

***Candida* 属真菌に対する各種精油及び精油成分の抗真菌作用、
及び Amphotericin B の抗真菌作用に及ぼす影響**

野崎阿季子,^a 高橋栄造,^b 岡本敬の介,^b 伊東秀之,^a 波多野 力*,^a

**Antifungal Activity of Essential Oils and Their Constituents against *Candida* Spp.
and Their Effects on Activity of Amphotericin B**

Akiko NOZAKI,^a Eizo TAKAHASHI,^b Keinosuke OKAMOTO,^b
Hideyuki ITO,^a and Tsutomu HATANO*,^a

^aDepartment of Pharmacognosy, and ^bDepartment of Pharmacogenomics, Okayama University
Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,
1-1-1 Tsushima-Naka, Kita-ku, Okayama 700-8530, Japan

(Received December 4, 2009; Accepted February 16, 2010)

Candidiasis is a common opportunistic fungal infection that responds well to amphotericin B (AMPH) treatment. However, AMPH often causes adverse effects such as kidney injury and hypokalemia. Because some essential oils have been reported to have antifungal effects, we investigated the antifungal activity of various essential oils and their major constituents against *Candida* spp. Most essential oils examined in this study showed antifungal activity, and several enhanced the antifungal effect of AMPH. Clove oil in particular, and its major constituent eugenol, had potent effects. These findings suggest that combining certain essential oils or their constituents with AMPH may be useful for suppressing the adverse effects of AMPH treatment.

Key words—*Candida*; amphotericin B; essential oil; clove oil; eugenol; antifungal effect

緒 言

カンジダ症は、真菌の一種である *Candida* 属の菌種によって引き起こされ、真菌感染症の中で代表的なものの1つである。¹⁾ *Candida* 属の病原菌種はヒトに対する親和性が強く、しばしば常在菌として定着し、また限局性の表在性真菌症に加え重篤な深在性真菌症を引き起こすことがある。カンジダ症の治療については抗真菌薬療法が主であり、深在性真菌症に対してはポリエンマクロライド系抗生物質の amphotericin B (AMPH) が現在でも中心的な役割を果たしている。AMPH の抗真菌スペクトルは広く有用であるが、腎障害や低カリウム血症等の高頻度の副作用が問題となる。最も重篤な副作用は腎毒性であり、腎尿細管障害によって腎機能不全を引き起こすことが知られる。¹⁾

抗真菌作用が報告されている天然由来物質のうち

精油については、*Candida* 属真菌に対して、バイオフィルムに対する抑制作用や膈カンジダに対する保護効果等も報告されている。²⁻⁵⁾ そこで、本研究では新規抗真菌作用物質の開発、及び AMPH の作用増強による使用量・副作用の軽減を可能とする物質のリード化合物の開発の観点から、既に抗真菌作用が報告されているものも含めて、各種精油及び精油成分等の *Candida* 属真菌に対する抗真菌作用、並びに AMPH 共存時にその作用に対して及ぼす効果について検討を行った。

実 験 方 法

1. 試薬、試料、及び培地 1,8-Cineole, *trans*-cinnamaldehyde, citronellal, citronellol, geraniol, guaiacol, (+)-limonene, linalool, (–)- α -pinene, bergamot oil, cinnamon oil, eucalyptus oil, lavender oil, lemon oil, orange oil, rose oil, vanillin はナカライテスク (京都) より購入したものをを用いた。Citral は三栄化学 (大阪) より, farnesol, isoeugenol, α -caryophyllene, β -caryophyllene, 2-allyl-

^a岡山大学大学院医歯薬学総合研究科天然医薬品開発学,

^b同遺伝子機能化学

*e-mail: hatano@pharm.okayama-u.ac.jp

phenol は東京化成（東京）より購入したものを使用した。また、clove oil はナカライテスク及びキンダ化学（大阪）から、eugenol はナカライテスク及び和光純薬（大阪）から購入した製品を、その他の精油については株式会社生活の木（東京）の製品を用いた。このうち benzoin oil については、25% に希釈されているものを使用した。AMPH は和光純薬より購入した。

普通ブイヨン（NB）培地、サブロー寒天培地は栄研化学（東京）、bacto peptone は三光純薬（東京）、glucose 及び agar は和光純薬から、それぞれ購入したものをを用いた。

