

天然抗菌素材の開発研究(第1報)

— ホソバヤマジソ *Mosla chinensis* Maxim. の抗菌性と成分 —

(1997年10月20日受付)

(1997年12月15日受理)

古谷 力^{a)}、松浦 洋一^{b)}、溝端 聡^{b)}、高原 純夫^{b)}、
高橋 和久^{b)}

a) 岡山理科大学理学部

b) 株式会社オムニテック

キーワード: ホソバヤマジソ、シソ科、抗菌性、天然抗菌素材、抗菌剤、精油、チモール

I 緒言

「抗菌性」は、清潔・安全志向の高まりとともに次第に浸透し、メチシリンに耐性を示す黄色ブドウ球菌(MRSA)による院内感染問題で、にわかに関心を浴びた。その後、昨年の腸管出血性大腸菌O157:H7による集団食中毒をきっかけに台所・トイレ・浴室等の水まわり、家電製品・衣類・文具・建築資材・日常雑貨等のあらゆる分野に抗菌性が付加され、生活環境へのアメニティの提供が急速に広がっている。

カビを原因とするアレルギー性疾患やレジオネラ肺炎起因菌による水環境の汚染への対策等、今や抗菌素材については、従来のイメージ的なものでなく、安全で確実な効果が必要となってきた。現在、無機系抗菌剤では、ゼオライトやシリカゲルに銀を担持あるいはチオスルファト銀錯体を使った銀系抗菌剤が中心であり、キッチン用品、家電製品、文具等のプラスチック製品やガラス、タイル等建築資材に使用されている。一方、有機系抗菌剤は、化粧品・医薬品・抗菌防臭加工繊維・食品の鮮度保持資材等を中心に広く用いられ、近年、より安全性を求めて天然系の抗菌素材が改めて注目されている。

天然抗菌素材は、フラボノイド(チャ・ヒノキチオール(ヒバ)・アリルイソチオシアネート(ワサビ)等を主とした植物性天然抗菌素材が古くから用いられてきた。ほとんどの植物は、微生物の侵入から身を守る自己防衛手段(罹病抵抗性)として、何らかの抗菌性成分を産生している。植物エキスは、その多様な抗菌成分の相乗効果で、強く広い抗菌性を示し、また耐性菌が発生しにくいのも特徴の一つである。

我々は、植物性の天然抗菌素材に注目し、国内外の民間薬用資源を採集し抗菌スクリーニングを行なった。その結果、約200種におよぶ植物の中で、ホソバヤマジソ *Mosla chinensis* Maxim. に、最も抗菌力が強く且つ広い抗菌スペクトルを見出した。ホソバヤマジソは、合弁花類のシソ科(Labiatae)イヌコウジュ属(*Mosla*)に属する一年草で、茎は紫

色を帯び葉は披針形～広針形で鋭頭、少数の低い鋸歯があり、本州(中国地方)から九州・朝鮮・中国大陸に分布している。漢名を石香薷または青香薷といい、中国では、全草が夏の風邪・腹痛・下痢・湿疹等に用いられている²⁾。これまでの研究では、2種の新規配糖体を含む8種のフラボノイド^{3,5)}やフェノールカルボン酸類、ステロール、脂肪酸類⁶⁾、また、精油成分ではチモール、カルバクロール、p-シメンを主とする3-3種の成分について分析結果が報告されている⁷⁻¹⁰⁾。チモールは、殺菌力があることから歯磨きに用いられ、カルバクロールとともに植物病原菌に対する強い抗菌活性が認められている¹¹⁾。これまで、チモール、カルバクロールを含むホソバヤマジソの抗菌性に関する研究はなく、新しい天然抗菌素材の実用化を目的とし、ホソバヤマジソおよびその近縁植物について、抗菌性の比較と活性成分の分析を行なった。

