

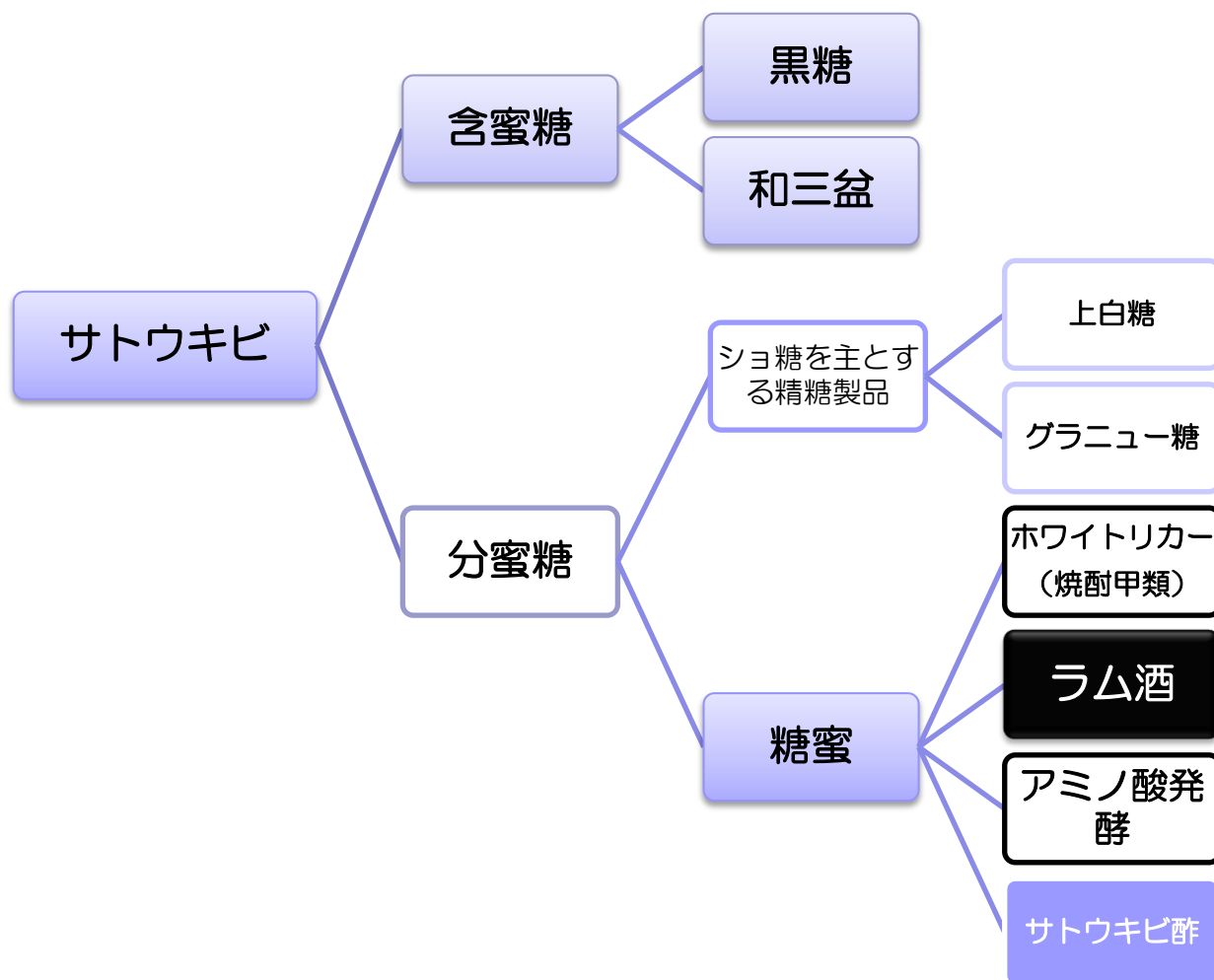
2011.06.24

# ラム酒粕から抽出した チロシナーゼ阻害剤による美白剤



琉球大学農学部  
亜熱帯生物資源科学科  
准教授 高良健作

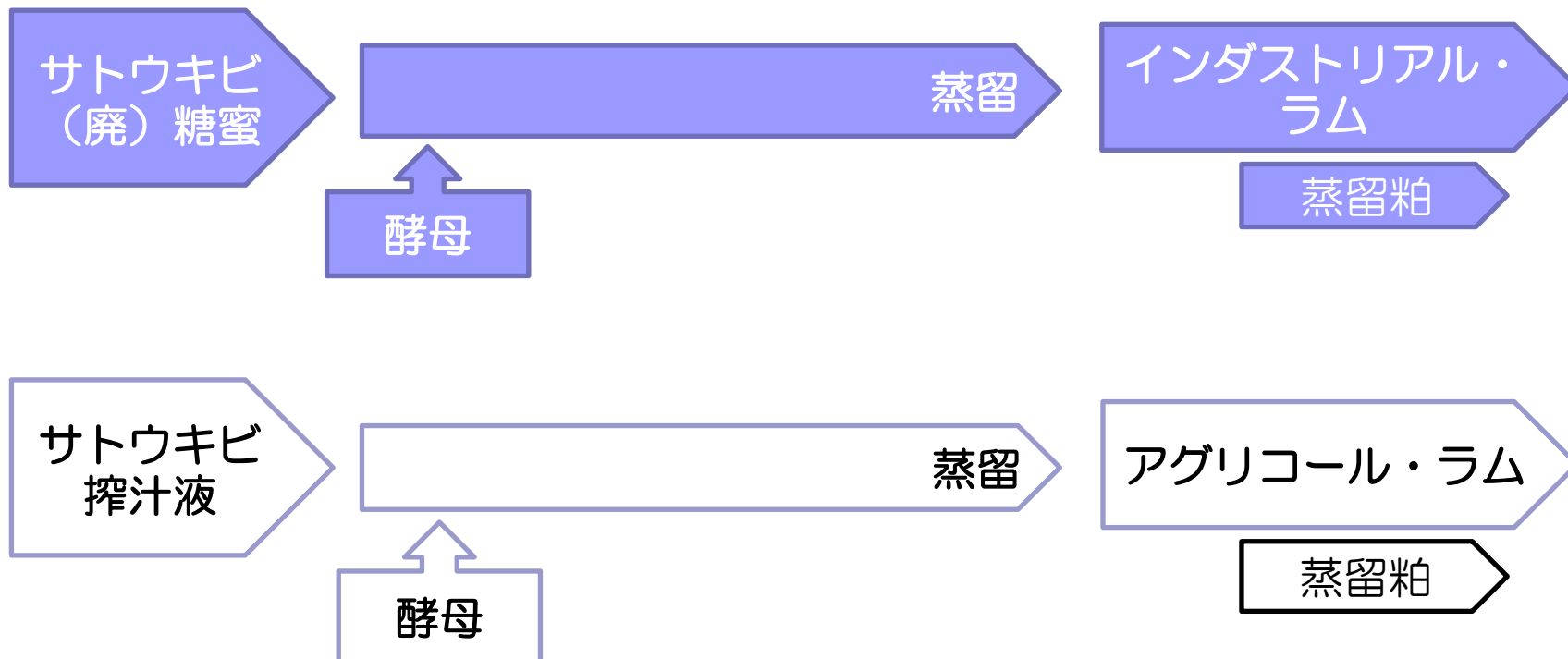
# サトウキビと関連製品



サトウキビの搾り汁には約20%のシヨ糖が存在。

# ラム酒の製造方法

一般的には砂糖を取った後に残る(廃)糖蜜を原料にラム酒は製造されるが、サトウキビの搾汁液を原料とした「贅沢」なラム酒も存在する。