Candida 属真菌として、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科遺伝子機能化学研究室に保管されている *Candida albicans* FH01, *C. albicans* IFM40009, *C. tropicalis* NA01 を使用した。

2. 抗真菌活性の評価 前培養は一夜、NB 培地を用いて行い、本培養にはサブロー培地を使用した。これらの培養はすべて 37°C、好気的条件下で行った。また、精油及び AMPH の溶解には Tween 80 を使用し、終濃度は 5% 以下になるようにした。

2-1. Disc 法による抗真菌活性試験 前培養した真菌懸濁液 100 μ l を 1/5 倍濃度のサブロー寒天培地のプレートに接種し、5% Tween 80 で希釈した各試料 10 μ l を含浸させたペーパーディスク存在下、37°C で 24 時間培養後、阻止円の形成を判定した。また、各試料について濃度 200 mg/ml 又は 100 mg/ml として評価した。

2-2. 最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) の測定 MIC は、微量液体希釈法により 96 穴マイクロプレートを用いて測定した。試料の希釈にはサブロー培地を用い、各 U 字型ウェルに 100 μ l ずつになるように試料の 2 倍希釈系列の溶液を調製した。一夜前培養した真菌懸濁液 100 μ l をサブロー培地 2 ml を含む小試験管に加え、O.D.₅₃₀ が 0.4（約 10⁶ CFU/ml）となるまで培養した。これをサブロー培地で 1000 倍希釈し、各ウェルに 100 μ l ずつ接種した。37°C で 48 時間培養後、各ウェル中で真菌の発育が肉眼的に認められない最小の薬剤濃度を MIC とした。

2-3. 増殖過程に対する影響の比濁法による検討 一夜前培養した真菌懸濁液 100 μ l をサブロー培地 2 ml を含む試験管に接種し、37°C で O.D.₅₃₀ が

0.4 となるまで培養した後、同じ培地で 100 倍希釈した。試験管に試料を含む培地 1900 μ l を調製し、これに希釈菌液を 100 μ l 接種した。37°C で培養し、経時的に O.D.₅₃₀ を測定して増殖曲線を作成した。

3. Clove oil 中の eugenol 含量の定量 Clove oil の 2 製品について、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により、eugenol 含量を定量した。カラムは YMC A302 (ODS) (4.6 mm i.d.×150 mm) (YMC, 京都)、溶媒は 0.01 M H₃PO₄-0.01 M KH₂PO₄-CH₃CN (35 : 35 : 30, v/v/v) を使用し、カラムはオープン中で 40°C とし、検出は 254 nm で行った。Eugenol の定量用標準品としては、和光純薬から購入した 98% 以上の純度とされている製品を使用した。

結 果

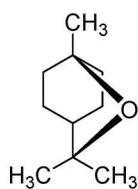
1. 精油及び精油成分の抗真菌作用及び AMPH との併用効果

1-1. Disc 法による検討 まず、精油及び精油成分 (Fig. 1) の抗真菌作用について Disc 法によるスクリーニングを行った。精油 35 種、精油成分 12 種を用いて検討した結果、benzoin oil, black pepper oil, jasmin absolute oil, marjoram oil, patchouli oil, ylang ylang oil の各精油を除いたすべての精油、及びすべての精油成分で明瞭な阻止円の形成を認めた (data not shown)。

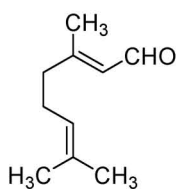
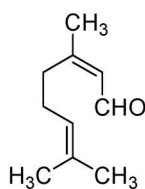
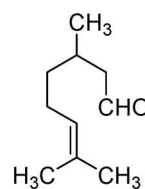
そこで次に、これらの抗真菌活性を示した精油のうち、これまでに報告がないものを中心に 26 種、及び精油成分のうち 11 種について、AMPH との併用効果を Disc 法により検討した。精油の濃度は 200 mg/ml とし、この濃度で明瞭な阻止円が形成されたものについては 100 mg/ml の濃度で抗真菌効果を検討した。また、AMPH の濃度は明瞭な阻止円の形成が確認できる最小濃度の 0.05 mg/ml とした。その結果、Table 1 に示すように、17 種の精油及び精油成分について、それらの添加による AMPH の阻止円の増大が認められた。

