

Original article

Evaluation of effectiveness of *Prunus mume* extract such as anti-glycation

Takaya Mineo, Chihiro Kumagai, Hiroaki Tsutsumi, Haruma Kawaguchi

Holistic Beauty Research Center, Wamiles Cosmetics Inc., Yokohama, Kanagawa, Japan

Glycative Stress Research 2020; 7 (2): 196-203
(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

ウメエキスの抗糖化などの有効性評価

峯尾貴也、熊谷ちひろ、堤 浩亮、川口春馬

ワミレスコスメティックス株式会社 ホリスティックビューティー研究所

抄録

【目的】 皮膚は外部環境に常に曝されているため、環境因子の影響を受けやすい。これにより、皮膚老化による形態変化が生じ、見た目の年齢が実際の年齢を上回ることがある。皮膚老化の1つである糖化反応では、真皮のコラーゲンやエラスチンなどに異常な架橋が形成され、柔軟性や弾力性が失われる。化粧品等に糖化抑制効果を持たせることは、老徴の予防という観点において非常に有用である。

我々は、糖化抑制をターゲットとする化粧品素材の開発を目指し、食品や健康食品に利用されているウメ (*Prunus mume*) によるアプローチを検討した。

【方法】 豊後、白加賀の2つの品種に関して、若枝、花、枝、葉、樹皮、根の各部位の抽出液を作製した。この抽出液に対して、SOD様作用効果、DPPHラジカル消去効果、エラスターゼ活性阻害効果、メイラード反応架橋形成抑制効果を検証した。

【結果】 豊後、白加賀両方のウメ根抽出物に関して、エラスターゼ活性阻害効果、抗酸化効果、抗糖化効果が認められた。

【結論】 我々はウメ根に有用な効果があることを見出した。根抽出物は、皮膚老化の抑制に非常に有用な原料となることが期待される。

KEY WORDS: ウメ (*Prunus mume*)、メイラード反応、抗酸化、エイジングケア、皮膚、根

はじめに

皮膚はヒトの最外層に位置し、内部器官を覆っている生体最大の臓器である。皮膚は生体内部を異物侵入などのあらゆる外部環境から保護し、生体の恒常性を維持している。このような機能を果たすため、皮膚は多様な細胞で構成され、様々な付属器官を備えた複雑な構造を有している¹⁾。しかし、加齢とともにそれらの機能が低下し、各組織に変化が生じる。

加齢に伴い、皮膚の水分を保持する能力が低下する。また、再生能力や皮脂分泌能力の低下なども加わることで、乾燥、粗造化し、外観に様々な老化現象が現れる²⁾。

皮膚老化を加速させてしまう要因の1つに糖化が挙げられる。糖化はメイラード反応とも呼ばれ、近年、エイジングケアにとって重要な要因であることから注目されている³⁾。糖化により糖化最終生成物 (Advanced Glycation End products; AGEs) が生成されると蛋白質分子は硬化し、柔軟性が失われる。糖化により皮膚老化が生じると、外観へも影響するため、見た目の年齢が実際の年齢を上回ることがある⁴⁾。

老化皮膚の外観的な特徴には色調変化と形態変化がある。色調変化は、シミ (老人性色素斑) やくすみが挙げられる。形態変化は、シワ、たるみなどが挙げられる。

この形態変化は皮膚真皮の構造変化に起因すると考えられている。皮膚真皮の構造変化は真皮の主成分であるコラーゲンやエラスチンなどの減少や分解、劣化によって生じる⁵⁾。コラーゲンやエラスチンは、組織中の線維形成過程でリジンやヒドロキシリジン残基を介した架橋を形成し、立体構造を作ることによって、皮膚の柔軟性を保っている。

