

Manuka Oilの脂質組成

石川 博 美*

Lipid Composition of Manuka Oil

Hiromi Ishikawa

抄 録

ニュージーランドに広く分布する植物のManukaは古くから民間薬として知られ、葉、花、樹皮を煎じて飲んだり、皮膚疾患や内臓疾患に用いられている。また、Manuka honey, Manuka oil, Manuka teaなどにも多く利用されている。Manukaは“*Leptospermon*”を含有しており、*Helicobacter pylori*に抗菌的に作用することが報告されている。そこでManukaの葉や樹皮から抽出した脂質の脂質含有量や脂質組成を検討した結果、葉に多くの脂質が含有されており、脂質組成、脂肪酸組成の変化もみられ、リン脂質も検出された。

〔緒論〕ニュージーランドに広く分布している植物のManuka (*Leptospermum*) は古くから伝統的な民間薬として知られている。

Manukaはフトモモ科の植物で日本で一般的に知られている植物では、コアラの食用としているユーカリの木が同一種族の植物であり、そのManukaの副産物として、Manuka oilやManuka honeyまたManuka teaなどが、ニュージーランドでは一般的に広く利用されている。ニュージーランドの原住民であるマオリ族の人々は、マヌカの葉、花、樹皮を煎じて飲んだり、葉を利用した蒸気浴、樹皮の浸出液を皮膚治療に、樹液を循環器系に用いたりしていた。Manukaには抗菌成分が含まれていることから、その効用は腹痛、胃炎、感冒などの内臓疾患をはじめ、切り傷や火傷などの皮膚疾患に、さらにはアロマセラピーなどと広範囲である。^{1) 2) 3) 4)}

特に近年、抗菌成分が含まれているとして

注目され、Manukaは“*Leptospermon*”を含有しており、*Helicobacter pylori*に抗菌的に作用することが報告されている。

また、Manuka oilについても抗菌の効果が期待できるという報告⁵⁾もある。しかし、いずれもManukaの副産物についての研究である。そこでManukaの葉と樹皮について脂質含有量や脂質組成について検討したので報告する。

実験方法

1) 試料調製

ニュージーランドより入手したManukaの葉と樹皮より抽出した脂質を試料として用いた。Manukaの葉は酵素活性を防ぐために熱湯に数秒くぐらせ乾燥させて用いた。葉、樹皮ともに細かく粉砕してクロロホルム：メタノール (2 : 1, $\frac{V}{V}$) の溶媒を使用し、Folch⁶⁾らの方法に準じて抽出を行なった。すなわち、試料の10倍料のFolch溶媒を用いて3時間振とう攪拌し漏液を分けとる。この操作を3回以上繰り返した後、漏液部分を混

*いしかわ ひろみ 文教大学教育学部

合して減圧下で溶媒を留去し、残渣を再び、Folch溶媒に溶解させ、0.2容の純水を用いて洗浄して、非脂質成分と一部の糖脂質成分を除去後、再び減圧下で濃縮し総脂質を得た。

2) 脂質の分画

Manukaの葉と樹皮より抽出した脂質について、それぞれアセトン分画を行なった。約100mgの脂質を含む試料溶液15mlを窒素気流下にて濃縮し、これにアセトン5mlとメタノール性塩化マグネシウムを混和し、1時間水冷する。全液を遠心して上澄を回収し沈殿物を冷アセトン2mlで洗浄する。この操作を2回繰り返す、沈殿物と上澄液をそれぞれに窒素気流下において濃縮し、減圧下で乾燥する。これらをそれぞれ秤量し、上澄部分から単純脂質を、沈殿部分より複合脂質を得た。

3) 脂質組成の測定

Manukaの葉、樹皮より抽出した総脂質の分子種と分画した単純脂質と複合脂質の分子種を調べるために、一次展開および二次展開の薄層クロマトグラフィー(TLC)を行なった。展開溶媒としては、一次展開溶媒として、石油エーテル：ジ・エチルエーテル：酢酸(50：50：1)、二次展開溶媒としては、クロロホルム：メタノール：アンモニア：水=(130：70：6：4)、クロロホルム：アセトン：メタノール：酢酸：水=(100：40：20：20)の溶媒で展開した。

4) 脂肪酸組成の測定

Jham⁶⁾らの方法によりその構成脂肪酸をメチルエステル化した後、それぞれの脂質に5%塩酸メタノールを加え、100℃以上で1時間以上加熱する。加熱後、水とヘキサンを加え3回以上水洗いし、ヘキサン層を残しガスクロマトグラフィー(GLC)で分析を行なった。FID-GLC分析の条件としては、PACKARD-5890型ガスクロマトグラフィー、カラムはステンレスカラム(2.5mmφ×30)を用い、充填剤はシリカゲルDB-23を使用、カラム温度昇温の230℃：FID検出器温度250℃：キャリアーガスはヘリウムで分析を行なった。

