

# ホオノキ樹皮中の抗菌成分

森 満範 青山 政和\*<sup>1</sup> 土居 修一\*<sup>2</sup>

## Antifungal Constituents in the Bark of *Magnolia obovata* Thunb .

Mitsunori MORI Masakazu AOYAMA Shuichi DOI

ホオノキ樹皮のアセトン抽出物は植物病原菌や木材腐朽菌に対して強い抗菌活性を示した。単離・同定の結果、その抗菌物質は eudesmol ( ) , magnolol ( ) , および honokiol ( ) であった。主に樹皮精油中に含まれる eudesmol は、すべての供試菌に対して強い抗菌活性を示し、特に担子菌に対して顕著であった。500 µg/ml の eudesmol により、*Trametes versicolor* (カワラタケ) , *Lepista sordida* (コムラサキシメジ) , *Pycnoporus coccineus* (ヒイロタケ) , *Rhizoctonia solani* , *Serpula lacrymans* (ナミダタケ) および *Typhula ishikariensis* の成長が完全に阻止された。ビフェニル型ネオリグナンである magnolol と honokiol もまた、カワラタケおよびコムラサキシメジを除く供試菌に対して強い抗菌活性を示し、両者とも 500 µg/ml の濃度で、ナミダタケおよび *T. ishikariensis* の成長を完全に抑えた。

Key word: ホオノキ, 樹皮, 抗菌活性, 木材腐朽菌, 植物病原菌  
*Magnolia obovata* Thunb., bark, antifungal activity, wood destroying fungi, plant pathogenic fungi

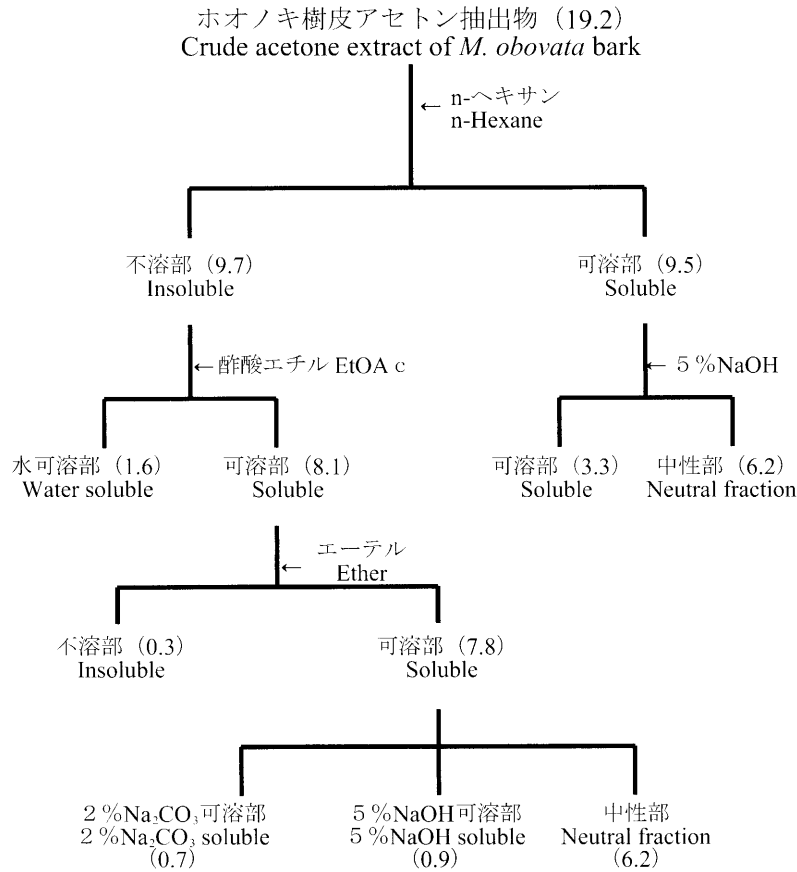
The acetone extract of the bark of *Magnolia obovata* Thunb . had potent antifungal activity against plant pathogenic and wood destroying fungi . The active principles were isolated and identified as eudesmol ( ) , magnolol ( ) and honokiol ( ) . Eudesmol , which is the main component of the volatile bark oil , showed strong antifungal activity against all of the fungi tested , especially basidiomycetes . It completely inhibited the growth of *Trametes versicolor* , *Lepista sordida* , *Pycnoporus coccineus* , *Rhizoctonia solani* , *Serpula lacrymans* and *Typhula ishikariensis* at a concentration of 500 µg / ml . Two biphenyl - type neolignans , magnolol and honokiol , also exhibited potent antifungal activity against these fungi except against *T. versicolor* and *L. sordida* . They completely depressed the growth of *S. lacrymans* and *T. ishikariensis* at the same concentration .

