

資料 38

米国 環境保護局 再登録適正判定品目 要項

(EPA R.E.D FACTS)

チモール (THYMOL)

【和訳】

農薬の再登録制度

アメリカにおいては販売若しくは供給される農薬は、全て EPA (環境保護局) に登録されなければならない。

人又は環境に不当な危険を引き起こすことなしに使用することが出来る科学的な研究結果を示すことに基づいている。

何故ならば科学的知識の発達により、法律は最初数年前に登録された農薬に対しては、今日の更に厳しい基準を満たして確実にするために再登録することを要求する。

農薬の再登録の評価について、EPA は各農薬の人の健康と環境への影響について農薬製造者が作成した完全な研究一式を得て再検討する。

当局は各農薬の危険度を効果的に監督するのに必要とされる規定上の管理を負っている。

EPA に再登録の農薬は人の健康又は環境への不当な危険を引き起こすことなく使用することが出来る。

ある農薬が再登録品目に相応しい時、EPA はこの事を公表し、そして何故「RED (再登録適正判定品目)」なのかを説明する。

この Fact Sheet はチモール (Thymol) に関する RED の資料の概要である。

使用概要

チモールはタイムの油の構成成分で植物：タイム (タチジャコウソウ 学名：Thymus vulgaris L) に含まれる天然の混合物の構成成分である。

チモールは家畜用防虫剤、殺菌剤、医療用消毒剤、殺結核菌、殺ウイルス、として登録されている農薬製品の有効成分である。

これらの製品は室内、戸外を問わず多種多用に使われる。その防除目的は家畜

や鳥、リス、ビーバー、ネズミ、マウス、ネコ、イヌ、シカの虫害防除と、病原細菌、カビ菌、HIV-1を含むいくつかのウイルスの蔓延防止である。

製品は液体であって、その用法にはスプレー、モップ、ブラシ用、ふき取り浸漬、エアゾル、浸漬用、それに部分処理用がある。

チモールは農薬以外の用途にも広く使われている。その用途は芳香剤、食品の香味料、口中洗浄、調合薬剤や化粧品である。

登録認可の歴史

チモールは最初、家畜の防虫用として使用するための農薬として1964年にアメリカで登録された。

最近では5種類の最終製品（製造用でない）が、チモールを有効成分として含有する農薬製品として登録されている。

チモール、タイムの精油と植物タイム（香辛料）は人間の飲食用の食品としても、食添加物としてもFDA（米国食品医薬品局）によって認められている。

これらは社会通念として安全性、GRAS（安全確認）（21 CFR 172.515, 182.10, 182.20 参照）が確保されていると考えられている。

歴史的にみるとチモール製品と他の液体化学殺菌剤は、農薬としてはFIFRA（連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法）に基づいてEPAで、考案物についてはFFDCA（連邦食品・医薬品・化粧品法）に基づいてFDAで、言わば二重の規制となっていた。

二重規制による混乱と責任からEPAとFDAは1993年6月4日MOU（覚書）を交わし、これらの殺菌剤の将来の規制について明らかにした。

覚書では医薬用機器との関連から化学的殺菌液は2カテゴリーに分けられた。1種は装置用の消毒剤としてFDAによって管理される。1種の汎用殺菌剤は農薬としてEPAが管理する。

これらの区分は永久的で完全な区分け規則が出来る迄である。

登録用のデータはどちらの局に出しても良い。

チモールの再登録には法に従い必要データをEPAに提出しなければならない。

人間の健康への評価

チモールはEPAが再登録に適している農薬の中の一つであるとの考えから、一般的なデータの要求条件をかなり引き下げている。

そのため、当局はチモールに対し最も一般的なデータの要求条件である化学的純度、生成物の化学的研究について追加情報を含む基本的と考えられる研究は特例として免除している。

チモールの人間の健康と環境への危険度の評価について、EPA は一般的に入手出来る科学的文献を資料として認めている。

チモールは有機化合物の混合物の構成成分で環境中において急速に低減することが知られている。チモールは農薬に利用されることが常識的に期待されている成分で、通常の生物学的、物理学的或いは化学的工程で生産される基本的な化合物である。

農薬としてのチモールは非毒性方式の作用により脊椎動物に対する害虫を撃退するが、微生物に対しては毒性がある。

EPA では製品ラベルに記載の取り扱い基準による使用においてチモールの人又は環境への如何なる有害情報も聞いていない。

当局はチモールに関係する重大な事故に関する報告は一切受けていない。

利用可能な文献情報ではラット及びモルモットに対する急性経口毒性は毒性カテゴリーⅢに相当する。(カテゴリーⅠは最も高い毒性水準を示し、カテゴリーⅣは最も低い水準を表す)

技術的段階の MSDS (製品安全データシート) にはチモールは人間の皮膚及び目への接触、吸入暴露に対し刺激性があると記載されている。

人への皮膚リスクは毒性カテゴリーⅢである。

現在登録製品を使っている人に対する暴露と健康リスクが相対的に低減することが期待されている。

しかしながら、最終製品の取り扱いと使用は皮膚や吸入経路によって、より大きな危険性を引き起こす可能性がある。

要求される製品特有の急性毒性試験は当局がこれらの暴露に関わる潜在的な危険度を適切にラベル表示するよう立案出来る。

チモールの使用は環境への影響を無視出来るものであり、生物への影響も対象外であると言う結果を想定している。

EPA は現在登録されている有効成分にチモールが使われている農薬製品は、人間の健康にも環境にも不当で有害な影響は一切出て来ないであろうと結論を下している。

以上



R.E.D. FACTS

資料 39

THYMOL

Pesticide Reregistration

All pesticides sold or distributed in the United States must be registered by EPA, based on scientific studies showing that they can be used without posing unreasonable risks to people or the environment. Because of advances in scientific knowledge, the law requires that pesticides which were first registered years ago be reregistered to ensure that they meet today's more stringent standards.

In evaluating pesticides for reregistration, EPA obtains and reviews a complete set of studies from pesticide producers, describing the human health and environmental effects of each pesticide. The Agency imposes any regulatory controls that are needed to effectively manage each pesticide's risks. EPA then reregisters pesticides that can be used without posing unreasonable risk to human health or the environment.

When a pesticide is eligible for reregistration, EPA announces this and explains why in a Reregistration Eligibility Decision or RED. This fact sheet summarizes the information in the RED for thymol.

Use Profile

Thymol is a constituent of oil of thyme, a naturally occurring mixture of compounds in the plant *Thymus vulgaris* L., or thyme. Thymol is an active ingredient in pesticide products registered for use as animal repellents, fungicides/fungistats, medical disinfectants, tuberculocides, and virucides. These products are used on a variety of indoor and outdoor sites, to control target pests including animal pathogenic bacteria and fungi, several viruses including HIV-I, and birds, squirrels, beavers, rats, mice, dogs, cats and deer. Products are liquids applied by spray, mop, brush-on, wipe-on dip, aerosol, immersion and spot treatment. Thymol also has many non-pesticidal uses, including use in perfumes, food flavorings, mouthwashes, pharmaceutical preparations and cosmetics.

