

## 各種機能性食品に含まれるポリフェノール類の 抗酸化作用と腫瘍細胞増殖抑制作用に関する研究

大川 雅史

〒814-0180 福岡市城南区七隈8-19-1 福岡大学薬学部

### Study on the Antioxydative and Antiproliferative Activity of the Polyhenol Contained Some Functional Foods

Masafumi Okawa

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University,  
8-19-1 Nanakuma, Fukuoka, 814-0180 Japan.

**Abstract;** Nowadays, herbal medicines such as health-care foods or supplement are used for self-medication and alternative medicine. It will become crucial increasingly from now on that the componentum of the high validity is discovered from foods, herb and medicinal plants and necessary that their utility is proved scientifically.

Among them, various antioxidants, polyphenols, vitamins, carotenoids, and flavonoids are contained in the most of foods and medicinal plants. Recent study on the antioxidative substances has revealed that a reactive oxygen species (ROS) is implicated in a wide range of human diseases such as atherosclerosis and certain cancers. It has been also proved that ROS play an important role in cell death induction, aging and so on. Therefore, the study on the antioxidative substances in foods and medicinal plants will become important, and such antioxidative substances might be applied for prevention of human diseases rather than treatment.

Therefore, the antioxidative and antiproliferative activity of the polyphenolic compounds has been investigated for the research of the functionality of young green barley (*Hordeum vulgare* var. *nudum*) leaves and Ku-Ding-Cha, the processed leaves of *Ligustrum purpurascens*, used as a traditional tea in Yunnan Province, China.

**Key Words;** health-care foods, supplement, polyphenols, antioxydative activity, antiproliferative activity

食品には種々の抗酸化成分を含有しているものが多くある。その成分とは、ポリフェノールをはじめビタミン類、カロテノイド類、フラボノイド類などであり、野菜や豆類などの植物系の食品類に多く含有されている<sup>1)</sup>。このような食品中の抗酸化作用などの各種生理活性を持つ成分に関する研究は、ここ数年に注目を浴び始めた比較的新しい分野である。

近年、フリーラジカルとりわけ活性酸素が動脈硬化、癌、糖尿病といった生活習慣病の一因となっていることが次第に明らかとなり、疾病だけでなく老化-加齢による生理機能の低下においても非常に大きな要因であることが証明されつつある<sup>2,3)</sup>。従って、

老化を防ぐということは、治療というよりも、むしろ、予防という点で意義を持つものであり、日常摂取する抗酸化物質について興味を持たれるところである<sup>4)</sup>。

昨今は健康食品・サプリメントなどの herbal medicines を self-medication として用い、更には alternative medicine 「代替医療」が益々の広がりを見せてきている。「医食同源／薬食同源」の観点からの食品の持つ3次機能を予防医学に応用していくために、食品、ハーブや和漢薬の中から有効性の高いものを発見していくこと、あるいは有用性を科学的に証明していくことは今後重要になってくることが考えられる。

そこで食品、ハーブや和漢薬がもつ機能性の研究の一環としてポリフェノール類の抗酸化作用、さらに抗酸化作用と抗腫瘍作用とは関連がある<sup>5-7)</sup>ことから、特に健康食品として流通している大麦若葉、近年、中国においてダイエット飲料として注目されている苦丁茶についても成分検索を行い、その有用性の検討を行った。併せて緑茶を含む数種の食品ならびに天然薬物中のポリフェノールについて DPPH ラジカル消去能を比較するとともに腫瘍細胞増殖抑制作用についても検討した。

#### DPPH radical 消去活性（抗酸化活性）測定<sup>8)</sup>

試料溶液は、各サンプルを DMSO に溶かし、濃度を 1 mM とし、一部を DMSO で希釈をすることにより各濃度に調製した。DPPH エタノール溶液は濃度 150  $\mu$ M となるように調製した。

DPPH エタノール溶液 100  $\mu$ L と試料溶液 100  $\mu$ L をエッペンドルフチューブ (1.50 mL) 中で混合し、充分攪拌した。キャピラリーでサンプリングし、キャピラリーごと測定用の石英セルに入れて、60 秒後より ESR 装置を用いて DPPH radical を測定した。対照として DPPH エタノール溶液と DMSO を各 100  $\mu$ M ずつ混和したもののみを用い同様な操作を行った。

DPPH のラジカル量は、標準物質として酸化マンガン ( $Mn^{2+}$ ) を使用し、 $Mn^{2+}$  の信号強度と一定時間後の DPPH radical の信号強度の比から求めた。

