

Original article

Antiglycative effect of genipin and crocetin

Masayuki Yagi¹⁾, Chieko Sakiyama¹⁾, Yuusuke Miyata²⁾, Soichiro Kamiya²⁾,
Yoshikazu Yonei¹⁾

1) Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center,
Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan

2) Riken vitamin Co., Ltd., Osaka, Japan

Glycative Stress Research 2021; 8 (3): 156-161

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

ゲニピンとクロセチンの抗糖化作用

八木雅之¹⁾、崎山智恵子¹⁾、宮田侑典²⁾、神谷宗一郎²⁾、米井嘉一¹⁾

1) 同志社大学生命医科学部アンチエイジングリサーチセンター／糖化ストレス研究センター

2) 理研ビタミン株式会社

抄録

糖化ストレスによる体内での糖化最終生成物 (advanced glycation endproducts; AGEs) の蓄積は、老化や生活習慣病の発症要因となる。生体内の糖化ストレスの抑制は抗糖化と呼ばれる。抗糖化には食後高血糖の抑制、糖化反応の抑制、AGEsの分解排泄などがある。AGEs生成抑制作用を有する物質アミノグアニジン (aminoguanidine; AG) には副作用があるため、糖化反応抑制作用を有する機能性食品に期待がかかっている。本研究ではアカネ科 (Rubiaceae) の木本植物であるクチナシ (*Gardenia jasminoides* Ellis) に含まれる成分の皮膚蛋白に対する抗糖作用の評価を目的に、クチナシから精製されたゲニピンとクロセチンの糖化反応抑制作用と AGEs 架橋分解作用を検証した。糖化反応抑制作用のモデル蛋白にはケラチン、コラーゲン、エラスチンを使用した。ゲニピン、クロセチンには蛍光性 AGEs (F-AGEs)、ペントシジン、*N*^ε-carboxymethyllysine (CML) および 3-deoxyglucosone (3DG) 生成抑制作用が認められた。F-AGEs 生成抑制作用の 50% 生成阻害濃度 (IC₅₀) はゲニピンがクロセチンよりも低値で、強い作用が認められた。また F-AGEs に対するゲニピンの IC₅₀ は陽性対照として比較した AG よりも 2.4 ~ 31.6 倍低値であった。AGEs 架橋切断作用はゲニピンがクロセチンよりも 2.8 倍強かった。ゲニピン、クロセチンを含む製剤の皮膚への塗布は、皮膚蛋白の AGEs 生成を抑制し、AGEs による蛋白架橋を切断することで皮膚状態の改善する可能性がある。

連絡先：教授 八木雅之
同志社大学生命医科学部アンチエイジングリサーチセンター／
糖化ストレス研究センター
〒610-0394 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
TEL & FAX: 0774-65-6394 e-mail: myagi@mail.doshisha.ac.jp
共著者：崎山智恵子 csakiyam@mail.doshisha.ac.jp;
宮田侑典 yuu_miyata@rike-vita.co.jp; 神谷宗一郎 sou_kamiya@rike-vita.co.jp;
米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2021; 8 (3): 156-161
本論文を引用する際はこちらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

KEY WORDS: 糖化最終生成物 (AGEs)、糖化反応抑制、AGEs 架橋分解、クチナシ (*Gardenia jasminoides* Ellis)

