

# 沖縄県産テリハボク (*Calophyllum inophyllum*) の 皮膚に関連する有用性の評価

荻貴之、松本亜里奈、世嘉良宏斗、Idam Hermawan、宇佐美徹\*<sup>1</sup>

テリハボク (*Calophyllum inophyllum* L.) の種子油 (別名: タマヌオイル) は、抗酸化、抗菌、抗炎症、創傷治癒作用など皮膚における有用な作用を持つことが知られており、ポリネシアなど海外で伝統的に使用されている。一方で、沖縄県産タマヌオイルの機能性に関する知見は少ないため、沖縄県産タマヌオイルおよびマダガスカル産タマヌオイルの分光光度計による吸収スペクトルの比較 (紫外線防止作用)、沖縄県産タマヌオイルおよびテリハボク葉、枝、根の抽出物について、アクネ菌 (*Cutibacterium acnes*) に対する増殖抑制作用 (抗菌活性)、メラニン生成抑制作用およびタンパク質糖化阻害作用を評価し、有用な機能性を検討した。吸収スペクトル測定の結果、沖縄県産タマヌオイルは、マダガスカル産タマヌオイルと同様に300 nm付近に吸収極大を示した。また、機能性を評価した結果、沖縄県産タマヌオイル上清およびオイル上清から単離したイノカロフィリンAに抗菌活性は認められなかった。一方で、テリハボク葉の抽出物に抗菌活性およびタンパク質糖化阻害作用、テリハボク枝の抽出物に抗菌作用およびテリハボク根の抽出物に抗菌活性およびメラニン生成抑制作用が確認された。

## 1 はじめに

テリハボク (*Calophyllum inophyllum* L.) は、テリハボク科テリハボク属の広葉樹で、熱帯アジアやポリネシア、日本国内においては沖縄諸島、先島諸島および小笠原諸島に分布し、樹高20 m以上に成長する高木である<sup>1)</sup> <sup>2)</sup>。沖縄県においては主要な造林樹種の一つで、耐風・耐潮性が優れることから、防潮・防風林や街路樹として植栽されている。また、その木材はイエシロアリに対する耐蟻性が高く、家具や工芸品への利用が期待されている<sup>2)</sup> <sup>3)</sup>。一方で、種子から採れるオイルは、タマヌオイルやディオオイルと呼ばれ、石鹸やクリーム等の化粧品原料や美容オイルとしても利用されている<sup>2)</sup> <sup>4)</sup>。海外産のテリハボクに関しては、オイルの抗酸化活性<sup>5)</sup>、抗菌活性<sup>6)</sup>および抗炎症作用<sup>6)</sup>、葉の抽出物の抗炎症作用<sup>7)</sup>、オイルに含まれるカロフィロライドの抗炎症作用<sup>8)</sup>、イノフィリンCの抗菌活性<sup>8)</sup>などが報告されている。さらに、インドネシア、タヒチ、フィジー諸島、ニューカレドニアのタマヌオイルに関して、ヒトケラチノサイトHaCaT細胞における創傷治癒作用やアクネ菌 *Cutibacterium acnes* (formerly *Propionibacterium acnes*) に対する抗菌作用の比較も行われており、入手元が異なるオイルで活性も異なることが報告されている<sup>9)</sup>。一方で、沖縄県産のタマヌオイルに関する機能性研究、成分分析の報告は少ない。

そこで、本研究では沖縄県産テリハボクのスキンケアに関連する機能性を明らかにすることを目的として、沖

縄県産タマヌオイルの分光光度計による吸収スペクトルの測定 (*in vitro*の紫外線防止作用)、タマヌオイルおよびテリハボク葉、枝、根の抽出物について、ニキビの原因菌であるアクネ菌 *C. acnes* に対する増殖抑制効果、メラニン生成抑制作用およびアルブミンの糖化反応阻害作用を評価した。

## 2 実験材料および実験方法

### 2-1 実験材料

沖縄県産タマヌオイルは、2019年に工業技術センター敷地内で採取したテリハボクの種子から取り出した仁 (カーネル) を室温で乾燥後、搾油して得られたオイルを静置後、沈殿した部分を沖縄県産タマヌオイル沈殿、その清澄な部分を沖縄県産タマヌオイル上清として用いた。また、マダガスカル産タマヌオイルは、市販品を用いた。

テリハボクの葉、枝および根の抽出物の調製は、以下の方法で行った。工業技術センター敷地内で2019年に採取したテリハボクの葉、枝および根を80°Cで12時間乾燥し、カッターミル (MF 10.1, IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Germany)、1 mmパスサイズで粉碎した。高速溶媒抽出装置 (Dionex ASE 350 Accelerated Solvent Extractor, Thermo Fisher Scientific, Inc., MA, US) を使用して、テリハボクの葉、枝および根の粉碎物 10 gを50%エタノールまたはエタノールで抽出し、約200 mLの抽出液を得た。それぞれの抽出液は、遠心エバポレーターで減圧乾