Regulatory History

Thymol was initially registered as a pesticide in the United States in 1964 for use as a repellent for domestic animals. Currently, five end-use (and no manufacturing use) pesticide products containing the active ingredient

thymol are registered. Thymol, thyme essential oil and thyme (spice) are listed by the Food and Drug Administration (FDA) as foods for human consumption, as well as food additives. They are considered Generally Recognized as Safe or GRAS. (Please see 21 CFR 172.515, 182.10 and 182.20.)

Historically, certain thymol products and other liquid chemical germicides have been regulated both by EPA as pesticides under the Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA), and by FDA as devices under the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA). To resolve the confusion and burden of dual regulation, EPA and FDA signed a Memorandum of Understanding (MOU) on June 4, 1993, which clarifies the future regulation of these germicides. The MOU divides liquid chemical germicides used in conjunction with medical devices into two categories: sterilants, which will be regulated by FDA as devices, and general purpose disinfectants, which EPA will regulate as pesticides. Until rulemaking is completed to permanently vest jurisdiction over these categories, regulatory data need only be submitted to one Agency. For thymol, the conditions of reregistration must be fulfilled and required data must be submitted to EPA.

Human Health Assessment

Thymol is among those pesticides for which EPA believes a broadly reduced set of generic data requirements is appropriate for reregistration. The Agency, therefore, has waived most generic data requirements for thymol with the exception of studies that are considered essential, including additional information about chemical purity, and product chemistry studies. In evaluating thymol's potential risks to human health and the environment, EPA relied on information commonly available in scientific literature.

Thymol is a constituent of a mixture of organic compounds known to be rapidly degraded in the environment to elemental compounds by normal biological, physical and/or chemical processes that can reasonably be expected to exist where the pesticide is applied. As a pesticide, thymol repels vertebrate pests by a non-toxic mode of action, but is toxic to microorganisms. EPA is not aware of any adverse effects of thymol to humans or the environment when it is used in a manner prescribed by product labeling. The Agency has no significant incident reports involving thymol.

Toxicity data reported in available literature indicate that acute oral toxicity for rats and guinea pigs corresponds to Toxicity Category III (Category I

signals the highest degree of acute toxicity, and Category IV the lowest). The Material Safety Data Sheet (MSDS) for technical grade thymol notes that it is irritating to humans when exposed by inhalation, dermal or eye contact. The dermal risk to humans would be Toxicity Category III.

Exposures and health risks to people using currently registered products are expected to be relatively low. However, handling and use of the end-use products could involve greater exposure by the dermal and inhalation routes. Required product specific acute toxicity testing will enable the Agency to design appropriate labeling to address these potential exposure concerns.

The uses of thymol will result in negligible exposure of the environment and nontarget organisms. EPA concludes that the use of thymol as an active ingredient in currently-registered pesticide products should not result in unreasonable adverse effects to human health or the environment.

Additional Data Required

Although EPA has waived most generic studies for thymol, the Agency is requiring information on the manufacturing process and additional information about the characterization of the thymol used in the formulated products. EPA also is requiring product-specific data, including product chemistry, acute toxicity and efficacy studies, as well as revised Confidential Statements of Formula and revised labeling, for reregistration.

Product Labeling Changes Required

The labels of all registered pesticide products containing thymol must comply with EPA's current pesticide labeling requirements.

Regulatory Conclusion

The use of currently registered pesticide products containing thymol in accordance with approved labeling will not pose unreasonable risks or adverse effects to humans or the environment. Therefore, all uses of these products are eligible for reregistration.

These thymol products will be reregistered once the required manufacturing process information, physical and chemical properties data, product-specific data, revised Confidential Statements of Formula and revised labeling are received and accepted by EPA. Products containing other active ingredients will be reregistered only when the other active ingredients also are determined to be eligible for reregistration.

For More Information

EPA is requesting public comments on the Reregistration Eligibility Decision (RED) for thymol during a 60-day time period, as announced in a

資料 40

農薬 FIFRA(連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法)セクション 25 (b) に基づく最小リスク農薬 米国環境保護局

(Minimum Risk Pesticides under FIFRA Section 25(b) Pesticides

US EPA)

【和訳】

最小リスク農薬 (Minimum Risk Pesticides)

最小リスク農薬は連邦政府の登録要件の対象にならない特別なクラスの農薬である。

それは有効成分、不活性成分の両者共、使用目的に対し安全性が証明されているからである。

これらの Web Page は最小リスク農薬を登録したいと考えている農薬メーカーへ詳細な情報を提供する。

FIFRA 25 (b) の適用免除の基準

特定の基準を満たす最小リスク農薬は連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法

(Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA)) のセクション 25 (b) に基づき連邦政府登録を免除されている。

米国環境保護局 (US EPA) は、登録はほとんどの州によって必要とされるけれども 25 (b) の基準を満たしている農薬については確認や登録には関知しない。貴方の州の最小リスク農薬に関する情報は貴方の州の農薬登録部署にお問い合わせ下さい。

連邦の最小リスク適用に必要な条件は下記の 5 条件全てを満たさなければならない。

条件 1: 製品は下記の表に記載されている有効成分を含んでいなければならない。

条件 2: 製品は不活性成分が EPA によって最小懸念の不活性成分リストの 4A に区分されている物でなければならない。最小懸念不活性成分とリスト 4A についての説明は EPA の Permitted Inert Web Page をご覧下

さい。

条件 3: 成分は全て (有効成分、不活性成分共に) 製品ラベルに記載しなければならない。有効成分 (類) は名前と重量%を記載しなければならない。不活性成分はそれぞれの名前を記載しなければならない。

条件 4: ラベルには虚偽又は誤解を招く文を載せてはならないし、最小リスク農薬が人または公衆の健康を守ると言う主張は禁止されている。例えばこれらの製品が連邦政府登録を免除されてからは、連邦政府登録、再審査、承認を暗示する言葉をラベルへ書き込む、このような製品ラベルと一致しない表示でこの製品を扱うことは連邦法の違反となる。又、EPA 登録を用いること、制定番号を記すことは認められていない。

条件 5: 一般に、公衆衛生上の請求は禁止されている。最小リスク農薬のラベルは、ある特定の病気と結び付ける方法で、げっ歯類、昆虫や微生物の有害を防除するための主張は出来ない。

EPA は製造者、散布者、又販売者のことを考慮して、最小リスク抗菌農薬製品は最初に農薬プログラムの抗菌部門オンブズマンと連絡を取るよう勧めている。彼らは提案された抗菌最小リスク製品の登録免除に対する厳格な要件を満たし、確保するための支援をすることが出来る。