はじめに

糖化ストレスによる体内での糖化最終生成物 (advanced glycation end products; AGEs) の蓄積は老化や生活習慣病の発症要因になる。生体内の糖化ストレスの抑制は抗糖化と呼ばれる。抗糖化には食後高血糖の抑制、糖化反応の抑制、AGEs の分解排泄などがある^{1,2)}。AGEs 生成抑制作用を有する物質にはアミノグアニジン (aminoguanidine; AG) が知られている^{3,4)}。しかし AG の摂取は貧血、肝障害、ビタミン B6 欠乏症などの副作用があり、実用化されていない。一方、茶・ハーブティー⁵⁾、野菜・ハーブ⁶⁾、フルーツ⁷⁾ などには糖化反応抑制作用が報告されている。天然物に含まれる AGEs 生成抑制作用成分には chamaemeloside (ローマンカモミール)⁸⁾、luteolin (食用紫菊花)⁹⁾、polymethoxy flavonoid (黒ガリンガル、黒ショウガ)^{10,11)}、cyanidin 3-O-galactoside (紅タデ)¹²⁾、caffeoyl glucose (桜の花)¹³⁾、rhodanthone B (マンゴスチン果皮)¹⁴⁾ などがある。さらに AGEs の分解作用を有する可能性がある物質には *N*-フェナシルチアゾリウムブロミド (*N*-phenacylthiazolium bromide; PTB) が報告されている¹⁵⁾。PTB は AGEs 化蛋白の架橋構造の一種である α ジケトン構造を切断する¹⁶⁾。同様の作用はロスマリン酸 (rosmarinic acid)¹⁷⁾、エラジタンニン類 (ellagitannin)¹⁸⁾、フラボノイド (flavonoid)¹⁹⁾ などに認められている。

クチナシ (*Gardenia jasminoides* Ellis) はアカネ科 (Rubiaceae) の木本植物である。クチナシ果実にはイリド配糖体の一種であるゲニポシド (geniposide)、カロテノイドの一種であるクロセチン (crocetin) などが含まれ、黄色の着色料や鎮静、消炎、止血、解熱作用などの生薬として利用されている²⁰⁾。ゲニポシドは β -グルコシダーゼによりアグリコンになると青色色素のゲニピン (genipin) となる。ゲニピンは蛋白、コラーゲンなどの架橋や uncoupling protein 2 (UCP2) の活性抑制作用などが報告されている²¹⁾。クロセチンは抗がん作用²²⁾、疲労回復作用²³⁾、睡眠改善作用²⁴⁾、網膜の虚血性障害抑制作用²⁵⁾ など、生体への様々な機能が報告されている。本研究ではクチナシに含まれる成分の皮膚蛋白に対する抗糖作用の評価を目的に、クチナシから精製されたゲニピンとクロセチンの糖化反応抑制作用と AGEs 架橋分解作用を検証した。

材料と方法

1) 試薬

使用した試薬は以下のメーカーから購入して使用した。ヒト血清アルブミン (human serum albumins; HSA, lyophilized powder, $\geq 96\%$, agarose gel electrophoresis)、*N*-フェナシルチアゾリウムブロミド (*N*-phenacylthiazolium bromide; PTB) は Sigma-Aldrich Japan (東京都目黒区)。牛皮由来コラーゲン Type I (Collagen Type I, 牛皮, Pepsin 分解) はニッピ (東京都足立区)。豚血管由来 P-エラスチン (Elastin peptide: P-Elastin) は日本ハム (大阪府大阪市)。アミノグアニジン (aminoguanidine hydrochloride; AG)、エピガロカテキンガレート (epigallocatechin gallate; EGCG)、2,3-ジアミノナフタレン (2,3-diaminonaphthalene; DAN)、1-フェニル-1,2-プロパンジオン (1-phenyl-1,2-propanedione; PPD)、安息香酸 (benzoic acid) は富士フィルム和光純薬工業 (大阪府大阪市)。3-デオキシグルコソン (3-deoxyglucosone; 3DG) は同仁化学研究所 (熊本県上益城郡)。CircuLex CML/*N*^e-(Carboxymethyl) Lysine) ELISA Kit は MBL (愛知県名古屋市)。その他の試薬は特級または HPLC グレードのものを富士フィルム和光純薬工業またはナカライテスク (京都府京都市) から購入して使用した。

2) 試料

試料はクチナシから精製されたゲニピン製剤とクロセチン製剤を使用した (Fig. 1)。ゲニピンは 1,3-ブタンジオールによって製剤化されている。クロセチンはアミン

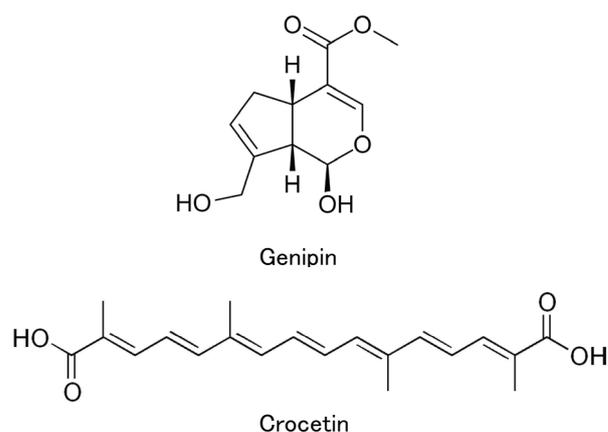


Fig. 1. Structure of genipin and crocetin.