これらのうち、clove oil 及びその主成分の eugenol, rose oil 及びその成分として知られる geraniol 及び linalool, clary sage oil 及びその成分の linalool, rose otto oil 及びその成分の citronellol, geraniol 等については、AMPH と組み合わせるこ

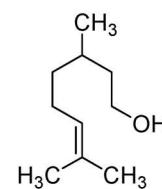
Monoterpenoids



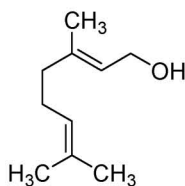
1,8-Cineole

Citral A
(=geranial)Citral B
(=neral)

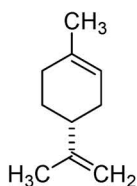
Citronellal



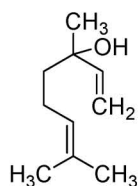
Citronellol



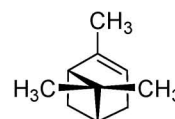
Geraniol



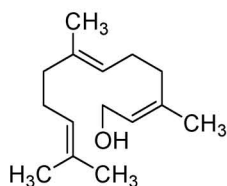
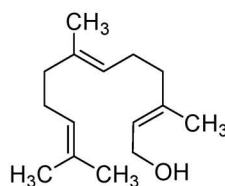
(+) -Limonene



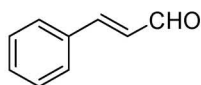
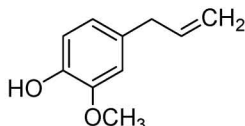
Linalool

(-) - α -Pinene

Sesquiterpenoids

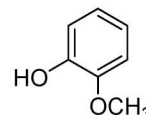
*cis*-Farnesol*trans*-Farnesol

Phenylpropanoids

*trans*-Cinnamaldehyde

Eugenol

Phenol



Guaiacol

Fig. 1. Essential Oils Examined for Antifungal Activity

とによって、AMPH を 2 倍の濃度 (0.1 mg/ml) で添加した際の阻止円直径よりも大きい阻止円の形成が認められ、これらの精油及び精油成分については、AMPH の抗真菌作用の増強が示された。また、eucalyptus oil (「生活の木」製品)、lemongrass oil 等にも同様の AMPH の作用増強が認められた。

1-2. MIC による検討 Disc 法で併用による増強作用が認められた試料についてさらに、

AMPH が示す MIC が精油又は精油成分添加時と非添加時でどのように変化するかを検討した。まず精油及び精油成分の MIC の測定を行い、さらにこれら単独での MIC を基に、AMPH の濃度の 2 倍希釈系列に 1/4 MIC 又は 1/2 MIC 濃度の精油を加え、併用効果を検討した。

精油単独時の MIC、及び精油併用時の AMPH の MIC を Table 2 に示す。精油の中では、eucalyp-

Table 1. Effect of Essential Oils on Inhibition Diameters (mm) of Amphotericin B (AMPH) against *Candida* spp.