\*<sup>1</sup> 株式会社 すまエゴ

固し、抗菌活性、メラニン生成抑制活性およびタンパク質糖化阻害活性の試験に供した。

LC/MS による分析は、超高速液体クロマトグラフ (Acquity UPLC<sup>®</sup> H-class, Waters Corp., MA, US)、逆相クロマトグラフィーカラム (Xbridge C<sub>18</sub>, 150 × 2.1 mm i.d., Waters Corp.)、フォトダイオードアレイ検出器 (Acquity UPLC<sup>®</sup> eλ PDA Detector, Waters Corp.)、タンデム四重極型質量分析計 (Xevo TQD, Waters Corp.) を用いた。<sup>1</sup>H-、<sup>13</sup>C-NMR、DEPT、COSY、HSQCおよびHMBCは、400 MHzの核磁気共鳴装置 (AV400N, Bruker Corp., MA, US) で測定し、CDCl<sub>3</sub>の溶媒シグナル (δ<sub>H</sub> 7.24, δ<sub>C</sub> 77.0) を基準とした。

## 2-2 化合物1 (イノカロフィリンA) の単離

イノカロフィリンAは、以下の方法で沖縄県産タマヌオイルから単離した。沖縄県産タマヌオイル上清1 mLを高速向流クロマトグラフ (HSCCC, クツワ産業株式会社, 広島) を使用して、回転数: 1,110 rpm、移動相: n-ヘキサン/アセトニトリル/ジクロロメタン (10 : 7 : 3) の下層、流速: 3 mL/min、検出波長: 330 nmの条件で分画した。吸収の最も高いピークが含まれるフラクション44を減圧濃縮し、13.8 mgの粗精製物を得た。この粗精製物を分取HPLCカラム (Xbridge C<sub>18</sub>, 150 × 10 mm i.d., 5 μm, Waters Corp.) を用いて、流速: 3 mL/min、移動相A: 0.1% 酢酸、移動相B: 0.1% 酢酸を含むアセトニトリル、グラジエント条件: 0 ~60分 (A:B 95:5 → 5 : 95のリニアグラジエント)、検出波長: 330 nmの条件で分画し、化合物1 (9.7 mg) を得た。

## 2-3 紫外線防止作用

地表には約290~400 nm波長の紫外線が到達しており、紫外線の中でも長波長側のUVA (320~400 nm) は、肌の深く (真皮) まで到達し、肌の弾力繊維に損傷を与える。一方で、UVB (290~320 nm) は、肌の表面 (表皮) で吸収され炎症やメラニンの増加によるシミ、ソバカスの原因となる<sup>10)</sup>。このため紫外線を散乱・吸収し、遮断するために日焼け止め剤が用いられており、その遮断効果は、被験者による皮膚パッチテストでSPF値 (主にUVB遮断効果) およびPA値 (主にUVA遮断効果) が評価されている。このSPF・PA値の評価は時間と費用がかかることから、被験者を必要としない簡便法として、分光光度計により波長290~400 nmの吸光度を測定することで紫外線の吸収効果を予測することが出来る<sup>11)</sup>。そこで本研究では、分光光度計 (Ubet V-550DS, 日本分光 (株)) を用いる方法で、タマヌオイルの紫外線吸収効果を評価した。測定用の試料として、沖縄県産タマヌ

オイル上清、沈殿およびマダガスカル産タマヌオイル 1 mgをクロロホルムで 10 mLに定容し吸収スペクトルを測定した。

## 2-4 アクネ菌に対する抗菌活性

抗菌作用としてニキビの原因菌として知られるアクネ菌に対する増殖抑制効果を評価した。アクネ菌は理化学研究所バイオリソース研究センターより分譲された菌株 (*C. acnes* subsp. *acnes* JCM 2782T) を用いた。被検液として沖縄県産タマヌオイル上清および沈殿、マダガスカル産タマヌオイル、化合物1 (イノカロフィリンA) をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、適宜希釈して用いた。また、テリハボク葉、枝、根の抽出物は、エタノールに溶解したものを適宜希釈して用いた。陰性対照は被検液と同一の溶媒 (0.5% DMSOまたは0.5% エタノール)、陽性対照は0.5% 塩化ベンザルコニウムを用いた。評価は既報の方法に準じて以下の方法で行った<sup>12)</sup>。すなわち、96ウェルマイクロプレートの各ウェルにGAM液体培地180 μLと種菌培養液 (GAM液体培地で3~5日間静置培養) 10 μL、被検液10 μL (対照区ではDMSOあるいはエタノール10 μL) を分注して、マイクロプレートミキサーで1分間攪拌した。マルチモードプレートリーダー (Synergy HTX, BioTek, VT, US) で培養開始前の吸光度 (660 nm) を測定したのち、マイクロプレートを酸素吸収・二酸化炭素発生剤 (アネロパウチ・ケンキ) とともにパウチへ封入して37°Cで培養した。培養開始から48時間後にパウチから取り出したマイクロプレートを1分間攪拌したのち、培養終了後の吸光度を測定した。培養開始前と終了後の吸光度の差 (菌の増殖による濁度の変化) を対照区と比較して、アクネ菌に対する増殖抑制効果 (抗菌作用) を判定した。

