

琉球大学学術リポジトリ

沖縄産薬草中の抗酸化物質の開発

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 市場, 俊雄 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002017055

沖縄産薬草中の抗酸化物質の開発

沖縄県工業技術センター 市場 俊雄

I. 概要

近年、糖尿病・高血圧・ガンなどの疾病の病態に活性酸素が関与していることが明らかとなってきた。従って活性酸素を消去する抗酸化物質は疾病予防・健康保持に極めて重要であり、抗酸化物質の摂取は健康増進・疾病予防の大きな戦略となりうる可能性がある。我々はこれまで地域コンソーシアム研究開発事業等で、沖縄産薬草の強い抗酸化作用を検討し、健康増進・疾病予防に活用できる魅力ある資源であることを確認している¹。

本研究では、新たな天然素材開発の一環としてモモタマナ (*Terminalia catappa* L.、しくんし科) 中の抗酸化成分および抗菌成分の分離を行った。その結果、2種のエラジタンニンと2種のフラボノイドを単離し、主にNMRスペクトルの解析によりこれら抗酸化および抗菌活性成分を同定したので報告する。

II. 方法

1. 抽出

琉球大学から供給された乾燥薬草を、粉砕機にて2分程度粉砕を行った後篩い分けし粗粒子 (>2 mm) および微粒子 (<0.85 mm) を取り除き、高速溶媒抽出装置 ASE200 (日本ダイオネクス) で抽出を行った。

高速溶媒抽出装置での抽出条件は以下のとおりである。

抽出溶媒：80%エタノール	抽出温度：100℃
抽出圧力：1500 psi	抽出時間：10分
	抽出回数：2回

2. 分析

分析は以下に示す条件で行った。

カラム：Cadenza CD-C18 (インタクト、4.6 mm×50 mm、3 μm)

カラム温度：45℃、流速：1 mL/min、検出：UV 210-600 nm

溶媒系：10分で、メタノール/1%酢酸 (5:95) からメタノールへのリニアグラジエント

3. 分取

① 遠心分配クロマトグラフィー (CPC) 分取条件

カラム：三鬼エンジニアリング CPC LLB-M

カラム回転数：1000 rpm、流速：2 mL/min、溶媒系：酢酸エチル/水

分離モード：逆相モード (下層を移動相)

注入：固定相 5 mL に試料 1 g を溶解して注入

分画：6分毎に30フラクション分取後反転し、順相モードで6分毎に10フラクション分取

② 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分取条件

カラム：Waters Symmetry C18 19 mm×300 mm 7 μm

流速：10 mL/min、検出：UV 280 nm

溶媒系：60分で、メタノール/1%酢酸 (5:95) からメタノールへのリニアグラジエント

注入：移動相 2 mL に試料を溶解して注入、分画：1分毎に60フラクション分取

③ ゲルろ過分取条件

カラム：TOYOPEARL HW40F 20 mm×500 mm

流速：1.5 mL/min、溶媒系：メタノール/水 (1:1)、検出：UV 280 nm

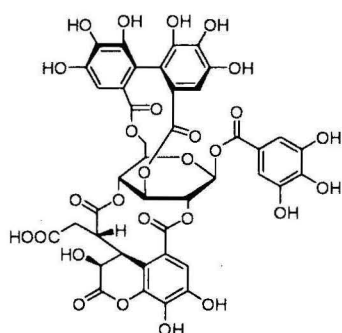
注入：移動相 5 mL に試料を溶解して注入、分画：6分毎に60フラクション分取

¹ 10年度地域コンソーシアム研究開発事業成果報告書「有用生物資源の多目的利用のための加工製造システムの研究開発」、財団法人南西地域産業活性化センター、平成12年

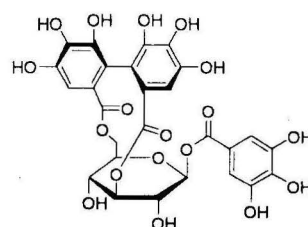
III. 結果

抽出は抗酸化成分の酸化のされ易さを考慮し、密閉系で抽出の行える高速溶媒抽出装置を用い、窒素雰囲気下、高温・高圧・短時間で行った。抽出溶媒は検討の結果、最も抗酸化、抗菌活性が効率良く抽出される 80%エタノールを用いた。

分離は抽出液をまず CPC により粗精製し、その画分 1 と 2 を HPLC により精製し 2 種のエラジタンニン単離した。これらは、1D、2D-NMR および MS スペクトルの解析によりそれぞれ、chebulagic acid と corilagin であると同一した。

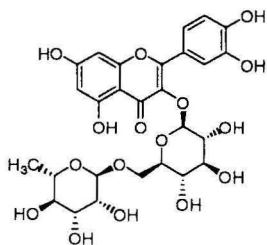


Chebulagic acid

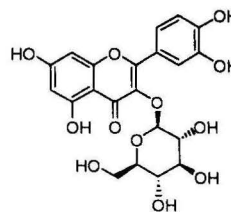


Corilagin

次に CPC の粗精製画分 3 をゲルろ過により精製することで、2 種のフラボノイドを得た。これらは、NMR および MS スペクトルを標品のそれと比較することにより rutin および isoquercitrin であると同一した。



Rutin
(Quercetin-3-rutinoside)



Isoquercitrin
(Quercetin-3-glucoside)

IV. まとめ

今回、モモタマナの抗酸化成分として 2 種のフラボノイド (rutin、isoquercitrin) と、2 種のエラジタンニン (chebulagic acid と corilagin) を同一した。タンニン類の単離に当たっては、固体の固定相を用いたクロマトグラフィーでは非可逆的な吸着のため収率が極端に低いことから、液体の固定相を用いる 2 液分配系の分配クロマトグラフィーを用いることを検討し、主タンニンの精製に成功した。

これらタンニン類は抗酸化活性ばかりではなく、MRSA をはじめとする耐性菌に対し強い抗菌活性を示したことから、今後これら成分分離のスケールアップを行い、*in vitro* だけではなく *in vivo* での活性試験で有効性を確認していく予定である。

V. 謝辞

本研究は、文部省の平成 11-13 年度科学研究費補助金 地域連携推進研究費 (2) による「沖縄産天然抗酸化成分の健康保持薬としての開発に関する薬理・化学的研究共同研究」のなかの分担課題として行ったものです。

本課題分担に関してこのような機会を与えていただいた琉球大学医学部保健学科の安仁屋洋子先生に心より感謝いたします。

またモモタマナからの抗菌成分単離に際し、各種抗菌活性試験をしていただいた琉球大学医学部保健学科の高嶺房枝先生に感謝いたします。