得られた DPPH radical 量から DPPH radical 消去活性値を次式により算出した。

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{DPPH}^+ \text{ peak height} / \text{MnO peak height} - (\text{DPPH}^+ + \text{Sample peak height}) / \text{MnO peak height}}{\text{DPPH}^+ \text{ peak height} / \text{MnO peak height}}$$

#### 腫瘍細胞増殖抑制活性測定

各化合物について、Human gastric adenocarcinoma (MK-1)、human uterus carcinoma (HeLa)、および murine melanoma (B16F10) の各種腫瘍細胞を用いた MTT-microculture tetrazolium assay による細胞増殖抑制作用の検定を行った。

各細胞は  $15 \times 10^4 \sim 20 \times 10^4$  cells/mL となるよう、RPMI 1640 培地 (含 20 % FBS) 中に懸濁して細胞懸濁液とした。被験物質は、DMSO に溶解した後、RPMI 1640 培地で希釈し被験物質溶液とした。

50 $\mu$ L の被験物質溶液を 50  $\mu$ L の RPMI 1640 培地を分注した 96 穴マイクロプレートに加え、被験物質の濃度が、各化合物において 200~0.4  $\mu$ g/mL の 10 段階になるよう、マイクロプレート上で段階希釈した。

コントロールとなる well には、被験物質を含まない培地のみを 50  $\mu$ L 分注した。このマイクロプレートの各 well に、それぞれ 50  $\mu$ L の細胞懸濁液を加えた後、5% CO<sub>2</sub> を含む大気中で、37°C、48 時間培養した。

次に 10 nL の 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT 試薬 : 5mg/mL) をマイクロプレートの各 well に分注し、37°C、2 時間培養した。培養後、培養上清をアスピレートし、生じた MTT-formazan を可溶化するため 100  $\mu$ L の DMSO を加え、マイクロプレートリーダーで 570 nm 吸光度を測定した。

増殖抑制活性 (%) は、 $(1-A/B) \times 100$  (A: 被験物質添加群の吸光度、B: コントロール群の吸光度) より算出し、各化合物については n=4 の平均値をそれぞれ求めた。

### 大麦若葉中のフラボノイドの抗酸化作用と腫瘍細胞増殖抑制作用

大麦 (*Hordeum spp.*)<sup>9)</sup> はよく知られた畑作物の一つである。最近、その若葉に活性酸素除去作用をもつ SOD (Superoxide dismutase) をはじめとし、その他ビタミン類や Ca、Mg などのミネラル類が他の緑黄色野菜や農産物に比べ群を抜いて多く含まれていることが、共同研究者により明らかにされた。特に若葉に多量に含まれるフラボノイドは、抗酸化活性本体として、発ガンなど活性酸素の関与する種々の疾患に対する予防薬の可能性があり注目されている。

まず、大麦若葉粉末より、下図に示す新規 3 種を含む isovitexin を基本骨格とする flavone C-glycoside を得、その構造を明らかにするとともに、DPPH radical 消去活性を検討した。

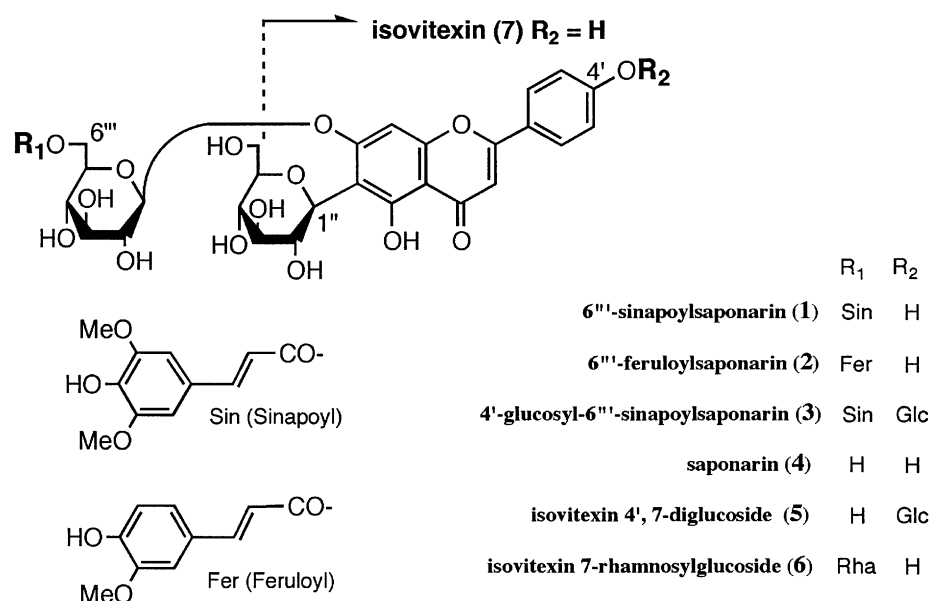


Fig. 1. Flavones from Young Green Barley Leaves

化合物 1—3 は、強い DPPH radical の消去活性を示した。このことから DPPH radical 消去作用に sinapoyl および feruloyl 両基の関与が示唆された。そこで sinapic acid と ferulic acid の影響を単独で測定したところ、更に強い活性が認められた (Table 1、後述)。