## 2-5 メラニン生成抑制作用

マウスメラノーマB16F1はDSファーマ株式会社から購入し、既報に準じて以下の方法でメラニン生成抑制作用の評価を行った<sup>13)</sup>。10% FBSを含むDMEMを培地として使用し、24ウェルプレートの各ウェルに1 mLの培地に懸濁させたB16F1細胞 (2.5 × 10<sup>4</sup> cells/well) を播種し、37°C、5% CO<sub>2</sub>で1日培養を行った。翌日、新しい培地に交換し、被検液を加えて2日間培養を行った。培養終了後、速やかに細胞毒性の評価およびメラニン量の測定を行った。陰性対照として0.5% エタノールを使用し、陰性対照として0.5% エタノール、陽性対照として400 μM アルブチン水溶液を用いた。被検液は、沖縄県産タマヌオイル上清202 mgまたはマダガスカル産タマヌオイル 211 mgにエタノール1 mLを加えて超音波抽出したもの、

テリハボク葉、枝、根の抽出物はエタノールに溶解したものを適宜希釈して用いた。

細胞毒性の評価は以下の方法で行った。培養終了後に5 mg/mL MTTを各ウェルに100 μL添加し、37°Cで3時間反応させた。反応後に、各ウェルの培地を除去し、生成したMTTホルマザンをDMSOで抽出して96ウェルマイクロプレートに移し、570 nmの吸光度をマルチモードプレートリーダー (Synergy HTX) で測定した。細胞生存率は、陰性対照の吸光度を100とする相対値として表した。

メラニンの測定は、以下の方法で行った。培養後に培地を除去し、細胞中のメラニンを1 M水酸化ナトリウム200 μLで一晩抽出し、405 nmの吸光度を測定した。メラニン生成量は、陰性対照の吸光度を100とする相対値として表した。

## 2-6 タンパク質糖化阻害試験

タンパク質糖化阻害試験は、アルブミンとグルコースを用いる方法<sup>14)</sup>を改変して行った。10.5 mg/mLウシ血清アルブミン (Fraction V, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, US) および1.05 Mグルコース (ナカライテスク株式会社, 京都) を含むPBS (-) 溶液380 μLに被検液20 μLを加え、密閉して60°Cで3日間反応させた。生成したAGEsの蛍光強度を、マルチモードプレートリーダー (Synergy HTX, BioTek, VT, US) を用いて、励起波長355 nm、蛍光波長450 nmで測定した。陰性対照として0.5%エタノール、陽性対照として1.0 mMアミノグアニジン水溶液 (富士フイルム和光純薬株式会社、大阪)、被検液として前項 (2-5) 記載の抽出液を用いた。タンパク質糖化阻害活性は、以下の方法で算出した。

$$\text{阻害率(\%)} = [1 - (F_{\text{sample}} - F_{\text{blank}}) / (F_{\text{control}} - F_{\text{blank}})] \times 100$$

$F_{\text{sample}}$ : 試料溶液添加区、3日間反応後の蛍光強度

$F_{\text{control}}$ : エタノールまたは50%エタノール添加区、3日間反応後の蛍光強度

$F_{\text{blank}}$ : 試料添加無し、反応前の蛍光強度

## 2-7 統計解析

群間比較はStudent's t-testを用い、危険率5%未満を有意水準とした。

## 3 実験結果および考察

### 3-1 イノカロフィリンAの同定

単離した化合物1は、無色のアモルファスとして得られた。エレクトロスプレーイオン化法による質量分析で、分子イオンピークに相当する $m/z$  561 (M+H)<sup>+</sup>が観測され、