# 国内のラム酒メーカー

鹿児島県奄美島の黒糖  
焼酎は原料として米麴  
も使われ、酒税法上  
「焼酎」に該当。

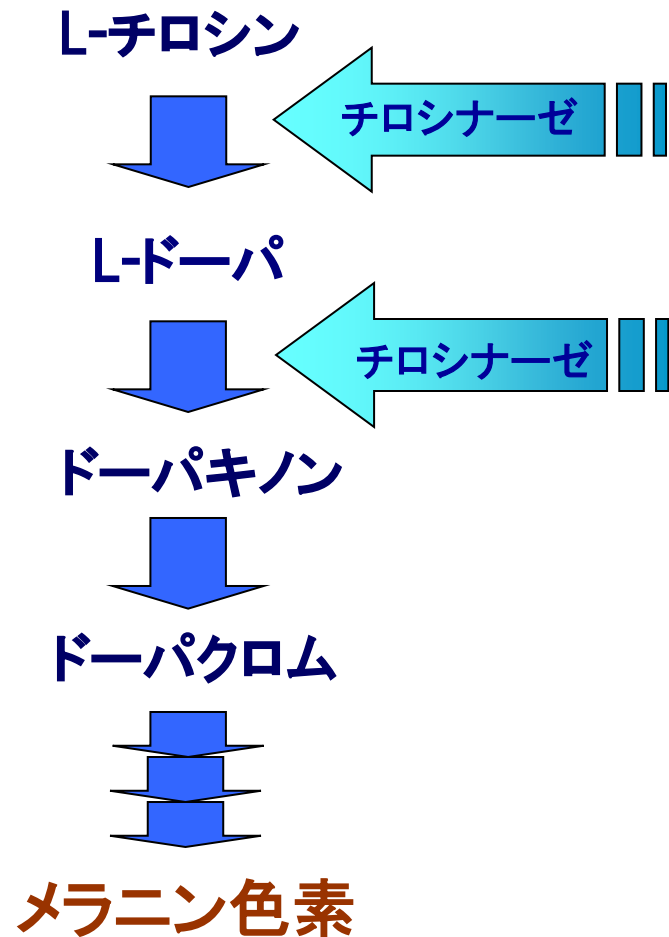
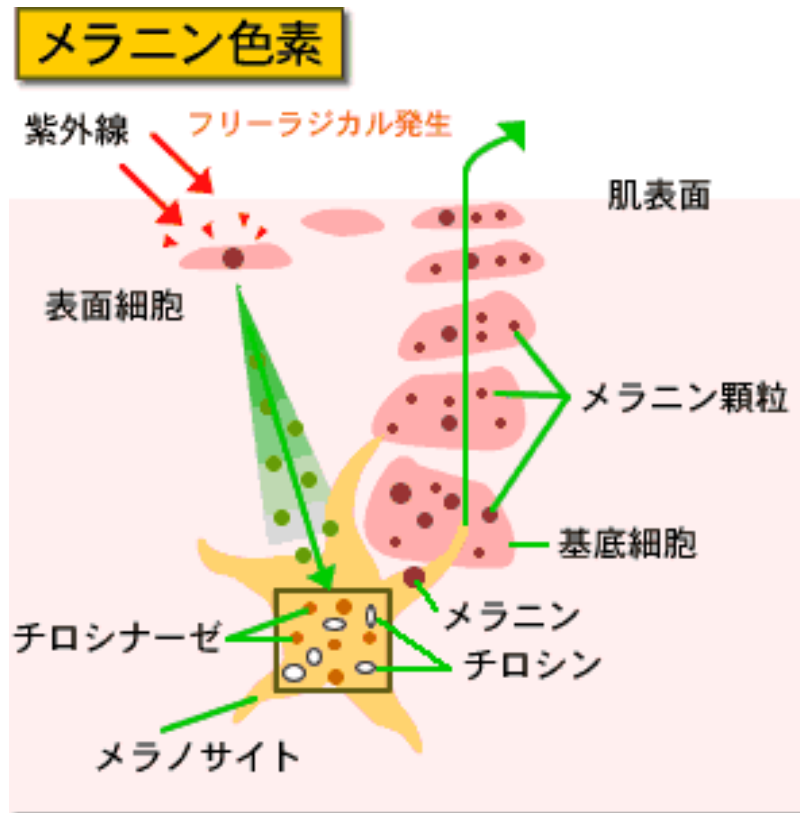
喜界島；  
高岡醸造株式会社

沖縄本島；  
(株)ヘリオス  
酒造

南大東島；  
(株)グレイス  
ラム

母島；小笠原ラ  
ム・リキュール  
(株)

# 皮膚の構造とメラニン生成機構



メラノサイトに存在するチロシナーゼはメラニン生成における律速酵素. メラニンの生成を抑制する方法は数多くあるが, チロシナーゼ阻害をターゲットとした研究が最も多く行われている.

# 研究背景・新技術の基となる研究成果,技術

- ♪ ラム酒の製造後に「蒸留粕」が廃棄物として出る。この有効利用・高度利用が課題。
- ♪ 過去に黒糖や糖蜜の抗酸化活性物質を分離した経験有り＝低分子有機化合物の分離, 構造解析
- ♪ 過去から黒糖が化粧品原料として使用されてきた

# ヒトチロシナーゼの阻害活性測定法

L-ドーパ (1.5mg/mL) 水溶液	40 $\mu$ L
0.05M リン酸緩衝液 (pH 6.5)	100 $\mu$ L
試料溶液	10 $\mu$ L