	Inhibition diameters (mm)					
	<i>C. albicans</i> FH01		<i>C. albicans</i> IFM40009		<i>C. tropicalis</i> NA01	
	alone	+ AMPH (0.05 mg/ml)	alone	+ AMPH (0.05 mg/ml)	alone	+ AMPH (0.05 mg/ml)
AMPH (alone)	12 (0.05 mg/ml)	13 (0.1 mg/ml)	12 (0.05 mg/ml)	13 (0.1 mg/ml)	11 (0.05 mg/ml)	13 (0.1 mg/ml)
Bergamot oil (N) ^a	9	12	8.5	14	9	12
Bergamot oil (T) ^a	12	13	11	13	11	12
Chamomile German oil	9	13	—	14	—	11
Chamomile Roman oil	10	13	—	11	8.5	12
Clary sage oil	9	14	—	11	9	11
Clove oil (N) ^a	11	16	10	15	10	14
Cypress oil	9	12	—	11	—	11
Eucalyptus oil (N) ^a	10	11	8.5	11	9	11
Eucalyptus oil ^b (T) ^a	13	15	12	14	12	14
Frankincense oil	9	14	—	12	9	13
Juniper oil	10	12	—	12	11	11
Lavender oil (N) ^a	10	12	8.5	12	—	11
Lavender oil (T) ^a	9	12	8.5	11	9	11
Lemon oil	9	12	—	12	—	11
Lemongrass oil	12	14	13	15	13	16
Melissa oil	10	12	11	12	12	13
Mirrh oil	10	11	8.5	11	10	11
Neroli oil	10	13	9	11	10	11
Orange oil	8.5	12	—	11	—	11
Peppermint oil	10	11	9	12	11	12
Rose oil ^b	13	15	12	14	11	13
Rose absolute oil	9	12	—	13	9	12
Rosemary oil	12	13	10	12	11	12
Rose otto oil	10	13	8.5	14	10	14
Sandalwood oil	10	14	—	12	—	13
Vetiver oil	9	13	—	11	—	11
1,8-Cineole	9	12	—	11	—	12
Citral ^b	11	11	11	13	13	13
Citronellal ^b	12	14	9	14	12	13
Citronellol ^b	10	12	9	14	11	14
Eugenol ^b	10	14	9	14	11	14
Farnesol	9	14	—	14	9	13
Geraniol	11	14	9	14	11	13
Guaiacol	10	14	9	13	8.5	14
(+)-Limonene	11	12	—	12	—	13
Linalool	10	15	8.5	14	9	12
(-)- α -Pinene	8.5	12	—	11	—	11

^a N; Nacalai, T; Tree of Life. ^b Concentrations of essential oils and their constituents on the two *C. albicans* strains were set at 100 mg/ml, and those of other materials at 200 mg/ml.

tus oil, lemongrass oil, rose oil, sandalwood oil, 精油成分としては, citronellol, farnesol, geraniol などが, 比較的強い抗真菌作用を示した. 今回使用した

3 菌種に対し, これらはほぼ同等の抗真菌活性を示したが, farnesol や sandalwood oil のように菌種間で活性が大きく異なる精油も存在した.

Table 2. Effect of Essential Oils on the Minimum Inhibitory Concentrations ($\mu\text{g/ml}$) of Amphotericin B (AMPH) against *Candida* spp.

Compound	<i>C. albicans</i> FH01			<i>C. albicans</i> IFM40009			<i>C. tropicalis</i> NA01		
	MIC	MIC of AMPH		MIC	MIC of AMPH		MIC	MIC of AMPH	
		+1/4 MIC	+1/2 MIC		+1/4 MIC	+1/2 MIC		+1/4 MIC	+1/2 MIC
None	—	0.5	0.5	—	1	1	—	4	4
Bergamot oil (N) ^a	620	1	0.5	2500	1	0.5	2500	4	4
Chamomile German oil	560	1	0.5	2300	1	0.5	1100	8	4
Clary sage oil	1100	1	0.5	2300	2	1	2300	8	4
Clove oil (N) ^a	1700	0.25	0.016	1700	0.5	0.016	1700	2	0.25
Eucalyptus oil (T) ^a	310	1	0.5	620	1	1	310	4	4
Frankincense oil	1100	1	0.5	2200	2	1	2200	8	4
Lemongrass oil	310	1	0.5	630	1	1	630	4	0.5
Rose oil	360	1	0.5	720	1	1	720	8	4
Rose otto oil	510	1	0.5	1020	1	1	1020	8	0.5
Sandalwood oil	330	1	0.5	2700	1	1	>11000 ^b	4	4
1,8-Cineole	640	1	0.5	1300	2	1	1300	4	4
Citral	340	1	0.5	690	2	1	340	4	4
Citronellal	580	1	0.5	2300	2	0.5	1200	4	4
Citronellol	150	1	0.5	610	1	0.5	310	4	4
Eugenol	660	0.25	0.25	1330	0.25	0.016	330	4	2
Farnesol	190	0.5	0.25	>12000 ^b	1	0.5	>12000 ^b	4	2
Geraniol	170	1	0.5	680	0.5	0.5	340	4	4
Guaiacol	2900	0.5	0.25	5900	1	0.25	2900	2	2
Linalool	630	0.5	0.25	1300	1	0.5	1300	4	4

^a N; Nacalai, T; Tree of Life. ^b When MIC of the essential oil was higher than the indicated value, 1/4 and 1/2 of the shown value ($\mu\text{g/ml}$) was added. ■: MIC decreased to 1/2 of that of AMPH, ▨: MIC decreased to $\leq 1/4$ of that of AMPH.