これらのリジン残基のアミノ基あるいはアルギニン残基のグアニジル基と糖のカルボニル基は、非酵素的に反応する⁶⁾。この非酵素的反応の前期段階では、反応物が脱水し、シッフ塩基が生成する。更に分子内転位が起きて、アマドリ転位生成物が生成する⁷⁾。後期段階では、アマドリ生成物にアミノ化合物やカルボニル化合物が反応し、3-デオキシシグナルコソンのような反応性の高いジカルボニル化合物が生成する^{6,7)}。AGEsは反応の後期段階で生成し、皮膚真皮組織中に異常な架橋を形成する。皮膚組織でのAGEsの生成は、皮膚の色調や形態変化に影響し、見た目の年齢が実際の年齢を上回る要因となる。

糖化によるAGEsの生成は酸化的反応を伴う。後期段階で糖やアマドリ化合物が酸化すると、3-デオキシシグナルコソン、グリオキサール、メチルグリオキサールなどの化合物が生成する^{8,9)}。この過程では、活性酸素種 (Reactive oxygen species; ROS) である O_2^- (スーパーオキシドアニ

オンラジカル) が生成する^{10,11)}。ROSは生理活性物質であると同時に、過剰に生成されると、酸化ストレスと呼ばれる生体に有害な作用をもたらすことが知られている^{12,13)}。

糖化によってコラーゲンやエラスチンの異常な架橋が形成されると、架橋物を異物と判断し、分解酵素 (コラーゲナーゼ、エラスターゼ) の分泌量が増えるため、正常なコラーゲンやエラスチンが分解されやすくなる⁶⁾。糖化による皮膚の老化は、コラーゲンやエラスチンなどの半減期が長い蛋白質を多く含む組織に影響が現れやすいことが報告されている^{14,15)}。

ウメ (*Prunus mume*) はバラ科サクラ属に属する落葉高木で、中国を始め日本、韓国、台湾、タイ、ベトナム等の東及び東南アジア地域で広く栽培されている。ウメの果実は古くから観賞用や食用、漢方として利用されてきた歴史を持ち、クエン酸などの有機酸を多く含んでいる¹⁶⁾。

本研究は皮膚老化の抑制をターゲットとする化粧品素材の開発を目的に、食品や健康食品に幅広く利用されているウメの花や根、枝などに着目し、それらの抽出物について抗糖化、抗酸化、エラスターゼ活性阻害効果を検証した。

方法

検体調製

豊後、白加賀の二つの品種に関して、若枝 (young branches/shoots)、花 (flowers)、枝 (branches)、葉 (leaves)、樹皮 (bark)、根 (roots) の各部位をイオン交換水あるいは95% エタノール (第一アルコール (株)) に5% (w/w) となるように浸漬し、30°Cで3日間抽出を行った。抽出液を0.45 μm のフィルター (Merck Millipore) を用いて濾過して、不溶物を取り除き、試験検体とした。加えて、有効性が確認された検体に関しては、減圧濃縮および凍結乾燥を行い試験に供した。

スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 様作用効果試験

SOD様活性は既報に従って測定した^{17,18)}。96 well plate にイオン交換水を用いて濃度を調製した試験検体 25 μL 、2 mM ヒポキサンチン (Sigma-Aldrich) 25 μL 、2 mM EDTA (Dojindo) 25 μL 、0.5 mM NBT (Wako) 25 μL 、0.1 M 炭酸緩衝液 100 μL を添加し、30 mU/mL SOD (Sigma-Aldrich) 50 μL を添加し、37°Cで30分間反応させマイクロプレートリーダーにて570 nmの吸光度を測定した。水を対照として消去率を算出した。

2,2-ジフェニル-1-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカル消去効果試験

DPPHラジカル消去は既報に従って評価した^{19,20)}。96 well plateにイオン交換水を用いて濃度を調製した試験検体 15 μ L、0.2 M MES 緩衝液 60 μ L、95% エタノール 50 μ L を添加し、0.6 mM DPPH ラジカル (Wako) 25 μ L を加え、30°C で30分間反応させマイクロプレートリーダーにて 540 nm の吸光度を測定した。DPPH ラジカル消去活性は、水を対照として消去率を算出した。