表1 イノカロフィリンAと化合物1のNMRデータの比較

pos.	イノカロフィリンA <sup>a</sup>		化合物1 <sup>b</sup>	
	$\delta_C$ mult.	$\delta_H$ mult. (J in Hz)	$\delta_C$ mult.	$\delta_H$ mult. (J in Hz)
2	178.6 s		177.0 s	
3	36.1 t	3.24 dd (16.2, 7.2) 3.33 dd (16.3, 8.6)	36.0 t	3.25 dd (16.2, 7.0) 3.43 dd (16.3, 8.8)
4	34.9 s	4.82 m	35.0 d	4.85 m
4a	113.4 s		113.5 s	
4b	194.6 s		194.8 s	
6	134.6 s		134.8 s	
7	117.2 d	4.84 m	117.3 d	4.50 m
8	41.6 t	1.95 m 2.10 m	41.7 t	2.43 m 2.54 m
8a	57.0 s		57.1 s	
8b	185.6 s		185.8 s	
10	81.1 d	4.03 m	81.2 d	4.06 dq (12.7, 6.3)
11	43.6 d	2.42 m	43.7 d	2.46 m
12	196.6 s		196.7 s	
12a	105.3 s		105.5 s	
12b	166.8 s		167.1 s	
13	143.3 s		143.4 s	
14	127.6 d	7.38 d (7.3)	127.7 d	7.41 d (7.3)
15	127.7 d	7.17 t (7.3)	127.8 d	7.22 t (7.3)
16	125.6 d	7.07 t (7.3)	125.7 d	7.12 t (7.3)
17	127.7 d	7.17 t (7.3)	127.8 d	7.22 t (7.3)
18	127.6 d	7.38 d (7.3)	127.7 d	7.41 d (7.3)
19	17.5 q	1.63 s	17.6 q	1.42 s
20	25.6 q	1.49 s	25.7 q	1.46 s
21	19.1 q	1.51 d (overlap)	19.2 q	1.54 d (overlap)
22	9.2 q	1.11 d (6.8)	9.3 q	1.15 d (6.9)
23	41.5 t	1.84 m	41.6 t	1.99 m 2.12 m
24	44.2 d	1.86 m 2.40 m	44.3 d	1.90 m
25	33.9 t	2.46 m	34.0 t	1.87 m
26	121.9 d	4.52 m	122.0 d	4.87 m
27	132.1 s		132.3 s	
28	25.6 q	1.38 s	25.7 q	1.68 s
29	17.7 q	1.42 s	17.8 q	1.53 s
30	146.9 s		147.0 s	
31	112.0 t	4.36 s 4.46 s	112.2 t	4.41 s 4.49 s
32	18.7 q	1.49 s	18.8 q	1.53 s (overlap)
(12b)-OH		12.30 s		12.35 s

<sup>a</sup> Reference data<sup>15)</sup>, TMS as internal standard, <sup>b</sup> CDCl<sub>3</sub> as internal standard

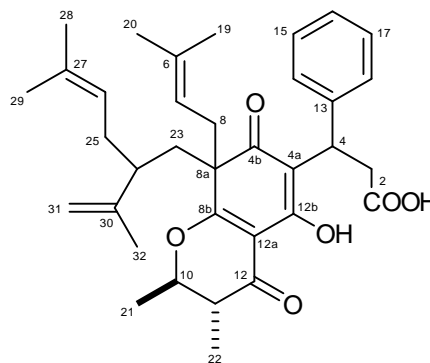


図1 イノカロフィリンA

分子量は560であると推測された。<sup>1</sup>H-NMRスペクトルによって1つのヒドロキシル基および1つのベンジル基、<sup>13</sup>C-NMRおよびDEPTスペクトルによって7つのメチル炭素、5つのメチレン炭素、2つのカルボニル炭素および1つのカルボキシル炭素の存在が確認された。二次元NMR (COSY、HSQC、HMBC) による詳細な解析をしたところ、化合物1はタマヌオイルから単離されているイノカロフィリンAと推定された。そこで文献値<sup>15)</sup>と比較したところ、NMRシフト値(表1)および比旋光度( $[\alpha]_D^{28} - 181.8^\circ$  ( $c = 0.05, \text{CH}_2\text{Cl}_2$ ))が一致したため、化合物1をイノカロフィリンA(図1)と同定した。

### 3-2 紫外線防止作用

沖縄県産タマヌオイルの沈殿部及び上清部、並びに外国産タマヌオイルの200~450 nmの吸収スペクトルを図2に示す。沖縄県産タマヌオイルの上清部および沈殿部は、マダガスカル産タマヌオイルと同様に240 nmおよび300 nm付近に吸収極大を示した。

### 3-3 抗菌作用

沖縄県産タマヌオイル上清、タマヌオイル沈殿およびイノカロフィリンAは、いずれも*C. acnes*に対し抗菌活性を示さなかった(図3)。一方で、マダガスカル産のタマヌオイルは、0.01%の濃度で*C. acnes*の増殖を阻害することが確認された(図4)。また、テリハボク葉、枝、根の50%エタノールおよびエタノール抽出物を対象に抗菌試験を行った結果、テリハボクの葉や根のエタノール抽出物に抗菌活性が確認された(図5)。