### 1. はじめに

ホオノキ (*Magnolia obovata* Thunb.) は、日本、中国および朝鮮半島南部に広く分布している。ホオノキ材は、家具、工芸品、食器などに利用され、またその樹皮も、消化器疾患、精神神経症に適應する生薬として用いられている。薬理学的研究により、この生薬に含まれるフェノール成分が、中枢神経作用

や筋弛緩作用を持つことが証明されている<sup>1-3)</sup>。

一方では、ホオノキ樹皮のメタノール抽出物が、醗食(虫菌)を引き起こす細菌である *Streptococcus mutans* に対して強い抗菌活性を示すことが報告された<sup>4-6)</sup>。著者ら<sup>7)</sup>もまた、6種の植物病原菌と4種の木材腐朽菌に対し、ホオノキ樹皮が強い抗菌活性を示すことを確認し、真菌類に対して広いスペクトルを持



第1図 ホオノキ樹皮アセトン抽出物の分画

注：カッコ内の数字は収率を表す(%)

Fig. 1. Fractionation of crude acetone extract of *Magnolia obovata* bark

Note: Values in brackets represent the yield (%).

つ殺菌剤としての可能性を示した。

そこで今回、ホオノキ樹皮中の抗菌物質を単離・分析し、それらの活性について検討した。

なお本要旨は、日本防衛防衛学会第26回年次大会(1999年5月、豊中市)で発表した概要である。

## 2. 実験方法

### 2.1 抽出

樹皮粉末(100g, 含水率8.8%)を、1 l アセトンで3回抽出した。ろ過後、その抽出物を濃縮し、n-ヘキサンおよび酢酸エチルで逐次抽出した。

第1図に示したように、ヘキサン可溶部はさらに、5%水酸化ナトリウム可溶部および中性部に分画した。一方、酢酸エチル可溶部を濃縮し、エーテルで抽出した。そのエーテル可溶部をさらに、2%炭酸ナ

トリウム、5%水酸化ナトリウム可溶部および中性部に分画した。

### 2.2 抗菌成分の単離

粉碎した樹皮50gを8hr蒸留し、黄色の油状物質を得た(収率0.23%)。シリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィーにより得られた物質は、標準物質である *eudesmol* と比較することにより、既知のセスキテルペンである *eudesmol* ( ) の異性体混合物であることがわかった(第2図)。

また、粉碎した樹皮254gを、ベンゼンで3時間還流し、ろ過、濃縮した後、0.2M水酸化ナトリウム水溶液で抽出した。さらにアルカリ抽出物を濃塩酸で酸性化し、n-ヘキサンで抽出した。n-ヘキサンを濃縮後、藤田ら<sup>8</sup>の方法により、酢酸鉛で処理した。それをn-ヘキサン-アセトン(9:1)を溶媒としたシリカ

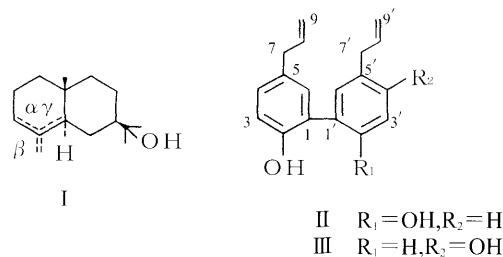
ゲル・カラムクロマトグラフィーで分離し、2.74gの magnolol (II) と 0.64g の honokiol (III) を得た (第2図)。