エラスターゼ活性阻害効果試験

エラスターゼ阻害活性は既報に従って評価した²¹⁾。96 well plateにイオン交換水を用いて濃度を調製した試験検体 50 μ L、0.1 M Tris-HCl 緩衝液 35 μ L、1 mM Suc-Ala-Ala-Ala-PNA (Sigma-Aldrich) 100 μ L、0.25 U/mL エラスターゼ (Wako) 15 μ L を加え、37°C、30分間反応後、マイクロプレートリーダーにて 405 nm の吸光度を測定した。水を対照として阻害効果率を算出した。

メイラード反応架橋形成抑制効果試験

メイラード架橋抑制試験は既報に従って評価した^{22,23)}。サンプルチューブに 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 800 μ L で調製した 0.5 M リボース (Wako) 40 μ L、50 mg/mL リゾチーム (Wako) 100 μ L を加え、イオン交換水を用いて濃度を調製した試験検体 60 μ L を添加した。クリーンベンチ内で 0.45 μ m のフィルター (Sartrius) を用いて濾過滅菌し、40°C のインキュベーターで7日間反応させた。反応後、SDS-PAGE にて電気泳動を行い、Coomassie Brilliant Blue R-250 にて染色し脱色後リゾチームの2量体を目視により判定した。判定は試験検体の代わりに水を用いたものをネガティブコントロールとし、硫酸アミノグアニジンを加えた時の様子をポジティブコントロールとして判定した。NIS-Elements ソフトウェア (Nikon) を用いて同一面積に関して画像解析を行い、光学濃度積算値をバンド強度として数値化した。

結果

ウメの豊後、白加賀の2つの品種に関して、6つの部位それぞれを水とエタノールで抽出した (Fig. 1, 2)。品種や抽出溶媒、部位で抽出液の色など見た目が異なり、抽出されるものに差異がうかがえた。試験の結果、若枝、根抽出液で、抗酸化効果 (SOD様活性作用効果、DPPH ラジカル消去効果)、エラスターゼ活性阻害効果が確認された (Table 1, 2)。

ウメ抽出液の中でも、根抽出液は、他と比較して高い抗酸化効果とエラスターゼ活性阻害効果が認められた。特に根のエタノール抽出液は、活性酸素が50%消去される検体濃度がどちらも0.1% (v/v) 以下だった。従って、根抽出液には他部位より高い抗酸化作用があることが確認された。

加えて、根のエタノール抽出液は、エラスターゼ活性阻害効果の IC₅₀ 値が 0.45% (v/v) (豊後)、0.24% (v/v) (白加賀) と、他の部位と比較して低く、エラスターゼ活性阻害効果もあることが確認された。

また、若枝抽出液は、白加賀のエタノール抽出液を除き、活性酸素が50%消去される濃度が0.14% (v/v) 以下であり、抗酸化効果があることが確認された。

そこで、効果が確認された根抽出液および若枝抽出液に関して、減圧濃縮および凍結乾燥処理を行い、得られた粉末を抽出物として、更に有効性を調べた。皮膚老化の因子の1つである糖化抑制効果を検証するため、メイラード反応架橋形成抑制効果試験を行った。根抽出物を95%エタノールで0.15 mg/mLに調製し、結果を以下に記載した (Fig. 3)。また、泳動画像から、光学濃度積算値を算出した (Table 3)。

以上の測定により、根抽出液には抗酸化効果とエラスターゼ活性阻害効果が確認され、その抽出液を濃縮した抽出物にはメイラード反応架橋形成抑制効果が確認された。

考察

ウメの効能に関しては、ウメ果実を塩漬けにする (梅干し) 際の副生成物である梅酢から調製されるフェノール化合物が、腸内細菌に対する抗菌活性効果を有することが確認されている²⁴⁾。また HSV-1 および HSV-2 の抗ウイルス効果も認められている²⁵⁾。