実験結果および考察

1) Manukaの水分と脂質含有量

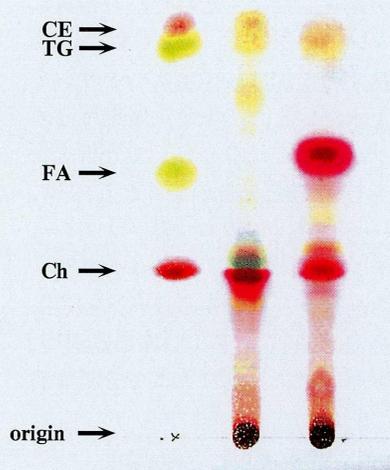
Manukaの葉と樹脂に含有される水分含有量は表-1に示すように葉の方が9.7%、樹皮に7.7%であった。総脂質はManukaの葉は23.9%、樹皮は0.7%と葉に比べて樹皮の含有量が少なかった。ニュージーランドではManuka teaとして飲用されており、日本の煎茶や紅茶等に含有される総脂質量は約5%~2.5%であり、Manukaの葉の脂質含有量と比べるとManukaの葉に約5~10倍量の脂質が含まれていた。

2) Manukaの葉と樹脂の脂質組成と収量

Manukaの葉と樹皮のアセトン分画による脂質区分について表-1に示すように、単純脂質区分(主に中性脂質)は葉、樹皮共に約70%以上であり、複合脂質区分(主にリン脂質)については、葉、樹皮共に約25%以上含有されており、中性脂質がリン脂質の約3~4倍量含まれていた。リン脂質の多くはきわめて不安定であるため中性脂質の方へ多少は移行したのもあるかも知れない。葉の方には比較的多くのリン脂質が含有されていると思われる。

Table1. Contents of Water and Lipids in Manuka Leaves and Chips

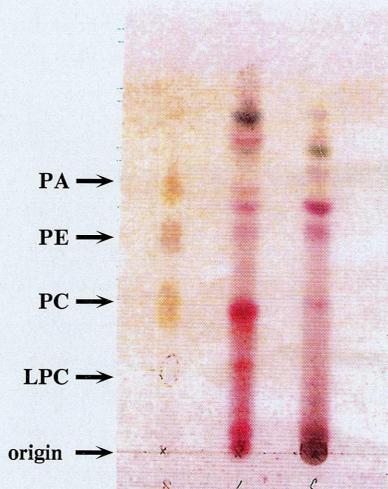
	Water (%)	Total lipids (%)	Lipid (%)	
			simple lipids	complex lipids
Leaves	9.7	23.9	75	25
Chips	7.7	0.7	70.6	29.4



Standard Leaves Chips

Fig.1 Thin-layer Chromatogram of Neutral Lipid Manuka and Chips

Solvent:Petrolatum ether/ Diethyl ether/ Acetic acid=60:40:1 v/v
 CE:cholesterol ester, TG:triacylglyceride
 FA:free fatty acid, Ch:free cholesterol
 Sprayed with 50% H₂SO₄



Standard Leaves Chips

Fig.2 Thin-layer Chromatogram of Proslipolipids in Manuka Leaves and Chips

Solvent;[(CH₃)₂CHCH₂]₂CO:CH₂COOH:H₂O=45:25:5(v/v)
 PA:Phosphatidic acid, PE:Phosphatidyl ethanolamine
 PC:Phosphatidyl choline LPC:Lisophosphatidyl choline
 Sprayed with 50% H₂SO₄

3) 中性脂質の分子種の同定

アセトン分画により分画した中性脂質を、TLCにより一次展開を行ない図-1に示すような結果が得られた。標準の脂質と同定するとRf値がほぼ同位置のものが判別された。そのためよりはっきりと判断し同定するために、同様の操作で脂質をTLCで展開させ、同位置にあるスポットを薄層板よりけずり取り、一定量を集め、これをそれぞれの分子種ごとに、アセチル化、エステル化した後、TLCを行ないRf値の同定後確認を行なった。Manukaの葉に主に含有されている分子種はステロイド系が多く、次にトリアシルグリセリド(TG)コレステロールエステルが主な構成成分であり、少量の遊離脂肪酸が含まれていた。