化合物およびグリセリンによって水溶化されている。これらの試料は理研ビタミン（東京都新宿区）から提供を受けた。

3) 蛋白-グルコース糖化反応モデル

糖化反応抑制作用の検証は既報²⁶⁾を参考に蛋白-グルコース糖化反応モデルを使用した。反応液の組成は蛋白とグルコースを含む0.1 molリン酸緩衝液 (pH 7.4) 中に試料溶液を1/10量添加して作成した。蛋白とグルコース濃度はケラチン2.5 mg/mLとグルコース0.6 mol/L、コラーゲン1.2 mg/mLとグルコース0.4 mol/L、エラスチン6 mg/mLとグルコース0.2 mol/Lの組成とした。

糖化反応はリン酸緩衝液、蛋白溶液、グルコース溶液、試料溶液の全てを添加した溶液；(A)、Aのグルコース溶液の代わりに精製水を添加した溶液；(B)、Aの試料溶液の代わりに精製水を添加した溶液；(C)、Cのグルコース溶液の代わりに精製水を添加した溶液；(D)を作成し、60°Cで10日間インキュベートした。AGEsおよび糖化反応中間体量はインキュベート後の反応液中の濃度を測定した。糖化反応抑制作用の陽性対照はAGとEGCgを使用した。

4) AGEsの測定

蛍光性AGEs (F-AGEs) は既報²⁶⁾に従い、糖化反応液200 µLを黒色のマイクロプレートに入れ、AGEs由来蛍光 (励起波長370 nm / 蛍光波長440 nm) を測定した。ペントシジンは既報²⁷⁾に従い、糖化反応液50 µLと6 N塩酸を混合して110°Cで18時間加水分解後、HPLCにより測定した。CMLは糖化反応液30 µLをCircuLex CML / N^ε-(Carboxymethyl)lysine ELISA Kitを使用して測定した。

5) 糖化反応中間体の測定

糖化反応中間体は3DGを既報^{28,29)}に従い、糖化反応液200 µLを過塩素酸で除蛋白後、アルカリ条件下でDANを添加してラベル化後、HPLCで測定した。

6) 糖化反応抑制作用の算出

糖化反応抑制作用は既報²⁶⁾に従い、AGEsおよび糖化反応中間体の生成阻害率 (%) を次式によって算出した。

$$\text{生成阻害率 (\%)} = \{1 - (A - B) / (C - D)\} \times 100$$

さらに試料3濃度の生成阻害率から50%生成阻害濃度 (half maximal inhibitory concentration; IC₅₀; mg/mL) を算出した^{26,30)}。IC₅₀は値が小さいほど糖化反応抑制作用が強いことを示している。

7) AGEs架橋切断作用の測定

AGEs架橋切断作用は既報^{15,18,19)}に従い、試料溶液、

10 mmol/L PPD、0.2 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 7.4) を5:1:4の割合で混合し、37°Cで8時間反応させた後、さらに0.7 N塩酸を添加して反応停止後、PPDから切断された安息香酸量をHPLCで測定した。AGEs架橋切断作用の陽性対照にはPTBを使用した。AGEs架橋切断作用はAGEs架橋モデル物質であるPPDのαジケトン構造が切断されると、1 molのPPDから1 molの安息香酸が生成することから、以下に示した式で架橋切断率を算出した。

$$\text{架橋切断率 (\%)} = \{(A - B) / C\} \times 100$$

A; 反応液中の安息香酸量, B; サンプル中の安息香酸量, C; 反応に供したPPD量

統計解析

測定値は平均値±標準偏差で示した。測定値の比較にはテューキーの多重比較検定 (Tukey's test) またはt検定を用いた。統計解析結果は危険率5%未満を有意とした。