また、腫瘍細胞増殖抑制作用についても検討した結果、いずれの化合物にも効果は認められなかった (Table 3)。

### 苦丁茶の抗酸化作用と腫瘍細胞増殖抑制作用

苦丁茶は中国・華南地方で茶の代用として広く飲用されている伝統的な茶剤である。その起源は知られているだけで 5 科 5 属 10 種にわたる。なかでも雲南、四川、貴州では *Ligustrum* 属が主に用いられ、一方で広西、浙江、湖南においては *Ilex* 属の葉が用いられている。今回、種々の活性を調査する目的で成分検索を試みた苦丁茶はモクセイ科 *Ligustrum* 属の *L. purpureascens* Y. C. YANG (中国名；紫茎女貞) の葉および小枝を乾燥させたものである<sup>10-12)</sup>。

本植物<sup>13-15)</sup> は雲南省東北の海拔 1000~1500 m の亜熱帯広葉樹林および四川省の一部に分布するこの地域の特有の植物である。その薬効は「風熱を散じ、頭目を清め、煩渴を除き」、頭痛、歯痛、結膜炎、中耳炎、および下痢を治すとされている。民間では利尿剤、またはダイエット食品として、あるいは高血圧症や咽頭痛などに応用している。

成分検索を行った結果、以下に示す化合物を得た。化合物 49—52 は本植物から初めて単離であった。

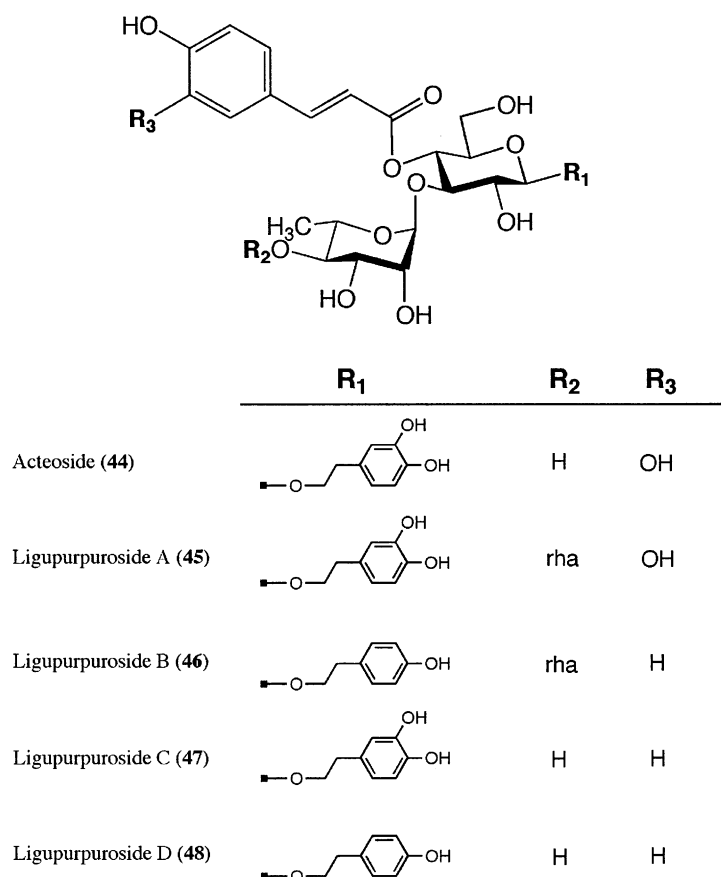


Fig. 2. Phenylethanoid from *L. purpureascens*

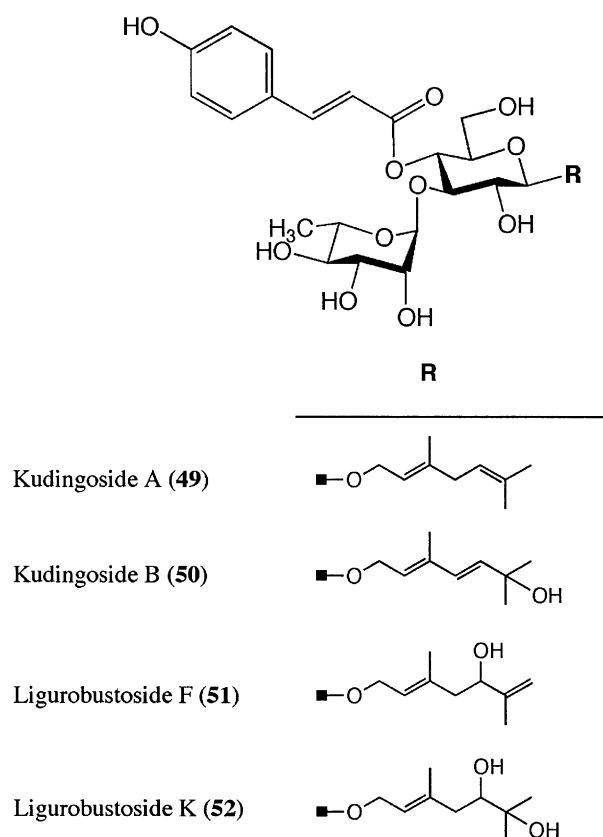


Fig. 3. Monoterpenoidal Glycosides from *L. purpurascens*

Table 1 に示すように DPPH radical 消去作用を  $10 \mu\text{M}$  で測定したところ、化合物 **44** – **48** に消去活性が認められた。これら消去作用を示した化合物の中で、その活性の強さは ligupurpuroside A (**45**)、ついで acteoside (**44**)<sup>16, 17</sup>、ligupurpuroside C (**47**) の順で強く、ligupurpuroside D (**48**) と ligupurpuroside B (**46**) は同程度の活性であった。caffeic acid ester を持つ acteoside、ligupurpuroside A が *p*-coumaric acid ester をもつ他の化合物より強い活性を示した。acteoside、ligupurpuroside A の  $\text{IC}_{50}$  は、それぞれ  $9.9 \mu\text{M}$ 、 $7.7 \mu\text{M}$  であった。Triglycoside である ligupurpuroside A が diglycoside である acteoside に比べより強い活性を示したことは糖部の影響が示唆され興味深い。モノテルペン配糖体は他の化合物と異なり全く DPPH radical 消去活性を示さなかった。これらのことから DPPH radical 消去活性は結合している Phenylpropanoid acid のフェノール性水酸基の数に依存しているものと推測された。