更に EPA は食品や飼料に結果として残留する可能性のある全ての農薬に対し、その使用を意図して、EPA が許容範囲を設けない物、設ける物には最大残留限度の制定を要求している。

FIFRA(連邦殺虫剤・殺菌剤・殺鼠剤法)セクション 25 (b) に基づく連邦政府登録免除の有効成分

* は残留農薬の許容範囲の設定も免除されている、登録免除の有効成分を示す。

Castor oil (U.S.P. or equivalent)* ひまし油 (米国薬局方または同等品)	Linseed oil 亜麻仁油
Cedar oil シーダー油 (精油)	Malic acid リンゴ酸
Cinnamon and cinnamon oil* シナモンとシナモン油 (精油)	Mint and mint oil 薄荷と薄荷油 (精油)
Citric acid* クエン酸	Peppermint and peppermint oil* 西洋薄荷と西洋薄荷油 (精油)
Citronella and citronella oil シトロネラとシトロネラ油	2-Phenethyl propionate (2-phenylethyl)Propionate 2-フェネチル プロピオナート (2-フェニルエチル) プロピオナート
Cloves and clove oil 丁子と丁子油 (精油)	Potassium sorbate* ソルビン酸カリウム
Corn gluten meal* コーングルテンミール	Putrescent whole egg solid 腐敗した全卵固形分
Corn oil コーンオイル	Rosemary and rosemary oil* ローズマリーとローズマリー油 (精油)
Cottonseed oil* 棉実油	Sesame(includes ground sesami plant)And sesami oil* 胡麻 (すり胡麻、植物を含む) 胡麻油
Dried blood 乾燥血液	Sodium chloride(common salt)* 塩化ナトリウム (食塩)
Eugenol オイゲノール	Sodium lauryl sulfate ラウリル硫酸ナトリウム
Garic and garic oil* にんにくとにんにく油	Soybean oil 大豆油
Geraniol* ゲラニオール	Thyme and thyme oil* タイムとタイム油 (精油)
Geranium oil ゼラニウムオイル (精油)	White pepper 白胡椒

Lauryl sulfate ラウリル硫酸	Zinc metal strips(consisting solely of zinc metal and impurities) 被覆なし亜鉛金属（組成は純粋品と 不純物品）
Lemongrass oil レモングラスオイル（精油）	



Pesticides: Regulating Pesticides

You are here: [EPA Home](#) [Pesticides](#) [Regulating Pesticides](#) [Biopesticides](#) [Registration Tools](#) [Minimum Risk Pesticides under FIFRA Section 25\(b\)](#)

資料 41

Minimum Risk Pesticides

Minimum risk pesticides are a special class of pesticides that are not subject to federal registration requirements because their ingredients, both active and inert, are *demonstrably* safe for the intended use. These Web pages provide detailed information for pesticide companies who want to register minimum risk pesticide products.

Criteria for FIFRA 25(b) Exemption

Minimum risk pesticides that meet certain criteria are exempt from federal registration under section 25(b) of the Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA). The U.S. Environmental Protection Agency (EPA) does not review or register pesticides that satisfy the 25(b) criteria, though registration is required by most states. For information on minimum risk pesticides in your state, please contact [your state's pesticide registration office](#). [EXIT Disclaimer](#)

To satisfy the conditions required for federal minimum risk status, all five of the following conditions must be met:

Condition 1: The product must contain only active ingredients that are listed in the table below. The active ingredient of a product is the ingredient that kills, destroys, mitigates, or repels pests named on the product label.

Condition 2: The product must contain only those inert ingredients that have been classified by EPA as List 4A "Inert Ingredients of Minimal Concern." An explanation of the Inert Ingredients of Minimal Concern and links to List 4A are available on EPA's [Permitted Inerts](#) Web page.

Condition 3: All of the ingredients (both active and inert) must be listed on the label. The active ingredient(s) must be listed by name and percentage by weight. Each inert ingredient must be listed by name.

Condition 4: The label cannot include any false or misleading statements, and claims that minimum risk pesticides protect human or public health are prohibited. For example, since these products are exempt from federal registration, label language implying federal registration, review or endorsement, such as "It is a violation of federal law to use this product in a manner inconsistent with the label," or the use of an EPA registration or establishment number is not allowed.

Condition 5: In general, public health claims are prohibited. Minimum risk pesticide labels may not bear claims to control rodent, insect or microbial pests in a way that links the pests with any specific disease. EPA recommends that anyone considering manufacturing, distributing, or selling minimum risk antimicrobial pesticide products first [contact the Pesticide Program's Antimicrobial Division ombudsman](#), who can assist in ensuring that proposed antimicrobial minimum risk products meet the strict requirements for exemption from registration.

Additionally, EPA requires the establishment of maximum residue limits, which EPA calls tolerances, or exemptions from the requirement of a tolerance for all pesticides intended for use in a manner that may result in residues in food or feed.

Minimum Risk Pesticides

[Criteria for FIFRA 25\(b\) Exemption](#)
[Permitted Inerts](#)
[State Pesticide Registration](#)
[Contacts](#) [EXIT Disclaimer](#)
[Pesticide Registration Notice \(11 pp, 132 K, about PDF\)](#)
[Frequent Questions](#)

Related Information

[Regulating Biopesticides](#)
[Registration Tools](#)
[Determining If Insect Repellent Skin Patch Products Must Be Registered Under FIFRA](#)
[Recent Enforcement Actions](#)
[CSPA's letter of June 11, 2007, \(6 pp, 3.45 MB, about PDF\)](#)
[EPA's response letter \(2 pp, 25 K, about PDF\) responds to that letter as well as the March 15 petition.](#)

* indicates exempt active ingredients that are also exempt from pesticide residue tolerance requirements

Castor oil (U.S.P. or equivalent)*	Linseed oil
Cedar oil	Malic acid
Cinnamon and cinnamon oil*	Mint and mint oil
Citric acid*	Peppermint and peppermint oil*
Citronella and Citronella oil	2-Phenethyl propionate (2-phenylethyl propionate)
Cloves and clove oil*	Potassium sorbate*
Corn gluten meal*	Putrescent whole egg solids
Corn oil*	Rosemary and rosemary oil*
Cottonseed oil*	Sesame (includes ground sesame plant) and sesame oil*
Dried Blood	Sodium chloride (common salt) *
Eugenol	Sodium lauryl sulfate
Garlic and garlic oil*	Soybean oil
Geraniol*	<u>Thyme and thyme oil*</u>
Geranium oil	White pepper
Lauryl sulfate	Zinc metal strips (consisting solely of zinc metal and impurities)
Lemongrass oil	

Products Intended for the Control of Public Health Pests Must Be Effective

EPA received a petition from the Consumer Specialty Products Association (CSPA) dated March 15, 2006, requesting that the Agency exclude from the minimum risk pesticide exemption those pesticides that claim to control "pests of significant public health importance" and require an abbreviated registration for minimum risk products that are to be used for the control of public health pests. On September 13, 2006, EPA published in the Federal Register a Notice of Availability and Request for Comments on the petition allowing a 60-day comment period. On December 6, 2006, EPA reopened the comment period for an additional 30 days at the request of CropLife America. During the public comment period, the Agency received approximately 60 comments, both in support of and in opposition to the petition.