結果

3種類の蛋白-グルコース糖化反応モデルにおける蛍光性AGEs生成抑制作用

ゲニピンとクロセチンのF-AGEs生成抑制作用はケラチン、コラーゲン、エラスチンをモデル蛋白とした3種類全ての反応モデルにおいて濃度依存性が認められた (Fig. 2)。ゲニピン濃度0.4 mg/mLにおけるF-AGEs生成抑制作用はエラスチン (阻害率: 96.9%)、ケラチン (83.6%)、コラーゲン (71.1%) の順に強かった。同様にクロセチンの作用はケラチン (80.1%)、コラーゲン (61.5%)、エラスチン (12.2%) の順に強かった。ゲニピンとクロセチンのF-AGEs生成阻害率はケラチンで1.0倍、コラーゲンで1.2倍、エラスチンで7.9倍の差異が認められた。IC₅₀値はケラチン、コラーゲン、エラスチンともにクロセチンよりもゲニピンが低値であった (Table 1)。ゲニピンとクロセチンのIC₅₀値はAGと比べて、エラスチンに対するクロセチンのIC₅₀値を除く全ての組み合わせにおいて低値であった。

ケラチン-グルコース糖化反応モデルにおける対するAGEsおよび糖化反応中間体生成抑制作用

ケラチン-グルコース糖化反応モデルに対する0.4 mg/mLゲニピン、0.4mg/mLクロセチンのF-AGEs生成阻害作用、ペントシジン生成阻害作用、CML生成阻害作用および3DG生成阻害作用を検証した (Table 2)。ゲニピンの生成抑制作用は検証した全ての項目においてクロセチンよりも作用が強かった。特にゲニピンのペントシジン生成抑制率 (97.1%) はクロセチンの2.1倍であった。

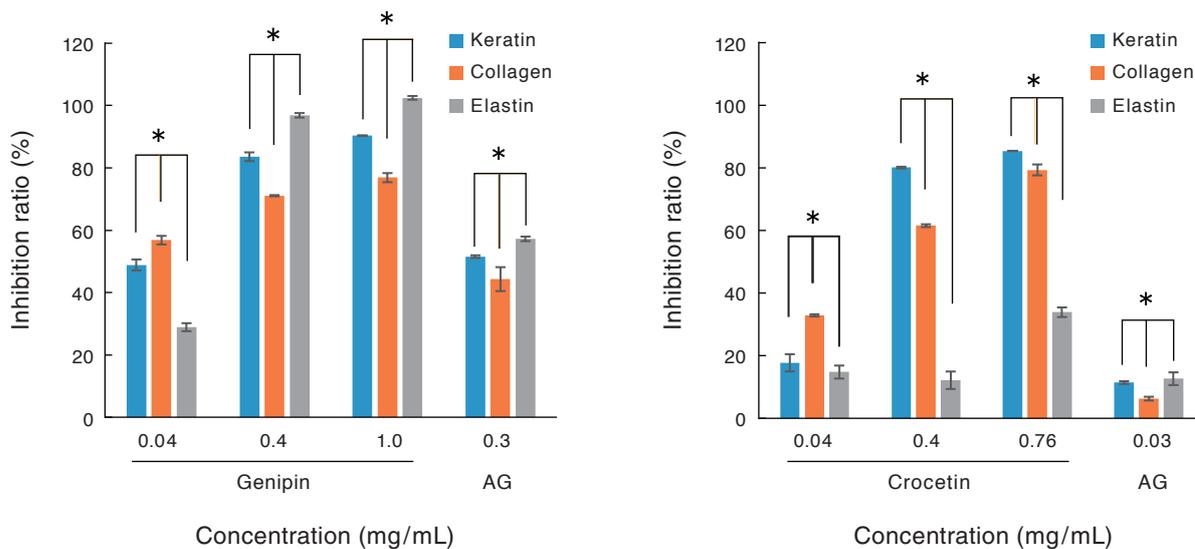


Fig. 2. Inhibitory activity of genipin and crocetin on F-AGEs formation.