AMPH との併用時においては, *C. albicans* IFM40009 に対し, eugenol では 1/4 MIC 濃度の精油の添加によって AMPH の MIC の低下が認められた. このほか, clove oil, geraniol, 及び guaiacol 添加時に AMPH の MIC の低下がみられた. 精油又は精油成分を 1/2 MIC 濃度で添加した場合には, これらによる AMPH の作用増強がより明瞭に示され, さらに多くの精油・精油成分で AMPH の作用増強が認められた.

検討した精油のうち bergamot oil (ナカライテスク製品), chamomile German oil, clove oil, lemongrass oil, rose otto oil, 及び精油成分のうち citronellal, citronellol, eugenol, farnesol, geraniol, guaiacol, linalool については, 菌種及び菌株によってその作用に差異はみられるが, ディスク法及び微量液体希釈法のいずれにおいても AMPH の作用を増強することが明らかになった.

今回検討した中では, clove oil とその主成分であ

る eugenol が *Candida* 属 3 菌種すべてに対し顕著な増強を示したため, 次に clove oil 製品間の差異や, eugenol の関連化合物についても, AMPH との併用効果の検討を進めた.

2. Clove oil 成分とその関連化合物の AMPH との併用効果

2-1. MIC による検討

精油については製品間で成分・効果に差異がある可能性も考えられたので, 異なるメーカーの clove oil 製品 2 種を比較することとした. さらに, 市販品が入手可能であった以下の試料について比較検討した. すなわち, clove oil の成分として知られる α -, β -caryophyllene⁶⁾ のほか, eugenol の異性体 isoeugenol, eugenol の微生物代謝産物として知られる vanillin,^{7,8)} clove oil 成分 chavicol のオルト-パラ異性体の 2-allylphenol を検討の対象とした (Fig. 2).

その結果, これらは Table 3 に示す MIC を示した. Clove oil 2 製品はいずれも, *C. albicans* FH01

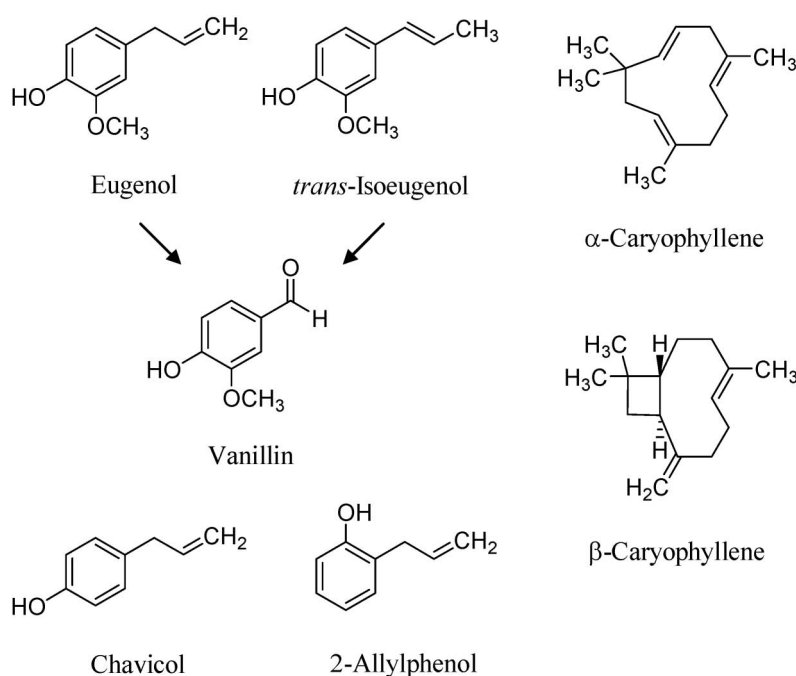


Fig. 2. Constituents of Clove Oil and Related Compounds

Table 3. Effect of Clove Oil and Related Compounds on Minimum Inhibitory Concentrations ($\mu\text{g/ml}$) of Amphotericin B (AMPH) against *Candida* spp.