EPA has analyzed the comments on the petition and concluded that public health products must be supported by evidence that they are effective against the target pest. EPA is now looking at options to ensure that minimum risk public health pesticides that are otherwise exempted from regulation are effective. CSPA's letter of June 11, 2007, (6 pp, 3.45 MB, [about PDF](#)) suggested that EPA engage in expedited rulemaking, including promulgating an interim final rule without notice and comment. EPA's response letter (2 pp, 25 K, [about PDF](#)) responds to that letter as well as the March 15 petition.

天然抗菌素材の開発研究(第1報)

— ホソバヤマジソ *Mosla chinensis* Maxim. の抗菌性と成分 —

(1997年10月20日受付)

(1997年12月15日受理)

古谷 力^{a)}、松浦 洋一^{b)}、溝端 聡^{b)}、高原 純夫^{b)}、
高橋 和久^{b)}

a) 岡山理科大学理学部

b) 株式会社オムニテック

キーワード: ホソバヤマジソ、シソ科、抗菌性、天然抗菌素材、抗菌剤、精油、チモール

I 緒言

「抗菌性」は、清潔・安全志向の高まりとともに次第に浸透し、メチシリンに耐性を示す黄色ブドウ球菌(MRSA)による院内感染問題で、にわかに注目を浴びた。その後、昨年の腸管出血性大腸菌O157:H7による集団食中毒をきっかけに台所・トイレ・浴室等の水まわり、家電製品・衣類・文具・建築資材・日常雑貨等のあらゆる分野に抗菌性が付加され、生活環境へのアメニティの提供が急速に広がっている。

カビを原因とするアレルギー性疾患やレジオネラ肺炎起因菌による水環境の汚染への対策等、今や抗菌素材については、従来のイメージ的なものでなく、安全で確実な効果が必要となってきた。現在、無機系抗菌剤では、ゼオライトやシリカゲルに銀を担持あるいはチオスルファート銀錯体を使った銀系抗菌剤が中心であり、キッチン用品、家電製品、文具等のプラスチック製品やガラス、タイル等建築資材に使用されている。一方、有機系抗菌剤は、化粧品・医薬品・抗菌防臭加工繊維・食品の鮮度保持資材等を中心に広く用いられ、近年、より安全性を求めて天然系の抗菌素材が改めて注目されている。

天然抗菌素材は、フラボノイド(チャ)・ヒノキチオール(ヒバ)・アリルイソチオシアネート(ワサビ)等を主とした植物性天然抗菌素材が古くから用いられてきた。ほとんどの植物は、微生物の侵入から身を守る自己防衛手段(罹病抵抗性)として、何らかの抗菌性成分を産生している。植物エキ스는、その多様な抗菌成分の相乗効果で、強く広い抗菌性を示し、また耐性菌が発生しにくいのも特徴の一つである。

我々は、植物性の天然抗菌素材に注目し、国内外の民間薬用資源を採集し抗菌スクリーニングを行なった。その結果、約200種におよぶ植物の中で、ホソバヤマジソ *Mosla chinensis* Maxim. に、最も抗菌力が強く且つ広い抗菌スペクトルを見出した。ホソバヤマジソは、合弁花類のシソ科(Labiatae)イヌコウジュ属(*Mosla*)に属する一年草で、茎は紫

色を帯び葉は披針形～広針形で鋭頭、少数の低い鋸歯があり、本州(中国地方)から九州・朝鮮・中國大陸に分布している。漢名を石香薷または青香薷といい、中国では、全草が夏の風邪・腹痛・下痢・湿疹等に用いられている²⁾。これまでの研究では、2種の新規配糖体を含む8種のフラボノイド^{3,5)}やフェノールカルボン酸類、ステロール、脂肪酸類⁶⁾、また、精油成分ではチモール、カルバクロール、p-シメンを主とする3-3種の成分について分析結果が報告されている⁷⁻¹⁰⁾。チモールは、殺菌力があることから歯磨きに用いられ、カルバクロールとともに植物病原菌に対する強い抗菌活性が認められている¹¹⁾。これまで、チモール、カルバクロールを含むホソバヤマジソの抗菌性に関する研究はなく、新しい天然抗菌素材の実用化を目的とし、ホソバヤマジソおよびその近縁植物について、抗菌性の比較と活性成分の分析を行なった。

II 研究方法

(1) 植物試料の調製

岡山県を北限とする暖地海浜、八重山列島、沖縄、さらに国外ではタイ、インドネシア等で使用されている民間薬用資源約200種を採集した。

研究に用いたホソバヤマジソは岡山県内で採集または栽培したもの、および兵庫県内で栽培したものを用い、何れも6～8月の開花期に採集した。

採集植物は器官別に生のまま、または乾燥後3倍量のメタノールで3回抽出した。この時、メタノールは植物が生の場合は100%メタノールで3回抽出し、乾燥した植物の場合は、1回目は80%メタノールで抽出し、2回目、3回目は100%メタノールで抽出した。抽出したエキスをロータリーエバポレーターで減圧濃縮後、真空デシケーターで乾燥し

たものをメタノールエキスとして試験に供した。

このメタノールエキスを水に懸濁後、3倍量のn-ヘキサン(以下ヘキサンという)を加え、分配抽出を3回繰り返した後、ヘキサン層をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、真空デシケーターで乾燥したものをヘキサンエキスとし、試験に供した。さらに、水層を3倍量のクロロホルム、酢酸エチルの順に同様に分配抽出を行ない、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、真空デシケーターで乾燥したものを試験に供した。

(2) 抗菌試験

①供試菌株

全23菌株

細菌類:

黄色ぶどう球菌	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538p
枯草菌	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
大腸菌	<i>Escherichia coli</i> NIHJ
緑膿菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 13736
肺炎桿菌	<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO 13277
軟腐病菌	<i>Erwinia carotovora</i> IFO 14082
立鱗病菌	<i>Aeromonas hydrophila</i> IFO 13286
穴あき病菌	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i> IFO 12659

酵母類:

カンジダ菌	<i>Candida albicans</i> IFO 1594
酵母	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763

カビ類:

黒麹カビ	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 6275
白麴菌	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO 32410
根腐病菌	<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>mori</i> IFO 7707
根腐病菌	<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>pisi</i> IFO 9425
根腐萎ちよう病菌	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> IFO 31213
根腐病菌	<i>Cylindrocarpum destructans</i> f.sp. <i>panacis</i> IFO 31881
苗立枯病菌	<i>Rhizoctonia solani</i> IFO 32364
疫病菌	<i>Phytophthora cactorum</i> IFO 32194
菌核病菌	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> IFO 30965
灰色カビ病菌	<i>Botryotinia fuckeliana</i> IFO 31831
イネ苗立枯病菌	<i>Trichoderma viride</i> IFO 30498
紫紋羽病菌	<i>Helicobasidium mompa</i> IFO 31651
白紋羽病菌	<i>Rosellinia necatrix</i> IFO 9420

②試験方法

抗菌活性の測定には、ペーパーディスク法(ハロー試験法)⁽¹²⁾を用い、発育阻止円径を測定した。また、抗菌力測定には、試料を倍数希釈し、最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

寒天平板培地の調製:

プラスチックシャーレ(直径9cm)に121℃, 20分間高圧蒸気滅菌した培地を20ml分注し、固化させた。

[細菌用培地]

ミューラー-ヒントン寒天培地 Difco製

38g/l pH7.3±0.1 25℃

[酵母・カビ用培地]

ポテトデキストロース寒天培地 Difco製

39g/l pH5.6±0.2 25℃

ディスク調製:

試料濃度は、一次スクリーニングには500mg/ml、MICの測定には250mg/mlから倍数希釈を行なった。溶媒には、メタノール:DMSO:水=4:4:1(MDW液)⁽¹³⁾を用い、試料を溶解した。試料溶液を直径6mmの抗生物質検定用薄手ペーパーディスク<ADVANTEC製>に25μl/disc浸み込ませた後、風乾しメタノールを留去したものを用いた。

供試菌株:

3回以上の継代を繰り返した新鮮菌を用い、0.9%滅菌食塩水中に10⁶CFU/mlになるように菌液を調製した。なお、カビについては、孢子分散性を高める為、0.9%滅菌食塩水に0.005%のスルホはく酸ジオクチルナトリウムを加えた⁽¹⁴⁾。この菌液を寒天平板培地上に60μl接種した後、コンラージ棒で均一に塗抹し、試料の浸み込んだペーパーディスクを置き培養した。

③結果測定

細菌類は37℃で18時間、酵母類は28℃で18時間、カビ類は28℃で培養し、成長速度に差がある為24, 48, 72, 96, 120時間後に測定した。

(3) GLCによる成分分析

①GLC分析用試料の調製

植物試料の調製(1)に記載の方法で得られたヘキサンエキス10mgを250μlのアセトンに溶解し、3μlを注入した。

②GLC装置と分析条件

GLC: 島津ガスクロマトグラフ GC-14B
 カラム: ULBON HR-20M (0.32mm×30m)
 検出器: FID
 条件: インジェクション温度: 230℃
 検出器温度: 230℃
 昇温: 140℃→220℃ (1℃/min)
 スプリット: 50:1
 キャリアガス: N₂
 キャリアガス線速度: 10cm/sec, 25Kpa
 テモール: Rt 28.0min

III 結果及び考察

(1) 薬用植物資源のスクリーニング

採集した約200種の植物エキスについて抗菌テストを行ない、そのうち1994年7月~1997年1月の間に採集・抗菌テス

トを実施した50種・10菌株についてTable 1に結果を示した。
供試植物のうち、ホソバヤマジソが最も強い抗菌性と共
に、広い抗菌スペクトルを示すことが明らかになった。バク