そこで構造活性相関をより詳細に検討するため 5 種の phenylpropanoid acid (sinapic acid, ferulic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, cinnamic acid) について比較を行った。その結果、3 種の化合物に消去活性が認められた。その活性の強さは caffeic acid<sup>18-20</sup> ( $\text{IC}_{50}$   $2.6 \mu\text{M}$ )、sinapic acid ( $\text{IC}_{50}$   $4.6 \mu\text{M}$ )、ferulic acid ( $\text{IC}_{50}$   $12.9 \mu\text{M}$ ) の順であった。一方、エステル型 catechol 基を持つ caffeic acid が最も強い活性を示すのに対し、3,4-dihydroxyphenethyl 型 catechol 基を持つ化合物 **35** は強い活性を示さなかった。このことから caffeic acid だけでなく、化合物 **32** と **33** のようなエステル結合した catechol 基が強い活性には関与して

いると思われる。さらに同じエステル結合をもつ *p*-coumaric acid は活性を示さなかったが、3 種の *p*-coumaric acid の配糖体 (46 – 48) は弱いながら活性を示した。従って糖部が DPPH radical 消去活性の発現に補助的な役割を果たしているのではないかと考えられた。

Table 1. DPPH Radical Reducing Activity of Compounds 44 – 52 and Phenylpropanoid Acids

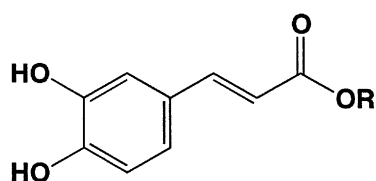
Name	Inhibition (%) (10 $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
Acteoside (44)	49	9.9
Ligupurpuroside A (45)	64	7.7
Ligupurpuroside B (46)	24	—
Ligupurpuroside C (47)	30	—
Ligupurpuroside D (48)	25	—
Kudingoside A (49)	-	—
Kudingoside B (50)	-	—
Ligurobustoside F (51)	-	—
Ligurobustoside K (52)	-	—
Sinapic acid	86	4.6
Ferulic acid	60	12.9
Caffeic acid	94	2.6
<i>p</i> -Counaric acid	-	—
Cinnamic acid	-	—

