

トウガラシ幼植物の茎葉を食用とする新しい野菜に含まれる 一酸化窒素ラジカル (NO) 産生抑制物質

田中義行^{1*}・大津圭吾¹・中村年一¹・細川宗孝¹・山口加乃子¹・金沢和樹²・矢澤 進¹

¹ 京都大学大学院農学研究科 606-8502 京都市左京区北白川追分町

² 神戸大学大学院自然科学研究科 657-8501 神戸市灘区六甲台

Inhibitors of Nitric Oxide Radical (NO) Generation in Young Pepper Plants as a Newly Developed Leafy Vegetable

Yoshiyuki Tanaka^{1*}, Keigo Otsu¹, Toshikazu Nakamura¹, Munetaka Hosokawa¹,
Kanoko Yamaguchi¹, Kazuki Kanazawa² and Susumu Yazawa¹

¹ Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502

² Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Kobe 657-8501

Abstract

The leaves of pepper plants contain abundant iron, calcium and vitamins. We have bred a pepper cultivar 'Kyotona' as a new leafy vegetable. In this report, nitric oxide (NO)-generation inhibitor was investigated in young pepper leaves and stems. Pepper leaves or fruits were tested for *in vitro* NO-generation inhibitory activities in a mouse macrophage RAW 264.7 cell. Acetone extracts from the leaves showed marked inhibitory activity on NO-generation. Then we tried to isolate NO-generation inhibitors from acetone extracts of leaves by column chromatographies. As a result, apigenin was isolated as one of the inhibitors of NO-generation. Major polyphenols in 'Kyotona' were investigated by HPLC. It was demonstrated that major polyphenols in 'Kyotona' leaves and stems were apigenin glycosides and luteolin glycosides. The average contents of apigenin glycosides and luteolin glycosides were 29.3 and 227.0 $\mu\text{mol} \cdot 100 \text{ g}^{-1}\text{FW}$, respectively.

Key Words : antioxidant, apigenin, luteolin

キーワード : アピゲニン, 抗酸化物質, ルテオリン

緒 言

トウガラシの葉には他の野菜に比べてカルシウム, 鉄, ビタミン B₁, ビタミン B₂, ビタミン C, ビタミン E, ナイアシンなどの栄養成分が豊富に含まれており (科学技術庁資源調査会, 1996), 一部の地域では, トウガラシの果実収穫後に葉も出荷され, 佃煮として食べられていた. しかし, その利用は限られており, これまでに茎葉を軟弱野菜として利用するために育成されたトウガラシ品種はなかった.

トウガラシ幼植物を軟弱野菜として利用するには, 初期生育の早さ, 食味の点から茎の柔らかさ, 荷姿の点から分枝の少なさ, 適切な葉の大きさなどを兼ね備えた品種を選定する必要がある. 筆者らは, これらの点を満たす品種を育成し, '京唐菜' と名付けた (矢澤ら, 2004). '京唐菜' は, 細胞質雄性不稔を利用した F₁ 品種であり, 初期生育が旺盛であり, 他の品種と比較しても茎が柔らかく, 生育



第1図 市販されている '京唐菜'

* Corresponding author. E-mail: kapiara1014@yahoo.co.jp

2007年5月30日 受付. 2008年4月16日 受理.

初期の分枝が少なく、葉の大きさや色も適当である（矢澤ら, 2004）. 本品種は炒め物、浸し物など幅広い料理に利用でき、現在、京都市内の農家で栽培され、販売されている（第1図）.

トウガラシの葉にはビタミン類など栄養成分が非常に豊富に含まれているが、これら以外にも生理的機能性成分を含んでいることが期待される. 本実験では、主に‘京唐菜’の茎葉に含まれる一酸化窒素ラジカル（NO）産生抑制物質について調査を行った.

