

ユリ科ハランの抗菌性成分に関する研究

高野 三郎

Studies on Antimicrobial Components of the Cast Iron Plant Belonging to Liliaceae

Saburo Takano

緒言

ユリ科植物に属するハランは、主に根が生薬として利尿剤や鎮咳剤などに用いられてきた¹⁾。しかし、その有効成分は如何なるものか未詳とされている。前報²⁾では、ハラン根茎成分をアルコール溶出したものおよびそれを精製したものについて各種の植物病原菌を用い抗菌性を調べ報告した。その結果、特にイネいもち病菌やバナナ炭そ病菌に効力があることが認められた。

今回、ハラン根茎のアルコール抽出後、濃縮する際に生ずる白色物質をカラムクロマトグラフィーと薄層クロマトグラフィー (TLC) で精製し、単一製品とした。このものがジオスゲニンと糖から成るジオスゲニン配糖体であることを前回認めてきたが、この研究をさらに進め、ハラン根茎の精製画分を硫酸で加水分解した。得られた糖画分はまだ成分組成が知られていないので、その糖組成を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) とガスクロマトグラフィー (GLC) で検討したところ、若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 試料の調製 ユリ科植物のハランは千葉県茂原市の民家の庭より採取したものである。常法に従い、ハラン根茎の凍結乾燥粉末200g

をエタノールで繰り返し抽出した。この抽出液を濃縮する際に生ずる白色粉末をワコーゲルC-100を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、クロロホルム：メタノール：水=65：25：4 (V/V) の混合溶媒で溶出し、得られたC-1、C-2画分のうち、特に抗菌性の強いC-2画分を分取 TLC で精製し単一の製品Tとした。精製物はメタノールで再結した。

次に試料の精製粉末Tはジオスゲニン配糖体であることを認めたが、糖の成分組成が不

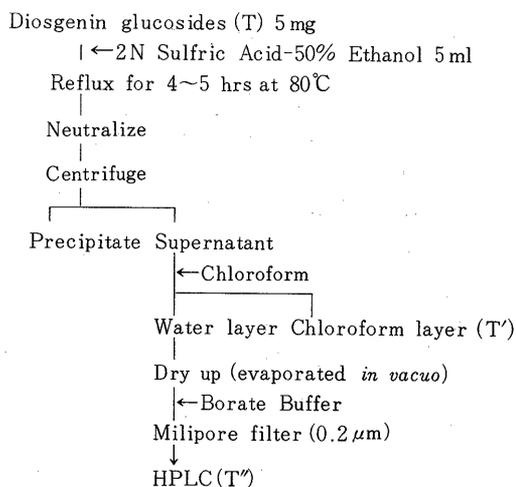


Fig1 Procedure on the Hydrolysis of
Diosgenin Glycosides (T)

明であった。そこで試料Tを5mgとり、2N-硫酸-50%エタノール5mlを加え、約4~5時間加熱還流して加水分解を行った。水解物は減圧下で濾過し、クロロホルムに可溶のアグリコンT' (ジオスゲニン画分) とメタノールに易溶の糖画分T''を得た。T''はホウ酸緩衝液に溶解した後、ミリポアフィルターで濾過を行いHPLC用の試料とした。

2. 試料T''の分析 配糖体Tを加水分解し得られた糖画分T''はHPLCで分析した。

HPLCはウォーターズ社のものでカラムは東ソー(株)の糖分離用カラムTSK gel Sugar AXIを用いた。反応には1.0M水酸化ナトリウムと100mM塩酸ベンズアミジンを用いた。流速は1分あたり0.3mlとした。

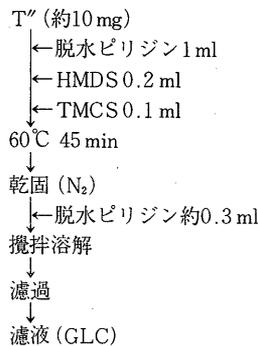


図2 GLC用糖のTMS化法

表1 HPLCの溶離条件

- ・注 入 量：15 μ l (120nmol/ml)
- ・カ ラ ム：TSK gel Sugar AXI
- ・溶 離 液：0.5Mホウ酸 (pH8.7)
- ・流 速：0.3ml/min
- ・圧 力：16kg/cm²
- ・反 応：A. 1.0M 水酸化カリウム
B. 100mM 塩酸ベンズアミジン
- ・反応 温度：110°C
- ・検 出 器：蛍光検出器 (ポストカラム反応法)
Ex=287.5nm、Em=470nm