また、樹皮の方に含有されている中性脂質は、葉と同じようにステロイド系が多く、ついでコレステロールエステルが主であり、少量の遊離脂肪酸とトリグリセライドが含有さ

れていた。また、原点近くに糖脂質と、他に未知物質が認められた。ステロイド系については植物であるため、植物特有の多くのステロール類が含有されているものと思われる。

4) リン脂質の分子種の同定

複合脂質の分別には、まず一次展開を行ない図-2に示すような結果が得られた。これらのスポットを各リン脂質と判別するために、標準リン脂質を薄層板に付け、試料と同時に展開させ各リン脂質の単離検討を行って、主なものをとり出した。一次展開においては、主にホスファチジルコリン(PC)、ホスファチジルエタノールアミン(PE)が多く含有されており、次いでホスファチジン酸(PA)とリゾホスファチジルコリン(LPC)等も判別できた。これらをTLCの二次展開で展開させた結果を図-3に示す。Manukaの葉において、標準リン脂質のTLCを図-3'に示す

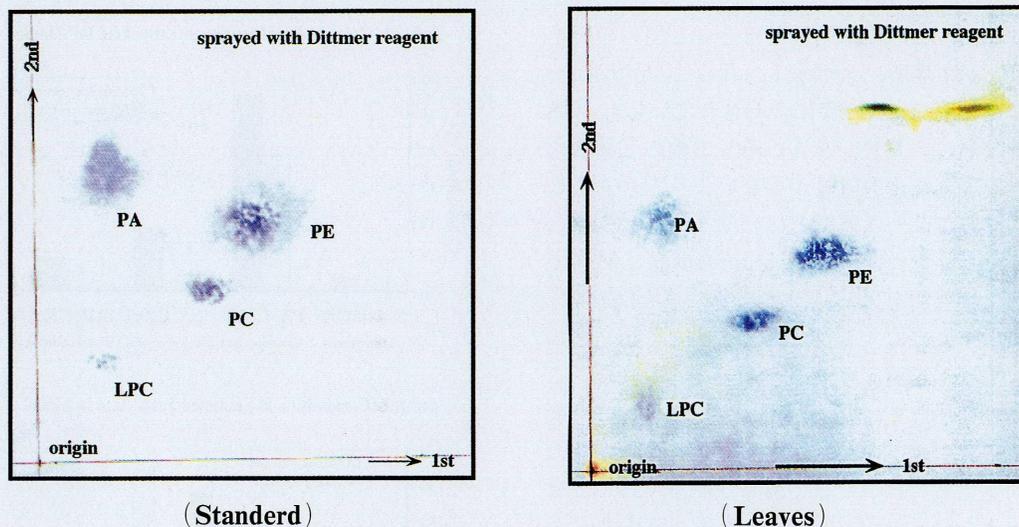


Fig.3 Thin-layer Chromatogram of Proslipolipids in Manuka Leaves

1st : $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}:\text{H}_2\text{O} = 65:35:3:2$ v/v
 2nd: $\text{CHCl}_3:\text{CH}_2\text{COCH}_3:\text{MeOH}:\text{AcOH}:\text{H}_2\text{O} = 10:4:2:2:1$ v/v
 PE:phosphatidyl ethanolamine,PC:phosphatidyl choline
 PA:phosphatidic acid,LPC:lisophosphatidyl choline

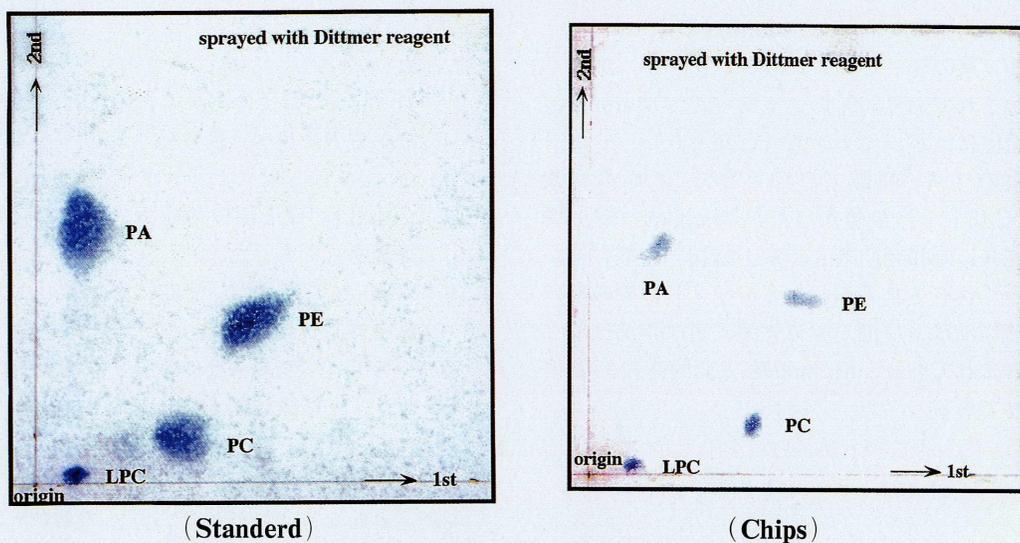


Fig.4 Thin-layer Chromatogram of Proslipolipids in Manuka Chips

1st : $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}:\text{H}_2\text{O} = 65:35:3:2$ v/v
 2nd: $\text{CHCl}_3:\text{CH}_2\text{COCH}_3:\text{MeOH}:\text{AcOH}:\text{H}_2\text{O} = 10:4:2:2:1$ v/v
 PE:phosphatidyl ethanolamine,PC:phosphatidyl choline
 PA:phosphatidic acid,LPC:lisophosphatidyl choline

