

熱帯産植物に含まれる昆虫忌避物質

—香料植物ベチバー, パチョリに含まれる昆虫忌避物質—

大澤 貫寿*・加藤 茂*・山本 出*

Insects Repellent Substances from Tropical Plants

—Insects Repellent Substances from Vetiver and Patchouli Essential Oils—

Kanju OHSAWA, Shigeru KATO and Izuru YAMAMOTO

緒言

熱帯地域は、植物相が豊富で多種多様な未利用植物が生育している。東南アジアにおいて古くから防虫効果を示すと言われている植物を採取し、衛生、貯穀害虫に対する忌避作用について調べた。熱帯から亜熱帯にかけて生育するイネ科植物ベチバー (*Vetiveria zizanoides* STAPF.) の乾燥根からの精油は、香料産業にとっては重要である。このベチバーの精油成分に関する研究は多く^{1,2,3,4)}、その主成分はセスキテルペン系化合物である。一方、ベチバーの乾燥根は、インドネシアの中部ジャワ地域に於ては、古くから衣類等につく害虫の防虫や蚊の忌避に使われてきている。また、シソ科植物パチョリ (*Pogostemon cablin* BENTH.) も、インドネシアやフィリピンにおいて栽培されフレグランスの成分として重要であり、その香気成分については多くの報告がある^{5,6,7,8)}。この精油もまた現地に於て、ベチバーと同様に蚊の忌避に用いられている。我々はこのことに着目し、貯穀害虫と蚊を対象昆虫として忌避物質の分離精製を行い忌避活性物質を明かとした。

材料および方法

供試植物：ベチバー *Vetiveria zizanoides* STAPF.
 (根) インドネシア産
 パチョリ *Pogostemon cablin* BENTH.
 (葉) インドネシア産
 供試昆虫：アズキゾウムシ *Callosobruchus chinensis* L.

* 東京農業大学総合研究所

：コクゾウムシ *Sitophilus zeamais* MOTSCH.

：ネッタイシマカ *Aedes aegypti* (L.)

これら各供試虫は我々研究室で累代飼育してきているのをを用いた。

分析法

活性物質の分離精製と確認には以下の機器および測定条件で分析した。

(1) ガスクロマトグラフィー

島津製作所製 GC-7 AG を用いて次の条件で分析した。

a) ガラスカラム (内径3.0mm×長さ2 m), 充填剤10% PEG-HT Uniport HP (60—80 mesh), 温度60—220℃ (昇温8℃/min.), キャリアーガス：窒素 (50 ml/min.)

(2) GC-MS 分析

島津製作所製 GC-MS 6020を用いて次の条件で分析した。

a) ガラスカラム (内径3.0mm×長さ2 m), 充填剤10% PEG-HT Uniport HP (60—80 mesh), 温度60—220℃ (昇温8℃/min.), キャリアーガス：ヘリウム (40 ml/min.), 加速電圧3.5 Kv, イオン化エネルギー70 eV

忌避試験法

(1) コクゾウムシに対する試験

ガラス平板(12cm×12cm)に直径5 mmの穴を8 cmの間隔で2つあけ、その下に直径2.5cmのミニペ

トリ皿をおいた。一方のミニペトリ皿には玄米のエーテル抽出物5.0g相当量と供試試料を含ませた濾紙を入れ試料側とした。もう一方は濾紙のみとした。羽化一週間後、24時間絶餌させた成虫20頭をガラス平板上に放ち、3時間後の試料側のミニペトリ皿にトラップされている虫数から忌避活性を求めた。各濃度5回繰り返し試験を行った。試験は、24～26℃で暗黒下で行った。忌避率は、次のように判定した。玄米5.0g相当量を加えた試料20回に対する平均反応虫数は12頭(60%)であった。これを基準に忌避性を求めた。++：強忌避性(反応虫数1～2頭)、+：弱い忌避性(反応虫数3～6頭)－：忌避性なし(反応虫数7頭以上)