テリアに対する発育阻止作用はかなりの植物で観察され
たが、酵母、カビにも効果を示すホソバヤマジソの抗菌力が傑
出していた。

Table 1. Halo test of medicinal plants

No.	Medicinal Plants				Width of inhibitory zone (mm)										conc. (mg/ml)	plant (gDW)	ext. (g)
	Japanese name	Scientific name	Family name	Part*	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)			
1	ハンゲショウ	<i>Saururus chinensis</i> Baill.	Saururaceae	h	9	—	10	—	—	—	—	20	—	—	500	123	13.0
2	クリ	<i>Castanea crenata</i> Sieb. et Zucc.	Fagaceae	b	20	12	17	15	—	—	—	35	9	9	500	190	8.0
3	ケヤキ	<i>Zelkova serrata</i> Makino	Ulmaceae	l	14	10	10	12	—	—	—	20	—	—	500	100	9.5
4	ヤドリギ	<i>Viscum album</i> L. var. <i>coloratum</i> Ohwi	Loranthaceae	l.s	9	8	—	—	—	—	—	10	—	—	500	200	12.4
5	ウマノスズクサ	<i>Aristolochia debilis</i> Sieb. et Zucc.	Aristolochiaceae	h	22	8	—	—	—	—	—	15	—	—	500	200	6.4
6	オオツヅラフジ	<i>Sinomenium acutum</i> Rehd. et Wils.	Menispermaceae	l.s	11	—	9	8	—	—	—	28	—	—	500	100	3.8
7	ハスノハカズラ	<i>Stephania japonica</i> Miers	Menispermaceae	l.s	11	9	9	10	—	—	—	25	—	—	500	90	6.6
8	クロモジ	<i>Lindera umbellata</i> Thunb.	Lauraceae	l.s, fr	15	11	9	—	—	—	—	30	—	—	500	200	14.9
9	キケマン	<i>Corydalis platycarpa</i> Makino	Papaveraceae	h	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	25	8.0
10	ニオイアラセイトウ	<i>Cheiranthus cheiri</i> L.	Cruciferae	h	8	8	8	8	—	—	—	15	—	—	500	100	8.6
11	モモ	<i>Prunus persica</i> Batsch.	Rosaceae	l.s	8	8	10	8	—	—	—	10	—	—	500	100	19.4
12	ウワミズザクラ	<i>Prunus grayana</i> Maxim.	Rosaceae	fl	—	—	—	8	—	—	—	—	—	—	500	40	9.3
13	クララ	<i>Sophora angustifolia</i> Sieb. et Zucc.	Leguminosae	l.s, fl	10	8	—	—	—	—	—	—	—	—	500	100	11.4
14	カオリハジエンジュ	<i>Robinia pseudo-acacia</i> L.	Leguminosae	l.s	16	8	10	10	—	—	—	8	—	—	500	55	5.6
15	デイゴ	<i>Erythrina indica</i> Lam.	Leguminosae	l.s	8	9	—	—	—	—	—	13	—	—	500	125	6.7
16	カラスザンショウ	<i>Fagara ailanthoides</i> Engl.	Rutaceae	l.s, fl	9	—	10	—	—	—	—	27	—	—	500	200	15.1
17	コクサギ	<i>Orixa japonica</i> Thunb.	Rutaceae	l.s	12	11	8	—	—	—	—	16	—	—	500	150	10.5
18	キハダ	<i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht	Rutaceae	fr	9	—	13	—	—	—	—	35	—	—	500	140	15.0
19	シンジュ	<i>Ailanthus altissima</i> Swingle	Simaroubaceae	l.s, fl	10	8	11	13	—	—	—	12	—	—	500	200	14.1
20	アカギ	<i>Bischofia javanica</i> Bl.	Euphorbiaceae	l.s	18	8	11	—	—	—	—	25	—	11	500	150	7.1
21	ムクロジ	<i>Sapindus mukurossi</i> Gaertn.	Sapindaceae	b	8	8	8	—	—	—	—	12	—	—	500	250	1.9
22	ヤブガラシ	<i>Cayratia japonica</i> Gagn.	Vitaceae	h	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	200	6.2
23	ホルトノキ	<i>Elaeocarpus decipiens</i> Hemsl.	Elaeocarpaceae	l.s, fl	21	14	10	17	—	—	—	40	8	8	500	200	29.6
24	フクギ	<i>Garcinia subelliptica</i> Merr.	Guttiferae	l.s	17	13	—	8	—	—	—	17	—	—	500	60	10.0
25	ギョリュウ	<i>Tamarix chinensis</i> Lour.	Tamaricaceae	l.s, fl	16	12	12	—	—	—	—	24	—	—	500	120	11.5
26	キブシ	<i>Stachyurus praecox</i> Sieb. et Zucc.	Stachyuraceae	l.s, fr	19	12	12	—	—	—	—	25	—	—	500	200	21.0
27	ガンピ	<i>Wikstroemia sikokiana</i> Franch. et Sav.	Thymelaeaceae	s	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	500	150	11.7
28	オヒルギ	<i>Bruguiera conjugata</i> Merr.	Rhizophoraceae	l.s	11	8	—	13	—	—	—	—	—	—	500	80	7.6
29	モモタマナ	<i>Terminalia catappa</i> L.	Combretaceae	h	20	15	10	21	—	—	—	36	—	8	500	110	19.9
30	イワナシ	<i>Epigaea asiatica</i> Maxim.	Ericaceae	h, fl	16	10	10	8	—	—	—	22	—	—	500	70	12.2
31	アカモノ	<i>Gaultheria adenostrix</i> Maxim.	Ericaceae	l.s	15	9	10	8	—	—	—	22	—	—	500	90	10.2
32	カキ	<i>Diopyros kaki</i> Thunb.	Ebenaceae	l	15	10	10	13	—	—	—	25	—	—	500	100	8.5
33	ミツガシワ	<i>Menyanthes trifoliata</i> L.	Gentianaceae	h	11	9	9	—	—	—	—	24	—	—	500	70	14.0
34	オオバナイロフウ	<i>Tylophora grandiflora</i> R. Br.	Asclepiadaceae	l.s, fr	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	80	10.1
35	ガガイモ	<i>Metaplexis japonica</i> Makino	Asclepiadaceae	r	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	100	11.1
36	モンノボキ	<i>Messerschmidia argentea</i> Johnston	Boraginaceae	l	8	8	9	—	—	—	—	25	—	—	500	80	4.5
37	キラソウ	<i>Ajuga decumbens</i> Thunb.	Labiatae	h	17	12	15	—	—	—	—	21	—	—	500	25	16.4
38	ホソバヤマジソ	<i>Mosla chinensis</i> Maxim.	Labiatae	h	25	15	18	16	13	16	12	40	13	10	500	77	6.0
39	ヒメジソ	<i>Mosla dianthera</i> Maxim.	Labiatae	l.s, se	16	17	14	10	—	—	—	21	—	8	500	40	3.0
40	センソウ	<i>Mesona procumbens</i> Hemsl.	Labiatae	h	9	8	9	8	—	—	—	15	—	—	500	150	5.5
41	カエンボク	<i>Spathodea campanulata</i> Beauv.	Bignoniaceae	l.s	9	—	9	10	—	—	—	18	—	—	500	130	10.0
42	サンゴジュ	<i>Viburnum awabuki</i> K. Koch	Caprifoliaceae	l.s, fl	11	10	9	—	—	—	—	15	—	—	500	100	10.0
43	カコノソウ	<i>Valeriana sambucifolia</i> L.	Valerianaceae	h	—	—	—	—	—	—	—	8	—	—	500	130	17.6
44	ショウブ	<i>Acorus calamus</i> L. var. <i>angustatus</i> Bess.	Araceae	l.s, r	10	—	9	—	—	—	—	25	—	—	500	100	9.0
45	セキショウ	<i>Acorus gramineus</i> Soland.	Araceae	h	9	12	13	—	—	—	—	20	—	—	500	55	10.5
46	エンレイソウ	<i>Trillium smallii</i> Maxim.	Liliaceae	h	—	—	—	—	20	18	—	32	25	—	500	30	7.7
47	リュウゼツラン	<i>Agave americana</i> R. et D.	Amariyllidaceae	l	8	—	—	—	21	23	—	40	28	20	500	140	10.9
48	アカダイジョ	<i>Dioscorea alata</i> L.	Dioscoreaceae	r	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	500	50	4.0
49	ダイセンキヤロボク	<i>Taxus cuspidata</i> S. et Z. var. <i>nana</i> Rehd.	Taxaceae	l.s, fr	13	10	9	12	—	—	—	15	—	—	500	150	22.0
50	カヤ	<i>Torreya nucifera</i> Sieb. et Zucc.	Taxaceae	p	13	10	9	13	—	—	—	15	—	—	500	150	17.5

1) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538p2) *Bacillus subtilis* ATCC 66333) *Escherichia coli* NIHJ4) *Aeromonas hydrophila* IFO 132865) *Candida albicans*6) *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 97637) *Aspergillus niger* ATCC 62758) *Trichophyton mentagrophytes* IFO 324109) *Fusarium solani* f.sp. *mori* IFO 770710) *Fusarium solani* f.sp. *pisi* IFO 9425

*: [h] herb, [l] leaf, [s] stem, [r] root, [fl] flower, [fr] fruit, [p] pericarp, [b] bark, [se] seed.