Results are expressed as mean \pm SD, n = 3; * p < 0.05 by Tukey's test. AG, aminoguanidine; F-AGEs, fluorescent advanced glycation end products; SD, standard deviation.

Table 1. IC₅₀ on the protein-glucose glycation model.

Model protein	Genipin (mg/mL)	Crocetin (mg/mL)	Aminoguanidine ¹⁾ (mg/mL)
Keratin	0.041	0.145	0.275
Collagen	0.013	0.135	0.423
Elastin	0.086	1.0 >	0.207

1) Positive control of glycation inhibitor. IC₅₀, Half maximal inhibitory concentration.

Table 2. AGE inhibition ratio on the keratin-glucose glycation model.

AGE compound	Genipin ¹⁾ (%)	Crocetin ¹⁾ (%)
Fluorescent AGEs ²⁾	83.6 \pm 0.1	80.1 \pm 0.05
Pentosidine	97.1 \pm 0.5	45.4 \pm 5.5
CML ³⁾	71.0 \pm 1.8	50.5 \pm 0.3
3DG ⁴⁾	46.9 \pm 0.2	27.9 \pm 0.1

1) Sample concentration: 0.4 mg/mL, mean \pm SD (n = 3). 2) Characteristic fluorescence (excitation/emission = 370/440 nm). 3) N^ε-carboxymethyl lysine. 4) 3-deoxyglucosone. AGEs, advanced glycation end products; SD, standard deviation.

AGEs架橋切断作用

AGEs架橋切断作用はゲニピン (18.6%) がクロセチン (6.7%) よりも2.8倍強かった (Fig. 3)。2 mg/mL ゲニピンのAGEs架橋切断率は陽性対照として使用した5 mmol/mL PTB (切断率25.5%) の0.7倍であった。

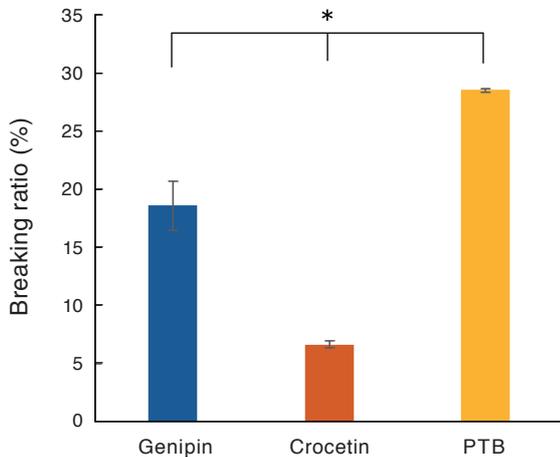


Fig. 3. AGE cross-link breaking activity.

Results are expressed as mean \pm SD, n = 3; * p < 0.05 by Tukey's test. PTB, 5 mmol/L N-phenacylthiazolium bromide; AGE, advanced glycation end product; SD, standard deviation.

考察

ゲニピン、クロセチンの糖化反応抑制作用

ゲニピンなどのイリドイド配糖体はクチナシ以外に多くの薬用植物に含まれている³¹⁾。ノニ (*Morinda citrifolia* L.) 果実には deacetylasperulosidic acid、loganic acid などのイリドイドが含まれ、AGEs生成抑制作用が報告されている³²⁾。ノニ果実ジュースを日常的に摂取している人は皮膚中 AGEs 蓄積量が少ない³³⁾。またクロセチンなどのカロテノイドは抗酸化作用、抗炎症作用、眼性疾患などに対する有用性が報告されている³⁴⁾。カロテノイドの抗糖化作用は β カロテン³⁵⁾、アスタキサンチン³⁶⁾ で報告されている。クロセチンが2分子結合したクロシン (crocin) には眼のレンズ中クリスタリンに対する AGEs 生成抑制作用がラットへの摂取試験で検証されている³⁷⁾。また、フラボノリグナン (flavonolignan) である silibinin の AGEs 生成抑制作用の IC₅₀ 値は、0.0702 mg/mL で陽性対照として比較された AG よりも 4.8 倍低値であった³⁸⁾。silibinin を 0.24% 含むマリアアザミ (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) 花抽出物を 1% 含むゲル製剤は、メチルグリオキサールで AGEs 化させたヒト皮膚組織モデルにおいて、fibulin-1 のネットワーク形成低下を防ぎ、CML の蓄積も抑制した。silibinin の抗糖化作用は蛋白のカルボニル化抑制が関与していると考えられている。同様の作用は AG と同レベルの蛍光性 AGEs 生成抑制作用