糖の分析は確認のためにGLC分析も行った。GLCは島津社製のGL-6A型でT''をトリメチルシリル化(TMS化)して用いた。カラムはネオペンチルグリコールサクシネート(NGS)を用い170°Cまでの昇温で行った。

結果および考察

前報でハラン根茎のメタノール抽出物の抗菌性について検討し報告した。それによるとバナナ炭そ病菌やイネいもち病菌、レモンの緑かび病菌などに抗菌性を示した。さらに、アルコール抽出物を濃縮する際に白色物質をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画し、得られた成分C-1、C-2をバナナ炭そ病菌を用いて抗菌試験するとC-2画分に特に強い活性がみられた。このC-2画分はさらに分取TLCを行い単一製品(T)とした。Tはリーベルマン、ブルハルト反応を用いたステロイド反応やアンスロン反応を用いた糖反応はそれぞれ陽性を示した。同時にTを2N硫酸-50%エタノールで水解して得たアグリコンはジオスゲニンであることがTLCと融点から認められた。精製画分Tはジオスゲニン配糖体であることが示唆された。これよりTの水解成分T''はまだ糖組成が判明していない。そこで今回はTを2N硫酸50%エタノールで加水分解した後、水酸化バリウムで中和した。硫酸バリウムの沈殿を遠心分離で除き、得られた上清にクロロホルムを加え良く振盪してクロロホルム可溶のアグリコン(ジオスゲニン)を除去し、水層は乾固した後にホウ酸緩衝液に溶解した。ミリポアフィルターで濾過して得られた画分(糖画分T'')をHPLC用の試料とした。HPLCでT''を分析する際のTの加水分解時間は4~5時間とした。これは一般に配糖体の酸加水分解には数時間要することが知られているからである³⁾。Tを加水分解時間4時間で酸水解した後に得たT''をHPLC分析するとガラクトース、キ

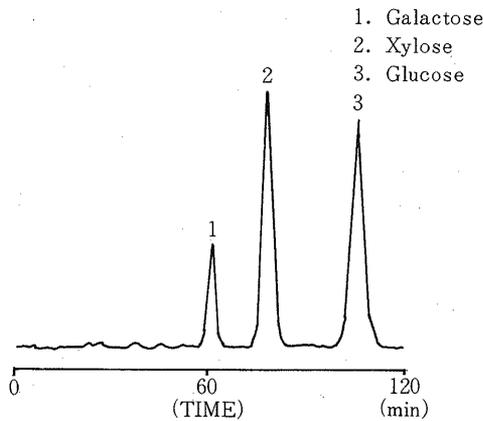


図3 T'のHPLCによるクロマトグラム
試料T(6.1mg), 加水分解時間(4時間)

表2 T'のHPLC分析による定量値

試料: T(6.1mg)
加水分解時間: 4時間

PEAK.NO	TIME	AREA	CONC(μmol)	NAME
1	62	155369	74.9	GALACTOSE
2	72	401112	105.0	XYLOSE
3	103	498673	229.7	GLUCOSE

キシロース、グルコースのピークが現われた。これらは標準物質の保持時間とほぼ一致した。これらの糖組成を調べるために、それぞれの面積比から算出したところガラクトース：キシロース：グルコースの糖比（キシロースを100とした場合）は71：100：218となった。

次にTを加水分解5時間で酸水解し、同様にT''をHPLC分析するとガラクトース、キシロース、グルコースのピークがみられ、これも標準物質の保持時間と一致した。これらのデータからT''の成分はガラクトース、キシロース、グルコースから成ることが推察された。さらに糖組成を面積比（キシロースを100とした場合）から求めるとガラクトース：キシロース：グルコースの糖比は82：100：227となった。

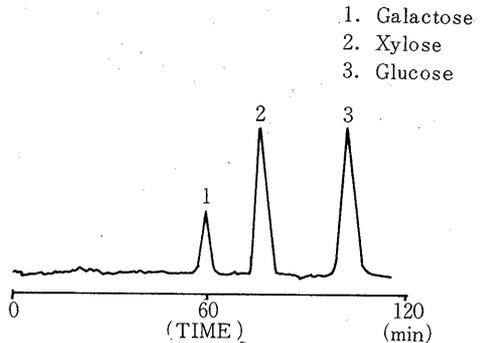


図4 T''のHPLCによるクロマトグラム
試料T(3.5mg), 加水分解時間(5時間)