↓ 予備反応 37°C, 10分

ヒトチロシナーゼ (HMOV-II由来)	50 $\mu$ L
----------------------	------------

↓ 酵素反応 37 °C, 90min

O.D.470nm

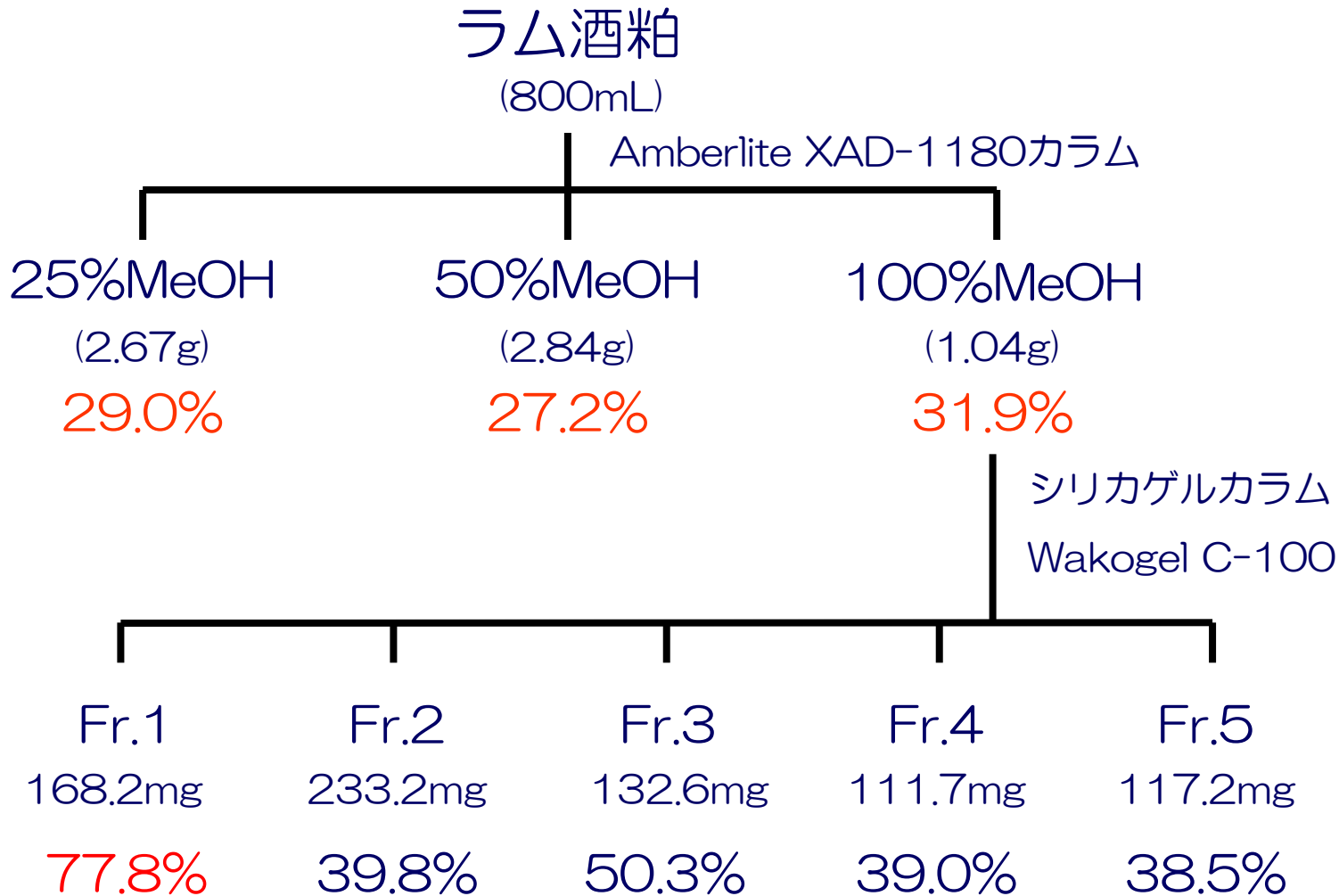
$$\text{阻害率 (\%)} = 100 - A / B \times 100$$