NO とは、不対電子を持つフリーラジカルの一種である. 生体内で NO は、NO 合成酵素（NOS）の働きにより L-アルギニンと O_2 から合成される. NOS は構成型 NOS（cNOS）とマクロファージ細胞などに存在する誘導型 NOS（iNOS）に大別される. iNOS は通常発現しておらず、病原体の感染時などに発現し過剰量の NO を生産する. NO はスーパーオキシド（ O_2^- ）と反応し毒性の強いペルオキシナイトライト（ $ONOO^-$ ）を生成する. NO と $ONOO^-$ が DNA の損傷や酵素の失活を引き起こし、ガンやアルツハイマー病といった重大な疾患の原因となる場合がある（谷口・鈴木 1999）. NO 産生阻害活性は、マウスマクロファージ細胞 RAW264.7 を用いた iNOS 阻害試験によって細胞レベルで評価することができる（Kim ら, 1998）. 本実験では、実験 1, 2 において、この細胞検定法を用いて、NO 産生抑制物質を広く探索する目的で、植物体が大きく試料を大量に採取するのが容易な‘京唐菜’の片親である‘CH-19 甘’茎葉を用いて、活性成分の一つを同定した. 実験 2 で同定した物質がポリフェノールの一種であったことから、実験 3 では軟弱野菜用品種‘京唐菜’のポリフェノール組成を調査した.

材料および方法

1. NO 産生抑制活性の調査（実験 1.）

1) 試料の調製

‘京唐菜’の花粉親である‘CH-19 甘’の成葉および赤色になる直前の果実を用いて、NO 産生抑制活性を測定した. 葉および果実のアセトン抽出物をエバポレーターで減圧乾燥させ、NO 産生抑制活性検定での最終濃度が $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ になるように dimethyl sulfoxide（DMSO）に溶解させた.

2) NO 産生抑制活性の測定

NO 産生抑制活性は Kim ら（1998）のマウスマクロファージ細胞 RAW264.7 を用いた細胞検定によって評価した. RAW264.7 細胞はリポ多糖やインターフェロン- γ の刺激によって NO を生産する細胞である. RAW264.7 細胞にリポ多糖（ $100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）、インターフェロン- γ （ $100 \text{ units} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）、NO 産生の基質となる L-アルギニン（ 2 mM ）、試料（ $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）を処理し、これを第2図のサンプル区とした.

NO は化学的に不安定であるために、NO 産生量は、 NO_2^- として検出した. NO_2^- と Griess 試薬 [1% sulfanilamide : 0.1% *N*-naphthylethylenediamidedihydrochloride = 1 : 1] の反応によって生じるアズ色素の波長 543 nm における吸光度を測定することによって NO 産生量を決定した. また、ポジティブコントロール、ネガティブコントロール、ブランクを設け、それぞれの NO 産生量を測定した. 第2図の式から NO 産生抑制率を算出した.

試料の細胞毒性は、ミトコンドリアの呼吸能を測定する MTT 検定によって細胞生存率を算出することで評価した（Kim ら, 1998）. ミトコンドリアの脱水素酵素が 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide を還元する程度を、波長 570 nm の吸光度を測定し決定した. また死滅した細胞の残骸によって生じる波長 630 nm を測定した. これらの結果を元に、第2図の式から細胞生存率を算出した.

2. NO 産生抑制活性物質の分離同定（実験 2）

実験 1 で強い活性を示した‘CH-19 甘’茎葉中の NO 産生抑制成分の分離および同定を行った. 2001 年 11 月に京都大学農学研究科附属京都農場の圃場で栽培された‘CH-19 甘’の若い茎葉 5.3 kg を採取した. 採取した茎葉からアセトン 10 L で 5°C 、10 日間成分を抽出した. 分液ろうとを用いて、抽出物を水可溶画分と酢酸エチル可溶画分に分け、両画分について NO 産生抑制活性検定を行ったところ、酢酸エチル可溶画分が強い活性を示した. そこで各種カラムクロマトグラフィーで分画し、分画するごとに得られた各画分の NO 産生抑制活性を実験 1 の検定法で評価し、最も強い活性が認められた画分を第3図に示した過程で精製した. この画分を薄層クロマトグラフィーで展開すると、UV