(2) ホソバヤマジソの抗菌効果

ホソバヤマジソの抗菌活性成分を精査する為、ホソバヤマジソメタノールエキスを低極性溶媒からヘキサン、クロロホルム、酢酸エチル、水の順に抽出・分画し抗菌効果を比較した。

その結果、ヘキサンエキスを最も強い抗菌効果が認められた。すなわち、ヘキサンエキスのMIC値(3.9~125mg/ml)が最も低く、次いで酢酸エチルエキス(31.3~500mg/ml)、クロロホルムエキス(62.5~250mg/ml)、水エキス(125~250mg/ml)であった。また同濃度で他の分画エキスと比較しても、ほぼ全ての菌株に対して最も大きな発育阻止円径(11~36mm)が認められた。従ってメタノールエキスの有効成分は分配操作によってヘキサン層に移行、結果としてヘキサンエキスを濃縮される親油性成分と考えられる。

一般に、シソ科植物は、発汗、解熱あるいは利尿等の薬理作用を持つことが知られ、中国では生薬として利用されている。芳香のすぐれたものは香草ないし「ハーブ」として、調理に利用されたり、そのまま食膳にのせたりされている。こうした薬効や芳香をもたらしものとして、チモール、カルバクロール、オイゲノール等のいわゆる精油成分が重要と考えられている。これらの精油は、抗菌性を有し、香辛料の持つ食品保存効果の主要な成分でもある。シソ科ハーブの中

で抗菌効果の顕著なタチジャコウソウ(タイム) *Thymus vulgaris* L.、ハナハッカ(オレガノ) *Origanum vulgare* L.には、ホソバヤマジソ同様、チモール、カルバクロールが含まれ、ハナハッカ属(*Origanum*)のマヨナラ(マジョラム) *O. majorana* L.、トウバナ属(*Satureja*)のキダチハッカ(セボリー) *S. hortensis* L.にも共通している。

これら近縁植物との抗菌性比較の一環として、タチジャコウソウ(タイム)と精油成分であるチモールについて抗菌活性を測定した(Table 2)。その結果、ホソバヤマジソは全菌株に対してタチジャコウソウ(タイム)より同等以上の活性を示した。また、精油成分のチモールは、緑膿菌を除く全ての菌に抗菌性を示した。広範囲な抗菌性は、ホソバヤマジソの特徴と一致し、この結果からも精油成分が抗菌効果に大きく関与していると考えられる。

植物は、成長段階で生体成分が著しく異なる場合が多く、季節変化の中で、どの成長段階で、どの部位を採取するかを十分考慮する必要がある。その調査の一環として、発芽後約1ヶ月の6月から8月の開花期において、葉・莖・根・花(開花期)の抗菌性を比較した(Table 2)。

その結果、抗菌効果は圧倒的に葉部が強く、次いで花部であった。また、6月から7月の成長期にかけて葉部の活性は2~30倍に高まり、8月の開花期の葉部の活性は、23菌株中6菌

Table 2. Antimicrobial activities of *Mosla chinensis* Maxim.

Microorganisms	MIC*(mg/ml)										Thyme	Thymol
	June			July			August					
	leaf	stem	root	leaf	stem	root	leaf	stem	root	flower		
Bacteria												
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538p	62.5	—	125	31.3	—	250	31.3	250	125	31.3	62.5	5
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	62.5	—	—	31.3	—	—	62.5	—	—	125	62.5	5
<i>Escherichia coli</i> NIHJ	250	—	—	62.5	—	—	62.5	—	—	125	125	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO13736	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i> IFO13277	62.5	—	125	62.5	—	—	31.3	—	—	125	—	10
<i>Erwinia carotovora</i> IFO14082	250	250	125	31.3	—	62.5	62.5	62.5	—	15.6	125	2.5
<i>Aeromonas hydrophila</i> IFO13286	125	—	62.5	15.6	—	—	31.3	—	—	62.5	125	1.25
<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>salmonicida</i> IFO12659	7.8	62.5	—	15.6	125	125	7.8	62.5	62.5	62.5	62.5	2.5
Yeast												
<i>Candida albicans</i> IFO1594	125	—	—	31.3	—	—	62.5	—	—	62.5	—	5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC9763	—	—	—	62.5	—	—	62.5	—	—	—	—	2.5
Fungi												
<i>Aspergillus niger</i> ATCC6275	250	—	—	31.3	—	—	125	—	—	—	—	10
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> IFO32410	250	—	—	31.3	250	—	7.8	125	—	125	62.5	1.25
<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>mori</i> IFO7707	250	—	—	31.3	—	—	62.5	—	—	62.5	—	10
<i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>pisi</i> IFO9425	250	—	—	62.5	—	—	125	—	—	125	—	5
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> IFO31213	250	—	—	31.3	—	—	125	250	—	125	—	2.5
<i>Cylindrocarpon destructans</i> f.sp. <i>panacis</i> IFO31881	250	—	250	31.3	250	—	7.8	125	125	7.8	250	1.25
<i>Rhizoctonia solani</i> IFO32364	125	—	—	7.8	—	—	31.3	—	—	7.8	—	2.5
<i>Phytophthora cactorum</i> IFO32194	250	—	—	31.3	—	250	31.3	—	—	62.5	125	5
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> IFO30965	250	—	—	15.6	—	—	7.8	—	125	7.8	31.3	2.5
<i>Botryotinia fuckeliana</i> IFO31831	250	—	—	7.8	—	250	62.5	—	—	15.6	—	5
<i>Trichoderma viride</i> IFO30498	250	—	—	7.8	—	—	62.5	—	—	125	—	10
<i>Helicobasidium mompa</i> IFO31651	31.3	—	250	7.8	—	250	7.8	—	—	31.3	7.8	10
<i>Rosellinia necatrix</i> IFO9420	250	—	62.5	15.6	—	—	250	250	—	—	250	2.5

*Minimum inhibitory concentration.

株で活性が高まったが13菌株で低下していた。このことから、7月から8月の蕾の付き始める開花前の葉部の抗菌性が最も優れていると考えられるが、気象条件、土壌条件等の栽培地域差や年度差で収穫時期が変動するため、今後、生態学的特性との相関をさらに調査し収穫時期を選定して行きたい。

(3) ホソバヤマジソのGLC分析

ホソバヤマジソの精油成分が抗菌効果に大きく関与していると考えられる為、精油の主成分の1つとしてチモールの存在を確認し、その含有量を測定した。その結果をTable 3に示す。抗菌効果が最も強い葉部メタノールエキス中のチモール含有率は4.43~13.03%であり、茎部の0.51~1.38%、根部の0.05~1.14%に比べ非常に高い値を示した。

また、6月~8月にかけて葉部のチモール量は約2.9倍に増加しており、このチモール量の増加と抗菌性の変化がほぼ一致する為、やはりチモールと抗菌性の関連が示唆される。

一般的に精油成分は葉部で生合成され、一部は葉面の腺毛と呼ばれる器官に蓄積されるといわれている。今回の結果はそれに当てはまるものだが、季節により葉に蓄積されていた精油が根や花、種子に転流、あるいは構成成分が大きく変化すると推察されるので、今後さらに詳細な調査が必要である。

Table 3. Thymol content in methanol extract of *Mosla chinensis* Maxim.