II 研究方法

(1) 植物試料の調製

岡山県を北限とする暖地海浜、八重山列島、沖縄、さらに国外ではタイ、インドネシア等で使用されている民間薬用資源約200種を採集した。

研究に用いたホソバヤマジソは岡山県内で採集または栽培したもの、および兵庫県内で栽培したものを用い、何れも6～8月の開花期に採集した。

採集植物は器官別に生のまま、または乾燥後3倍量のメタノールで3回抽出した。この時、メタノールは植物が生の場合は100%メタノールで3回抽出し、乾燥した植物の場合は、1回目は80%メタノールで抽出し、2回目、3回目は100%メタノールで抽出した。抽出したエキスをロータリーエバポレーターで減圧濃縮後、真空デシケーターで乾燥し

たものをメタノールエキスとして試験に供した。

このメタノールエキスを水に懸濁後、3倍量のn-ヘキサン(以下ヘキサンという)を加え、分配抽出を3回繰り返した後、ヘキサン層をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、真空デシケーターで乾燥したものをヘキサンエキスとし、試験に供した。さらに、水層を3倍量のクロロホルム、酢酸エチルの順に同様に分配抽出を行ない、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、真空デシケーターで乾燥したものを試験に供した。

(2) 抗菌試験

① 供試菌株

全23菌株

細菌類:

黄色ぶどう球菌	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538p
枯草菌	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
大腸菌	<i>Escherichia coli</i> NIHJ
緑膿菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 13736
肺炎桿菌	<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO 13277
軟腐病菌	<i>Erwinia carotovora</i> IFO 14082
立鱗病菌	<i>Aeromonas hydrophila</i> IFO 13286
穴あき病菌	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i> IFO 12659

酵母類:

カンジダ菌	<i>Candida albicans</i> IFO 1594
酵母	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763

カビ類:

黒麹カビ	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275
白麩菌	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO 32410
根腐病菌	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>mori</i> IFO 7707
根腐病菌	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>pisi</i> IFO 9425
根腐委ちよう病菌	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> IFO 31213
根腐病菌	<i>Cylindrocarpon destructans</i> f. sp. <i>panacis</i> IFO 31881
苗立枯病菌	<i>Rhizoctonia solani</i> IFO 32364
疫病菌	<i>Phytophthora cactorum</i> IFO 32194
菌核病菌	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> IFO 30965
灰色カビ病菌	<i>Botryotinia fuckeliana</i> IFO 31831
イネ苗立枯病菌	<i>Trichoderma viride</i> IFO 30498
紫紋羽病菌	<i>Helicobasidium mompa</i> IFO 31651
白紋羽病菌	<i>Rosellinia necatrix</i> IFO 9420

② 試験方法

抗菌活性の測定には、ペーパーディスク法(ハロー試験法)¹²⁾を用い、発育阻止円径を測定した。また、抗菌力測定には、試料を倍数希釈し、最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

寒天平板培地の調製:

プラスチックシャーレ(直径9cm)に121°C, 20分間高圧蒸気滅菌した培地を20ml分注し、固化させた。

[細菌用培地]

ミューラー-ヒントン寒天培地 Difco製

38g/l pH7.3±0.1 25°C

[酵母・カビ用培地]

ポテトデキストロース寒天培地 Difco製

39g/l pH5.6±0.2 25°C

ディスク調製:

試料濃度は、一次スクリーニングには500mg/ml, MICの測定には250mg/mlから倍数希釈を行なった。溶媒には、メタノール:DMSO:水=4:4:1(MDW液)¹³⁾を用い、試料を溶解した。試料溶液を直径6mmの抗生物質検定用薄手ペーパーディスク<ADVANTEC製>に25μl/disc浸み込ませた後、風乾しメタノールを留去したものをを用いた。

供試菌株:

3回以上の継代を繰り返した新鮮菌を用い、0.9%滅菌食塩水中に10⁶CFU/mlになるように菌液を調製した。なお、カビについては、孢子分散性を高める為、0.9%滅菌食塩水に0.005%のスルホコはく酸ジオクチルナトリウムを加えた¹⁴⁾。この菌液を寒天平板培地上に60μl接種した後、コンラージ棒で均一に塗抹し、試料の浸み込んだペーパーディスクを置き培養した。