ウメは臨床試験でもその効能が確認されている。梅肉エキスによって唾液の分泌を誘導した群と、梅肉エキス無滴下群で口腔内のアンモニア濃度を比較したところ、アンモニア濃度の上昇が約1/2に抑制されたという報告がある²⁶⁾。このことから梅肉エキスが口腔内の清潔度の維持に効果的な方法であることが示唆された。また、ウメの果実だけでなく、花芽から分離精製したムメオースなどの物質が、アルドース還元酵素を阻害することも報告されている²⁷⁾。アルドース還元酵素は、糖尿病などで生じる余剰のグルコースをソルビトールやフルクトースという物質に変換する作用を有し (ポリオール代謝)、ソルビトールの蓄積によって神経障害などを引き起こす。従ってアルドース還元阻害はグルコース過剰に伴う神経障害を和らげることが期待できる。

上述した通り、メイラード反応は非酸化的反応経路と酸化的反応経路があり、2つの経路で反応が進行する。根抽出物がどちらの反応経路の阻害に関わっているかは不明だが、根抽出液に高い抗酸化効果が認められたことから、O₂⁻の活性阻害が抗糖化効果に関わっていると推測できる。

また、コラーゲンやエラスチンの異常な架橋により、分解酵素の分泌量が増えることも既に述べたが、根抽出物は、メイラード反応架橋形成抑制効果に加え、エラスターゼ活性阻害効果も有していた。肌のハリや弾力性が失われて引き起こされるシワ、たるみ、くすみなどの皮膚老化の抑制に、非常に有用な原料となることが期待される。

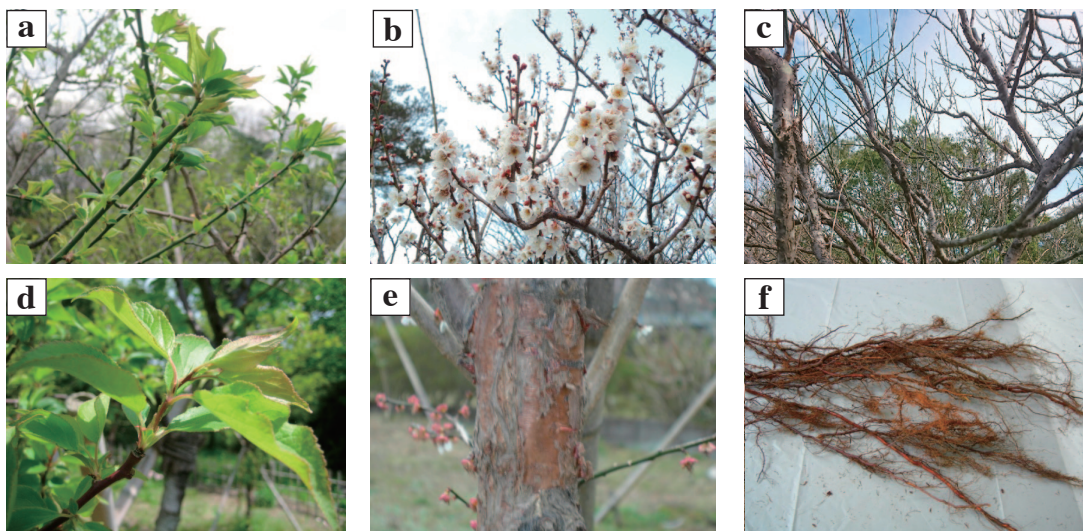


Fig.1. Photographs of each site of ume (*Prunus mume*).

a) Shoots (young branches). b) Flowers. c) Branches. d) Leaves. e) Bark. f) Roots.