(2) ネットアイシマカに対する試験

金網ケージ(30×30×30cm)に羽化後1週間の無吸血成虫50対を放し、ケージの中央に36～37℃に調節した円筒チューブ(径7cm×高さ12cm)を置き、エーテルに溶かした濃度調整した供試試料液を新しいガーゼ(長さ25cm)に浸み込ませた後、風乾後、円筒チューブに巻きつけ3分、5分後に集まる虫数を数え忌避効果を調べた。対照はエーテルのみで処理した場合とした。各濃度3回の繰り返し試験を行った。試験は温度24～26℃、湿度60～70%、照明下で行った。なお、ネットアイシマカは日没1～2時間前から活動が鈍ってくるこ

から、試験は日中行った。忌避率は、次のように判定した。対照区に対する平均反応虫数は42頭であった。これを基準として忌避性を求めた。++：強忌避性(反応虫数1～8頭)、+：弱い忌避性(反応虫数9～20頭)－：忌避性なし(反応虫数21頭以上)

(3) アズキゾウムシに対する試験

ミニペトリ皿(径3cm)に新鮮アズキ10粒を入れ、一方のアズキは濃度調整した供試試料で処理し、試料側とし、他方は無処理とし径15cmのペトリ皿内に両ミニペトリ皿が6cm離れるよう配慮した。羽化24時間以内の未交尾成虫5対を放し、10分おきに90分間試料区と対照区に集まった虫を数え忌避効果を調べた。その後24時間産卵させ試料区と対照区に産みつけられた卵数より産卵抑制効果も調べた。各濃度3回の繰り返し試験を行った。試験は温度24～26℃、湿度60～70%、照明下で行った。忌避性の表示は以下のようにした。

++：強い忌避性(90～100%忌避)、+：弱い忌避性(80～89%忌避)－：忌避性なし(50～79%忌避)