次に腫瘍細胞増殖抑制活性について化合物 44, 45, 47 は 3, 4-dihydroxyphenethyl 型の配糖体である。これらの化合物が 3 種の腫瘍細胞の成長を抑制し、かつ B16F10 細胞に対する抑制作用が他の MK-1、HeLa 細胞に対する抑制作用より顕著に現れた。特に caffeoyl 基が結合した化合物 44 と 45 は B16F10 細胞に対しより高い活性を示した。一方、monoterpene 配糖体および 4-hydroxyphenethyl 型の配糖体 (46, 48 – 52) は活性を示さなかった。ゆえに 3,4-dihydroxyphenethyl 基は強い細胞増殖抑制活性を惹起させるために必要であると考えられた。この構造活性相関はすでに共著者<sup>21)</sup>により報告されており (Table 2-2)、3,4'-dihydroxyphenethyl 基の存在は caffeic acid のエステル存在と同様に活性発現に貢献していると考えられる。この結果は抗酸化作用の強弱ともほぼ一致することから、二つの活性の間に何らかの因果関係が推察されるが、前述のように、DPPH radical 消去作用は caffeic acid エステルの存在により強く依存することから若干の相違がある。

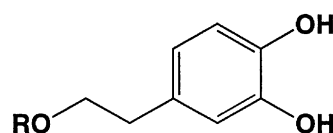
Table 2-1. Antiproliferative Activity ( $GI_{50}$ ,  $\mu M$ ) against B16F10, HeLa and MK-1 Cell Lines

	$GI_{50}(\mu M)$		
	B16F10	HeLa	MK-1
44	5.3	78	53
45	6.5	39	26
47	11	49	49
46	120	>135	>135
48	>169	>169	>169
49	>164	>164	>164
51	>160	>160	>160
52	>156	>156	>156
5-FU	1.1	13	21

Values are the means of four determinations



Caffeic acid  $R=H$   
Methylcaffeate  $R=CH_3$



3,4-Dihydroxyphenethyl alcohol  $R=H$   
3,4-Dihydroxyphenethyl glucoside  $R=glc$

Table 2-2. Antiproliferative Activity ( $GI_{50}$ ,  $\mu M$ ) against B16F10, HeLa and MK-1 Cell Lines

	$GI_{50}(\mu M)$		
	B16F10	HeLa	MK-1
Caffeic acid	12	83	61
Methylcaffeate	26	21	103
3,4-dihydroxyphenethyl alcohol	8	78	53
3,4-dihydroxyphenethyl glucoside	10	95	63

### 各種機能性食品および生薬中の成分の抗酸化作用と腫瘍細胞増殖抑制作用

更に、抗酸化活性成分を検索し、単一の系での構造活性相関を精査する目的でフラボ

ノイドを中心に各種ポリフェノール類を調製した<sup>22)</sup>。特に抗酸化活性を持つような代表的な生薬あるいは食品について抽出分離を行い以下のフラボノイド類を得た。各サンプルについて DPPH radical 消去活性について検討を行った。

抗腫瘍活性についても苦丁茶と同様な細胞系を用い併せて検討を行った。

Table 3. Inhibitory Activity of Various Types of Flavonoids on DPPH Radical and Antiproliferative Activity (GI<sub>50</sub>,  $\mu$ M) against B16F10, HeLa and MK-1 Cell Lines

Compounds	No.	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	GI <sub>50</sub> ( $\mu$ M)		
			B16	HeLa	MK-1
<u>Flavones</u>					
(Aglycones)					
apigenin	8	>1000	26	15	22
luteolin	9	16.0	21	10	31
baicalein	10	37.8	11	30	26
(Glycosides)					
isovitexin	7	>1000	>231	>231	>231
saponarin	4	211	>168	>168	>168
isovitexin 4',7-diglucoside	5	291	>132	>132	>132
isovitexin 7- rhamnosylglucoside	6	299	>135	>135	>135
6''-sinapoylsaponarin	1	21.1	>125	>125	>125
6''-feruloylsaponarin	2	51.1	>130	>130	>130
4'-glucosyl-6'''- sinapoylsaponarin	3	25.5	>104	>104	>104
baicalin	11	15.5	>224	>224	>224
<u>Flavonols</u>					
(Aglycones)					
kaempferol	13	41.2	213	42	168
quercetin	12	8.9	93	119	142
(Glycoside)					
rutin	14	11.1	ND	ND	ND
<u>Flavanols</u>					
catechin	16	11.7	ND	ND	ND
epicatechin	17	10.6	48	207	45
gallo catechin	15	6.9	19	59	14
epigallocatechin	18	7.5	19	62	14
epigallocatechin gallate	19	6.3	11	37	9
epicatechin gallate	20	5.9	18	69	14
procyanidin B-2	21	11.7	ND	ND	ND
procyanidin C-1	23	7.3	ND	ND	ND
procyanidin A-2	22	8.8	ND	ND	ND
<u>Isoflavones</u>					
(Aglycones)					
daidzein	27	532	100	23	140
genistein	28	1000	16	8.5	54
glycitein	29	612	35	24	35
irisolidone	39	113	7	39	76
tectorigenin	40	28	57	117	100
biochain A	41	285	2.8	9	38
(Glycosides)					