magnololはベンゼン-エーテル混合液で再結晶化した。その性状は以下のとおり。無色、形状：板状晶、融点102.5-103.0°C, *lit.* 102°C<sup>8)</sup>。MS m/z: 266 (M<sup>+</sup>, 100%)。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 3.36 (4H, *d*, *J*=6.4, H-7,7'), 5.05-5.12 (4H, *m*, H-9,9'), 5.36-5.38 (2H, D<sub>2</sub>O), 5.96 (2H, *ddt*, *J* = 17.1, 10.1, 6.4, H-8,8'), 6.96 (2H, *d*, *J* = 8.4, H-3,3'), 7.07 (2H, *d*, *J* = 2.0, H-6,6'), 7.14 (2H, *dd*, *J* = 8.4, 2.0, H-4,4')。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 39.3 (C-7,7'), 115.8 (C-9,9'), 116.7 (C-3,3'), 124.0 (C-1,1'), 129.9 (C-4,4'), 131.3 (C-6,6'), 133.2 (C-5,5'), 137.5 (C-8,8'), 151.0 (C-2,2')。

honokiolもまたベンゼン-エーテル混合液で再結晶化した。その性状は以下のとおり。無色、形状：板状晶、融点87.5-88.0°C, *lit.* 87.5°C<sup>9)</sup>。MS m/z: 266 (M<sup>+</sup>, 100%)。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 3.35 (2H, *d*, *J* = 6.4, H-7), 3.46 (2H, *d*, *J* = 6.4, H-7'), 5.04-5.23 (4H, *m*, H-9,9'), 5.12 & 5.24 (2H, D<sub>2</sub>O), 5.97 (1H, *ddt*, *J* = 17.0, 10.1, 6.4, H-8), 6.04 (1H, *ddt*, *J* = 17.0, 10.1, 6.4, H-8'), 6.90 (1H, *d*, *J* = 8.4, H-3), 6.92 (1H, *d*, *J* = 8.4, H-3'), 7.02 (1H, *d*, *J* = 2.0, H-6), 7.05 (1H, *dd*, *J* = 8.4, 2.0, H-4), 7.21 (1H, *d*, *J* = 2.0, H-6'), 7.22 (1H, *dd*, *J* = 8.4, 2.0, H-2')。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 35.1 (C-7'), 39.4 (C-7), 115.56 (C-9'), 115.60 (C-9), 116.6 (C-3'), 116.9 (C-3), 126.4 (C-5'), 127.7 (C-1), 128.5 (C-2'), 128.8 (C-4), 129.6 (C-1'), 130.2 (C-6'), 131.1 (C-6), 132.3 (C-5), 136.0 (C-8'), 137.8 (C-8), 150.7 (C-2), 153.9 (C-4')。

### 2.3 抗菌活性試験

ホオノキ樹皮から得られた抽出物および単離物の抗菌活性を調べた。供試菌として、木材腐朽菌 (担子菌類) であるオオウズラタケ (*Fomitopsis palustris* FFPRI 0507), ヒイロタケ (*Pycnoporus coccineus* FFPRI Ps1h), ナミダタケ (*Serpula lacrymans* FFPRI 0739) およびカワラタケ (*Trametes versicolor* FFPRI 1030), また植物病原菌である *Fusarium oxysporum* (IFO 30709-不完全菌類), コムラサキシメジ (*Lepista sordida* HFPRI 90-3-担子菌類), *Pythium aphanidermatum* (IFO 7030-卵菌類), *Rhizoctonia solani* (IFO 30936-不完全菌類), *Typhula incarnata* (F 59-1-担子菌類) および *Typhula ishikariensis* (F 59-2-担子菌類) を用いた。あらかじめシャーレの平面培



第2図 ホオノキ樹皮抽出物から単離した抗菌物質  
Fig. 2. Antifungal components isolated from the bark extract of *M. obovata*.

地で培養しておいた上記の供試菌を、直径4mmのコルクボーラで打ち抜き、各単離物を添加した試験培地に接種した。抗菌活性は次の式により求めた。

$$\text{抗菌活性 (\%)} = [1 - (\text{Gt}/\text{Gc})] \times 100$$

Gt: 試験培地上での菌糸成長半径

Gc: コントロール培地上での菌糸成長半径

### 3. 結果と考察

第1表に、抽出によって得られた各画分 (濃度500 μg/ml) の供試菌に対する抗菌活性を示した。

n-ヘキサン可溶部および酢酸エチル可溶部は、カワラタケ以外のすべての供試菌に対して強い抗菌活性を示したが、水可溶部はどの供試菌に対しても抗菌活性を示さなかった。この結果により、抗菌物質が脂肪族親和性の成分中に存在している可能性が示唆された。

n-ヘキサン可溶部をさらに酸性画分 (5% NaOH可溶部) と中性画分に分画した。酸性画分は、ヒイロタケ、ナミダタケおよび *R. solani* の成長を完全に阻止したが、中性画分はナミダタケと *R. solani* 以外では活性を示さなかった。