### 3-4 メラニン生成抑制作用

沖縄県産タマヌオイルのエタノール抽出物およびマダガスカル産タマヌオイルのエタノール抽出物は、両者とも低濃度(それぞれ4 μgオイル相当量/mLおよび4.2 μgオイル相当量/mL)においてはメラニン生成抑制作用が無く、これよりも高い濃度(それぞれ8 μgオイル相当量/mLおよび8.4 μgオイル相当量/mL以上)の濃度では細胞増殖に影響があるため、メラニン生成抑制作用は確認できなかった(表2)。また、テリハボク葉、枝、根の50%エタノールおよびエタノール抽出物を対象に、メラニン生成抑制作用の評価をしたところ、葉および枝の50%エタノールおよびエタノール抽出物にはメラニン生成作用が確認されなかった(表2)。一方で、根の50%エタノール抽出物およびエタノール抽出物の30 μg/mLの濃度においては、メラニンの生成を抑える作用が確認された(表2)。

### 3-5 タンパク質糖化阻害作用

皮膚においては、コラーゲンが糖化され終末糖化産物

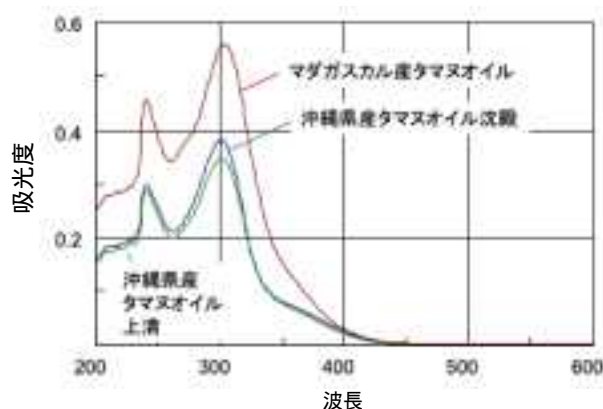


図2 沖縄県産タマヌオイル及び外国産タマヌオイルの吸収スペクトル

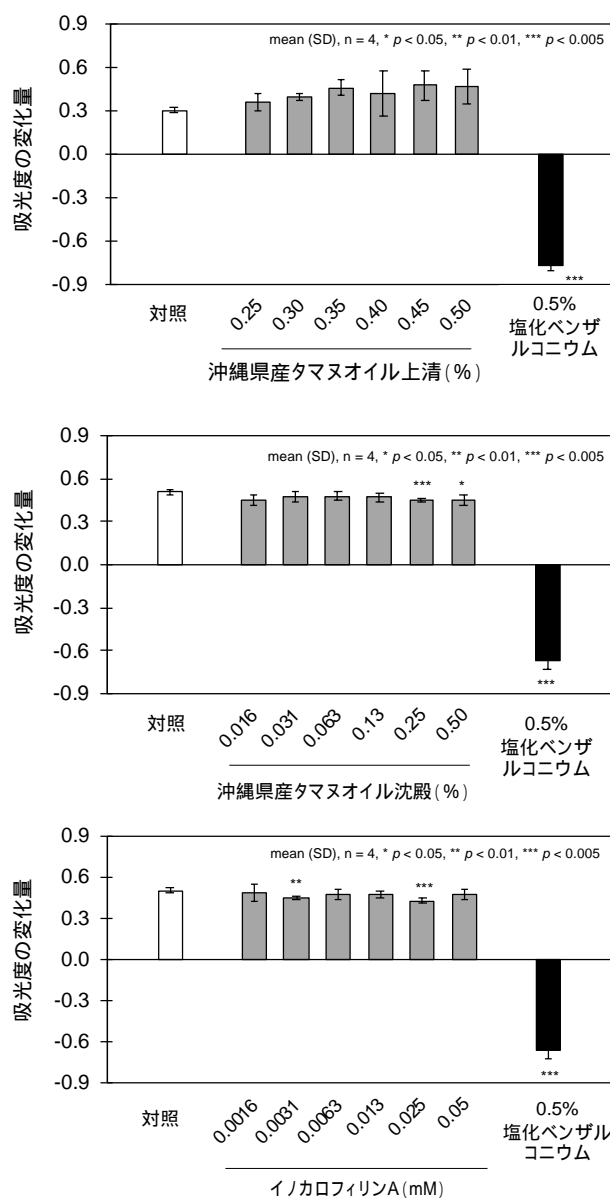


図3 沖縄県産タマヌオイル上清、沈殿およびイノカロフィリンAの抗菌活性

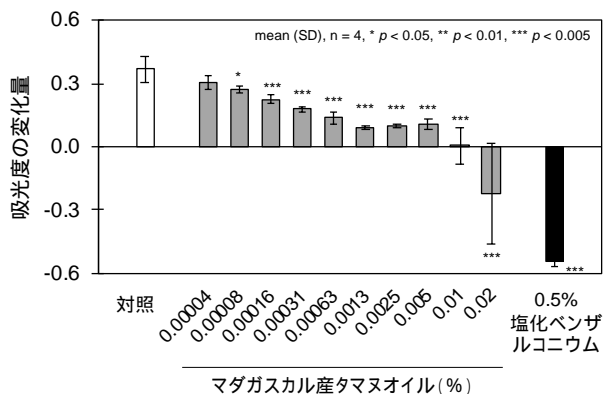


図4 マダガスカル産タマヌオイルの抗菌活性

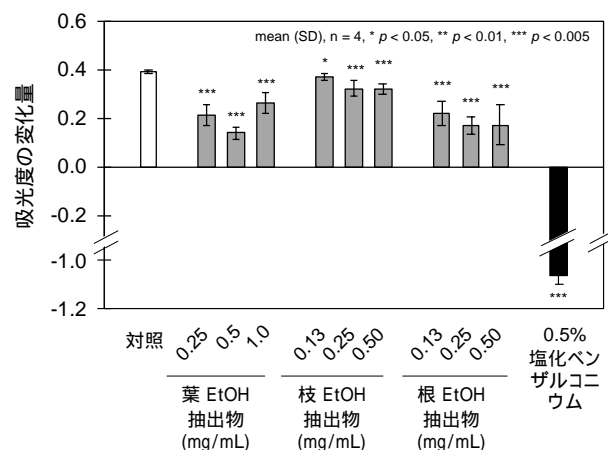
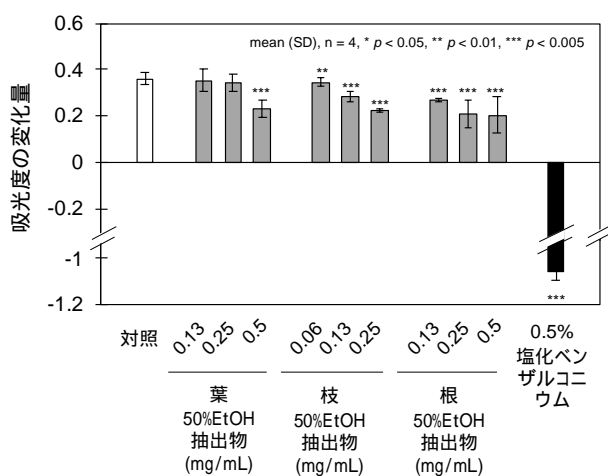


図5 テリハボク葉、枝および根の50%エタノール抽出物（上）およびエタノール抽出物（下）の *C.acnes* に対する抗菌活性

(AGEs)が蓄積することで皮膚の弾力が低下すると報告されている。本研究では、コラーゲンの代わりにアルブミンを用いて糖化反応を行い終末糖化産物(AGEs)に由来する蛍光を測定することで評価を行った。その結果、沖縄県産タマヌオイルおよびマダガスカル産タマヌオイルのエタノール抽出物、テリハボク枝および根の抽出物は、タンパク質の糖化阻害活性を示さなかった(表3)。一方で、テリハボク葉の50%エタノール抽出物は、タンパク質の糖化阻害活性を示した(表3)。