を有するアケビ (*Akebia quinata* Decaisne) 果実抽出物 (AQFE) にも認められている³⁹⁾。

本研究ではクチナシに含まれるゲニピンとクロセチンの皮膚蛋白に対する抗糖化作用の検証を目的に、セラチン、コラーゲン、エラスチンをモデル蛋白として AGEs 生成抑制作用を検証した。その結果、ゲニピンとクロセチンは3種類の糖化反応モデル全てにおいて、F-AGEs、ペントシジン、CML、3DG 生成抑制作用が認められた。これらの作用はゲニピンがクロセチンよりも強かった。3種類の糖化反応モデル系におけるゲニピンの F-AGEs の IC₅₀ 値は 0.013 ~ 0.086 mg/mL で、AG と比べて 2.4 ~ 31.6 倍低値であり、強い AGEs 生成抑制作用が認められた。AG は糖化反応中間体などのカルボニル基をブロックすることで AGEs の生成を抑制する³⁾。これらのことからゲニピン、クロセチンを含む製剤の皮膚への塗布は、silibinin、AQFE と同様に糖化反応中間体のカルボニル基のブロックおよび抗酸化作用により皮膚中 AGEs の生成を抑制する可能性がある。

ゲニピン、クロセチンの AGEs 架橋切断作用

ゲニピン、クロセチンには AGEs 架橋切断作用が認められた。本研究で陽性対照として使用した PTB は PPD 分子内のジカルボニル結合を切断して安息香酸を生成することから、蛋白の糖化架橋によって形成したジカルボニル構造を切断する可能性が示されている¹⁵⁾。また PTB はラット動脈壁の AGEs を減少させるとの報告がある⁴⁰⁾。しかし PTB はラットへの投与試験において尾コラーゲンの AGEs 架橋の低下が認められなかったとの報告もある⁴¹⁾。このため AGEs 架橋切断作用物質の摂取によるヒト組織中での AGEs 分解の可能性は、更なる検証が必要である。一方、AGEs 架橋切断作用成分の皮膚塗布による AGEs 分解作用はヨモギ、レンゲソウ抽出液で報告されている^{42, 43)}。AGEs 化コラーゲン平板ゲルにヨモギのエタノール抽出物 (YAC extract) を 1% 含有する溶液を滴下してインキュベートした試験では、コラーゲンゲル表面の AGEs が消滅した。また YAC extract を 1% 配合したスキンケア製剤を健康な中高年女性 38 名が 6 か月間使用した試験では、左頬中央部の弾力性低下指標 (RRT values)、たるみ指標 (Sagging index) が改善した。ゲニピン、クロセチンは YAC extract 同様に AGEs 架橋切断作用を有するため、これらの成分を含む製剤の皮膚塗布は、皮膚 AGEs の減少および皮膚状態の改善に繋がる可能性がある。

結語

クチナシに含まれるゲニピンとクロセチンの皮膚蛋白に対する抗糖化作用の検証を目的に、セラチン、コラーゲン、エラスチンをモデル蛋白とした AGEs 生成抑制作

用とAGEs架橋切断作用を検証した。ゲニピン、クロセチンにはF-AGEs、ペントシジン、CMLおよび3DG生成抑制作用が認められた。ゲニピン、クロセチンを含む製剤の皮膚への塗布は、皮膚蛋白のAGEs生成を抑制し、AGEsによる蛋白架橋を切断することで皮膚状態の改善する可能性がある。

