1. Inhibition effect of tyrosinase and scavenging activity of superoxide

Compound	Tyrosinase		S. S ^{b)}
	Tyrosine	DOPA	
1	47.20	87.93	4.35
2	3.29	-18.83	27.52
6	36.03	24.62	45.85
1a ^{a)}	34.31	15.75	43.48
Arbutin	63.00	7.70	0.80

a) Enzymatic hydrolysis product of **1** with β -glucosidase.

b) Scavenging activity of superoxide.

Table 2. Melanin generation inhibiting effect by B-16 cell and cytotoxicity.

Compound	Citrusin C (1)			Eugenol (1a)		
Concentration (mM)	0.01	0.05	0.10	0.01	0.05	0.10
Inhibition of melanogenesis	Weak	Weak	Weak	Weak	Weak	Strong
Toxicity	None	None	Strong	Weak	Weak	Strong

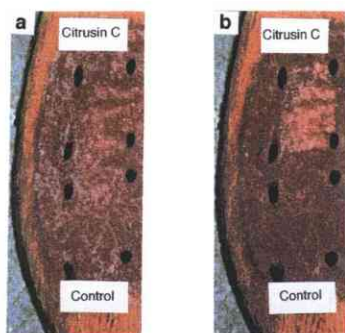


Fig. 3 Skin Depigmentation effect for animals of compound 1 (citrusin C).
a) Just after sample application
b) Four weeks later

よるメラニン生成阻害効果および細胞毒性¹²⁾について検討したところ、良好な結果 (Table 2) が得られ、さらに有色モルモット (メス3匹) による動物に対する美白効果試験においても、2週間後から4週間後の黒化は対照と比較して大幅に抑制されていることがわかった (Fig. 3)。また、女性6名の顔面を左右に分け、使用テストを3ヶ月間行ったところ、良好な結果が得られた。

5. 化合物 1 (citrusin C) の合成¹²⁾

化合物 1 (citrusin C) の合成は、以下の方法で行った (Fig. 4)。Eugenol (164 mg) にトリフルオロメタンスルホン酸すず (II) および acetobromo- α -D-glucose を加え、1,1,3,3-tetramethylurea 存在下で18時間反応させ、テトラアセチルグルコシド体 416 mg (収率 83%) を得た。得られたテトラアセチルグルコシド体 416 mg は常法により加水分解を行い、化合物 1 (citrusin C) 265 mg (収率 96%) を得た。また、上記以外の方法についても検討したところ、Eugenol に塩化亜鉛および

pentaacetyl glucose を用いて反応させても目的物が得られることがわかった。

6. まとめ

アフリカ産植物であるノゲイトウ (*Celosia argentea* L.) の有効成分について検討した結果、1-(4-O- β -glucopyranosyl-3-methoxyphenyl)propan-2-ene (citrusin C, 1)、3-O- β -glucopyranosyl-1H-indole (indican, 2)、(3Z)-hexenyl-1-O-(6-O- α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside), (3), (3Z)-hexenyl-1-O- β -glucopyranoside (4)、(7E)-6,9-dihydromega-stigma-7-ene-3-one-9-O- β -glucopyranoside (5) および *trans*-ferulic acid (6) の6種類の成分を単離することに成功した。これらの化合物のうち、1-(4-O- β -glucopyranosyl-3-methoxyphenyl)propan-2-ene (citrusin C, 1) に顕著な化粧品・美白効果が認められたことから、その合成方法についても確立することができ、多量に供給することが可能になったことを明らかにした。本研究で得られた化合物は配糖体化合物であり、肌(皮膚)への保湿性も併せ持ち、かつ安定性の高い化合物であることから新しい用途である化粧品の美白用薬剤としての利用が可能であるものと思われる。

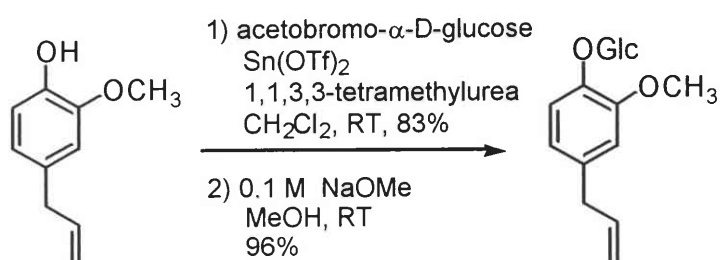


Fig. 4 Synthesis of compound 1 (citrusin C).

謝辞

本研究の一部は財団法人 三栄源食品化学研究振興財団の助成により行われたものであり、ここに深謝致します。

参考文献

- 1) M. B. Shah, K. N. Patel, and M. G. Chauhan, *Int. J. Pharmacogn.*, **31**, 223 (1993).
- 2) S. M. Pandya, *Geobios (Jodhpur)*, **2**, 175 (1975).
- 3) S. M. Pandya, *Geobios (Jodhpur)*, **3**, 137 (1976).
- 4) A. Sawabe, T. Obata, Y. Nochika, M. Morita, N. Yamashita, Y. Matsubara, and T. Okamoto, *Advances in Plant Glycosides, Chemistry and Biology*, eds. by C-R. Yang and O. Tanaka, p. 290, Elsevier Science, Netherlands (1999).
- 5) 沢辺昭義, 野村正人, *Fragrance Journal*, **28**, 54 (2000).
- 6) 沢辺昭義, 三栄源食品化学研究振興財団 第6回研究助成報告書, (2000).
- 7) 沢辺昭義, 松原義治, 隈元浩康, 飯塚義富, 岡本耕造, *農化*, **60**, 593 (1986).
- 8) T. Miyase, A. Ueno, N. Takizawa, H. Kobayashi, and H. Oguchi, *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2475 (1988).
- 9) S. Nagumo, K. Kawai, H. Nagase, T. Inoue, and M. Nagai, *Yakugaku Zasshi*, **104**, 1223 (1984).
- 10) Y. Matsubara, A. Sawabe, Y. Iizuka, and K. Okamoto, *J. Jpn. Oil Chem. Soc.*, **37**, 13 (1988).
- 11) N. Okamura, A. Yaki, and I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3507 (1981).
- 12) A. Sawabe, M. Nomura, Y. Fujihara, T. Tada, F. Hattori, T. Shiohara, K. Shimomura, Y. Matsubara, S. Kome-mushi, T. Okamoto, and S. Kawamura, Submitted for publication.
- 13) T. Tada, M. Nomura, K. Shimomura, Y. Fujihara, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 1421 (1996).
- 14) 野村正人, 山川恭弘, 立花伸哉, 藤原義人, 服部文弘, 下村健次, *油化学*, **48**, 339 (1999).
- 15) V.J. Hearing, In "Methods in Enzy-mology", Vol. 142, ed. by K. Seymour, Academic Press, New York, pp. 154 (1987).