ように、この標準脂質とほとんど同一のRf値を示す場所にスポットを得ることが出来た。ゆえにManukaの葉に含有されているリン脂質はPC, PE, PA, そして他の3種の含有量より多少含有量が少ないようだがLPCも同定され一次展開とほぼ同一の結果が得られた。また、同様にManukaの樹皮についても二次展開を行なった結果、図-4と図-4'に示すように、PC, PE, PA, LPCのスポットを同定することができた。また、ここには示していないが、2, 3の他のリン脂質のスポットを見付ける事が出来たが、まだ同定するにはいたっておらず明証することは出来なかったが、Manukaの葉、樹皮共にリン脂質が含有されている事は確認できた。

5) Manukaの葉および樹皮の脂肪酸組成

表-2, 3に示すようにManukaの葉や樹皮の脂肪酸組成はミリスチン酸(C14:0)からドコサヘキサエン酸(C22:6)までが構成脂肪酸であった。Manukaの葉には(n=3)系の α -リノレン酸(C18:3)が多く含まれており30%以上であった。Manukaの樹皮にはパルミチン酸(C16:0), (n=6)系のリノール酸(C18:2), オレイン酸(C18:1)が多かった。Manukaの葉、樹皮共に飽和脂肪酸よりも不飽和脂肪酸の量が多く含有されており、 α -リノレン酸の多い植物油はシソ油, エゴマ油, アマニ油に多く含まれており、Manukaも大変興味のある植物である。

Table2. Composition of Saturated Fatty Acid in Manuka

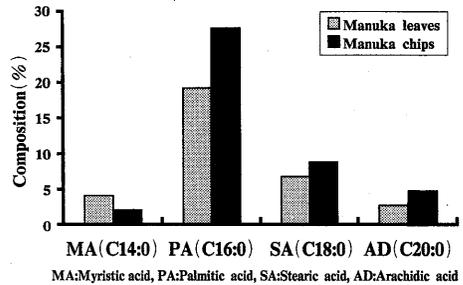
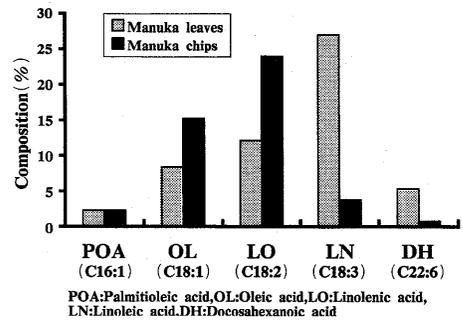


Table3. Composition of Saturated Fatty Acid in Manuka



まとめ

1. Manukaの葉に含まれる総脂質は約23%であるのに比べ、樹皮は1%以下であった。
2. Manukaの葉と樹皮の総脂質量の約4%が複合脂質であった。
3. Manukaの葉および樹皮に含有されている中性脂質はともに、ステロール類、コレステロールエステルが多く含有されており、遊離脂肪酸も含まれていた。

以上今回は定性的段階での報告になったが現在定量的な方向に進めており、ステロール類を明らかにするとともに、脂質と抗菌性の関係、リン脂質のすべてを明確なものにする所存である。

文献

- 1) Vassilios M. Kapoulas, Sofia K. Mastronicolis, Z. Lebensm, Unters-Forsch. 163, 96-99 (1977)
- 2) N AL Somal N, Coley KE, Molan PC. JR Soc Med Jan; 87(1):9-12 (1994)
- 3) K. L. ALLEN, P. C. Molan and G. M. Reid J Pharm, Pharmacol. 43:817-822 (1991)
- 4) D. J. Willix, P. C. Molan and C. G. Harfoot Journal of Applied Bacteriology. 73, 388-394 (1992)
- 5) N. G. porter, A. L. Wilkins, L. phytochemistry, 50(3):407-415 (1999)
- 6) Folch, J., Lees, M. and Sloane-stanly, G. A.; J. Biol, Chem., 226, 497 (1957)
- 7) G. N. Jham, F. F. F. Teles, L. G. Campos: JAOCS. 59. 3 (1982)