

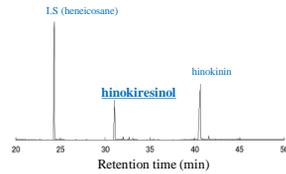
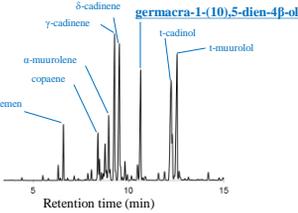
はじめに

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

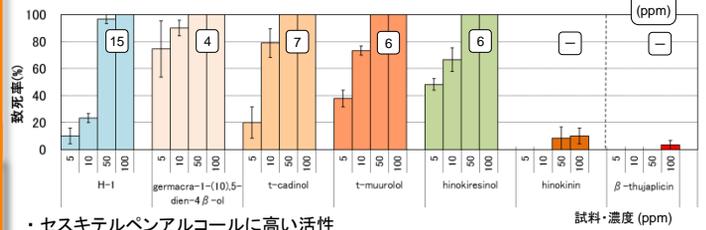
| Fr.No. | Compound | Retention time (min) | 枝心材 | 幹心材 |
|--------|------------------------------|----------------------|------|------|
| (1) | β-elemene | 9.3 | 1.9 | 3.1 |
| (1) | copaene | 11.4 | 2.4 | 3.6 |
| (1) | α-murolene | 12.0 | 3.4 | 5.3 |
| (1) | γ-cadinene | 12.4 | 12.1 | 11.3 |
| (1) | 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

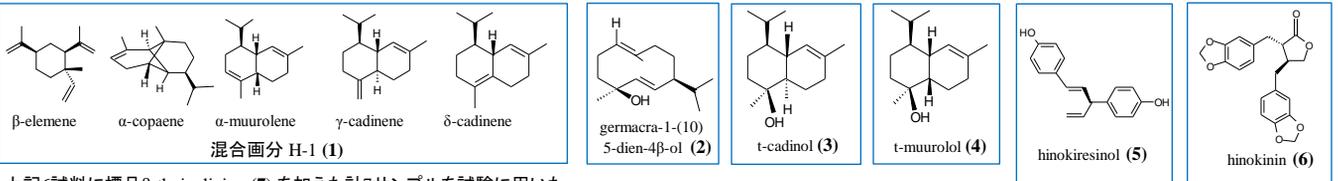
まとめ

- 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)



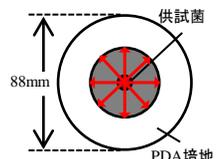
- 供試生物: ブラインシュリンブ (*Artemia salina*) 幼生
- 人工海水の入った試験管にブラインシュリンブを10匹投入
- DMSOにて調製した試料を添加 (濃度 5・10・50・100ppm)
- 26°C・暗条件下にて24時間静置, 平均致死率および半数致死濃度 (LC₅₀) を算出

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)