A = 試料の470nm吸光度

B = 試料なしの470nm吸光度

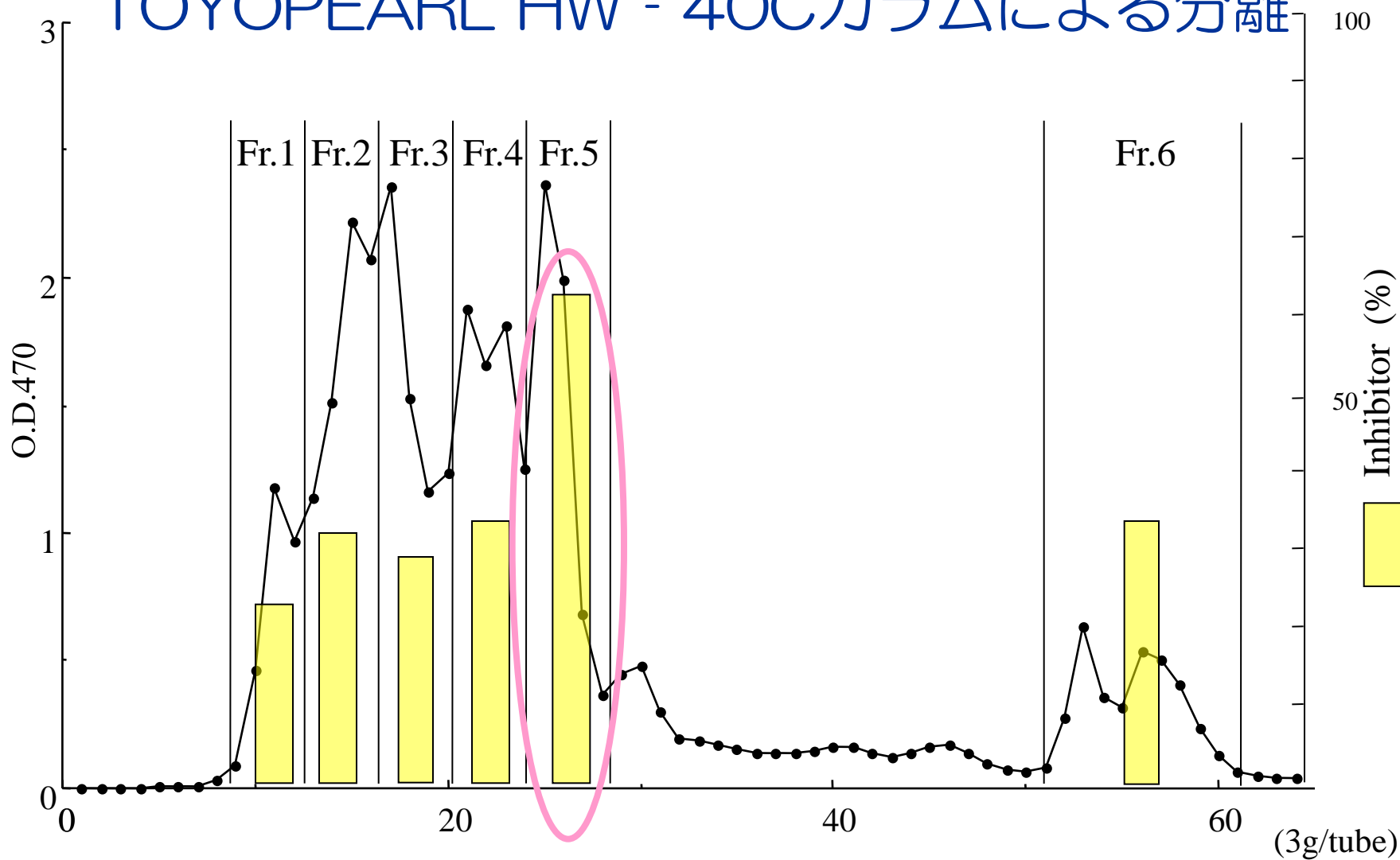
ヒト由来のチロシナーゼを自家調製。よって、結果はヒトに対して実際に有効かどうか分かる。