表3 T''のHPLC分析による定量値

試料: T(3.5mg)
加水分解時間: 5時間

PEAK.NO	TIME	AREA	CONC(μmol)	NAME
1	60	89621	42.8	GALACTOSE
2	71	204440	52.5	XYLOSE
3	99	272613	119.5	GLUCOSE

以上Tの加水分解時間4～5時間の定量値より糖比を算出した結果、ガラクトース：キシロース：グルコースの糖比はほぼ1：1：2であると推測された。

表4 キシロースを100とした糖比(ガラクトース：キシロース：グルコース)

加水分解時間	3時間30分	4時間	5時間
糖比	50:100:187	71:100:218	82:100:227

ジオスゲニン配糖体Tの2N硫酸-50%エタールでの加水分解によって糖画分T''が得られるが、加水分解では、先ずキシロースが増加する。次にグルコース、最後にガラクトースが遊離することが第4表からも読みとれる。これよりジオスゲニン配糖体の糖部分はキシロースが一番外側に結合し、その内側にグルコースがおそらく2分子結合して存在し、ジオスゲニンとはガラクトースが直接化合しているものと推測される。また、ジオスゲニン

配糖体Tを2N硫酸-50%エタノール溶液で加水分解した後得られた糖画分T”をTMS化して糖成分をGLC分析したところ、保持時間よりガラクトース、キシロース、グルコースの存在することが確かめられた。

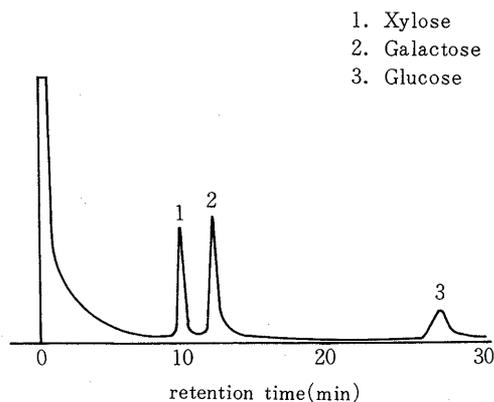


図5 T”のガスクロマトグラム

以上の結果よりユリ科植物のハラン根茎に含まれる抗菌成分はステロイド化合物のジオスゲニンにD-ガラクトース、2分子のD-グルコース、D-キシロースの付いた推定構造式が考えられる。なお本物質の確認は質量分析、元素分析など今後結果を待たねばならない。

参考文献

- 1) 刈米達夫、木村康一監修：廣川植物大事典、廣川書店、P 286 (1977)
- 2) 高野三郎、生活科学研究第11集、45(1989)
- 3) HIRAI Y、KONISHI T、SANADA S、IDA Y and SHOJI J : Chem Pharm Bull., 30, 3476 (1982)

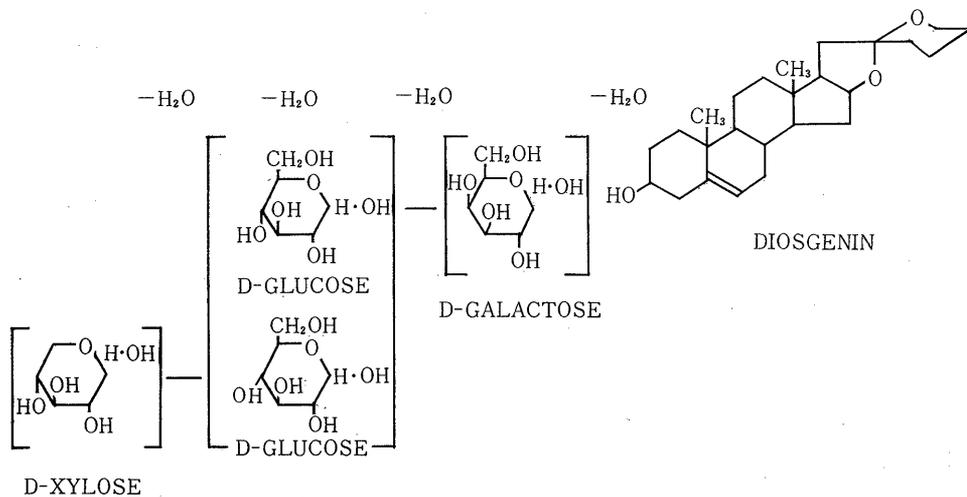


図6 ハランに含まれる抗菌成分の推定構造式