Compound	<i>C. albicans</i> FH01			<i>C. albicans</i> IFM40009			<i>C. tropicalis</i> NA01		
	MIC	MIC of AMPH		MIC	MIC of AMPH		MIC	MIC of AMPH	
		+1/4 MIC	+1/2 MIC		+1/4 MIC	+1/2 MIC		+1/4 MIC	+1/2 MIC
None	—	0.5	0.5	—	1	1	—	4	4
Clove oil (N) ^a	1700	0.25	0.016	1700	0.5	0.016	1700	2	0.25
Clove oil (K) ^a	1600	0.25	0.016	1600	0.5	0.016	1600	2	0.25
Eugenol (N) ^a	670	0.25	0.25	1300	0.25	0.016	330	4	2
Eugenol Standard (W) ^a	710	0.25	0.25	1400	0.25	0.016	360	4	2
Isoeugenol	160	0.5	0.5	330	0.5	0.5	80	2	1
α -Caryophyllene	>10000 ^b	0.5	0.5	>10000 ^b	1	0.5	>10000 ^b	2	2
β -Caryophyllene	>9200 ^b	0.5	0.5	>9200 ^b	1	0.5	>9200 ^b	2	1
2-Allylphenol	620	1	0.5	620	0.5	0.5	310	2	2
Vanillin	130	1	0.5	260	0.5	0.5	130	2	2

^a N; Nacalai, K; Kishida, W; Wako. ^b When MIC of the essential oil was higher than the indicated value, 1/4 and 1/2 of the shown value ($\mu\text{g/ml}$) was added. ■: MIC decreased to 1/2 of that of AMPH, ▨: MIC decreased to $\leq 1/4$ of that of AMPH.

や *C. tropicalis* NA01 に対して抗真菌作用を示したが、主成分である eugenol はこれらより低い MIC を示した。

Eugenol 関連物質の isoeugenol や 2-allylphenol も MIC は clove oil より低い値を示し、関連構造のフェニルプロパノイドも抗真菌作用を有することが示唆された。これに対しセスキテルペノイドの α -caryophyllene (MIC, > 10000 $\mu\text{g/ml}$) や β -caryo-

phyllene (MIC, > 9200 $\mu\text{g/ml}$) は今回測定した濃度では抗真菌活性を示さなかった。

Clove oil, eugenol 及び関連物質を AMPH と併用したところ、Table 3 に示すように、*C. albicans* IFM40009 の場合、eugenol の 1/4 MIC 濃度の併用で AMPH に対する増強が示された。また同様に *C. albicans* FH01 に対しても eugenol の併用による AMPH の作用増強の傾向が示された。一方、*C.*

tropicallis NA01 に対しては eugenol による増強作用はそれぞれの添加濃度では clove oil それ自体よりも弱いという結果が示された。

2-2. 増殖過程に及ぼす影響の検討 Clove oil と eugenol については, *C. albicans* IFM40009 に対して最も増強が顕著に認められたので, これらについてさらに *C. albicans* の増殖過程に及ぼす影響を比濁法により検討した。

その結果, clove oil 及び AMPH 両者を併用した場合, それぞれを単独で使用した場合よりも明らかな菌の増殖遅延がみられた (Fig. 3). また, eugenol についてもほぼ同様の結果が得られた (Fig. 4).

3. Clove oil 中の eugenol 含量の定量 本検討で使用した 2 種の clove oil 中の eugenol 含量はそ

れぞれ, 85.1% (ナカライテスク製品), 及び 84.1% (キシダ化学製品) であった。

考 察

各精油についての Disc 法によるスクリーニングの結果, *C. albicans* を始めとした *Candida* 属真菌に対して, 強い活性を示した精油とその成分を見い出した。中でも clove oil, rose oil, clary sage oil, rose otto oil 及び精油成分の eugenol, geraniol, linalool, citronellol 等について, AMPH の抗真菌作用の増強が見い出された。これらにおいては, 精油の添加による AMPH の抗真菌作用の増強に, 対応する含有成分の作用が関与することが示唆された。