$$\text{NO 産生抑制率} = \left(1 - \frac{\text{サンプル区吸光度} - \text{ネガティブコントロール吸光度}}{\text{ポジティブコントロール吸光度} - \text{ブランク吸光度}} \right) \times 100 (\%)$$

$$\text{細胞生存率} = \left(1 - \frac{\text{サンプル区吸光度}_{560 \text{ nm}} - \text{サンプル区吸光度}_{630 \text{ nm}}}{\text{ポジティブコントロール吸光度}_{560 \text{ nm}} - \text{ポジティブコントロール吸光度}_{630 \text{ nm}}} \right) \times 100 (\%)$$

サンプル区 リポ多糖, インターフェロン- γ + サンプル
 ポジティブコントロール リポ多糖, インターフェロン- γ + DMSO
 ネガティブコントロール サンプルのみ
 ブランク DMSOのみ

第2図 NO 産生抑制率および細胞生存率の算出式

‘CH-19甘’ 茎葉のアセトン抽出物

分液ろうと
水可溶画分と酢酸エチル可溶画分に振り分けた

酢酸エチル可溶画分

シリカゲルカラムクロマトグラフィー
Wako gel C200 3×35 cm
クロロホルム-酢酸エチル混合溶媒をステップワイズで流した

クロロホルム:酢酸エチル=30:70溶出画分

シリカゲルカラムクロマトグラフィー
Wako gel C200 4×39.5 cm
ヘキサン酢酸エチル-酢酸エチル混合溶媒をステップワイズで流した

ヘキサン:酢酸エチル=35:65溶出画分

ODSカラムクロマトグラフィー
YMC gel ODS-A 8×740 mm
アセトニトリル-メタノール-水混合溶媒(15:45:40) 流速2 mL·min⁻¹

アセトニトリル:メタノール:水=15:45:40溶出画分

HPLC
YMC Pack C-8 10×250 mm
UV-Vis検出器 検出波長254 nm
アセトニトリル-水混合溶媒(30:70) 流速3 mL·min⁻¹

NO産生抑制物質(アピゲニン)

第3図 ‘CH-19甘’ 茎葉の抽出物からのNO産生抑制物質の分画過程

照射で検出され、濃硫酸を吹き付けると黄色に発色するスポットが認められた。逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いてこのスポットの物質を精製し、強いNO産生阻害活性を示す物質7.2 mgを得た。核磁気共鳴スペクトル分析装置(NMR)(Bruker ARX500)によりこの物質の¹H-NMRおよび¹³C-NMRスペクトルを、質量分析計(MS)(JMS-600)によりMSスペクトルを測定し、物質の化学構造を決定した。また単離した物質についてNO産生抑制活性の検定を行った。サンプルの最終濃度を10 μg・mL⁻¹とし、検定は3反復行った。

3. ‘CH-19甘’および‘京唐菜’の茎葉に含まれるポリフェノール類の組成(実験3)

実験2で単離した物質であるアピゲニンはポリフェノールの一種である。そこで、‘CH-19甘’茎葉中に含まれるポリフェノール類をHPLC分析により調査した。さらに軟弱野菜用品種‘京唐菜’についても茎葉中のポリフェノール類を調査した。Sakakibaraら(2003)は、フォトダイオードアレイ検出器を用いたHPLCで100種のポリフェノール類の標準品を分析し、UV-VisスペクトルとHPLCの保持時間に基づいて一度に食品中のポリフェノール類を決定する方法を確立した。本研究では、このSakakibaraら(2003)と同一の抽出方法およびHPLC条件でポリフェノール類の分析を行った。京都大学農学研究科附属京都農場の圃場で栽培し、2005年10月に収穫した‘CH-19甘’茎葉を実験に供試した。‘京唐菜’については、2004年10月、2005年10月に市場で市販されていたもの、および京都大学農学研

