

アシタバ(*Angelica keiskei* Koidzumi)の根、茎および葉部の抽出と その溶媒分画

菅本 和寛¹⁾・松下 洋一²⁾・松井 佳菜³⁾・柴田 嵩大⁴⁾・朴 鍾喆⁵⁾・松井 隆尚⁶⁾

Extraction and Solvent Fractionation of Roots, Stems, and Leaves of Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi)

Kazuhiro SUGAMOTO, Yoh-ichi MATSUSHITA, Kana MATSUI, Takahiro SHIBATA,
Jong Cheol PARK, and Takanao MATSUI

Abstract

The roots, stems, and leaves of Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi) growing in Miyazaki were extracted and fractionated with solvent. These extracts and fractions were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), and were evaluated for antibacterial activities.

Key words:

Ashitaba (*Angelica keiskei* Koidzumi), Antibacterial activity, 4-Hydroxyderricin, Xanthoangelol

1. 緒言

アシタバ (*Angelica keiskei* Koidzumi) は、房総半島、三浦半島、伊豆諸島を中心とした太平洋沿岸に自生しているセリ科の大型多年草であり、フラボン類や多種のクマリン類および、他のセリ科植物に見られない特徴的なカルコン類を有している。また、産地によりアシタバの形態、成分面に差異があることが確認されている¹⁾。主成分であるカルコン類の 4-Hydroxyderricin (1) および Xanthoangelol (2) は抗菌活性²⁾をはじめ様々な活性が報告されている³⁻⁶⁾。

本研究では、アシタバの根、茎、および葉に含まれる 1 と 2 を効率的に得る検討を行った。アシタバの根、茎、および葉のメタノール抽出を行い、さらに得られた抽出物をヘキサン、酢酸エチルで順次溶媒分画し 1 と 2 がどの分画に多く含まれるか調べた。また、メタノール抽出物および溶媒分画物について抗菌活性を評価した。

2. 実験

2.1 試料、試薬および測定機器

宮崎県国富町産アシタバ根、茎、葉 (大島系、2008 年 11 月 20 日採取) を 60℃ の乾燥器で約 50 時間乾燥し、葉はパワーブレンダー MX2050 (BRAUN) で、茎と根はウイレー型粉砕機 1029-A (吉田製作所) を用いて粉末状にした後、抽出に用いた。試料の含水率は、加熱乾燥式水分測定器 MX-50 (AND 株式会社) により重量減少から求め、根は 4.6 %、茎は 12.7 %、葉は 9.4 %

1) 宮崎大学工学部物質環境化学科助教

2) 宮崎大学工学部物質環境化学科准教授

3) 宮崎大学大学院工学研究科物質環境化学専攻院生

4) 宮崎大学大学院工学研究科物質環境化学専攻院生

5) 順天大学校生命産業科学大学韓薬資源学科教授

6) 宮崎大学工学部物質環境化学科教授

であった。

遠心分離機はH-103N(国産化学)を用いた。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析には送液ユニットLC-6AD、オンラインデガッサDGU-20AS、オートサンブラSIL-10AF、検出器SPD-20A、およびフラクションコレクタFRC-10A(島津)を用いた。分析条件は以下の通りである。検出器、紫外可視分光光度計検出器; 検出波長, 330 nm; 使用カラム, Inertsil ODS-3 (4.6 mmφ × 150 mm, ナカライテスク); 流速, 0.8 cm³/min; 分離液, H₂O: MeOH=30:70; 温度, 30 °C; 濃度, 5 mg/cm³

2.2 アシタバ根、茎および葉の抽出・分離

2.2.1 アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出

宮崎県国富町産アシタバ根部(含水率 4.6 %) 100 g をメタノール 300 cm³ で 3 時間加熱還流抽出した。冷却後吸引ろ過し、メタノール抽出液を減圧下で溶媒留去した。試料は繰返し抽出し、以上の操作を計 4 回行い、合計 19.7 g (収率 20.7 %) の赤茶色粘性固体のメタノール抽出物を得た。また、茎および葉についても同様の操作で抽出を行い、茎(含水率 12.7 %) 60 g から 26.9 g (収率 51.3 %)、葉(含水率 9.4 %) 60 g から 20.1 g (収率 36.9 %) のメタノール抽出物を得た。