利益相反申告

本研究の実施にあたり理研ビタミン株式会社より研究費の支援を受けた。

謝辞

本研究の発表にあたり一般財団法人 医食同源生薬研究推進財団 (IDF#21008) より支援を受けた。

参考文献

- 1) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Med.* 2011; 8: 23-29.
- 2) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 1. What is glycative stress? *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 152-155.
- 3) Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, et al. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science.* 1986; 232: 1629-1632.
- 4) Bolton WK, Catran DC, Williams ME, et al. Randomized trial of an inhibitor of formation of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol.* 2004; 24: 32-40.
- 5) Hori M, Yagi Y, Nomoto K, et al. Inhibition of advanced glycation end product formation by herbal teas and its relation to anti-skin aging. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 135-148.
- 6) Ishioka Y, Yagi M, Ogura M, et al. Antiglycation effect of various vegetables: Inhibition of advanced glycation end product formation in glucose and human serum albumin reaction system. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 22-34.
- 7) Parengkuan L, Yagi M, Matsushima M, et al. Antiglycation activity of various fruits. *Anti-Aging Med.* 2013; 10: 70-76.
- 8) 八木雅之、松浦信康、米井嘉一. ローマカミツレに含まれる「カマメロサイド」のアンチエイジング医療における有用性. *Aromatopia.* 2007; 16: 26-29.
- 9) Yagi M, Nomoto K, Hori M, et al. The effect of edible purple Chrysanthemum extract on advanced glycation end products generation in skin: A randomized controlled clinical trial and *in vitro* study. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 61-74.
- 10) Yagi M, Tateiwa Y, Inoue K, et al. Antiglycative effect of *Kaempferia parviflora* Wall. Ex. Baker (Zingiberaceae): Prevention of advanced glycation end product formation. *Glycative Stress Res.* 2018; 5: 163-170.
- 11) Nakata A, Koike Y, Matsui H, et al. Potent SIRT1 enzyme-stimulating and anti-glycation activity of polymethoxyflavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Nat Prod Commun.* 2014; 9: 1291-1294.
- 12) Takabe W, Yamaguchi T, Hayashi H, et al. Identification of antiglycative compounds in Japanese red water pepper (red leaf variant of the *Persicaria hydropiper* sprout). *Molecules.* 2018; 23: 2319.
- 13) Shimoda H, Nakamura S, Morioka M, et al. Effect of cinnamoyl and flavonol glucosides derived from cherry blossom flowers on the production of advanced glycation end products (AGEs) and AGE-induced fibroblast apoptosis. *Phytother Res.* 2011; 25: 1328-1335.
- 14) Ohno R, Moroishi N, Sugawa H, et al. Mangosteen pericarp extract inhibits the formation of pentosidine and ameliorates skin elasticity. *J Clin Biochem Nutr.* 2015; 57: 27-32.
- 15) Vasan S, Zhang X, Zhang X, et al. An agent cleaving glucose-derived protein crosslinks *in vitro* and *in vivo*. *Nature.* 1996; 382: 275-278.
- 16) Furber JD. Extracellular glycation crosslinks: prospects for removal. *Rejuvenation Res.* 2006; 9: 274-278.
- 17) Jean D, Pouligon M, Dalle C. Evaluation *in vitro* of AGE-crosslinks breaking ability of rosmarinic acid. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 204-207.
- 18) Yagi M, Mitsuhashi R, Watanabe A, et al. Cleaving effect of pomegranate (*Punica granatum*) extract on crosslink derived from advanced glycation endproducts. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 58-66.