③ 結果測定

細菌類は37°Cで18時間、酵母類は28°Cで18時間、カビ類は28°Cで培養し、成長速度に差がある為24,48,72,96,120時間後に測定した。

(3) GLCによる成分分析

① GLC分析用試料の調製

植物試料の調製(1)に記載の方法で得られたヘキサンエキス10mgを250μlのアセトンに溶解し、3μlを注入した。

② GLC装置と分析条件

GLC: 島津ガスクロマトグラフ GC-14B
 カラム: ULBON HR-20M (0.32mm×30m)
 検出器: FID
 条件: インジェクション温度: 230°C
 検出器温度: 230°C
 昇温: 140°C→220°C (1°C/min)
 スプリット: 50:1
 キャリアガス: N₂
 キャリアガス線速度: 10cm/sec, 25Kpa
 テモール: Rt 28.0min

III 結果及び考察

(1) 薬用植物資源のスクリーニング

採集した約200種の植物エキスについて抗菌テストを行ない、そのうち1994年7月~1997年1月の間に採集・抗菌テス

トを実施した50種・10菌株についてTable 1に結果を示した。
 供試植物のうち、ホソバヤマジソが最も強い抗菌性と共
 に、広い抗菌スペクトルを示すことが明らかになった。バク

テリアに対する発育阻止作用はかなりの植物で観察され
 が、酵母、カビにも効果を示すホソバヤマジソの抗菌力が傑
 出していた。

Table 1. Halo test of medicinal plants

No.	Medicinal Plants				Width of inhibitory zone (mm)										conc. (mg/ml)	plant (gDW)	ext. (g)
	Japanese name	Scientific name	Family name	Part*	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)			
1	ハンゲシヨウ	<i>Saururus chinensis</i> Baill.	Saururaceae	h	9	—	10	—	—	—	—	20	—	—	500	123	13.0
2	クリ	<i>Castanea crenata</i> Sieb.et Zucc.	Fagaceae	b	20	12	17	15	—	—	—	35	9	9	500	190	8.0
3	ケヤキ	<i>Zelkova serrata</i> Makino	Ulmaceae	l	14	10	10	12	—	—	—	20	—	—	500	100	9.5
4	ヤドリギ	<i>Viscum album</i> L.var. <i>coloratum</i> Ohwi	Loranthaceae	l,s	9	8	—	—	—	—	—	10	—	—	500	200	12.4
5	ウマノスズクサ	<i>Aristolochia debilis</i> Sieb.et Zucc.	Aristolochiaceae	h	22	8	—	—	—	—	—	15	—	—	500	200	6.4
6	オオツヅラフジ	<i>Sinomenium acutum</i> Rehd.et Wils.	Menispermaceae	l,s	11	—	9	8	—	—	—	23	—	—	500	100	3.8
7	ハスノハカズラ	<i>Stephania japonica</i> Miers	Menispermaceae	l,s	11	9	9	10	—	—	—	25	—	—	500	90	6.6
8	クロモジ	<i>Lindera umbellata</i> Thunb.	Lauraceae	l,s,fr	15	11	9	—	—	—	—	30	—	—	500	200	14.9
9	キケマン	<i>Corydalis platycarpa</i> Makino	Papaveraceae	h	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	25	8.0
10	ニオイアラセイトウ	<i>Cheiranthus cheiri</i> L.	Cruciferae	h	8	8	8	8	—	—	—	15	—	—	500	100	8.6
11	モモ	<i>Prunus persica</i> Batsch.	Rosaceae	l,s	8	8	10	8	—	—	—	10	—	—	500	100	19.4
12	ウワミズザクラ	<i>Prunus grayana</i> Maxim.	Rosaceae	fl	—	—	8	—	—	—	—	—	—	—	500	40	9.3
13	クララ	<i>Sophora angustifolia</i> Sieb.et Zucc.	Leguminosae	l,s,fl	10	8	—	—	—	—	—	8	—	—	500	100	11.4
14	カオリハジエンジュ	<i>Robinia pseudo-acacia</i> L.	Leguminosae	l,s	16	8	10	10	—	—	—	8	—	—	500	55	5.6
15	デイゴ	<i>Erythrina indica</i> Lam.	Leguminosae	l,s	8	9	—	—	—	—	—	13	—	—	500	125	6.7
16	カラスザンショウ	<i>Fagara aillanthoides</i> Engl.	Rutaceae	l,s,fl	9	—	10	—	—	—	—	27	—	—	500	200	15.1
17	コクサギ	<i>Orixa japonica</i> Thunb.	Rutaceae	l,s	12	11	8	—	—	—	—	16	—	—	500	150	10.5
18	キハダ	<i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht	Rutaceae	fr	9	—	13	—	—	—	—	35	—	—	500	140	15.0
19	シンジュ	<i>Ailanthus altissima</i> Swingle	Simaroubaceae	l,s,fl	10	8	11	13	—	—	—	12	—	—	500	200	14.1
20	アカギ	<i>Bischofia javanica</i> Bl.	Euphorbiaceae	l,s	18	8	11	—	—	—	—	25	—	11	500	150	7.1
21	ムクロジ	<i>Sapindus mukurossi</i> Gaertn.	Sapindaceae	b	8	8	8	—	—	—	—	17	—	—	500	250	1.9
