

平成22年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	■奨励研究助成金	□研究成果刊行助成金
	□21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	□21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	デイジーフラワーの肌老化抑制作用サポニン成分	
研究者所属・氏名	研究代表者：薬学総合研究所・森川 敏生 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

西洋ハーブであるデイジーフラワーについて、ヒト包皮由来繊維芽細胞 (NHDF) を用いたコラーゲン産生促進活性を指標とし、その活性寄与成分の探索研究を実施するとともに、マテリアルサイエンスの視点からその活性発現の必須構造などの構造と活性の相関に関する知見を見いだすとともに、その機能解明を実施することを目的とする。

2. 研究経過及び成果

キク科植物デイジーフラワー (*Bellis perennis*) のメタノール抽出エキスについて、NHDF 細胞を用いたコラーゲン産生促進活性試験を実施したところ、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度において有為な活性が認められ、また細胞増殖能に関する影響について MTT アッセイ法により検討したところ、濃度依存的な細胞増殖促進活性が認められた (図 1)。そこで、メタノール抽出エキスについて、酢酸エチル/水により分配して酢酸エチルおよび水可溶部を得、次いでその水可溶部をダイアイオン HP-20 カラムに付し、水およびメタノールで順次溶出して、水溶出部およびメタノール溶出部を得た。

得られたメタノール溶出部を順相および逆相カラムクロマトグラフィー、次いで HPLC により繰り返し分離精製したところ、28 種のサポニンに加え、新たに 12 種の新規サポニン perennisoside VIII—XIX を得た。これらデイジーフラワーに含有されるサポニンと類似した化合物に、中医学において創傷治癒に用いられているセリ科植物の *Centella asiatica* に含有される madecassoside があり、既に線維芽細胞からのコラーゲン産生促進活性や細胞増殖促進活性が報告されている。このことから、これらデイジーフラワーの含有サポニンにも同様の活性が期待でき、メタノール抽出エキスと同様にコラーゲン産生促進活性を検討した。その結果、perennisoside XVI など madecassoside と同程度の活性を見いだすとともに構造と活性に関する知見を得た。

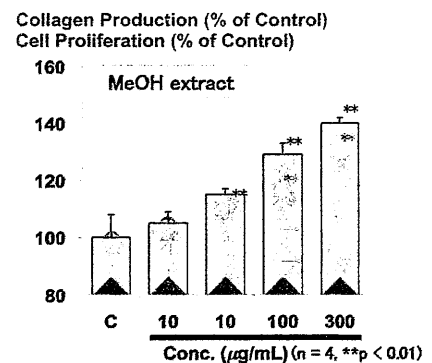


図 1. メタノール抽出エキスのコラーゲン産生促進活性

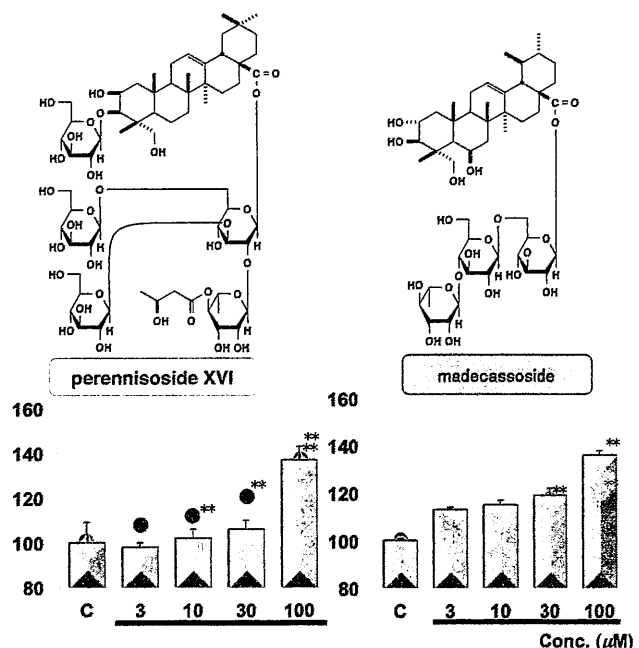


図 2. Perennisoside XVI のコラーゲン産生促進活性

### 3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究によって得られたコラーゲン産生促進活性を有するサポニン成分について、その構造と皮膚代謝改善作用との相関に関する知見を得るとともに、種々の分子生物学的手法を駆使した作用メカニズム解析、とりわけ **Skin Biology** の観点から構築した以下のアッセイ評価試験を実施すること計画している。

- 1) 皮膚真皮繊維芽細胞のコラーゲン産生能を亢進するサポニンのスクリーニング
- 2) 表皮角化細胞の各種サイトカイン産生能を亢進するサポニンのスクリーニング
- 3) 皮膚三次元構築培養法によるサポニンの皮膚組織へ与える影響の解析
- 4) 培養表皮角化細胞、培養真皮繊維芽細胞におけるトランスクリプトーム解析
- 5) サポニンを作用させた皮膚におけるシグナル伝達の解明

### 4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
The 5 <sup>th</sup> JSP-CCTNM-KSP Joint Symposium on Pharmacognosy	ポスター発表	2010年9月24日
日本生薬学会第57回年会 (徳島)	ポスター発表	2010年9月25-26日
<i>Chem. Pharm. Bull.</i>	雑誌	投稿中