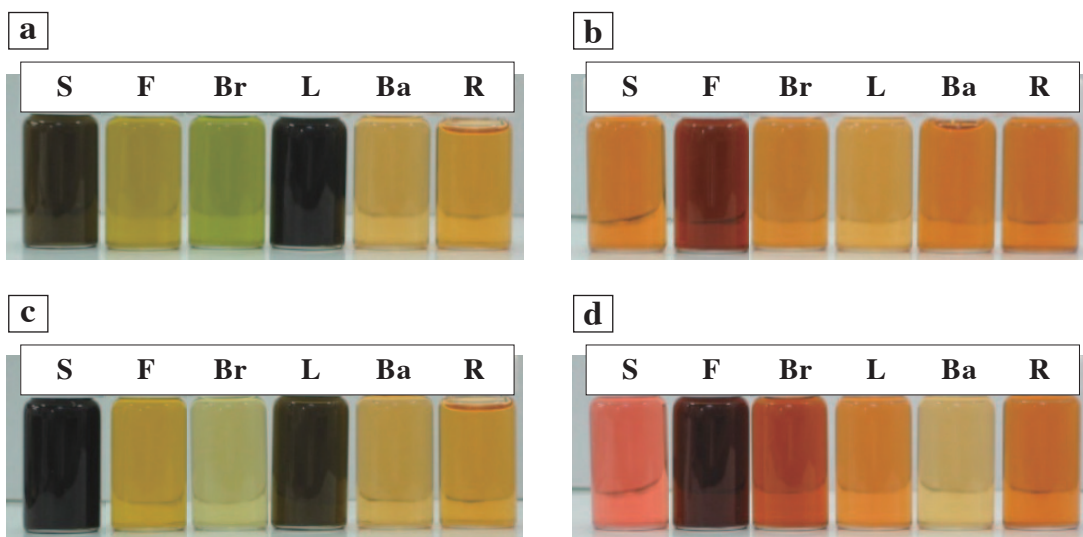


Fig.2. The appearance of 5% (w/w) extracts of each site by ume variety.

a) Extract with ethanol / Shirakaga. b) Extract with water / Shirakaga. c) Extract with ethanol / Bungo. d) Extract with water / Bungo. S, shoots (young branches) ; F, flowers; Br, branches; L, leaves; Ba, bark; R, roots.

Table 1. SOD-like activity and DPPH radical scavenging effect.

Ume varieties	Extractants	Sites	SOD-like activity		DPPH scavenging	
			Effects	IC ₅₀	Effects	IC ₅₀
Bungo	Water	Shoots	84%	0.05% (v/v)	88%	0.04% (v/v)
Bungo	Ethanol	Shoots	62%	0.14% (v/v)	70%	0.08% (v/v)
Shirakaga	Water	Shoots	74%	0.09% (v/v)	63%	0.11% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Shoots	37%	> 0.2% (v/v)	46%	> 0.2% (v/v)
Bungo	Water	Flowers	34%	> 0.2% (v/v)	54%	0.20% (v/v)
Bungo	Ethanol	Flowers	-11%	> 0.2% (v/v)	-13%	> 0.2% (v/v)
Shirakaga	Water	Flowers	41%	> 0.2% (v/v)	53%	0.20% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Flowers	-31%	> 0.2% (v/v)	13%	> 0.2% (v/v)
Bungo	Water	Branches	4%	> 0.2% (v/v)	-42%	> 0.2% (v/v)
Bungo	Ethanol	Branches	14%	> 0.2% (v/v)	-48%	> 0.2% (v/v)
Shirakaga	Water	Branches	11%	> 0.2% (v/v)	-42%	> 0.2% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Branches	11%	> 0.2% (v/v)	-16%	> 0.2% (v/v)
Bungo	Water	Leaves	74%	0.08% (v/v)	83%	0.11% (v/v)
Bungo	Ethanol	Leaves	1%	> 0.2% (v/v)	-17%	> 0.2% (v/v)
Shirakaga	Water	Leaves	38%	> 0.2% (v/v)	-3%	> 0.2% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Leaves	-3%	> 0.2% (v/v)	-27%	> 0.2% (v/v)
Bungo	Water	Bark	-3%	> 0.2% (v/v)	-55%	> 0.2% (v/v)
Bungo	Ethanol	Bark	9%	> 0.2% (v/v)	-54%	> 0.2% (v/v)
Shirakaga	Water	Bark	3%	> 0.2% (v/v)	-23%	> 0.2% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Bark	29%	> 0.2% (v/v)	-10%	> 0.2% (v/v)
Bungo	Water	Roots	49%	0.2% (v/v)	12%	> 0.2% (v/v)
Bungo	Ethanol	Roots	75%	0.06% (v/v)	77%	0.10% (v/v)
Shirakaga	Water	Roots	37%	> 0.2% (v/v)	17%	> 0.2% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Roots	77%	0.07% (v/v)	83%	0.08% (v/v)