22	ヤブガラシ	<i>Cayratia japonica</i> Gagn.	Vitaceae	h	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	200	6.2
23	ホルトノキ	<i>Elaeocarpus decipiens</i> Hemsl.	Elaeocarpaceae	l,s,fl	21	14	10	17	—	—	—	40	8	8	500	200	29.6
24	フクギ	<i>Garcinia subelliptica</i> Merr.	Guttiferae	l,s	17	13	—	8	—	—	—	17	—	—	500	60	10.0
25	ギョリュウ	<i>Tamarix chinensis</i> Lour.	Tamaricaceae	l,s,fl	16	12	12	—	—	—	—	24	—	—	500	120	11.5
26	キブシ	<i>Stachyurus praecox</i> Sieb.et Zucc.	Stachyuraceae	l,s,fr	19	12	12	—	—	—	—	25	—	—	500	200	21.0
27	ガンピ	<i>Wikstroemia sikokiana</i> Franch.et Sav.	Thymelaeaceae	s	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	500	150	11.7
28	オヒルギ	<i>Bruguiera conjugata</i> Merr.	Rhizophoraceae	l,s	11	8	—	13	—	—	—	—	—	—	500	80	7.6
29	モモタマナ	<i>Terminalia catappa</i> L.	Combretaceae	h	20	15	10	21	—	—	—	36	—	8	500	110	19.9
30	イワナシ	<i>Epigaea asiatica</i> Maxim.	Ericaceae	h,fl	16	10	10	8	—	—	—	22	—	—	500	70	12.2
31	アカモノ	<i>Gaultheria adenostrix</i> Maxim.	Ericaceae	l,s	15	9	10	8	—	—	—	22	—	—	500	90	10.2
32	カキ	<i>Dispyros kaki</i> Thunb.	Ebenaceae	l	15	10	10	13	—	—	—	25	—	—	500	100	8.5
33	ミツガシワ	<i>Menyanthes trifoliata</i> L.	Gentianaceae	h	11	9	9	—	—	—	—	24	—	—	500	70	14.0
34	オオバナテロフウ	<i>Tylophora grandiflora</i> R.Br.	Asclepiadaceae	l,s,fr	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	80	10.1
35	ガガイモ	<i>Metaplexis japonica</i> Makino	Asclepiadaceae	r	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	100	11.1
36	モンバナノキ	<i>Messerschmidia argentea</i> Johnst	Boraginaceae	l	8	8	9	—	—	—	—	25	—	—	500	80	4.5
37	キラソウ	<i>Ajuga decumbens</i> Thunb.	Labiatae	h	17	12	15	—	—	—	—	21	—	—	500	25	16.4
38	ホソバヤマジソ	<i>Mosla chinensis</i> Maxim.	Labiatae	h	25	15	18	16	13	16	12	40	13	10	500	77	6.0
39	ヒメジソ	<i>Mosla dianthera</i> Maxim.	Labiatae	l,s,se	16	17	14	10	—	—	—	21	—	8	500	40	3.0
40	センソウ	<i>Mesona procumbens</i> Hemsl	Labiatae	h	9	8	9	8	—	—	—	15	—	—	500	150	5.5
41	カエンボク	<i>Spathodea campanulata</i> Beauv	Bignoniaceae	l,s	9	—	9	10	—	—	—	18	—	—	500	130	10.0
42	サンゴジュ	<i>Viburnum awabuki</i> K.Koch	Caprifoliaceae	l,s,fl	11	10	9	—	—	—	—	15	—	—	500	100	10.0
43	カコノソウ	<i>Valeriana sambucifolia</i> L.	Valerianadceae	h	—	—	—	—	—	—	—	8	—	—	500	130	17.6
44	シヨウブ	<i>Acorus calamus</i> L.var. <i>angustatus</i> Bess.	Araceae	l,s,r	10	—	9	—	—	—	—	25	—	—	500	100	9.0
45	セキシヨウ	<i>Acorus gramineus</i> Soland.	Araceae	h	9	12	13	—	—	—	—	20	—	—	500	55	10.5
46	エンレイソウ	<i>Trillium smallii</i> Maxim.	Liliaceae	h	—	—	—	—	20	18	—	32	25	—	500	30	7.7
47	リュウゼツラン	<i>Agave americana</i> R.et D.	Amaryllidaceae	l	8	—	—	—	21	23	—	40	28	20	500	140	10.9
48	アカダイショ	<i>Dioscorea alata</i> L.	Dioscoreaceae	r	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	50	4.0
49	ダイセンキヤロボク	<i>Taxus cuspidata</i> S.et Z.var. <i>nana</i> Rehd.	Taxaceae	l,s,fr	13	10	9	12	—	—	—	15	—	—	500	150	22.0
50	カヤ	<i>Torreya nucifera</i> Sieb.et Zucc.	Taxaceae	p	13	10	9	13	—	—	—	15	—	—	500	150	17.5