表2 タマヌオイルおよびテリハボク(部位別)エタノール抽出物および50%エタノール抽出物のメラニン生成抑制作用

	濃度	メラニン生成量(%), mean (SD)	細胞毒性(%), mean (SD)
対照 (EtOH)	-	100 (7)	100 (11)
沖縄県産タマヌオイル	4 µg oil-eq./mL	90 (11)	91 (7)
	8 µg oil-eq./mL	88 (12)	36 (24)
	32 µg oil-eq./mL	85 (6)	15 (1)
	40 µg oil-eq./mL	78 (3)**	37 (4)
マダガスカル産タマヌオイル	4.2 µg oil-eq./mL	96 (9)	97 (10)
	8.4 µg oil-eq./mL	93 (5)*	52 (36)
	34 µg oil-eq./mL	95 (3)*	43 (14)
	42 µg oil-eq./mL	60 (4)***	50 (6)
テリハボク葉	10 µg/mL	102 (7)	79 (21)
	50%EtOH抽出物 (n=3)	100 (4)	97 (21)
テリハボク葉	20 µg/mL	99 (7)	68 (5)
	EtOH抽出物 (n=3)	60 µg/mL	94 (4)
テリハボク枝	5 µg/mL	122 (17)	92 (9)
	50%EtOH抽出物 (n=3)	15 µg/mL	126 (7)
テリハボク枝	10 µg/mL	120 (4)	85 (12)
	EtOH抽出物 (n=3)	30 µg/mL	134 (3)
テリハボク根	5 µg/mL	109 (2)	98 (24)
	50%EtOH抽出物 (n=3)	10 µg/mL	106 (6)
テリハボク根	5 µg/mL	104 (3)	80 (6)
	EtOH抽出物 (n=3)	10 µg/mL	101 (3)
アルブチン	30 µg/mL	79 (9)*	103 (7)
	400 µM	61 (9)***	91 (9)*