# ラム酒粕からのチロシナーゼ阻害物質の分離





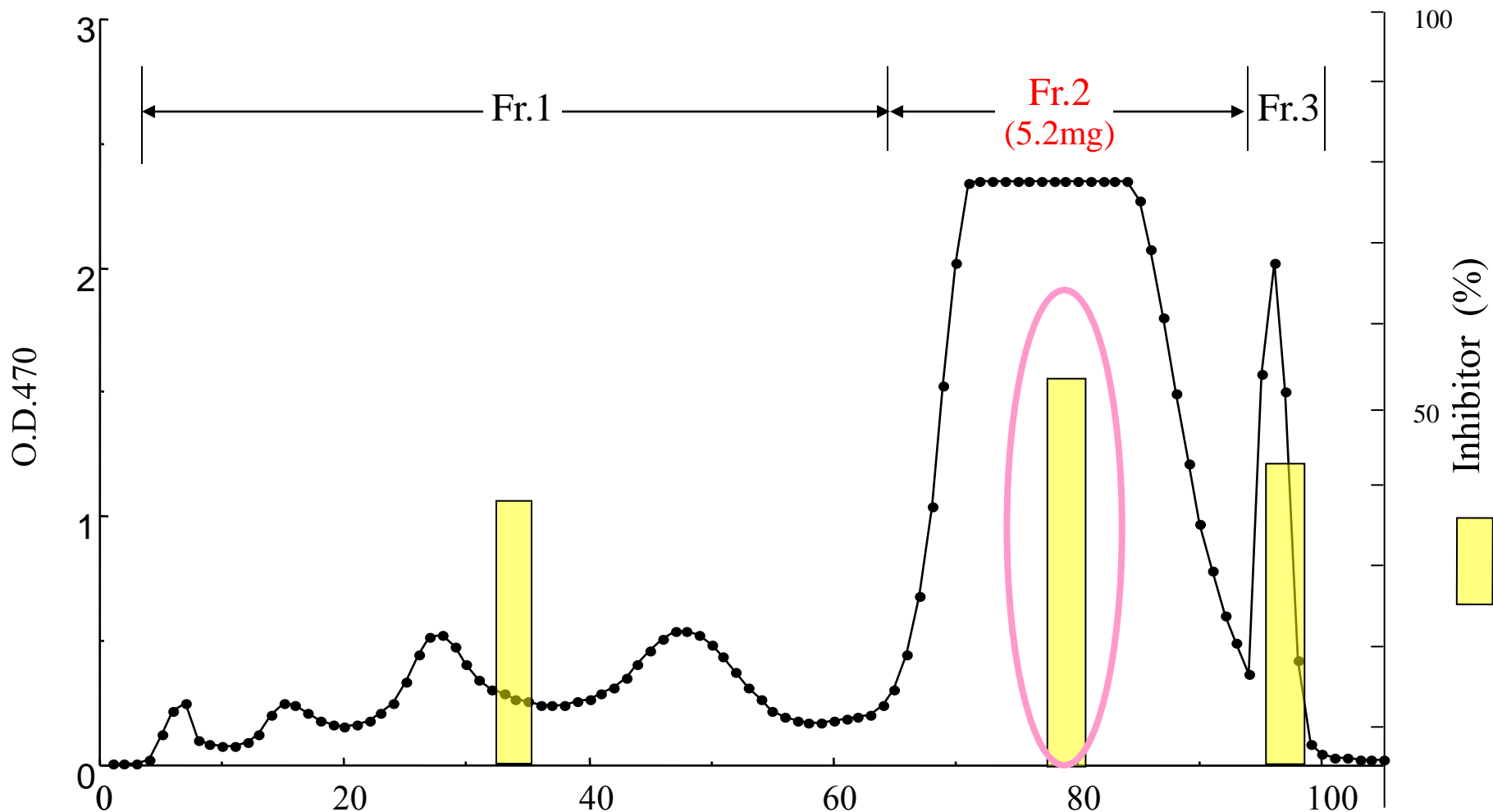
# TOYOPEARL HW - 40Cカラムによる分離



試料；シリカゲルカラムのFr.1(168.2mg)

カラムサイズ；12×80cm, 溶出液；60%MeOH(1-40)-80%MeOH(41-80)

