

アイラトビカズラの成分分析

熊本県立済々黌高等学校 化学部 小川颯大・白倉花野・中村佳乃・大村恵美・櫻間智穂子

1. はじめに

アイラトビカズラ(*Mucuna sempervirens*)とはマメ科トビカズラ属の常緑つる性植物で、中国に自生している常春油麻藤と同種であることが分かっている。アイラトビカズラは花の構造が特殊なため、特定の小動物がいなければ受粉することができない。しかし日本にはそのような小動物が生息していないため自然繁殖ができず現在日本国内では3か所しか発見されていない。その希少性から山鹿市の相良寺にあるアイラトビカズラは国の特別天然記念物に指定されている。中国で常春油麻藤はリウマチや虚血に効果があるとされ生薬として使用されている(図1)。



図1 アイラトビカズラの花

2. 研究の動機

2020年4月に相良寺のアイラトビカズラが剪定作業中に誤って伐採されてしまった(図2)。これまでは特別天然記念物であることから研究サンプルとして採取することができず、その含有成分や薬効についての調査はほとんど行われていなかった。そのため、今回伐採されたアイラトビカズラは、化学的に大変貴重なサンプルであることから、熊本大学が引き取った。そこで済々黌化学部は、アイラトビカズラのサンプルを分けていただき研究をすることにした。



図2 アイラトビカズラ伐採に関する記事

2. 伝承

源平合戦で敗れた平家の親党が相良寺に立てこもり、追ってきた源氏方が寺を焼き討ちした際に、寺の観音様がこのカズラに飛び移り難を逃れたことからトビカズラと名付けられた。このとき観音様がトビカズラに姿を変えて、坂を下る源氏の将の足に絡みつき、平家が討ち取ったとされている。

3. 目的

- ・アイラトビカズラに含まれる分子の単離
- ・単離した分子の生物活性の調査

4. 仮説

- ・新規分子の発見が期待される
- ・アイラトビカズラは常春油麻藤と似た薬効があると考えられる

5. 実験1 メタノール抽出

<操作>

- ①アイラトビカズラの茎を粉砕する
- ②粉砕したアイラトビカズラを2リットルフラスコの1/3程度つめメタノールを入れる。
- ③オイルバスにつけて1日還流する。
- ④残渣を吸引濾過し、エバポレーター(図3)を用いメタノールを除去する。

減圧留去(溶媒を除去)するために用いる。



図3 エバポレーター

6. 実験2 酸塩基分

<操作>

アイラトビカズラメタノール抽出物

←塩酸 1mol/L・・・①

←攪拌

←酢酸エチル・・・②

←分液抽出×1

<有機層>

←脱水 無水硫酸ナトリウム・・・③

←濾過

←減圧留去

<水層>

←飽和炭酸水素ナトリウム水溶液・・・④

←10%メタノール/クロロホルム混合液・・・⑤

←分液抽出×2

←脱水

←濾過

←減圧留去

- ①メタノール抽出物に入っている塩基性の物質を中和反応により水に溶けやすい塩にする。
- ②酢酸エチルを入れ酸性・中性物質を含むと考えられる有機層と塩基性物質を含むと考えられる水層に分ける。
- ③無水硫酸ナトリウムを入れ有機層に残った微量な水分子を取り除く。
- ④飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を入れ、塩になっていた塩基性物質をもとの有機物のかたちに戻す。
- ⑤10%メタノール/クロロホルム混合液を入れ塩基性物質を有機層に溶かす。



図4 分液抽出し得られた酸性抽出物(左)・塩基性抽出物(右)

<結果>

アイラトビカズラメタノール抽出物19.5、9 mgから酸性・中性抽出物16.2、5 mg、塩基性抽出物14、3 mg(図4)を得た。分子の単離には多量の抽出物が必要になるため、比較的収量の多い酸性・中性抽出物に着目し研究を進めた。