抽出・分離

1. ベチバーからの忌避物質

インドネシア中部ジャワのジョクジャカルタで採取取得したベチバー乾燥根50.0gをアセトンで

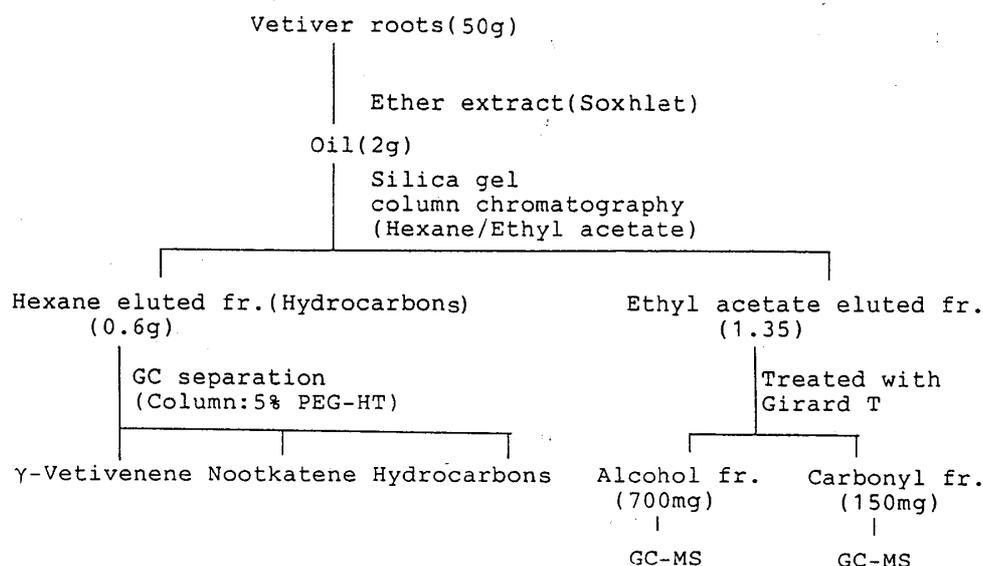


Fig. 1 Fractionation of vetiver oil

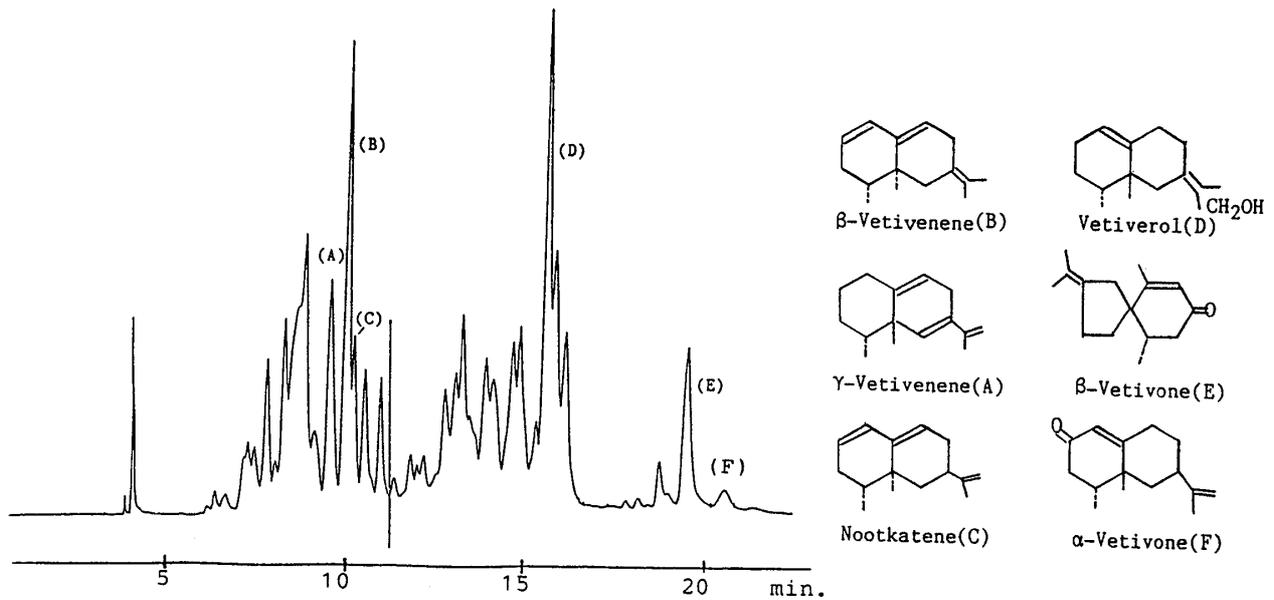


Fig. 2 Gas chromatogram and main components in vetiver oil.
 GC condition : 5 % PEG-HT on uniport-HP (2mm×3mm), Temp : 80—230°C (programed at 3°C/min.).

2日間浸漬後濃縮し、粗抽出物2.0gを得た。抽出物2.0gをシリカゲルカラムクロマトグラフ(ワコーゲルC-200 50g, カラム(径3cm×50cm)に充填し、ヘキサン/酢酸エチル系溶媒を用い、ヘキサン250mlと酢酸エチル250mlにて分離・分画し、ヘキサン溶出画分(炭化水素部)と酢酸エチル溶出画分(アルコール・カルボニル部)とに分画し、それぞれ0.60gと1.35gを得た。さらにアルコール・カルボニル部(1g)はGirard T試薬により処理し、アルコール部(700mg)とカルボニル部(150mg)に分けた(**Fig. 1**)。

炭化水素部はガスクロマトグラフでの分画分取とGC-MS分析により、各物質のMSの開列様式からセスキテルペン系炭化水素γ-vetiveneneとβ-vetivenene, γ-vetiveneneならびにnootkateneを同定した。GC-MS分析によりアルコール部からvetiverolをカルボニル部からはβ-vetivoneをそれぞれ同定した。**Fig. 2**にベチバー根からの粗抽出物のガスクロマトグラムと同定した化合物名を示す。