酢酸エチル可溶部をエーテル可溶部と不溶部に分画し、さらにエーテル可溶部を強酸性画分 (2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>可溶部), フェノール画分 (5% NaOH可溶部) および中性画分に分画した。第1表で示したように、酢酸エチル可溶部はアルカリ溶液で抽出することにより、その活性は強くなった。特に、フェノール画分はカワラタケおよび *F. oxysporum* を除いたすべての供試菌の成長を完全に抑制した。これらの結果から、脂溶性成分である強酸性画分およびフェノール画分に抗菌成分が存在していることが推定された。

ホオノキ樹皮の脂溶性成分が強い抗菌活性を示し

第1表 ホオノキ樹皮抽出物の抗菌活性  
Table 1. Antifungal activity of various fraction of *Magnolia ovobata* bark extract.

	抗菌活性 (%) Antifungal activity (%)									
	FO	FP	LS	PA	PC	RS	SL	TIN	TIS	TV
アセトン抽出物 Crude Acetone extract	80	84	69	88	78	87	100	70	55	34
n-ヘキサン可溶部 n-Hexane solubles	83	91	72	86	88	88	99	86	84	31
酸性部 Acidic fraction	84	82	51	96	100	100	100	82	73	19
中性部 Neutral fraction	15	20	38	26	21	60	68	26	27	13
酢酸エチル可溶部 EtOAc solubles	82	85	73	77	73	89	100	78	56	34
エーテル可溶部 Et <sub>2</sub> O soluble part	81	76	69	86	84	91	100	71	67	13
酸性部 Acidic fraction	90	94	97	100	100	98	100	100	95	24
フェノール性部 Phenolic fraction	97	100	100	100	100	100	100	100	100	44
中性部 Neutral fraction	51	58	34	57	56	77	100	60	32	16
エーテル不溶部 Et <sub>2</sub> O insoluble part	70	62	61	77	61	83	100	61	18	18
水可溶部 Water soluble	8	1	6	0	0	0	0	6	1	12

注：抽出物濃度500 μg/ml で試験を行った。

凡例：FO： *F. oxysporum*；FP：オオウズラタケ；LS：コムラサキシメジ；

PA： *P. aphanidermatum*；PC：ヒイロタケ；RS： *R. solani*；SL：ナミダタケ；TIN： *T. incarnata*；TIS： *T. ishikariensis*；TV：カワラタケ

Note：The antifungal assay was conducted at a concentration of 500 μg/ml.

Legend：FO： *F. oxysporum*；FP： *F. palustris*；LS： *L. sordida*；PA： *P. aphanidermatum*；

PC： *P. coccineus*；RS： *R. solani*；SL： *S. lacrymans*；TIN： *T. incarnata*；

TIS： *T. ishikariensis*；TV： *T. versicolor*

たので、樹皮精油についても同様の試験を行った(第2表)。精油は樹皮アセトン抽出物に比べて、担子菌および *R. solani* に対して強い抗菌活性を示し、カワラタケ、ナミダタケ、オオウズラタケ、コムラサキシメジおよび *T. ishikariensis* の成長を完全に抑えた。精油をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離・精製し、eudesmolを得た(異性体混合物)。藤田ら<sup>10)</sup>は、和厚朴(ホオノキ樹皮)の精油にはセスキテルペンであるeudesmolが独占的(95~97%)に含まれていることを報告した。第2表に示したように、eudesmolはすべての供試菌に対して強い活性を示し、特に担子菌で顕著であった。これらの結果は、ホオノキ樹皮の脂溶性成分中に存在する抗菌物質が、eudesmolであることを示している。

一方、樹皮の精油の収量が0.3%以下と極めて低いため、精油と比較して酸性およびフェノール成分がより大きく抗菌活性に寄与していると考えられた。そこで、ベンゼン抽出物を0.2M NaOHでさらに抽出し、TLC上で現れる二つのフェノール成分を含む物質を得た。そのフラクションをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離・精製し、2種のビフェニルを得た。MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMRデータとそれらの文献値<sup>8,9,11,12)</sup>を比較することにより、それらをmagnololおよびhonokiolと同定した。これらビフェニル型ネオリグナンは、ホオノキ属のみに特異的に存在する成分である<sup>8,9,11,13)</sup>。magnololおよびhonokiolは強い抗菌活性を示したが、カワラタケ、コムラサキシメジおよび *R. solani* に対しては、eudesmolに比べて

第2表 ホオノキ樹皮成分の抗菌活性  
Table 2. Antifungal activity of *M. obovata* bark components.