daidzin	24	642	>240	>240	>240
genistin	25	265	32	39	79
glycitin	26	743	58	36	120
irisolidone 7-glucoside	33	>1000	ND	ND	ND
kakkalide	34	>1000	ND	ND	ND
tectoridin	35	710	>210	>210	>210
tectorigenin 7-O-xylosylglucoside	36	730	>164	>164	>164
sissotorin	37	>1000	ND	ND	ND
6-hydroxygenistein					
6,7-di-O-glucoside	38	272	ND	ND	ND
<u>Isoflavanones</u>					
dihydrogenistein	30	> 1000	120	99	240
dihydroglycitein	31	311	>368	180	>368
<u>Isoflavan</u>					
equol	32	188	150	13	160
<u>Flavonolignans</u>					
silybin	42	>1000	ND	ND	ND
silychristin	43	274	ND	ND	ND

まず、大麦より得られた **1** – **7** の 7 種の含む flavone 類の活性を比較したところ、**5**, **6**, 7-trihydroxyl 基を持つ baicalin が最も強い消去活性を示した。baicalin は骨格中の B 環に全く水酸基を持っていないことから、C-4' 位の水酸基は DPPH radical 消去活性に寄与していないことが推察された。

そこで更に 6 系統 (flavonol, flavanol, isoflavone, isoflavanone, isoflavan, flavonolignan) 、41 種の flavonoid についてサンプルを各種生薬および機能性食品より調製し、DPPH radical 消去活性について比較した。その結果は Table 3 に示した通りである。

Flavonolignan 構造の silybin (**42**) と silychristin (**43**) は flavanol と化合物 **5** – **7** のような強い活性を示した phenylpropanoid より構成される。しかしながら、化合物 **42** と **43** は化合物 **5** – **7** に比べ全く弱い活性しか示さなかった。特に化合物 **42** は全く活性を示さなかった。その一方で 3'位に水酸基が存在する silychristin (**43**) は弱いながらも活性を示した。化合物 **42** と **43** の消去活性は ferulic acid 自身より弱く、従って  $\alpha$ ,  $\beta$  不飽和ケトンが活性増強には必要でないかと推測される。

Flavonol 類は 3, 5, 7, 3', 4' に水酸基を持つ quercetin が、3, 5, 7, 3' に水酸基を持つ kaempferol より強い活性が得られた。ゆえに flavonol 骨格中の B 環において、3', 4' の 2 つの水酸基は DPPH radical 消去活性を増強することがわかる。一方で rutin のような 3 位の配糖体についても quercetin に近い活性を示すことから、3 位の水酸基は活性強弱にあまり寄与していないと考えられる。

Flavanol に関しては、epicatechin gallate、epigallocatechin gallate、galocatechin、procyanidin C-1、procyanidin A-2、epicatechin と catechin、procyanidin B-2 の順に活性は落ちていく。三量体は galocatechin よりはるかに多い水酸基を持っているにもかかわらず、galocatechin のほうがより強い活性を持つ。同じように二量体と単量体が同等の活性を持つ。最後に procyanidin A-2 は procyanidin B-2 と同様に二量体であるが水酸基の数は少ないにもかかわらずより強力な活性を持つ。従って、構造中の水酸基の数は必ずしも活

性の強弱にとって重要ではないと考えられる。一方で、catechol、pyrogallol のように水酸基の結合位置がより重要であるということが確認できた。

Isoflavone、isoflavanone と isoflavan の中で、isoflavone の tectorigenin が最も強い活性を示した。系統は異なるが irisolidone と equol が中程度の活性を示した。配糖体になると活性は減弱する傾向にあるが、例外として genistin が他の化合物と比べて弱いながらも他の isoflavonoid 配糖体の中では比較的強い活性を示した。一般的に isoflavonoid の DPPH radical 消去活性は他の flavonoid に比べ弱いと思われる。