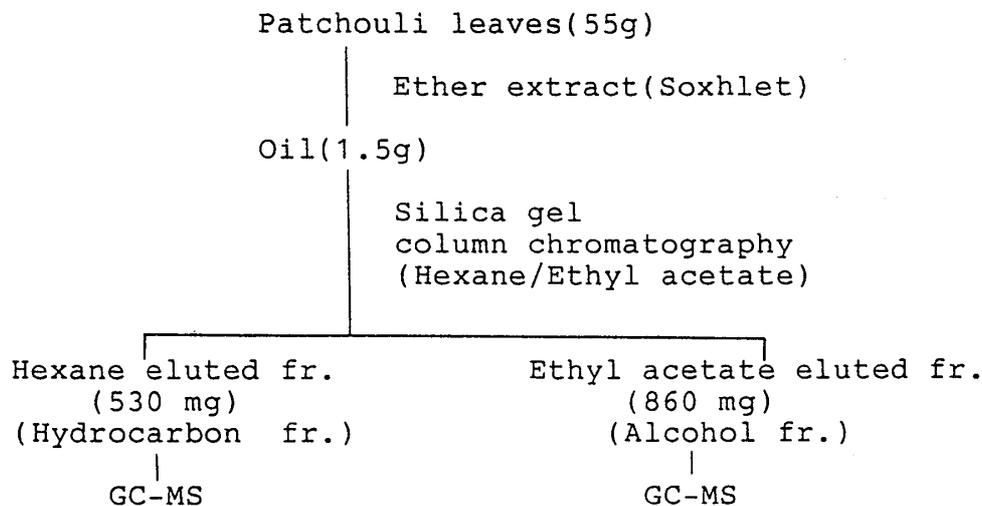


Fig. 3 Fractionation of patchouli oil

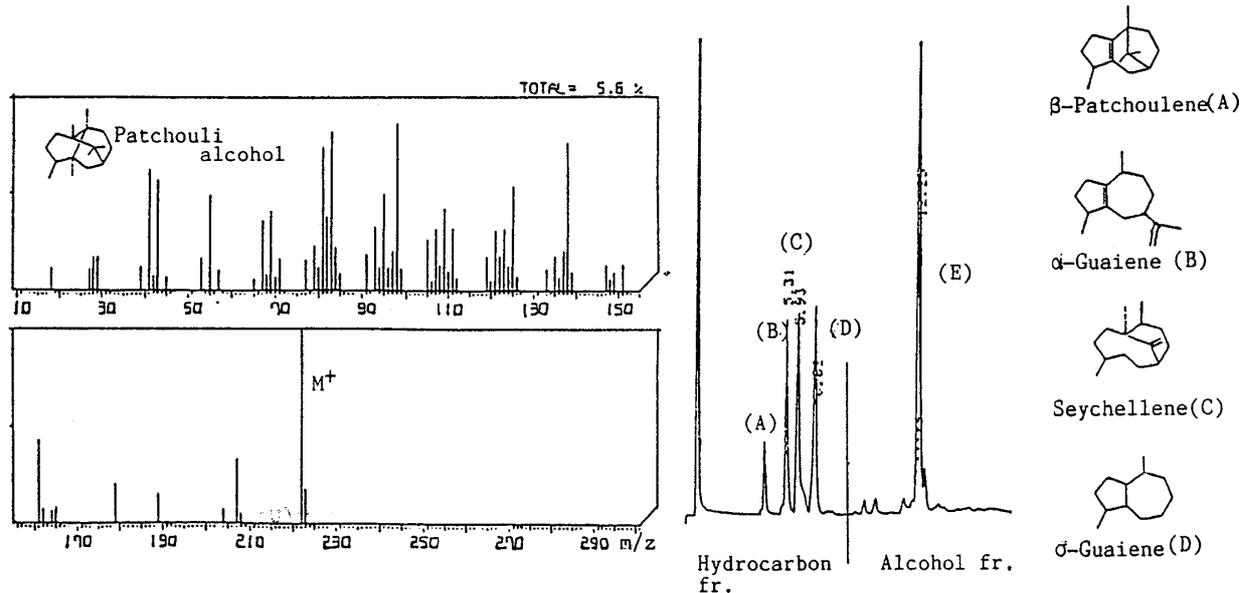


Fig. 4 Mass Spectrum of patchouli alcohol and components of the patchouli oil.
 GC-MS Condition : 5 % PEG-HT on uniport-HP (2 m × 3 mm).
 Temp : 80°C—220°C (programed at 8 °C/min.) 70 eV at 250°C.

2. パチヨリからの忌避物質

インドネシア中部ジャワのソロ市近郊で集めたパチヨリの葉55gを風乾後エーテルでソックスレー抽出後、濃縮し粗抽出物1.6gを得た。抽出物1.5gをシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ワコーゲルC-200 40g, カラム（径2.5cm × 40cm））により分離した。ヘキサン溶出画分（炭化水素部）と酢酸エチル溶出画分（アルコール・カルボニル部）とに分け、それぞれ0.53gと0.86gを得た（Fig. 3）。炭化水素部とアルコール・カルボニル部についてはガスクロマトグラフィーで分画分取を行った。

GC-MS分析から炭化水素部はFig. 4に示した物質β-patchoulene, α-guaiene, seychellene, δ-guaieneをMSの開列様式から同定した。またアルコール・カルボニル部からはpatchouli alcoholを同定した。

結果と考察

ベチバーからの粗抽出物と分画後の忌避性をTable 1, 2, 3に示した。アズキゾウムシ, コクゾウムシおよびネッタイシマカに対して、それぞれ0.5mg, 2.5mg, 0.25mgで強い忌避活性を示した。分離後の炭化水素部, カルボニル部およびア

ルコール部のネッタイシマカに対する忌避活性はTable 3からカルボニル部で0.25mg, アルコール部で2.5mg, 炭化水素部で5.0mgで認められ、忌避性の強さはカルボニル>アルコール>炭化水素部の順であった。コクゾウムシに対しての忌避性は、Table 2から解るように炭化水素>カルボニル>