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

表3 タマヌオイルおよびテリハボク(部位別)エタノール抽出物および50%エタノール抽出物のタンパク質糖化阻害活性

	濃度	阻害率(%), mean (SD)
対照 (EtOH)	-	100 (2)
沖縄県産タマヌオイル	2 mg oil-eq./mL	-547 (9)
	EtOH抽出物	4 mg oil-eq./mL
マダガスカル産タマヌオイル	2.1 mg oil-eq./mL	-435 (6)
	EtOH抽出物	4.2 mg oil-eq./mL
テリハボク葉	0.5 mg/mL	59 (0)***
	50%EtOH抽出物	1 mg/mL
テリハボク葉	1 mg/mL	72 (1)***
	EtOH抽出物	2 mg/mL
テリハボク枝	0.5 mg/mL	-265 (2)
	50%EtOH抽出物	1 mg/mL
テリハボク枝	0.5 mg/mL	-379 (8)
	EtOH抽出物	1 mg/mL
テリハボク根	0.25 mg/mL	-55 (1)
	50%EtOH抽出物	0.5 mg/mL
テリハボク根	0.5 mg/mL	-63 (0)
	EtOH抽出物	1 mg/mL
アミノグアニジン	1 mM	57 (2)

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

ールおよびエタノール抽出物は、陽性対照として用いたアミノグアニジンと同等またはそれ以上のタンパク質糖化阻害活性を示した(表3)。

#### 4 まとめ

分光光度計を用いた簡易的な紫外線防止作用の測定では、沖縄県産タマヌオイルはマダガスカル産タマヌオイルと同様に300 nm付近に吸収極大を示し、UVB(290~320 nm)の防止効果が期待できると推察された。テリハボクには300 nm付近に吸収を持つマリン類が含まれていると報告されており、これら紫外線吸収物質の種類や量を把握し、保存安定性および紫外線照射下における安定性を評価することが重要と考えられる。また、日焼け止め剤として活用するためには、ヒト皮膚における紫外線防止効果(SPF・PA)の測定を行う必要がある。

沖縄県産タマヌオイルおよびそのオイルから単離したイノカロフィリンAはいずれも*C. acnes*に対する抗菌活性を示さなかったが、マダガスカル産のタマヌオイルおよび沖縄県産テリハボクの葉や根の抽出物は、抗菌活性を示した。マダガスカル産タマヌオイルや沖縄県産テリハボク葉および根に含まれる抗菌物質を明らかにすることで、沖縄県産タマヌオイルに抗菌作用を付与できると考えられる。

マウスメラノームを用いた系においてはテリハボク根抽出物のメラニン生成抑制作用、アルブミンとグルコースを用いた*in vitro*の系においてはテリハボク葉抽出物のタンパク質糖化阻害作用が明らかとなった。今後、テリハボク根に含まれるメラニン生成抑制物質およびテリハボク葉のタンパク質糖化阻害物質を特定することで、テリハボクのオイルだけでなく他の部位も化粧品原料として有効利用できると考えられる。

本研究は「沖縄県産テリハボクの機能性の評価に関する研究(2019技023)」の一環として行ったものである。

#### 謝辞

本研究成果は、平成31年度産学官連携製品開発支援事業(沖縄県産業振興公社)の支援を受けた。

#### 参考文献

- 1) 大川友史, 林将之, 琉球の樹木 - 奄美・沖縄~八重山の亜熱帯植物図鑑, 2016.
- 2) 松下通也, 松下通也, 花岡創, 楠城時彦, 千吉良治, 古本良, 織邊俊爾, 加藤智子, 今野敏彦, 尾坂尚紀, 板鼻直榮, 加藤一隆, "気候変動適応のための林木育種分野における国際技術協力 - 早期の防風林造成に資するテリハボクの植栽試験 -", 海外の森林と林業, 2018, 101, 20.