究科附属京都農場の圃場で栽培し、2005年10月に収穫したものの計3サンプルを測定し、含量の平均値を算出した。茎葉の乾燥粉末試料50 mgに内部標準として10 mMフラボン溶液5 μLを添加した後、0.5%酢酸を含む90%メタノールでポリフェノール類を抽出し、HPLC分析(カラム: Capcell pakC18 UG120, 250×4.6 mm, 5 μm, Shiseido, カラム温度: 35°C, 検出器: D-7450 ダイオードアレイ検出器, Hitachi, 検出波長: 200～400 nm)を行った。移動相には、溶離液A[50 mM NaH₂PO₄(pH 3.3):メタノール=90:10]と溶離液B[50 mM NaH₂PO₄(pH 3.3):メタノール=30:70]混合溶媒を用い、流速は1 mL・min⁻¹とした。混合組成は時間ごとにステップワイズで変化させた(溶離液A:分析開始時100%→15分後70%→45分後65%→70分後50%→85分後0%)。Sakakibaraら(2003)が確立したポリフェノール類の保持時間とUV-Vis吸収スペクトルのライブラリーデータに基づき、ポリフェノール類を同定した。各ポリフェノール含量は、320 nmで検出したHPLCのチャート面積と標準品で作製した検量線から算出した。アピゲニン配糖体およびルテオリン配糖体の定量には、アピゲニン-7-*O*-glucosideおよびルテオリン-7-*O*-glucosideで作製した検量線を用いた。アピゲニン、ルテオリン、アピゲニン-7-*O*-glucosideおよびルテオリン-7-*O*-glucosideの標準品はナカライテスク(株)から購入した。

アグリコンの種類を確認するために、試料を加水分解し、同一の条件でHPLC分析を行った。乾燥粉末試料50 mgに4 mLの62.5%メタノールと1 mLの2N HClを加え、90°C

で2時間加熱し加水分解を行った。加水分解後、得られたアグリコンを酢酸エチルで回収し、乾燥し DMSO 0.5 mL に再溶解し、これを HPLC 分析に用いた。

結果および考察

1. NO 産生抑制活性の調査 (実験 1)

トウガラシ 'CH-19 甘' 成葉の抽出物の NO 産生抑制率は 73.5% であった。Kim ら (1998) は、70% 以上を強い NO 産生抑制活性を持つものに分類している。細胞生存率も高かったため、細胞毒性によって細胞が死滅し、その結果 NO 産生が抑制されたのではないことが認められた。葉の抽出物でより強い NO 産生抑制活性がある一方で、果実には NO 産生抑制作用はほとんど認められなかった (第 1 表)。

2. NO 産生抑制活性物質の分離同定 (実験 2)

クロマトグラフィーによって、'CH-19 甘' 茎葉の抽出物から NO 産生抑制物質の単離を行った。'CH-19 甘' 茎葉の抽出物を各種クロマトグラフィーで分画し活性を調査したところ、複数の画分で強い活性が認められた。これらの中で最も強い活性が認められた画分を精製し、NO 産生抑制物質の単離を行った。この結果、'CH-19 甘' 茎葉 5.3 kg の

抽出物から強い NO 産生抑制活性を示す物質 7.2 mg を単離した。単離した物質の ^1H および ^{13}C -NMR スペクトルは Owen ら (2003) によって報告されているアピゲニンの文献値と一致し (第 4 図)、さらに MS 分析の結果、アピゲニンと考えられる分子量 270 のイオンピークが検出された。これらのことから、この画分の強い NO 産生抑制活性を示