Part used	Thymol (%w/w)		
	June	July	August
leaf	4.43	10.40	13.03
stem	0.55	0.51	1.38
root	0.14	0.05	1.14
flower	—	—	13.46

IV まとめ

ホソバヤマジソの抗菌性はヘキサノールエキスの活性が高かったことから精油等の親油性成分が主要因であると考えられる。GLC分析から精油主成分であるチモールの関与が示唆されるが、強く広い抗菌性は、その他の微量成分が混合した状態で総合的に作用していると考えられる。

この効果は、これまで我々が調査した薬用植物の中でも傑出したものであり、新しい香辛料として、また防腐効果の高い保存料としての食品添加物、あるいは病原性微生物の防除剤等、天然抗菌素材として多方面への利用に取組んで行きたい。

謝 辞

本研究に際し、終始ご指導ご鞭撻をいただきました株式会社オムニテック代表取締役村田允社長に深謝いたします。また、植物の採集、同定に助言と協力をいただいた倉敷芸術科学大学河辺誠一郎教授、ならびに倉敷市古屋野寛氏、

GLC分析機器の使用に便宜を与えられた近畿大学農学部駒井功一郎教授に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究の一部に厚生科学研究費補助金(主任研究者: 国立医薬品食品衛生研究所佐竹元吉生薬部長)を充当した。ここに謝意を表します。

V 引用文献

- 1) 佐竹義輔、大井次三郎、北村四郎、亘理俊次、富成忠夫編:「日本の野生植物草本Ⅲ、合弁花類」, pp.81-82, 平凡社, 東京 (1981)
- 2) Ou Ming: *Herba Elsholtziae seu Moslae*, in "Chinese-English Manual of Common-Used in Traditional Chinese Medicine (edited by Ou Ming)", pp.382-383, Joint Publishing, Hong Kong (1989)
- 3) Sun Li-ping, Zheng Shang-zhen, Fu Zhengsheng and Shen Xu-wei: Flavonoids from *Mosla chinensis* Maxim., *J. Northwest Normal Univ. (Nat. Sci.)*, 31, 44-46 (1995)
- 4) Zheng Shang-zhen, Sun Li-ping and Shen Xu-wei: Chemical constituents of *Mosla chinensis* Maxim., *Acta Botanica Sinica*, 38, 156-160 (1996)
- 5) Zheng Shang-zhen, Sun Li-ping and Shen Xu-wei: Flavonoids constituents from *Mosla chinensis* Maxim., *Indian J. Chem.*, 35B, 392-394 (1996)
- 6) Lin Jer-Huei: Studies on the constituents of *Mosla chinensis* Maxim., *The Annual Reports of the National Research Institute of Chinese Medicine*, 167-183 (1984)
- 7) Duan sumin and Pan Jiongguang: Components of *Mosla chinensis* oils, *Zhongyao Tongbao*, 11, 233-234 (1986)
- 8) Lin Zhengkui and Hua Yingfang: A study on chemical constituents of the essential oil from *Mosla scabra* (Thunb.), *Acta Botanica Sinica*, 31, 320-322 (1989)
- 9) Zhang Shaoai and Xu Bingsheng: An analysis of the chemical composition of essential oil of *Mosla* in the Yangtze delta and its bearing on phylogeny, *Acta Botanica Yunnanica*, 11, 187-192 (1989)
- 10) Zhu, G.P.: Comparison of chemical constituents of essential oils from *Elsholtzia splendens* and cultivated *Mosla chinensis* by GC-MS analysis, *Acta Pharmaceutica Sinica*, 27, 287-293 (1992)
- 11) Tawata, S., Taira, S. and Kobamoto, N.: Synthesis and Fungicidal Activity of New Thiophosphorylated Monoterpenoids and Related Compounds, *J. Pesticide Sci.*, 21, 141-146 (1996)
- 12) 金井興美、山崎修道編:「微生物検査必携 細菌・真菌検査第3版」, pp.N2-N9, 日本公衆衛生協会, 東京 (1987)
- 13) 池川信夫、丸茂晋吾、星元紀編:「生理活性物質のバイオアッセイ」, pp.227-234, 講談社, 東京 (1984)
- 14) 高薄一弘編:「抗菌・防黴剤の使用技術と抗菌力試験・評価」, pp.211-232, 技術情報協会, 東京 (1996)

Research for the Development of Natural Antimicrobial Materials. I.
—Antimicrobial Activity and Effective Constituents in *Mosla chinensis* Maxim.—

(Received October 20, 1997)

(Accepted December 15, 1997)

Tsutomu Furuya^{a)}, Youichi Matsuura^{b)}, Satoshi Mizobata^{b)},
Sumio Takahara^{b)}, and Kazuhisa Takahashi^{b)}

a) Faculty of Science, Okayama University of Science

b) Omnitech Corporation

Keywords: *Mosla chinensis*, *Labiatae*, antimicrobial activity, natural antimicrobial materials, antimicrobial agents, essential oil, thymol

Abstract

In order to screen for natural antimicrobial compounds, we carried out halo tests using filter paper disks against ten species of microorganisms at 500mg/ml of extracts obtained from about two hundred plants. Although most extracts were effective against bacteria, the methanol extract of *Mosla chinensis* Maxim. (Hosoba-yamajiso in Japanese, *Labiatae*) proved highly inhibitory against not only bacteria but also yeast and fungi (Table 1). Partitioning between H₂O and three successive solvents, hexane, CHCl₃ and EtOAc, and MIC* testing against twenty-three species of microorganisms revealed the hexane fraction to exhibit the strongest antimicrobial activity. That is, the MIC values with this fraction were found at the lowest concentration and comparison of the diameter of zone inhibition at the same concentration, demonstrated the hexane fraction to exert the greatest effects against almost all species of microorganisms.

Plants of *Labiatae*, especially such as *Thymus*, *Origanum* and *Satureja* used as spices and food additives, contain essential oils, whose constituents such as thymol, carvacrol and eugenol are known to possess antimicrobial activity. A comparison of antimicrobial activities using the MIC test showed that the methanol extract of *M. chinensis* was more inhibitory against all species of microorganisms than that of *Th. vulgaris*. In addition, thymol exhibited a wide spectrum of antimicrobial activities, similar to these for *M. chinensis* (Table 2).

Hexane fractions from the leaves, stems, flowers and roots of *M. chinensis* collected during June to August, were analyzed by GLC in order to determine their volatile constituents, and thymol was detected in all fractions. The content of thymol in leaves, 4.43-13.03 % was overwhelmingly higher than in other parts, and maximum levels were observed in leaves collected in August (Table 3). Furthermore, antimicrobial activities of extracts determined by MIC testing were proportional to the thymol content.

In conclusion, constituents of the hexane fraction containing essential oils, are the main factors responsible for antimicrobial activity of *M. chinensis*. The results further suggest the participation of thymol in inhibitory effects against microorganisms.

*Minimum inhibitory concentration.