# LiChroprep RP-18 カラムクロマトによる分離

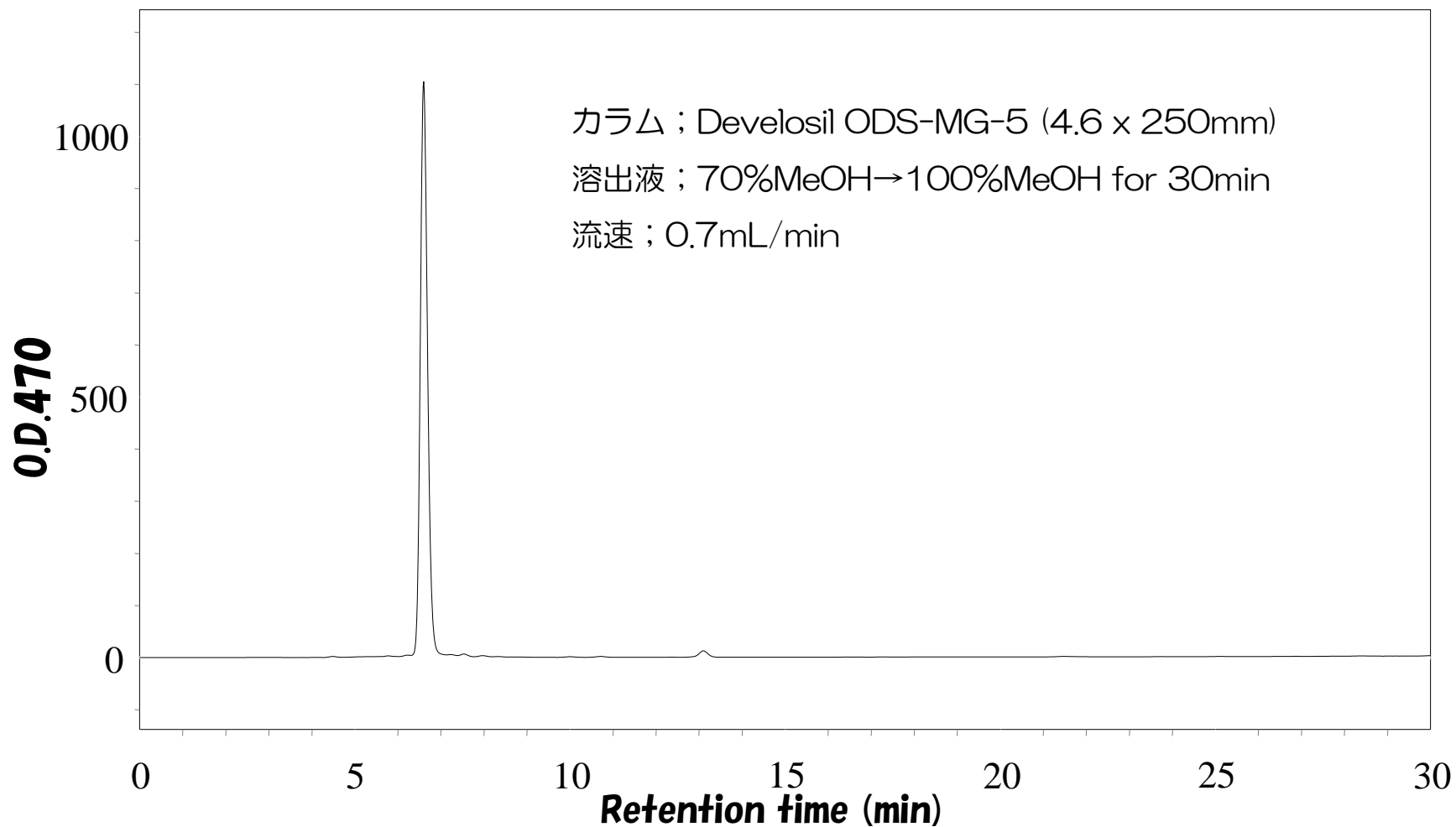


試料 : TOYOPEARLカラムのFr.5 (11.3mg)

(3mL/tube)