第 1 表 'CH-19 甘' の葉および果実のアセトン抽出物の NO 産生抑制活性

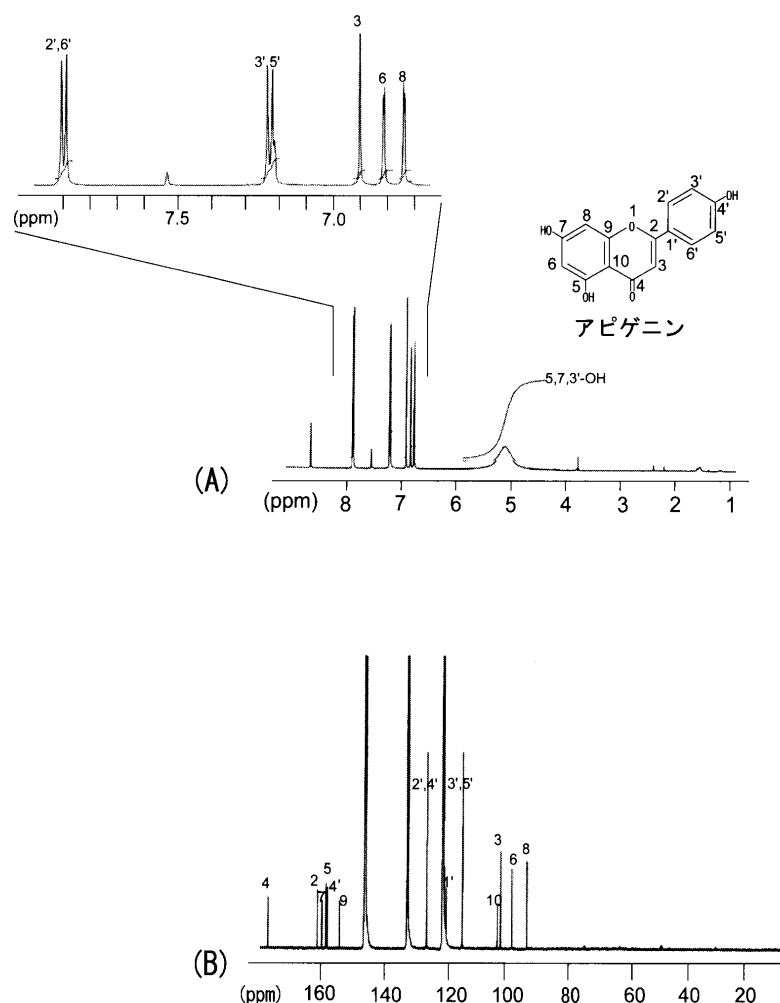
試料 (抽出乾固物 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	NO 産生抑制率 (%)	細胞生存率 (%)
葉	73.5	86.2
果実	16.8	90.0

第 2 表 'CH-19 甘' 茎葉から単離したアピゲニン画分の NO 産生抑制活性

NO 産生抑制率 (%) ^z	細胞生存率 (%) ^z
86.0 ± 3.6^y	83.4 ± 4.5^y

^z 試料の最終濃度は 10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

^y 平均値 $\pm$ 標準誤差



第 4 図 単離した NO 産生抑制物質の ^1H -NMR, ^{13}C -NMR スペクトル
(A) ^1H -NMR スペクトル, (B) ^{13}C -NMR スペクトル

す物質はポリフェノールの一種であるアピゲニンであると
同定した. NO 産生抑制検定の結果, 最終濃度 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
で NO 産生抑制活性, 細胞生存率がともに高い値になった
(第2表). このことからアピゲニンは細胞毒性が少ない NO
産生抑制物質であることが示された. Kim ら (1999) は,
本実験で行った NO 産生抑制活性検定と同様の方法で, フ
ラボノイド類の NO 産生抑制活性を調査した. その結果,
アピゲニンはフラボノイドの中で高い NO 産生抑制活性を
示すものの一つであること, その作用機作は NO 合成酵素
の合成を抑制することによることを明らかにしている.