- 19) Takabe W, Mitsuhashi R, Parengkuan L, et al. Cleaving effect of melatonin on crosslinks in advanced glycation end products. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 38-43.
- 20) Xiao W, Shiming Li, Wang S, et al. Chemistry and bioactivity of *Gardenia jasminoides*. *J Food Drug Anal.* 2017; 25: 43-61.
- 21) Zhang CY, Parton LE, Ye CP, et al. Genipin inhibits UCP2-mediated proton leak and acutely reverses obesity- and high glucose-induced β cell dysfunction in isolated pancreatic islets. *Cell Metab.* 2006; 3: 417-427.
- 22) Gutheil WG, Reed G, Ray A, et al. Crocetin: An agent derived from saffron for prevention and therapy for cancer. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13: 173-179.
- 23) Mizuma H, Tanaka M, Nozaki S, et al. Daily oral administration of crocetin attenuates physical fatigue in human subjects. *Nutr Res.* 2009; 29: 145-150.
- 24) Umigai N, Takeda R, Mori A. Effect of crocetin on quality of sleep: A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Complement Ther Med.* 2018; 41: 47-51.
- 25) Ishizuka F, Shimazawa M, Umigai N, et al. Crocetin, a carotenoid derivative, inhibits retinal ischemic damage in mice. *Eur J Pharmacol.* 2013; 703: 1-10.
- 26) Hori M, Yagi M, Nomoto K, et al. Experimental models for advanced glycation end product formation using albumin, collagen, elastin, keratin and proteoglycan. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 125-134.
- 27) Yagi M, Isshiki K, Takabe W, et al. Measurement of pentosidine in human plasma by the high performance liquid chromatography. *Glycative Stress Res.* 2018; 5: 119-128.
- 28) Kusunoki H, Miyata S, Ohara T, et al. Relation between serum 3-deoxyglucosone and development of diabetic microangiopathy. *Diabetes Care.* 2003; 26: 1889-1894.
- 29) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 2. The Evaluation of glycative stress: Measurement of blood glucose, glycated proteins and intermediates. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 205-209.
- 30) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging. 4: The evaluation of glycative Stress: Evaluation for anti-glycative effect. *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 87-92.
- 31) Dinda B, Debnath S, Harigaya Y. Naturally occurring iridoids. A review, part 1. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2007; 55: 159-222.
- 32) Abe Y, Yagi M, Uwaya A, et al. Effect of iridoid (containing plants) on AGE formation and degradation. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 56-64.
- 33) West BJ, Uwaya A, Isami F, et al. Antiglycation activity of iridoids and their food sources. *Int J Food Sci.* 2014; 2014: 276950.
- 34) Milani A, Basirnejad M, Shahbazi S, et al. Carotenoids: Biochemistry, pharmacology and treatment. *Br J Pharmacol.* 2017; 174: 1290-1324.
- 35) Bodiga VL, Eda SR, Veduruvalasa VD, et al. Attenuation of non-enzymatic thermal glycation of bovine serum albumin (BSA) using β -carotene. *Int J Biol Macromol.* 2013; 56: 41-48.
- 36) Sun Z, Liu J, Zeng X, et al. Astaxanthin is responsible for antiglycoxidative properties of microalga *Chlorella zofingiensis*. *Food Chem.* 2011; 126: 1629-1635.
- 37) Bahmani F, Bathaie SZ, Aldavood SJ, et al. Inhibitory effect of crocin(s) on lens α -crystallin glycation and aggregation: Results in the decrease of the risk of diabetic cataract. *Molecules.* 2016; 21: 143.
- 38) Shin S, Lee JA, Kim M, et al. Anti-glycation activities of phenolic constituents from *Silybum marianum* (milk thistle) flower *in vitro* and on human explants. *Molecules.* 2015; 20: 3549-3564.
- 39) Shin S, Son D, Kim M, et al. Ameliorating effect of *Akebia quinata* fruit extracts on skin aging induced by advanced glycation end products. *Nutrients.* 2015; 7: 9337-9352.
- 40) Cooper ME, Thallas V, Forbes J, et al. The cross-link breaker, N-phenacylthiazolium bromide prevents vascular advanced glycation end-product accumulation. *Diabetologia.* 2000; 43: 660-664.
- 41) Yang S, Litchfield JE, Baynes JW. AGE-breakers cleave model compounds, but do not break Maillard crosslinks in skin and tail collagen from diabetic rats. *Arch Biochem Biophys.* 2003; 412: 42-46.
- 42) Ohshima H, Tada A, Kanamaru A, et al. Relevance of the directionality of skin elasticity to aging and sagging of the face. *Skin Res Technol.* 2011; 17: 101-107.
- 43) 多田明弘. 抗糖化化粧品に関する天然成分の評価と素材選定. *Cosmetic Stage.* 2011; 5: 34-38.