Table 1 Repellency of the fractions of Vetiver and Patchouli oil against the azuki bean weevil.

sample	repellency		
	Dose (mg)		
	1.0	0.5	0.1
Vetiver oil	++	+	-
Hydrocarbon fr.	+	+	-
Alcohol fr.	++	+	-
Carbonyl fr.	+	+	-
Patchouli oil	++	+	-
Hydrocarbon fr.	+	-	-
Alcohol fr.	+	+	-
Control		-	

++:High repellency
 +:Moderate repellency
 -:No repellency

Table 2 Repellency of the components in vetiver and patchouli oils against the rice weevil

Sample	Repellency Dose (mg)				
	0.5	0.25	0.1	0.05	0.01
Vetiver oil	++	+	+	-	-
Hydrocarbon fr.	++	++	++	++	-
Alcohol fr.	++	+	-	-	-
Carbonyl fr.	++	+	+	-	-
γ -Vetivenene	-	-	-	-	-
γ -Vetivenene Nootkatene 1:1	+	+	+	-	-
β -Vetivone	+	-	-	-	-
Vetiverol	+	-	-	-	-
Patchouli oil	++	++	++	+	-
Hydrocarbon fr.		++	+	-	-
Alcohol fr.		++	++	++	-
Patchouli alcohol		++	++	++	-

++: High repellency

-: No repellency

+: Moderate repellency

Table 3 Repellency of the components in vetiver and patchouli oils against the yellow fever mosquito