次に, 微量液体希釈法により, 精油及び精油成分単独の MIC, 及び抗真菌性抗生物質 AMPH との

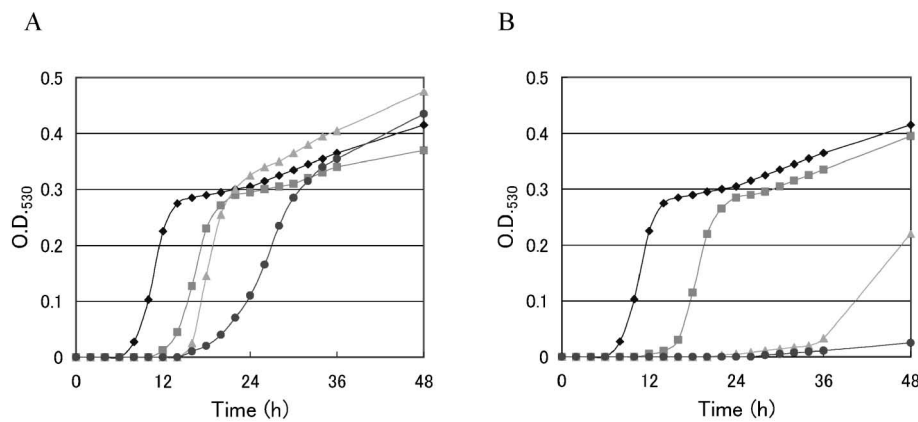


Fig. 3. Effect of Clove Oil and AMPH on Growth of *C. albicans* IFM40009

(A) ◆, control; ■, AMPH (0.25 µg/ml); ▲, clove oil (0.031 v/v%); ●, AMPH (0.25 µg/ml) + clove oil (0.031 v/v%) (one-quarter of MIC).
(B) ◆, control; ■, AMPH (0.5 µg/ml); ▲, clove oil (0.063 v/v%); ●, AMPH (0.5 µg/ml) + clove oil (0.063 v/v%) (half of MIC).

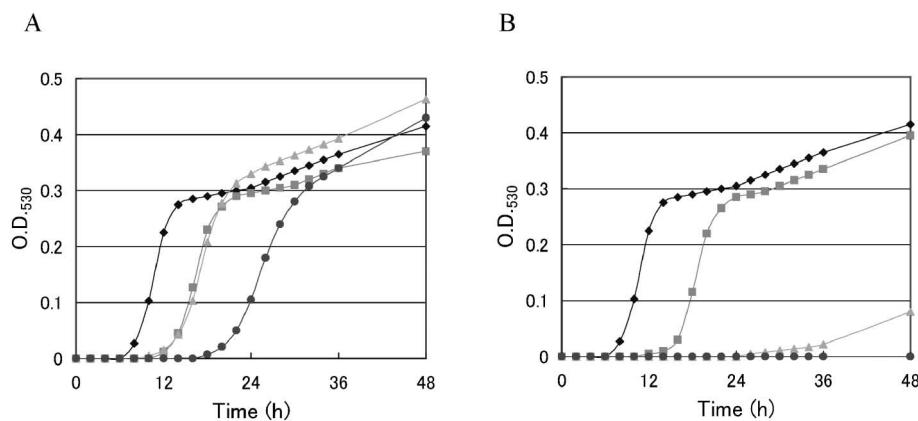


Fig. 4. Effect of Eugenol and AMPH on Growth of *C. albicans* IFM40009

(A) ◆, control; ■, AMPH (0.25 µg/ml); ▲, eugenol (0.031 v/v%); ●, AMPH (0.25 µg/ml) + eugenol (0.031 v/v%) (one-quarter of MIC).
(B) ◆, control; ■, AMPH (0.5 µg/ml); ▲, eugenol (0.063 v/v%); ●, AMPH (0.5 µg/ml) + eugenol (0.063 v/v%) (half of MIC).