- 1) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p
- 2) *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- 3) *Escherichia coli* NIHJ
- 4) *Aeromonas hydrophila* IFO 13286
- 5) *Candida albicans*
- 6) *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763
- 7) *Aspergillus niger* ATCC 6275
- 8) *Trichophyton mentagrophytes* IFO 32410
- 9) *Fusarium solani* f.sp.*mori* IFO 7707
- 10) *Fusarium solani* f.sp.*pisi* IFO 9425

*: [h]herb, [l]leaf, [s]stem, [r]root, [fl]flower, [fr]fruit, [p]pericarp, [b]bark, [se]seed.

(2) ホソバヤマジソの抗菌効果

ホソバヤマジソの抗菌活性成分を精査する為、ホソバヤマジソメタノールエキスを低極性溶媒からヘキサン、クロロホルム、酢酸エチル、水の順に抽出・分画し抗菌効果を比較した。

その結果、ヘキサンエキスに最も強い抗菌効果が認められた。すなわち、ヘキサンエキスのMIC値(3.9~125mg/ml)が最も低く、次いで酢酸エチルエキス(31.3~500mg/ml)、クロロホルムエキス(62.5~250mg/ml)、水エキス(125~250mg/ml)であった。また同濃度で他の分画エキスと比較しても、ほぼ全ての菌株に対して最も大きな発育阻止円径(11~36mm)が認められた。従ってメタノールエキスの有効成分は分配操作によってヘキサン層に移行、結果としてヘキサンエキスに濃縮される親油性成分と考えられる。

一般に、シソ科植物は、発汗、解熱あるいは利尿等の薬理作用を持つことが知られ、中国では生薬として利用されている。芳香のすぐれたものは香草ないし「ハーブ」として、調理に利用されたり、そのまま食膳にのせたりされている。こうした薬効や芳香をもたらすものとして、チモール、カルバクロール、オイゲノール等のいわゆる精油成分が重要と考えられている。これらの精油は、抗菌性を有し、香辛料の持つ食品保存効果の主要な成分でもある。シソ科ハーブの中

で抗菌効果の顕著なタチジャコウソウ(タイム) *Thymus vulgaris* L.、ハナハッカ(オレガノ) *Origanum vulgare* L.には、ホソバヤマジソ同様、チモール、カルバクロールが含まれ、ハナハッカ属(*Origanum*)のマヨナラ(マジョラム) *O. majorana* L.、トウバナ属(*Satureja*)のキダチハッカ(セボリー) *S. hortensis* L.にも共通している。