All tests were performed at 0.2% (v/v) extract concentration. IC₅₀ value indicates the concentration that inhibits the SOD-like activity or that eliminates the generated active oxygen by 50%. Deionized water was used as water. SOD, superoxide dismutase; DPPH, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; Shoots, young branches.

Table 2. Elastase activity inhibitory effect.

Ume varieties	Extractants	Sites	Elastase inhibition	
			Effects (2.5% (v/v))	IC ₅₀
Bungo	Water	Shoots	-8%	> 2.5% (v/v)
Bungo	Ethanol	Shoots	2%	> 2.5% (v/v)
Shirakaga	Water	Shoots	-24%	> 2.5% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Shoots	9%	> 2.5% (v/v)
Bungo	Water	Flowers	-13%	> 2.5% (v/v)
Bungo	Ethanol	Flowers	-43%	> 2.5% (v/v)
Shirakaga	Water	Flowers	-9%	> 2.5% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Flowers	-18%	> 2.5% (v/v)
Bungo	Water	Branches	69%	1.10% (v/v)
Bungo	Ethanol	Branches	43%	2.53% (v/v)
Shirakaga	Water	Branches	-7%	> 2.5% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Branches	53%	2.21% (v/v)
Bungo	Water	Leaves	-35%	> 2.5% (v/v)
Bungo	Ethanol	Leaves	34%	4.47% (v/v)
Shirakaga	Water	Leaves	-22%	> 2.5% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Leaves	-2%	> 2.5% (v/v)
Bungo	Water	Bark	11%	> 2.5% (v/v)
Bungo	Ethanol	Bark	43%	3.74% (v/v)
Shirakaga	Water	Bark	77%	0.49% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Bark	51%	2.13% (v/v)
Bungo	Water	Roots	53%	2.35% (v/v)
Bungo	Ethanol	Roots	84%	0.45% (v/v)
Shirakaga	Water	Roots	66%	1.32% (v/v)
Shirakaga	Ethanol	Roots	83%	0.24% (v/v)

All tests were performed at 2.5% (v/v) extract concentration. IC₅₀ value indicates the concentration that inhibits the elastase activity by 50%. Deionized water was used as water. Shoots, young branches.

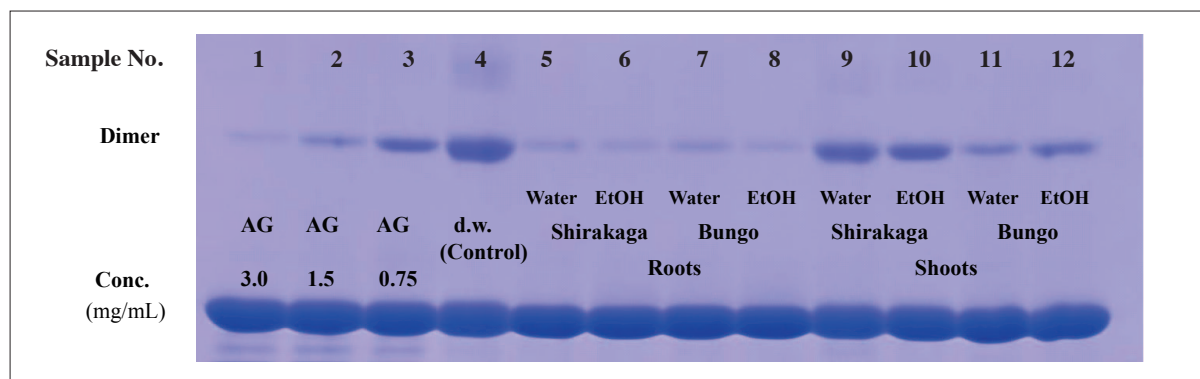


Fig.3. The electrophoresis gel image in the inhibition test of a Maillard reaction crosslinking by ume extract.