	抗菌活性 Antifungal activity (%)									
	FO	FP	LS	PA	PC	RS	SL	TIN	TIS	TV
アセトン抽出物 Crude Acetone extract	80	84	69	88	78	87	100	70	55	34
精油 Volatile bark-oil	73	100	100	88	73	95	100	89	100	100
Eudesmol (I)	73	84	100	90	100	100	100	93	100	100
Magnolol (II)	79	80	56	92	83	87	100	84	100	55
Honokiol (III)	93	95	77	94	100	90	100	100	100	32

注：抽出物濃度500 μg/ml で試験を行った。

凡例：FO： *F. oxysporum*；FP：オオウズラタケ；LS：コムラサキシメジ；  
PA： *P. aphanidermatum*；PC：ヒイロタケ；RS： *R. solani*；SL：ナミダタケ；  
TIN： *T. incarnata*；TIS： *T. ishikariensis*；TV：カワラタケ

Note：The antifungal assay was conducted at a concentration of 500 μg/ml.

Legend：FO： *F. oxysporum*；FP： *F. palustris*；LS： *L. sordida*；PA： *P. aphanidermatum*；  
PC： *P. coccineus*；RS： *R. solani*；SL： *S. lacrymans*；TIN： *T. incarnata*；  
TIS： *T. ishikariensis*；TV： *T. versicolor*

活性が低かった。honokiolはナミダタケ、ヒイロタケおよび *Typhula* spp.の成長を完全に阻止した。一方、magnolol はナミダタケおよび *T. ishikariensis*の成長を抑えただけである。これらのことから、ビフェニル構造におけるベンゼン環上の水酸基の位置は、抗菌活性に影響を及ぼすことが推定された。

#### 4. ま と め

ホオノキ樹皮中には、植物病原菌や木材腐朽菌に対して活性を示す成分が存在する。単離およびバイオアッセイの結果、それらはeudesmol, magnololおよびhonokiolであることがわかった。

これらの成分は、天然の抗菌物質としての可能性を持つことが示された。

#### 文 献

- 1) Watanabe, K. *et al.* : *Jpn. J. Pharmacol.*, **25**, 605-607(1975).
- 2) Watanabe, H.; Watanabe, K. ; Hagino, K. : *J. Pharm. Dyn.*, **6**, 184 - 190 (1983).
- 3) Watanabe, K. *et al.* : *Planta Med.* , **49** ,103 - 106(1983).
- 4) Namba , T. *et al.* : *Shoyakugaku Zasshi*, **35** (4) , 295

-302 (1981).

- 5) Namba, T.; Tsunozuka, M.; Hattori, M. : *Planta Med.*, **44**, 100-106 (1982).
- 6) Namba, T. *et al.* : *Shoyakugaku Zasshi*, **36** (3), 222 - 227(1982).
- 7) Mori, M. *et al.* : *Holz Roh - Werkst.*, **55**, 130-132 (1997).
- 8) 藤田路一, 糸川秀治, 指田豊 : 薬学雑誌, **93** (4), 422 - 428 (1973).
- 9) Fujita, M.; Itokawa, H. ; Sashida, Y. : *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 212 - 213 (1972).
- 10) 藤田路一, 糸川秀治, 指田豊 : 薬学雑誌, **93**(4), 415 - 421 (1973).
- 11) El - Feraly, F. S. ; Li, W. : *Lloydia*, **41** (5), 442 - 449 (1978).
- 12) Ito, K. *et al.* : *Chem. Pharm. Bull.*, **30** (9), 3347 - 3353 (1982).
- 13) 藤田路一, 糸川秀治, 指田豊 : 薬学雑誌, **93** (4), 429 - 434 (1973).

一性能部 耐朽性能科一

一 \* 1 : きのこ部 主任研究員一

一 \* 2 : 秋田県立大学 木材高度加工研究所一

(原稿受理99.6.1)