強い活性を示した flavonoid はそれらの構造中に catechol 部位を持っており、baicalin は隣接する 5 位、6 位の水酸基の存在により catechol 基に近い特徴を持つ。ほとんど活性のない silybin や silychristin は catechol ではなく guaiacyl を持っている。ゆえに DPPH radical 消去活性には catechol が重要であることが判明した<sup>23, 24)</sup>。しかしながら、galocatechin と procyanidin C-1 を比較すると活性の強弱に水酸基の数はそれほど重要でないことが推察された。むしろ水酸基の結合位置の方が強い DPPH radical 消去活性に重要であることが判明した。

また、flavone の 3 位に水酸基が結合する、すなわち、flavonol 骨格になると活性が増強することが判明した。特に B 環 4'位にのみ水酸基がある apigenin がその傾向が顕著に現れた。

次に、苦丁茶の場合と同様 3 種の腫瘍細胞 Human gastric adenocarcinoma (MK-1)、human uterus carcinoma (HeLa)、および murine melanoma (B16F10) を用いた MTT-microculture tetrazolium assay による細胞増殖抑制作用の検定を行った。

Apigenin、luteorin、baicalein はそれぞれの細胞種に対し抑制作用を示したが、大麦より得られたフラボン C-配糖体 1 - 7 は全く活性を示さなかった。従って、glucose が 6 位に C-C 結合すると活性が減弱すると考えられる。また、apigenin、luteorin に対応する flavonol である kaempferol、quercetin においても活性の減弱が認められた。ゆえに、3 位の水酸基の存在も活性を減弱させることが判明した。この結果は DPPH radical 消去活性とは相反しているところが興味深い。

Flavanol に関しては 3 種の腫瘍細胞の中でも、MK-1 細胞に対し特異的な傾向を示した。すなわち、galocatechin 型と 3 位に galloyl 基が結合するものに強い活性が認められた。B 環の pyrogallol 基は catechol 基に比べ活性を 3~4 倍上昇させた。同時に 3 位に結合する galloyl 基も活性を約 3 倍上昇させた。そして pyrogallol 基と galloyl 基の両者が存在する場合、活性は約 5 倍上昇した。galocatechin 型に galloyl 基が結合しても、活性はあまり上昇しない。一方、galocatechin と epigallocatechin を比較した結果、3 位の立体配置は活性に影響しないことも判明した。緑茶が胃ガンに対して有効とされる疫学的見地を裏付ける結果であった。また、DPPH radical 消去活性との相関が見られた。

Isoflavonoid についてアグリコンは活性を示すのに対し、配糖体は genistin、glycin に活性が見られる以外は 3 種の腫瘍細胞に対して活性を示さなかった。また、それぞれの細胞に対しては 5 位、7 位の水酸基が活性発現に何かしら影響していることが判明した。B16 細胞に対しては 5 位、7 位に両方に水酸基があるとき 4'位に methyl 基が結合すると活性が上昇し、6 位の methoxyl 基は 7 位に水酸基のみのとき活性を上昇させる。この傾

向は MK-1 細胞にも見られた。一方で、5 位、7 位に水酸基があるとき 6 位の methoxyl 基は活性を減弱させ、HeLa 細胞と MK-1 細胞にもこの傾向が見られた。代謝物に関しては活性は減弱する傾向にあるが、equol のみ HeLa 細胞に対して活性を示した。また、これらの結果に DPPH radical 消去活性との相関は認められなかった。

以上の知見より、本研究は機能性食品として市販される大麦若葉エキス、および苦丁茶がマルチファクショナルな抗酸化物質を含む製品として有用であることを証明し得たものと考えられる。

生体内における個々の食品の消化、吸収、生理活性、代謝経路などについては、一つの食品が多種の成分を様々な割合で含有していることから非常に複雑である。そのため、未だに不明な部分が多々あるが、一方で、人類が昔から経験的、伝統的に使用しており、その安全性がある程度確立されている利点がある。これらを有効利用したり、または、その中に含まれる抗酸化成分を探索研究することは、ガンなどを含む生活習慣病の予防や治療のために今後ますます重要になってくると思われる。本研究はその端緒として意義づけられる。

#### 謝辞

本研究を纏めるにあたり、熊本大学医学薬学研究部 野原稔弘 教授、池田 剛 助教授、福岡大学薬学部 岡部 光 名誉教授、金城順英 助教授、故長尾常敦 博士に深謝致します。また、共同研究者諸氏に感謝申し上げます。