Lysozyme dimers are formed by the Maillard reaction-induced crosslinking. Sample No.1-3, aminoguanidine sulfate (AG) as positive control, concentrations (Conc.) at 3.0, 1.5, 0.75 mg/mL, respectively; No.4, deionized water (d.w.) as control; No.5-8, root extracts; No.9-12, shoot (young branches) extracts. Two varieties, Shirakaga (No.5, 6, 9, 10) and Bungo (No.7, 8, 11, 12), were tested. Extractants were water in No. 5, 7, 9, 11 or 95% ethanol (EtOH) in No.6, 8, 10, 12.

Table 3. The band intensity of electrophoresis gel images in the inhibition test of a Maillard reaction crosslinking by ume extract.

The sample number in Fig. 3	Samples	Sites	Concentration (mg/mL)	Integrated values of the optical density
1	Aminoguanidine sulfate	Water	3.0	542.2 ± 7.5
2			1.5	604.2 ± 6.4
3			0.75	681.8 ± 6.4
4	Water	—	—	881.3 ± 7.3
5	Roots (Shirakaga)	Water	0.15	583.0 ± 3.4
6		Ethanol	0.15	567.3 ± 6.6
7	Roots (Bungo)	Water	0.15	587.4 ± 6.5
8		Ethanol	0.15	555.6 ± 6.8
9	Shoots (Shirakaga)	Water	0.15	768.6 ± 0.3
10		Ethanol	0.15	733.1 ± 6.5
11	Shoots (Bungo)	Water	0.15	630.1 ± 0.3
12		Ethanol	0.15	659.0 ± 5.4

Results are expressed as mean ± standard deviation by repeated measurement (n = 3). Deionized water was used as water. Shoots, young branches.

結語

ウメの豊後、白加賀の2品種に関して、若枝、花、枝、葉、樹皮、根の各部位の有効性を評価した。中でもウメの根抽出液には、抗酸化効果（SOD 様活性作用効果、DPPH ラジカル消去効果）、エラスターゼ活性阻害効果が確認された。また、根抽出物では、メイラード反応架橋形成抑制効果が確認された。従って、ウメ根には、糖化などによる老徴の顕在化に対する抑制効果が期待される。