Sample	Repellency Dose (mg)				
	5.0	2.5	1.0	0.5	0.1
Vetiver oil	++	+	-	-	-
Hydrocarbon fr.	++	-	-	-	-
Alcohol fr.	++	++	-	-	-
Carbonyl fr.	++	++	++	+	-
Vetiverol		+	-	-	-
β -Vetivone		++	+	+	-
Patchouli oil		++	+	+	-
Hydrocarbon fr.	+	-	-	-	-
Alcohol fr.		++	++	++	-
Patchouli alcohol		++	++	++	-
Deet*		++	++	++	+

++: High repellency

* N,N-Diethyl-m-toluamide

+: Moderate repellency

-: No repellency

アルコール部の順で活性が認められた。とくに、炭化水素部は0.05mgでも忌避活性を示した。アズキゾウムシに対してはカルボニル、アルコール部とも0.5mgで活性が認められた。忌避活性を示した分画部の組成成分は何れもセスキテルペン系化合物であった。炭化水素部からは α -、 β -、 γ -vetivenene, nootkatene を、アルコール部からは vetiverol, zizanol を、さらにカルボニル部からは、 α -、 β -vetivone, nootkatone を確認同定した。

パチヨリの粗抽出物および分離後のアズキゾウムシ、ネッタイシマカに対する忌避性はベチパーと同等の濃度でしめし、とくにコクゾウムシに対しては0.05mgで活性を示した。炭化水素部とアルコール部に分離後のアズキゾウムシ、ネッタイシマカに対する忌避活性はアルコール部のみに、それぞれ0.5mg, 0.25mgで認められた。コクゾウムシに対しては炭化水素部、アルコール部ともに0.05mgで忌避活性が認められた。

パチヨリ葉の抽出油もセスキテルペン系化合物より成り立っており、炭化水素部は α -guaiene, β -patchoulene, seychelene を含んでいた。アズキゾウムシ、ネッタイシマカに対する忌避活性は patchouli alcohol により、コクゾウムシに対しても patchouli alcohol が活性の発現に関与していると思われる。

Patchouli alcohol はネッタイシマカに対して強い忌避性を示し、一般に市販されよく使用されている Deet と同程度の濃度で強い忌避性が認められたことから有用な物質になり得ると思われる。さらに、コクゾウムシの忌避物質としても効果があることが明かとなった。

参考文献

- 1) Lemberg, S. and R. B. Hale. Proce. 7th International Essential Oil Conference, 402 (1977).
- 2) 八巻英彦：フレグランスジャーナル(6)241 (1986).
- 3) Niels, H. Anderson : Phytochemistry, **9**, 145 (1970).
- 4) Niels, H. Anderson : Tetrahedron letters, **21**, 1795 (1970).
- 5) Wenninger. J. A. Ronald Yates and Meyer Dolinsky : Proce. Scientific Section, **46**, 44(1966).
- 6) Brian, M. and Lawrence : Perfumer and Flavorist, **5**, 43 (1980).
- 7) Teisseire, P. : Rivista Ital., **55**, 572 (1973).
- 8) Niwa. H. Hasegawa. T. Ban N. and K. Yamada : Tetrahedron Letters, **25**, 2792 (1984).

SUMMARY

Tropical plants, Vetiver (*Vetiveria zizanoides*) and Patchouly (*Pogostemon cablin*) are useful plants for fragrance industry and there are traditionally insect control plants in Indonesia and Philippines.

Roots of vetiver and leaves of patchouly are known to be naturally resistant to insect attack.

The ether extracts of root and leaves of these tropical plants have insect repellency against the yellow fever mosquito, the rice weevil and the azuki bean weevil. Both extracts were fractionated by column chromatography and analyzed GC-MS. Sesquiterpens, β -vetivone and vetiverol from the vetiver and patchouli alcohol from the patchouly were identified as the insect repellent substances against the yellow fever mosquito. Patchouli alcohol was also identified as repellent against the rice weevil.