

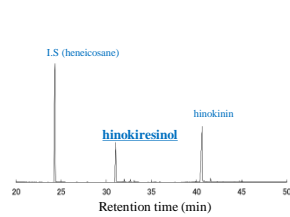
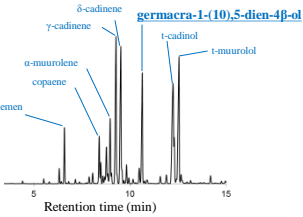
はじめに

ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) は高い生物活性を有することで知られ、幹心材部については多くの活性報告がなされている。本研究では、既報¹⁻³⁾にて幹以上の高い抗菌活性を示したヒノキ枝心材部に注目し、その詳細な活性を検討した。

結果・考察

ヘキササン抽出物TIC

酢酸エチル抽出物TIC



ヒノキ枝・幹心材部抽出物の主要構成成分比

幹心材分析データは既報¹⁻³⁾より引用

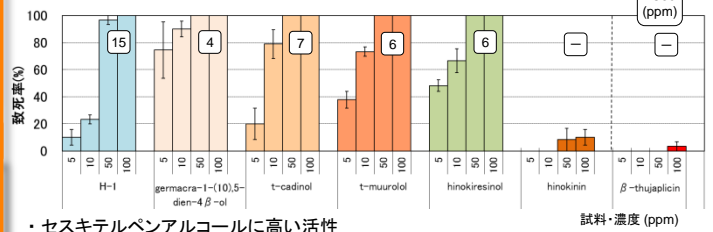
Fr.No.	Compound	Retention time (min)	枝心材	幹心材
(1)	β-elemene	9.3	1.9	3.1
(1)	copaene	11.4	2.4	3.6
(1)	α-murolene	12.0	3.4	5.3
(1)	γ-cadinene	12.4	12.1	11.3
(1)	δ-cadinene	12.7	11.6	13.5
(2)	germacra-1-(10),5-dien-4β-ol	13.8	6.7	γ
(3)	t-cadinol	15.7	14.6	19.9
(4)	t-muurolool	16.9	13.0	17.7
(5)	hinokiresinol	34.8	1.6	γ
(6)	hinokinin	44.7	7.2	1.4

枝心材部	抽出物	収率 (%)
	solvent	15.3
	hexane	10.9
	ethyl acetate	1.9
	methanol	26.1
幹心材部	hexane	2.6
	ethyl acetate	0.9
	methanol	1.2
	total	4.7

*Yields were calculated based on dry-weight of the heartwood.

- 枝心材部は幹の約6倍の抽出率
- 枝心材部にのみ **germacra-1-(10),5-dien-4β-ol (2)**, **hinokiresinol (5)** の含有を確認

BS試験結果



- セスキテルペンアルコールに高い活性
中でも枝特有の **germacra-1-(10),5-dien-4β-ol (2)** に非常に高い活性
- 枝特有のノルリグナン **hinokiresinol (5)** に高い活性

抗菌活性試験結果

生長阻止率(%) 阻止率50%以上:++ 阻止率30%以上:+

試料	白色腐朽菌		褐色腐朽菌		軟腐腐朽菌	
	<i>Trametes versicolor</i>	<i>Lenzites betulinus</i>	<i>Fomitopsis palustris</i>	<i>Gloeosphyllum trabeum</i>	<i>Trichoderma virens</i>	<i>Chaetomium globosum</i>
H-1 (1)	15.0	7.6	16.1	-2.3	11.2	1.6
germacra-1-(10),5-dien-4β-ol (2)	18.2	4.2	21.3	20.2	13.6	33.1
t-cadinol (3)	20.4	12.3	20.5	++	29.6	++ 58.5
t-muurolool (4)	++ 52.5	23.4	+ 31.9	++ 81.9	++ 60.1	++ 87.4
hinokiresinol (5)	18.4	24.9	+ 36.5	21.7	++ 74.2	+ 31.5
hinokinin (6)	+ 37.7	19.4	+ 32.4	3.1	++ 50.4	++ 58.7
β-thujaplicin (7)	++ 93.4	++ 95.1	++ 92.7	++ 100.0	++ 50.1	++ 100.0

試料	かび菌			
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Rhizopus oryzae</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
H-1 (1)	-2.9	13.1	23.6	0.9
germacra-1-(10),5-dien-4β-ol (2)	10.8	+ 42.9	15.5	2.5
t-cadinol (3)	8.9	++ 76.4	19.5	10.8
t-muurolool (4)	6.7	++ 77.0	+ 24.8	7.9
hinokiresinol (5)	8.2	+ 37.6	+ 45.2	-1.0
hinokinin (6)	7.6	++ 60.1	+ 29.8	2.9
β-thujaplicin (7)	23.2	++ 100.0	++ 57.1	+ 48.7