本研究から、ウメ根は、多様な効果を持つ有用な化粧品原料となり得ることが示唆された。確認された効果がウ

メ根に含まれる様々な成分のうち、どのような成分に由来するのか更に検討していきたい。

利益相反申告

本研究の遂行にあたり、ワミレスコスメティックス株式会社（横浜）より研究支援を受けた。

参考文献

- 1) 堀井和泉. 皮膚の老化: 特にシワを中心に. *マテリアルライフ*. 1995; 7: 66-71.
- 2) Hara M, Kikuchi K, Watanabe M, et al. Senile xerosis: Functional, morphological, and biochemical studies. *J Geriatr Dermatol*. 1993; 1: 111-120.
- 3) 繁田幸男, 谷口直之(編). 蛋白の糖化: AGEの基礎と臨床. 医学書院, 東京, 1997.
- 4) Nkengne A, Bertin C, Stamatias GN, et al. Influence of facial skin attributes on the perceived age of Caucasian women. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008; 22: 982-291.
- 5) Krutmann J, Bouloc A, Sore G, et al. The skin aging exposome. *J Dermatol Sci*. 2017; 85: 152-161.
- 6) Cerami A, Vlassara H, Brownlee M. Glucose and aging. *Sci Am*. 1987; 256: 90-96.
- 7) 渡辺寛人. メイラード反応を阻害する成分の探索. *浦上財団研究報告書*. 2014; 21: 71-76.
- 8) Zyzak DV, Wells-Knecht KJ, Blackledge JA, et al. Pathways of the Maillard reaction *in vitro* and *in vivo*, in Maillard Reactions. In: "Maillard Reactions in Chemistry, Food, and Health", (ed) Labuza TP, Reineccius GA, Monnier VM, et al., pp. 274-280, The Royal Society of Chemistry, England, 1994.
- 9) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 14. Regulation of Glycative stress. 2. Inhibition of the AGE production and accumulation. *Glycative Stress Res*. 2019; 6: 212-218.
- 10) Azevedo M, Falcão J, Raposo J, et al. Superoxide radical generation by Amadori compounds. *Free Radic Res Commun*. 1988; 4: 331-335.
- 11) Kawakishi S, Okawa Y, Uchida K. Oxidative damage of protein induced by the Amadori compound-copper ion system. *J Agric Food Chem*. 1990; 38: 13-17.
- 12) Trouba KJ, Hamadeh HK, Amin RP, et al. Oxidative stress and its role in skin disease. *Antioxid Redox Signal*. 2002; 4: 665-673.
- 13) Kamata H, Hirata H. Redox regulation of cellular signalling. *Cell Signal*. 1999; 11: 1-14.
- 14) Dyer DG, Dunn JA, Thorpe SR, et al. Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging. *J Clin Invest*. 1993; 91: 2463-2469.
- 15) Mizutani K, Ono T, Ikeda K, et al. Photo-enhanced modification of human skin elastin in actinic elastosis by N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine, one of the glycoxidation products of the Maillard reaction. *J Clin Invest*. 1997; 108: 797-802.
- 16) 片山直美, 蜂谷奈都美. 梅に関する研究. *美味技術研究会誌*. 2008; 11: 7-13.
- 17) 笠 明美. スーパーオキシド消去剤評価法2 (NBT法). 「機能性化粧品素材開発のための実験プロトコル集」正木 仁 (監修), pp140-141, CMC出版, 東京, 2010.
- 18) 受田浩之, 酸素スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の活性測定法. *DOJIN News*. 2000; 96: 1-6.
- 19) 笠 明美. DPPH ラジカルを用いたラジカル除去能測定法. 「機能性化粧品素材開発のための実験プロトコル集」正木 仁 (監修), pp157-158, CMC出版, 東京, 2010.
- 20) 沖 智之, 増田真美, 古田 収. 紫サツマイモを原材料としたチップスのラジカル消去活性. *日本食品科学工学会誌*. 2001; 48: 926-932.
- 21) 京谷大毅. 好中球エラスターゼ活性抑制作用の測定方法. 「機能性化粧品素材開発のための実験プロトコル集」正木 仁 (監修), pp124-125, CMC出版, 東京, 2010.
- 22) Perera HK, Ranasinghe H. A simple method to detect plant based inhibitors of glycation induced protein cross-linking. *Asian Journal of Medical Science*. 2015; 6: 28-33.
- 23) Muthenna P, Akilleshwari C, Reddy GB. Ellagic acid, a new antiglycating agent: Its inhibition of N^ε-(carboxymethyl) lysine. *Biochem J*. 2012; 442: 221-230.
- 24) Mitani T, Ota K, Inaba N, et al. Antimicrobial Activity of the Phenolic Compounds of *Prunus mume* against Enterobacteria. *Biol Pharm Bull*. 2018; 41: 208-212.
- 25) Nishide M, Ikeda K, Mimura H, et al. Antiviral and virucidal activities against herpes simplex viruses of umesu phenolics extracted from Japanese apricot. *Microbiol Immunol*. 2019; 63: 359-366.
- 26) 猿谷倫史, 高橋誠一, 山崎貴子, 他. 梅肉エキスをを用いた口腔衛生の環境維持の効果とその検証. *日本救急看護学会雑誌*. 2008; 9: 47-53.
- 27) Fujimoto K, Nakamura S, Matsumoto T, et al. Structures of acylated sucroses from the flower buds of *Prunus mume*. *J Nat Med*. 2014; 68: 481-487.