これら近縁植物との抗菌性比較の一環として、タチジャコウソウ(タイム)と精油成分であるチモールについて抗菌活性を測定した(Table 2)。その結果、ホソバヤマジソは全菌株に対してタチジャコウソウ(タイム)より同等以上の活性を示した。また、精油成分のチモールは、緑膿菌を除く全ての菌に抗菌性を示した。広範囲な抗菌性は、ホソバヤマジソの特徴と一致し、この結果からも精油成分が抗菌効果に大きく関与していると考えられる。

植物は、成長段階で生体成分が著しく異なる場合が多く、季節変化の中で、どの成長段階で、どの部位を採取するかを十分考慮する必要がある。その調査の一環として、発芽後約1ヶ月の6月から8月の開花期において、葉・莖・根・花(開花期)の抗菌性を比較した(Table 2)。

その結果、抗菌効果は圧倒的に葉部が強く、次いで花部であった。また、6月から7月の成長期にかけて葉部の活性は2~30倍に高まり、8月の開花期の葉部の活性は、23菌株中6菌

Table 2. Antimicrobial activities of *Mosla chinensis* Maxim.

Microorganisms	MIC*(mg/ml)										Thyme	Thymol
	June			July			August					
	leaf	stem	root	leaf	stem	root	leaf	stem	root	flower		
Bacteria												
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538p	62.5	—	125	31.3	—	250	31.3	250	125	31.3	62.5	5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	62.5	—	—	31.3	—	—	62.5	—	—	125	62.5	5
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	250	—	—	62.5	—	—	62.5	—	—	125	125	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO13736	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO13277	62.5	—	125	62.5	—	—	31.3	—	—	125	—	10
<i>Erwinia carotovora</i> IFO14082	250	250	125	31.3	—	62.5	62.5	62.5	—	15.6	125	2.5
<i>Aeromonas hydrophila</i> IFO13286	125	—	62.5	15.6	—	—	31.3	—	—	62.5	125	1.25
<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i> IFO12659	7.8	62.5	—	15.6	125	125	7.8	62.5	62.5	62.5	62.5	2.5
Yeast												
<i>Candida albicans</i> IFO1594	125	—	—	31.3	—	—	62.5	—	—	62.5	—	5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC9763	—	—	—	62.5	—	—	62.5	—	—	—	—	2.5
Fungi												
<i>Aspergillus niger</i> ATCC6275	250	—	—	31.3	—	—	125	—	—	—	—	10
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO32410	250	—	—	31.3	250	—	7.8	125	—	125	62.5	1.25
<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>mori</i> IFO7107	250	—	—	31.3	—	—	62.5	—	—	62.5	—	10
<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>pisi</i> IFO9425	250	—	—	62.5	—	—	125	—	—	125	—	5
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> IFO31213	250	—	—	31.3	—	—	125	250	—	125	—	2.5
<i>Cylindrocarpum destructans</i> f.sp. <i>panacis</i> IFO31881	250	—	250	31.3	250	—	7.8	125	125	7.8	250	1.25
<i>Rhizoctonia solani</i> IFO32364	125	—	—	7.8	—	—	31.3	—	—	7.8	—	2.5
<i>Phytophthora cactorum</i> IFO32194	250	—	—	31.3	—	250	31.3	—	—	62.5	125	5
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> IFO30965	250	—	—	15.6	—	—	7.8	—	125	7.8	31.3	2.5
<i>Botryotinia fuckeliana</i> IFO31831	250	—	—	7.8	—	250	62.5	—	—	15.6	—	5
<i>Trichoderma viride</i> IFO30498	250	—	—	7.8	—	—	62.5	—	—	125	—	10
<i>Helicobasidium mompa</i> IFO31651	31.3	—	250	7.8	—	250	7.8	—	—	31.3	7.8	10
<i>Rosellinia necatrix</i> IFO9420	250	—	62.5	15.6	—	—	250	250	—	—	250	2.5

*Minimum inhibitory concentration.