2.2.2 アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出物の溶媒分画

2.2.1 で得たアシタバ根メタノール抽出物 17.3 g を 2 つの遠心管に分け、ヘキサンを 80 cm³ ずつ加え、遠心分離機 (2500 rpm、20 分間) で遠心分離を行った。デカンテーションでヘキサン層を分離した。残った沈殿物は再び同容量のヘキサンを加えて、攪拌混合後遠心分離した。この溶媒分画操作を合計 4 回繰り返した。合わせたヘキサン層は、減圧下で溶媒を留去し、アシタバ根部メタノール抽出物ヘキサン可溶物 1.8 g (収率 1.8 %) を得た。ヘキサン不溶物は常温で放置し十分に乾燥させ、得られたヘキサン不溶物 15.1 g を 2 つの遠心管に分け、酢酸エチルを 80 cm³ ずつ加え、ヘキサン分画と同様の操作を行い、アシタバ根部メタノール抽出物酢酸エチル可溶物 1.2 g (収率 1.2 %) を得た。酢酸エチル不溶物は常温で放置し十分に乾燥させ、アシタバ根メタノール抽出物酢酸エチル不溶物 13.6 g (収率 13.6 %) を得た。また、茎および葉についても同様

の操作で溶媒分画を行い、アシタバ茎メタノール抽出物 26.9 g からアシタバ根メタノール抽出物ヘキサン可溶物 0.7 g および酢酸エチル可溶物 0.4 g、アシタバ葉メタノール抽出物 20.1 g からアシタバ葉メタノール抽出物ヘキサン可溶物 3.4 g および酢酸エチル可溶物 0.5 g を得た。

2.3 アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出物およびその溶媒分画物の抗菌活性試験

既報⁷⁾に従い、アシタバ根、茎および葉部のメタノール抽出物、ヘキサン可溶物および酢酸エチル可溶物と既報のカルコン類 **1** と **2** を試料とし、グラム陰性菌の *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Ralstonia solanacearum* グラム陽性菌の *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* を用いて抗菌試験を行った。

3. 結果および考察

3.1 アシタバ根、茎および葉の抽出・分離

3.1.1 アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出

宮崎県国富町産アシタバ根 100 g、茎 60 g、葉 60 g それぞれを酢酸エチルで 4 回 3 時間加熱還流抽出し根より 19.7 g、茎より 26.9 g、葉より 20.1 g のメタノール抽出物を得た。

3.1.2 アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出の溶媒分画

アシタバ根メタノール抽出物 17.3 g からヘキサン、酢酸エチルの順に溶媒分画操作を行い、アシタバ根メタノール抽出物ヘキサン可溶物 1.8 g、酢酸エチル可溶物 1.2 g、酢酸エチル不溶物 13.6 g を得た。また、茎(26.9 g)および葉メタノール抽出物(20.1 g)を用いて同様の操作を行い、茎メタノール抽出物ヘキサン可溶物 0.7 g、酢酸エチル可溶物 0.4 g、葉メタノール抽出物ヘキサン可溶物 3.4 g、酢酸エチル可溶物 0.5 g を得た。

3.2 アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出物およびその溶媒分画物の HPLC) 分析

アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出物、ヘキサン可溶物、および酢酸エチル可溶物を HPLC で分析した (Fig. 1-3)。アシタバに含まれるカルコン類である **1**