#### References

1. 二木鋭雄, 島崎弘幸, 美濃真 編, 抗酸化物質, 学会出版センター, (1994).
2. 吉川敏一 他, 抗酸化物質のすべて, 先端医学社, (1998).
3. 吉川敏一, フリーラジカルの医学, 診断と治療社, (1997).
4. 二木鋭雄, 活性酸素 – 生物での生成・消去・作用の分子機構, 共立出版, 1988, pp321-326.
5. Leist M., Nicotera P., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **236**, 1-9 (1997).
6. Um H. D., Orenstein J. M., Wahl M., *J. Immunol.*, **159**, 3469-3477 (1996).
7. Langer C., Jurgensmeier J. M., Bauer G., *Exp. Cell. Res.*, **222**, 117-124 (1996).
8. a) 立山千草, 太田雅壽, 内山武夫, 日本食品科学工学会誌, **44**, 640-646 (1997).; b) Noda Y., Anzai K., Mori A. *et al.*, *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **42**, 35-44 (1997).; Yoneda T., Hiramatsu M., Sakamoto M. *et al.*, *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **35**, 995-1008 (1995).
9. 堀田満 編集, 世界有用植物事典, 平凡社, 1989, pp.531-533.
10. Nishimura K., Fukuda T., Miyase T., Noguchi H., Chen X. M., *J. Nat. Prod.*, **62**, 1061-1064 (1999).
11. Nishimura K., Miyase T., Noguchi H., *J. Nat. Prod.*, **62**, 1128-1133 (1999).

12. Nishimura K., Fukuda T., Miyase T., Noguchi H., Chen X. M., *Natural Medicines*, **54**, 297-305 (2000).
13. Yang C. R., He Z. D., Ouyang M. A., Chen G. Z., "Studies in Plants Science 6, Advances in Plant Glycosides, Chemistry and Biology", eds. by Yang C. R., and Tanaka Elsevier, Amsterdam, 1999, pp. 146-154.
14. He Z. D., Ueda S., Akaji M., Fujita T., Inoue K., Yang C. R., *Phytochemistry*, **36**, 709-716 (1994).
15. He Z. D., Liu Y. Q., Yang C. R., *Acta Bot. Yunnanica*, **14**, 328-336 (1992).
16. Xiong Q., Kadota S., Tani T., Namba T., *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 1580-1585 (1996).
17. Gao J. J., Igalashi K., Nukina M., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 983-988 (1999).
18. Ohnishi M., Morishima H., Toda S., Tase Y., Kido R., *Phytochemistry*, **47**, 1215-1218 (1998).
19. Silva F. A. M., Borges F., Guimarões C., Lima J. L. F. C., Matos C., Reis S., *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 2122-2126 (2000).
20. Soyer A., Hultin H. O., *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 2127-2134 (2000).
21. Nagao T., Abe F., Okabe H., *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 1338-1341 (2001).
22. a) Ishimaru K., Nishikawa K., Omoto T., Asai I., Yoshihira K., Shimomura K., *Phytochemistry*, **40** (1), 279-281 (1995).; b) Liu I. M., Sheu S. J., *Am. J. Chin. Med.*, **17** (3-4), 179-187 (1989).; c) Nonaka G., Kawahara O., Nishioka I., *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3906-3914 (1983).; d) G. Nonaka, S. Morimoto, J. Kinjo, T. Nohara and I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.*, **35** (1), 149-155 (1987).; e) Song T., Barua K., Buseman G., Murphy P. A., *Am. J. Clin. Nutr.*, **68**, 1474S-1479S, (1998).; f) Kinjo J., Matsushita S., Shinohara M., Hirakawa T., Okawa M., Nohara T., Uchiyama S., Ueno T., Sogawa Y., "Abstracts of Papers, The 46th Annual Meeting of the Japanese Society of Pharmacognosy", Osaka, Sep. 1999, p. 158.; g) Kinjo J., Aoki K., Okawa M., Shii Y., Hirakawa T., Nohara T. *et al*, *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 708-710 (1999).; h) Bosisio E., Benelli C., Pirola O., *Pharmacol. Res.*, **25** (2), 147-154 (1992).
23. Kondo K., Kurihara M., Miyata N., Suzuki T., Toyoda M., *Arch. Biochem. Bioph.*, **362**, 79-86 (1999).
24. Senba Y., Kishishita T., Saito K., Yoshioka H., Yoshioka T., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1369-1374 (1999).