7. 実験3 呈色液・溶媒検討

<実験方法>

TLC(薄層クロマトグラフィー)を用いて呈色液・溶媒検討を行った(表1)(表2)。

<結果>

①呈色液検討

リンモリブデン酸

→発色がよく、ヨウ素に比べ保存に適しているため。

②溶媒検討

1.4%酢酸エチル/ヘキサン混合液

検討した呈色液・溶媒を用いてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにした。



図5 リンモリブデン酸を使用した呈色の様子

表1 呈色液検討

	KMnO ₄	バニリン	ニンヒドリン	ヨウ素	リンモリブデン酸	UV
×	×	△	×	×	○	△

	クロロホルム/ヘキサン	5%	15%	30%	40%	50%
リンモリブデン酸	×	×	×	×	×	×
酢酸エチル/ヘキサン	10%	14%	20%	50%		
リンモリブデン酸	△	○	×	×		

表2 溶媒検討

8. 実験4 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

<操作>

- ①カラムに酸性・中性抽出物を入れる(図6)
- ②展開溶媒を入れる(1.4% A/H→ 50% A/H→ 3% M/A)
- ③精製物を試験管に集める
- ④集めたものをTLCで確認する(UV→リンモリブデン酸)
- ⑤減圧留去する

A: 酢酸エチル
C: クロロホルム
H: ヘキサン
M: メタノール

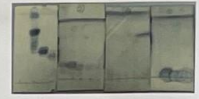


図7 試験管20本分のTLC

<結果>

精製物は試験管20本分集まり、TLCのスポットの位置で4つのフラクションに分けた(図7)。

試験管	1~3: fr1	27.9 mg
	4: fr2	6.3 mg
	5~16: fr3	6.1 mg
	17~20: fr4	84.1 mg fr:分画物

試験管4は1つだけはっきりとしたスポットが見えたため、1つのフラクションに分けている。fr3は試験管の本数に比べて分画物が少なかった。

図6 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

9. 実験5 NMR測定

<説明>

NMR装置(核磁気共鳴装置)

有機化合物の構造決定や分子に含まれている原子を調べることができる装置(図8)。

<結果>

分子の単離までは至ることができなかった。1ppm~2ppm付近のピークは-CH₂-や-CH₃などの炭化水素基に由来するものであることがわかっていく。

このピークの特徴から熊本大学の石川教授は、トリテルペン類やステロイド類によるピークではないかと解析された(図9)。

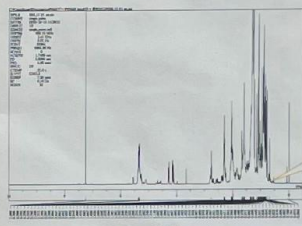


図9 NMR結果(fr1)



図8 NMR装置

10. 考察(酸塩基分)

結果から、塩基性物質が著しく少ない事が分かった。その事実より2つの事が考えられる。

- ①アイラトビカズラに含まれる塩基性物質の割合が少ない。
- ②塩基性物質と塩酸がうまく反応しなかった。

今後検討すること

- ・塩酸の量を増やす
- ・攪拌の時間を延ばす

10. 考察(呈色液・溶媒検討)

- ①ヨウ素でスポットが呈色したこと、UVでスポットが発光したことから、抽出物に含まれる分子は不飽和結合(二重結合や三重結合)を持つことが予想される。
- ②アイラトビカズラの酸性・中性抽出物に含まれる分子には、クロロホルム/ヘキサン系溶媒では展開できない程度の極性があると考えられる。

今後検討すること

- 他の極性溶媒で展開することができるか検証する

10. 考察(NMR)

- ①NMR解析の結果ステロイド類の様なピークが見られた。
- ②ステロイド類は抗炎症作用を持つものが多い。
- ③中国で抗炎症作用を示す生薬として用いられる。

今後検討すること

- ・トビカズラの抗炎症作用はステロイド類に由来する可能性がある
- ・アイラトビカズラの分画物にステロイド類が含まれている可能性が高い

11. 参考文献

日本の天然記念物 出版: 講談社/日本の野生植物 出版: 平凡社/新牧野日本園鑑
著者: 牧野 富太郎/熊本大学薬学部 薬草園植物データベース「アイラトビカズラ」/A new locality for *Mucuna sempervirens* Hemsley and its floral morphology
著者: 中西 弘樹/内野 晋治/JATAFF日本の特別天然記念物【動物と植物】相良のトビカズラ 公益社団法人農林水産・食品産業技術振興協会

12. 謝辞

今回研究を進めるにあたり、温かいご指導、ご鞭撻いただきました熊本大学理学部 石川研究室の皆様、山鹿市教育委員会 山口様に感謝申し上げます。