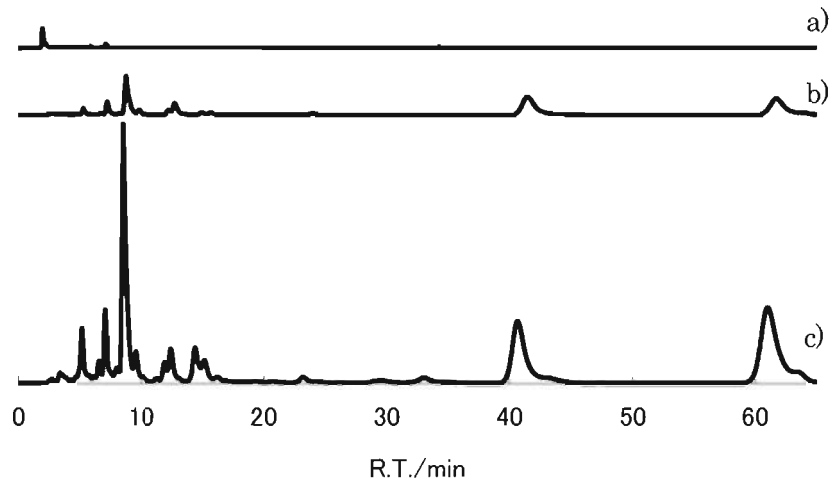


Fig. 1 HPLC chromatograms of extract and fractions of Ashitaba roots. a) MeOH extract, b) Hexane-soluble fraction, c) EtOAc-soluble fraction.

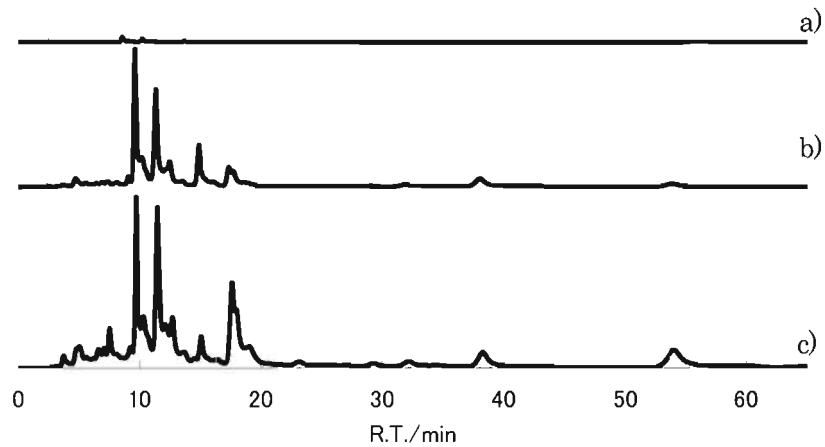


Fig. 2 HPLC chromatograms of extract and fractions of Ashitaba stems. a) MeOH extract, b) Hexane-soluble fraction, c) EtOAc-soluble fraction.

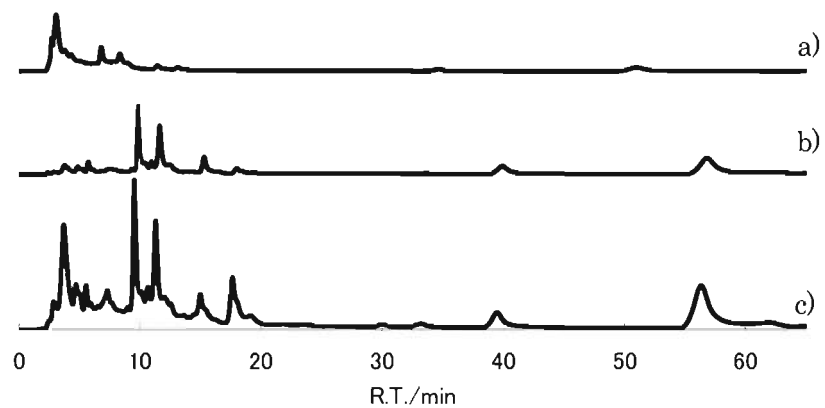


Fig. 3 HPLC chromatograms of extract and fractions of Ashitaba leaves. a) MeOH extract, b) Hexane-soluble fraction, c) EtOAc-soluble fraction.