株で活性が高まったが13菌株で低下していた。このことから、7月から8月の蕾の付き始める開花前の葉部の抗菌性が最も優れていると考えられるが、気象条件、土壌条件等の栽培地域差や年度差で収穫時期が変動するため、今後、生態学的特性との相関をさらに調査し収穫時期を選定して行きたい。

(3) ホソバヤマジソのGLC分析

ホソバヤマジソの精油成分が抗菌効果に大きく関与していると考えられる為、精油の主成分の1つとしてチモールの存在を確認し、その含有量を測定した。その結果をTable 3に示す。抗菌効果が最も強い葉部メタノールエキス中のチモール含有率は4.43~13.03%であり、茎部の0.51~1.38%、根部の0.05~1.14%に比べ非常に高い値を示した。

また、6月~8月にかけて葉部のチモール量は約2.9倍に増加しており、このチモール量の増加と抗菌性の変化がほぼ一致する為、やはりチモールと抗菌性の関連が示唆される。

一般的に精油成分は葉部で生合成され、一部は葉面の腺毛と呼ばれる器官に蓄積されるといわれている。今回の結果はそれに当てはまるものだが、季節により葉に蓄積されていた精油が根や花、種子に転流、あるいは構成成分が大きく変化すると推察されるので、今後さらに詳細な調査が必要である。

Table 3. Thymol content in methanol extract of *Mosla chinensis* Maxim.

Part used	Thymol (%w/w)		
	June	July	August
leaf	4.43	10.40	13.03
stem	0.55	0.51	1.38
root	0.14	0.05	1.14
flower	—	—	13.46

IV まとめ

ホソバヤマジソの抗菌性はヘキサノエキスの活性が高かったことから精油等の親油性成分が主要因であると考えられる。GLC分析から精油主成分であるチモールの関与が示唆されるが、強く広い抗菌性は、その他の微量成分が混合した状態で総合的に作用していると考えられる。

この効果は、これまで我々が調査した薬用植物の中でも傑出したものであり、新しい香辛料として、また防腐効果の高い保存料としての食品添加物、あるいは病原性微生物の防除剤等、天然抗菌素材として多方面への利用に取組んで行きたい。

謝辞

本研究に際し、終始ご指導ご鞭撻をいただきました株式会社オムニテック代表取締役村田允社長に深謝いたします。また、植物の採集、同定に助言と協力をいただいた倉敷芸術科学大学河辺誠一郎教授、ならびに倉敷市古屋野寛氏、

GLC分析機器の使用に便宜を与えられた近畿大学農学部駒井功一郎教授に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究の一部に厚生科学研究費補助金(主任研究者: 国立医薬品食品衛生研究所佐竹元吉生薬部長)を充当した。ここに謝意を表します。