- 木材腐朽菌 *T. versicolor*, *G. trabeum*, 軟腐腐朽菌 *C. globosum*, かび菌 *P. citrinum* に対し **t-muurolool** を中心としたセスキテルペンアルコールに活性
- 軟腐腐朽菌 *T. virens*, かび菌 *R. oryzae* に対し 枝特有のノルリグナン **hinokiresinol** に活性

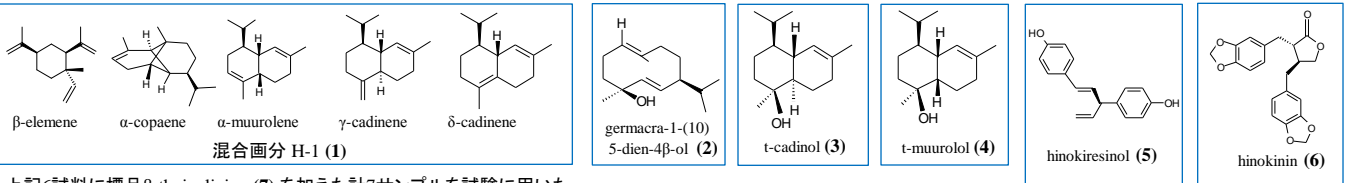
まとめ

- ヒノキ枝心材抽出物の活性の主体は **t-muurolool**, **t-cadinol** を主体としたセスキテルペンアルコールであり、これらは幹にも同様に含有
- 枝心材は幹のおよそ6倍の抽出物を含有 → **量的な面で活性に寄与**
- 枝特有のセスキテルペンの **germacra-1-(10),5-dien-4β-ol** にBSに対する高い活性
- 枝特有のノルリグナンの **hinokiresinol** にセスキテルペンアルコールとは異なる菌に対する活性 → **枝特有の活性物質 枝の多面的な防御機構に寄与**

実験

試料抽出

ヒノキ 枝心材部 (山形大学付属演習林 約80年生 2007年伐採) ヘキササン, 酢酸エチルを用いた逐次抽出物より、以下の画分・単離物を得た。



上記6試料に標品β-thujaplicine (7) を加えた計7サンプルを試験に用いた。

機器分析

●GC-FID, GC/MS
分析機器: HITACHI G-3000 (DB-1), SHIMADZU QP-5000 (DB-1)
分析条件: column;DB-1, 100°Cto 280°C(15 min) at 4°C/min;
injection temp. 250°C, detection temp. 250°C

ブラインシュリンブ幼生致死活性試験 (BS試験)



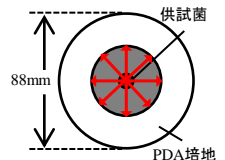
- 供試生物: ブラインシュリンブ (*Artemia salina*) 幼生
- 人工海水の入った試験管にブラインシュリンブを10匹投入
- DMSOにて調製した試料を添加 (濃度 5・10・50・100ppm)
- 26°C・暗条件下にて24時間静置, 平均致死率および半数致死濃度 (LC₅₀) を算出

抗菌活性試験

供試菌: 以下の6種の木材腐朽菌, 4種のかび菌 (JISZ2911かび抵抗性試験に用いられる菌株を かび菌 (1-5群) とした)

菌類	学名	和名	登録№
木材腐朽菌	白色腐朽菌	<i>Trametes versicolor</i> (Linaeus:Fries) Plat	NBRC 30340
	白色腐朽菌	<i>Lenzites betulinus</i> (Berkeley et M.A. Curtis) Murrill	MAFF 420199
	褐色腐朽菌	<i>Fomitopsis palustris</i> (Linaeus:Fries) Plat	NBRC 30339
	褐色腐朽菌	<i>Gloeosphyllum trabeum</i> (Persoon:Fries) Murrill	MAFF 420223
	軟腐腐朽菌・かび菌(4群)	<i>Trichoderma virens</i> (J.H. Miller, Giddens et A.A. Foster) Arx	MAFF 645007
	軟腐腐朽菌・かび菌(5群)	<i>Chaetomium globosum</i> Karst: Fries	NBRC 6347
かび菌	かび菌(1群)	<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem	NBRC 6342
	かび菌(2群)	<i>Penicillium citrinum</i> Thom	NBRC 6352
	かび菌(3群)	<i>Rhizopus oryzae</i> Went et Prinsen-Geerjgs	NBRC 31005
	かび菌(4群)	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Freeman) G.A. de Vries	NBRC 6348

- PDA (Potato Dextrose Agar) 培地 (EIKEN CHEMICAL CO.) を使用
- 培地表面に抽出物を塗布 (5μg/cm²) しアセトン溶媒を揮発
- 供試菌を培地中心に置床させ, 26°C・暗条件下で静置培養
- Control としてアセトンのみを塗布
- Control の菌濃がシャーレ (内径88mm) に達した時点で終了
- 検体のコントロールに対する生長阻止率を算出



生長阻止率(%) = 100 × (1-Da/Db)
(Da: 各検体平均直径 Db: Control 平均直径)