および2はアシタバ根>茎>葉の順に多く存在した。また、アシタバ根、茎および葉いずれも酢酸エチル可溶物>ヘキサン可溶物>メタノール可溶物の順に1および2の濃度が高かった。溶媒分画によりメタノール抽出物から1および2を濃縮して得られることがわかった。

3.3 アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出物およびその溶媒分画物の抗菌活性試験

アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出物とその溶媒分画物およびアシタバに含まれるカルコン類である1と2の抗菌活性の評価結果を表1にまとめた。酢酸エチル可溶部の抗菌活性は、その抽出部位により活性が異なった。根>茎>葉の順に抗菌活性が強く、特に根はグラム陰性菌の *R. solanacearum* とグラム陽性菌に対し強い抗菌活性を示

した。単離したカルコン1と2も同じ菌に対し強い抗菌活性を示し、ポジティブコントロールの Chloramphenicol と同程度の活性であった。以上の結果より、カルコン1と2を多く含む根の酢酸エチル抽出物が強い抗菌活性を示したと考えられる。

4. まとめ

- 1) アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出を行った。メタノール抽出量は茎>葉>根の順に多かった。
- 2) アシタバ根、茎および葉のメタノール抽出をヘキサン、酢酸エチルを用いて順次溶媒分画を行った。得られた分画物を HPLC で分析した結果、根のメタノール抽出物酢酸エチル可溶部に主要カルコンである1と2が多

Table 1 Antibacterial effect of extracts and fractions of roots, stems, leaves, and isolated compounds 1 and 2

Bacterium		Minimum inhibition concentration / $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$					
		MeOH extract of roots	MeOH extract of stems	MeOH extract of leaves	Hexane-soluble fraction of roots	Hexane-soluble fraction of stems	Hexane-soluble fraction of leaves
Type	Strain						
Gram-negative	<i>E.coli</i>	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048
	<i>P.mirabilis</i>	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048
	<i>P.fluorescens</i>	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048	>2048
	<i>R.solanacearum</i>	1024	2048	2048	128	512	512
Gram-positive	<i>B.subtillis</i>	1024	2048	2048	128	512	512
	<i>M.luteus</i>	512	2048	>2048	512	512	512

Bacterium		Minimum inhibition concentration / $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$				
		EtOAc-soluble fraction of roots	EtOAc-soluble fraction of stems	EtOAc-soluble fraction of leaves	1	2
Type	Strain					
Gram-negative	<i>E.coli</i>	>2048	>2048	>2048	>256	>256
	<i>P.mirabilis</i>	>2048	>2048	>2048	>256	>256
	<i>P.fluorescens</i>	>2048	>2048	>2048	>256	>256
	<i>R.solanacearum</i>	<64	2048	2048	4	2
Gram-positive	<i>B.subtillis</i>	<64	512	2048	2	4
	<i>M.luteus</i>	>2048	512	2048	2	4

く含まれていた。

- 3) アシタバ根部メタノール抽出物酢酸エチル可溶部はグラム陰性菌の *R. solanacearum* とグラム陽性菌に対し強い抗菌活性を示した。カルコン 1 と 2 も同じ菌に対し強い抗菌活性を示したことから、1 と 2 を多く含む根の酢酸エチル抽出物が強い抗菌活性を示したと考えられる。

参考文献

- 1) K. Nakata, H. Katsumata, M. Taniguti, S. Kita, K. Baba, *Natural Medicine*, **51**, 532-536 (1997).
- 2) Y. Inamori, K. Baba, H. Tsujibo, M. Taniguchi, K. Tanaka, M. Kozawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1604-1605 (1991).
- 3) T. Okuyama, M. Takata, J. Takayasu, T. Hasegawa, H. Tokuda, A. Nishino, H. Nishino, A. Iwashoma, *Planta Med.*, **57**, 242-246 (1991).
- 4) Y. Kimura, M. Taniguchi, K. Baba, *Planta Med.*, **70**, 211-219 (2004).
- 5) K. Tabata, K. Motani, N. Takayanagi, R. Nishimura, S. Asami, Y. Kimura, M. Ukiya, D. Hasegawa, T. Akihisa, T. Suzuki, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1604-1605 (1991).
- 6) 南 晴文, 谷口 雅彦, 芝野 真喜雄, 馬場 きみ江, 東京農総研研報, **2008**, 81-87.
- 7) Y. Matsushita, Y. H. Hwang, K. Sugamoto, T. Matsui, *J. Wood Sci.*, **52**, 552 (2006).