- 3) 嘉手苅幸男, "モクマオウ、テリハボク、アカギ及びタイワンフウの材質・加工特性について", 沖縄県森林資源研究センター研究報告, 2007, 50, 23.
- 4) Friday, J.B.; Okano, D. *Calophyllum inophyllum* (Kamani)., *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*, 2006 .
- 5) Mai, H.C.; Le, T.T.T.; Bui, T.Y.N. Maceration Extraction of Oil from Tamanu (*Calophyllum inophyllum* L.) Seeds: Effect of Process Parameters and Oil Characterisations, *Int. J. Eng. Res. Appl.*, 2020, 10 (6), 31, doi: 10.9790/9622-100603139
- 6) Hieu, N.H.; Thuy, T.T.M. Chemical Composition Analysis and Antibacterial-Anti-inflammatory Activity Tests of Tamanu Seed Oil Extracted by Supercritical Fluid Technology, *Science and Technology Development*, 2016, 19, 146, doi: 10.32508/stdj.v19i3.573
- 7) Tsai, S.C.; Liang, Y.H.; Chiang, J.H.; Liu, F.C.; Lin, W.H.; Chang, S.J.; Lin, W.Y.; Wu, C.H.; Weng, J.R. Anti-inflammatory effects of *Calophyllum inophyllum* L. in RAW264.7 cells, *Oncology Reports*, 2012, 28 (3), 1096, doi: 10.3892/or.2012.1873
- 8) Ginigini J.; Lecellier G.J.; Nicolas M.; Nour, M.; Hnawia, E.; Lebouvier, N.; Herbet, G.; Lockhart, P.; Raharivelomanana, P. Chemodiversity of *Calophyllum inophyllum* L. Oil Bioactive Components Related to Their Specific Geographical Distribution in the South Pacific Region, *PeerJ*, 2019, 7, e6896, doi: 10.7717/peerj.6896
- 9) Léguillier, T.; Lecsö-Bornet, M.; Lémus, C.; Rousseau-Ralliard, D.; Lebouvier, N.; Hnawia, E.; Nour, M.; Aalbersberg, W.; Ghazi, K.; Raharivelomanana, P.; Rat, P. The Wound Healing and Antibacterial Activity of Five Ethnomedicinal *Calophyllum inophyllum* Oils: An Alternative Therapeutic Strategy to Treat Infected Wounds, *PLoS One*, 2015; 10 (9), e0138602, doi: 10.1371/journal.pone.0138602
- 10) Kishioto, N. Olive Bark Extract as a Potential Cosmetic Sunscreen Agent with Combined Photoprotective and Skin-Care Properties, *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.* 2019, 54 (2), 129, doi: 10.5107/scsj.54.129
- 11) 光井武夫, "新化粧品学", 南山堂, 2001.
- 12) Cebrián, R.; Arévalo, S.; Rubiño, S.; Arias-Santiago, S.; Rojo, M/D.; Montalbán-López, M.; Martínez-Bueno, M. Valdivia, E.; Maqueda, M. Control of *Propionibacterium acnes* by natural antimicrobial substances: role of the bacteriocin AS-48 and lysozyme. *Sci Rep.* 2018; 8: 11766, doi: 10.1038/s41598-018-29580-7

- 13) Ogi, T.; Higa, M.; Maruyama, S., Melanin Synthesis Inhibitors from *Balanophora fungosa*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2011**, 59 (4), 1109, doi: 10.1021/jf1035542
- 14) Matsuura, N.; Aradate, T.; Sasaki, C.; Kojima, H.; Ohara, M.; Hasegawa, J.; Ubukata, M. Screening System for the Maillard Reaction Inhibitor from Natural Product Extracts, *Journal of Health Science*, **2002**, 48 (6), 520, doi: 10.1248/jhs.48.520
- 15) Shen, Y.C.; Hung, M.C.; Wang, L.T.; Chen, C.Y., Inocalophyllins A, B and Their Methyl Esters from the Seeds of *Calophyllum inophyllum*, *Chem. Pharm. Bull.*, **2003**, 51 (7) 802, doi: 10.1248/cpb.51.802

## *In Vitro* Evaluation of the Effects of *Calophyllum inophyllum* as Skin Care Cosmetic Materials

Takayuki OGI, Arina MATSUMOTO, Hiroto YOKARYO, Idam HERMAWAN, Toru USAMI\*<sup>1</sup>

Okinawa Industrial Technology Center

\*<sup>1</sup> Sumaeco Co. Ltd.

*Calophyllum inophyllum* L. seed oil (also known as Tamanu oil) is known to have useful effects on the skin, such as antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, and wound-healing effects, and is traditionally used overseas such as in Polynesia. On the other hand, as there is little knowledge about the functionality of Tamanu oil produced in Okinawa, the absorption spectra (ultraviolet protection effect) of Okinawan Tamanu oil and Madagascar Tamanu oil by a spectrophotometer were compared. In addition, the leaf, branch, and root extracts of *C. inophyllum* were evaluated for their antibacterial activity against *Cutibacterium acnes*, melanogenesis inhibition in B16 mouse melanoma, and protein glycation inhibition in a bovine serum albumin-glucose model system. As a result of absorption spectrum measurement, Okinawan Tamanu oil exhibited an absorption maximum around 300 nm, similar to Madagascar Tamanu oil. However, no antibacterial activity was observed with the Okinawan Tamanu oil supernatant or the inocalophyllin A isolated from the oil supernatant. On the other hand, antibacterial activity and protein glycation inhibition were confirmed using the leaf extracts of *C. inophyllum*, and antibacterial activity and melanogenesis inhibition were observed using the root extract of *C. inophyllum*.