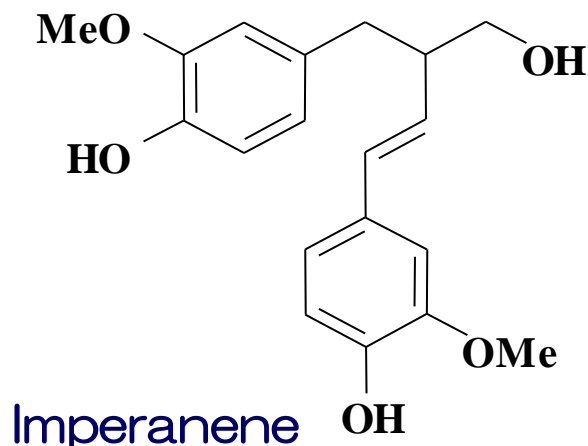
カラム : LiChroprep RP-18. 溶出液 : 40%MeOH

# 精製物質のHPLC分析



HPLC上、単一ピークを得たことからほぼ単一物質であることを確認できた。

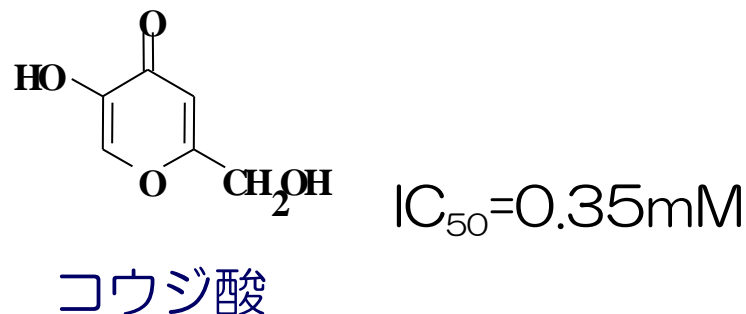
# チロシナーゼ阻害活性物質の化学構造



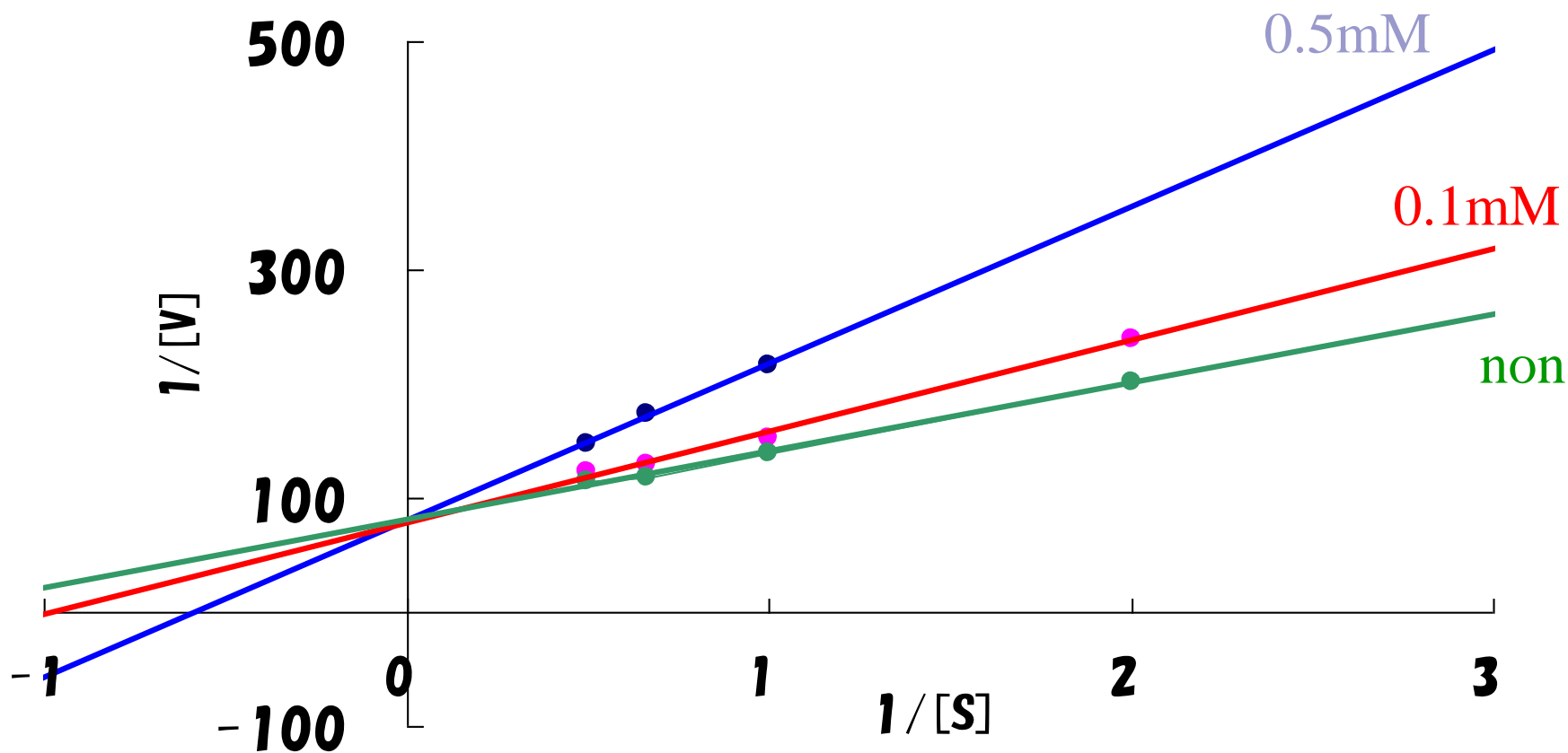
NMRやLC-MSなどの機器分析の結果、  
化合物の構造をImperaneneと同定。  
同化合物は過去にチガヤより分離された  
報告有り。

チロシナーゼ阻害活性； $IC_{50}=1.11\text{mM}$   
**アルブチン並みの強い活性！**

参考；よく知られるチロシナーゼ阻害物質



# Lineweaver-Burk plots



Y軸上で線が交差→チロシナーゼ阻害機構は競争阻害

# 要約

- ラム酒蒸留粕にチロシナーゼ阻害活性を確認。活性物質の分離・精製を行った。
- 阻害活性物質はImperaneneと同定
- Imperaneneの収量はラム酒粕800mlに対して5mg
- Imperaneneの $IC_{50}$ は1.11 mMであり阻害機構は競合阻害によるものだった。

# 本技術の特徴

- 活性測定にヒトチロシナーゼをHMV-IIより調製。従来はマッシュルーム由来酵素を使用
- ヒトに対して有効である可能性が高い

# 想定される用途

- 機能性化粧品の原料（いわゆる美白化粧品）
- 使用した実験材料はラム酒粕であるが、バイオエタノール発酵残渣への応用も期待



# 実用化に向けた課題

- 蒸留粕の量が少量
- 収率が低い
- ヒト臨床データ

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称；チロシナーゼ活性阻害剤およびこれを含有する美白化粧品
- 出願番号；特願2006-011100
- 特許番号；第4686720号
- 特許権者；国立大学法人琉球大学
- 発明者；高良健作， 照屋潤二郎

# お問い合わせ先

国立大学法人琉球大学

産学官連携推進機構

教授 近藤義和

[TEL:098-895-8598](tel:098-895-8598) FAX : 098-895-8957

E-mail : [kondoyos@lab.u-ryukyu.ac.jp](mailto:kondoyos@lab.u-ryukyu.ac.jp)

准教授 宮里大八

TEL : 098-895-8599 FAX : 098-895-8957

E-mail : [daiya@lab.u-ryukyu.ac.jp](mailto:daiya@lab.u-ryukyu.ac.jp)