併用時における AMPH の MIC の変化を観察した。その結果, eucalyptus oil, lemongrass oil, rose oil, sandalwood oil, 並びに精油成分の citronellol, farnesol, geraniol 等が, 比較的強い抗真菌作用を示した。また, farnesol や sandalwood oil のように菌種間で活性が大きく異なる精油も存在した。セスキテルペンあるいはセスキテルペンを多く含有する精油において, このような現象がみられたのであるが, ほかにアルキル鎖の長さが抗真菌作用において影響を与える例が報告されている。⁹⁾したがって, この場合もアルキル鎖がモノテルペン類に比べて長く親油性が高いことがある種の真菌に対する作用に効果的であって, 真菌細胞膜の構造の差異が作用の違いとなって現れたのかもしれない。ただし, 後述のようにカリオフィレン類の抗真菌作用は弱く, セスキテルペンにおいても farnesol にみられるような水酸基の寄与が無視できないのではないかと考えられる。

精油のうち bergamot oil, chamomile German oil, clove oil, lemongrass oil, rose otto oil, 精油成分では citronellal, citronellol, eugenol, farnesol, geraniol, guaiacol, linalool が, ディスク法及び微量液体希釈法のいずれにおいても AMPH の作用を増強した。この効果を示した精油成分の化学構造においては, 親油性ないし疎水性とともに, 極性の官能基の存在の寄与が, AMPH との併用効果においても重要ではないかと考えられる。

Clove oil の主成分は eugenol であるが, ほかにセスキテルペノイドの α -caryophyllene, β -caryophyllene 等を含むとされる。⁶⁾そこでさらに clove oil 及びこれらの成分について検討を進めた結果, eugenol は clove oil より低い MIC を示した。他方, clove oil の成分として知られる α -caryophyllene 及び β -caryophyllene は抗真菌活性を示さず, clove oil の抗真菌作用への関与はほとんどないと思われる。

Clove oil 及び eugenol はいずれも AMPH の抗真菌作用を増強した。Eugenol は本検討で使用した clove oil 2 製品中の約 85% を占めることも確かめられた。したがって単独の抗真菌作用及び AMPH の抗真菌作用のいずれについても, clove oil の作用の少なくとも一部は, eugenol によって説明される。

AMPH との併用時においては, *C. albicans* IFM40009 に対し, eugenol では 1/4 MIC 濃度の精油の添加によって AMPH の MIC の低下が認められ, 相乗的な作用である可能性も示唆されたが, これについては Fig. 4 の結果に基づくと, 相加的な効果である可能性も考えられる。

一方, *C. tropicalis* に対しては eugenol による増強作用は clove oil それ自体よりも弱く, clove oil による AMPH の作用増強には eugenol 以外の成分の関与が示唆された。この場合, clove oil 中には eugenol より強い作用物質の存在の可能性が考えられる。このように, clove oil 成分や eugenol 関連物質を精査することによって, 新たな抗真菌作用物質や, 抗生物質の作用を増強し副作用の低減につながる物質が見い出される可能性も示された。

REFERENCES

- 1) Yamaguchi H., "Byogen Shinkin to Sinkinsho," 4th ed., Nanzando Co., Ltd., Tokyo, 2007, pp. 1-279.
- 2) Lee J. H., Lee B. K., Kim J. H., Lee S. H., Hong S. K., *J. Microbiol. Biotechnol.*, **19**, 391-396 (2009).
- 3) Valero M., Salmerón M. C., *Int. J. Food Microbiol.*, **85**, 73-81 (2003).
- 4) Dalleau S., Cateau E., Bergès T., Berjeaud J. M., Imbert C., *Int. J. Antimicrob. Agents*, **31**, 572-576 (2008).
- 5) Maruyama N., Takizawa T., Ishibashi H., Hisajima T., Inouye S., Yamaguchi H., Abe S., *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 1501-1506 (2008).
- 6) Yang Y. C., Lee S. H., Lee W. J., Choi D. H., Ahn Y. J., *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 4884-4888 (2003).
- 7) Unno T., Kim S. J., Kanaly R. A., Ahn J. H., Kang S. I., Hur H. G., *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 8556-8561 (2007).
- 8) Hua D., Ma C., Lin S., Song L., Deng Z., Maomy Z., Zhang Z., Yu B., Xu P., *J. Biotechnol.*, **130**, 463-470 (2007).
- 9) Leal P. C., Mascarello A., Derita M., Zuljan F., Nunes R. J., Zacchino S., Yunes R. A., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 1793-1796 (2009).