V 引用文献

- 1) 佐竹義輔、大井次三郎、北村四郎、亘理俊次、冨成忠夫編:「日本の野生植物草本Ⅲ、合弁花類」,pp.81-82,平凡社,東京(1981)
- 2) Ou Ming:Herba Elsholtziae seu Moslae, in"Chinese-English Manual of Common-Used in Traditional Chinese Medicine (edited by Ou Ming)",pp.382-383,Joint Publishing,Hong Kong(1989)
- 3) Sun Li-ping,Zheng Shang-zhen, Fu Zhengsheng and Shen Xu-wei:Flavonoids from *Mosla chinensis* Maxim., *J.Northwest Normal Univ.(Nat.Sci.)*,31,44-46 (1995)
- 4) Zheng Shang-zhen,Sun Li-ping and Shen Xu-wei:Chemical constituents of *Mosla chinensis* Maxim.,*Acta Botanica Sinica*, 38,156-160(1996)
- 5) Zheng Shang-zhen,Sun Li-ping and Shen Xu-wei: Flavonoids constituents from *Mosla chinensis* Maxim.,*Indian J.Chem.*,35B,392-394(1996)
- 6) Lin Jer-Huei:Studies on the constituents of *Mosla chinensis* Maxim.,*The Annual Reports of the National Research Institute of Chinese Medicine*,167-183(1984)
- 7) Duan sumin and Pan Jiongguang:Components of *Mosla chinensis* oils,*Zhongyao Tongbao*,11,233-234(1986)
- 8) Lin Zhengkui and Hua Yingfang:A study on chemical constituents of the essential oil from *Mosla scabra*(Thunb.), *Acta Botanica Sinica*,31,320-322(1989)
- 9) Zhang Shaoai and Xu Bingsheng:An analysis of the chemical composition of essential oil of *Mosla* in the Yangtze delta and its bearing on phylogeny,*Acta Botanica Yunnanica*, 11,187-192(1989)
- 10) Zhu,G.P.:Comparison of chemical constituents of essential oils from *Elsholtzia splendens* and cultivated *Mosla chinensis* by GC-MS analysis, *Acta Pharmaceutica Sinica*, 27,287-293(1992)
- 11) Tawata,S.,Taira,S. and Kobamoto,N.:Synthesis and Fungicidal Activity of New Thiophosphorylated Monoterpenoids and Related Compounds,*J.Pesticide Sci.*, 21,141-146(1996)
- 12) 金井興美、山崎修道編:「微生物検査必携 細菌・真菌検査第3版」,pp.N2-N9,日本公衆衛生協会,東京(1987)
- 13) 池川信夫、丸茂晋吾、星元紀編:「生理活性物質のバイオアッセイ」,pp.227-234,講談社,東京(1984)
- 14) 高薄一弘編:「抗菌・防霉剤の使用技術と抗菌力試験・評価」,pp.211-232,技術情報協会,東京(1996)

Research for the Development of Natural Antimicrobial Materials. I.
—Antimicrobial Activity and Effective Constituents in *Mosla chinensis* Maxim.—

(Received October 20, 1997)

(Accepted December 15, 1997)

Tsutomu Furuya^{a)}, Youichi Matsuura^{b)}, Satoshi Mizobata^{b)},
Sumio Takahara^{b)}, and Kazuhisa Takahashi^{b)}

a) Faculty of Science, Okayama University of Science

b) Omnitech Corporation

Keywords: *Mosla chinensis*, *Labiatae*, antimicrobial activity, natural antimicrobial materials, antimicrobial agents, essential oil, thymol

Abstract

In order to screen for natural antimicrobial compounds, we carried out halo tests using filter paper disks against ten species of microorganisms at 500mg/ml of extracts obtained from about two hundred plants. Although most extracts were effective against bacteria, the methanol extract of *Mosla chinensis* Maxim. (Hosoba-yamajiso in Japanese, *Labiatae*) proved highly inhibitory against not only bacteria but also yeast and fungi (Table 1). Partitioning between H₂O and three successive solvents, hexane, CHCl₃ and EtOAc, and MIC* testing against twenty-three species of microorganisms revealed the hexane fraction to exhibit the strongest antimicrobial activity. That is, the MIC values with this fraction were found at the lowest concentration and comparison of the diameter of zone inhibition at the same concentration, demonstrated the hexane fraction to exert the greatest effects against almost all species of microorganisms.

Plants of *Labiatae*, especially such as *Thymus*, *Origanum* and *Satureja* used as spices and food additives, contain essential oils, whose constituents such as thymol, carvacrol and eugenol are known to possess antimicrobial activity. A comparison of antimicrobial activities using the MIC test showed that the methanol extract of *M. chinensis* was more inhibitory against all species of microorganisms than that of *Th. vulgaris*. In addition, thymol exhibited a wide spectrum of antimicrobial activities, similar to these for *M. chinensis* (Table 2).

Hexane fractions from the leaves, stems, flowers and roots of *M. chinensis* collected during June to August, were analyzed by GLC in order to determine their volatile constituents, and thymol was detected in all fractions. The content of thymol in leaves, 4.43-13.03 % was overwhelmingly higher than in other parts, and maximum levels were observed in leaves collected in August (Table 3). Furthermore, antimicrobial activities of extracts determined by MIC testing were proportional to the thymol content.

In conclusion, constituents of the hexane fraction containing essential oils, are the main factors responsible for antimicrobial activity of *M. chinensis*. The results further suggest the participation of thymol in inhibitory effects against microorganisms.

*Minimum inhibitory concentration.