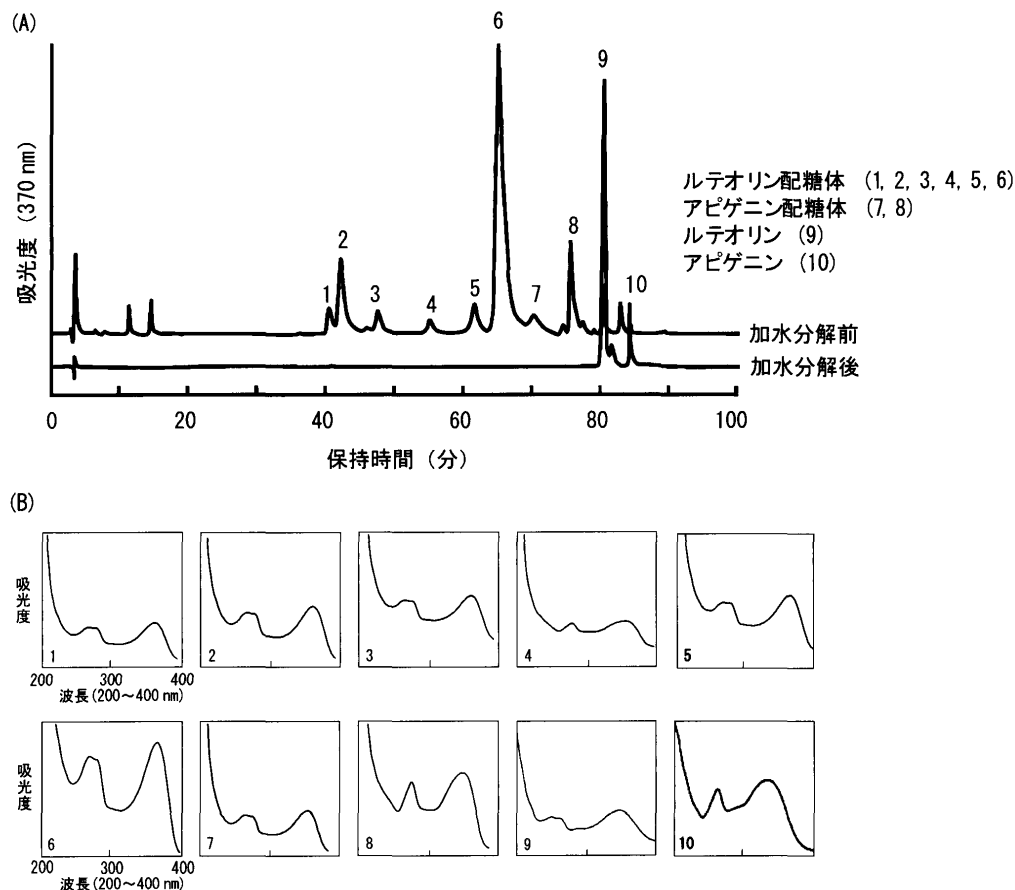
また, 前述のとおり, アピゲニンを含む画分以外の画分
でも強い NO 産生抑制活性が認められたことから, 'CH-19
甘' 茎葉の強い NO 産生抑制活性はアピゲニンを含めた複
数の NO 産生抑制物質によるものであると考えられた.

以上の結果により, トウガラシ 'CH-19 甘' 成葉に含ま
れる NO 産生抑制成分の一つとしてアピゲニンを同定した.
アピゲニンはポリフェノールの一種であることから, 実験
3 では, 'CH-19 甘' および 'CH-19 甘' を花粉親に持つ軟
弱野菜用品種 '京唐菜' におけるアピゲニンを含めたポリ
フェノール類の定量を行った.

3. 'CH-19 甘' および '京唐菜' の茎葉に含まれるポリフェ ノール類の組成 (実験 3)

HPLC および UV-Vis スペクトル分析の結果から, 'CH-
19 甘' 茎葉に含まれる主要なポリフェノール類はアピゲニ
ン配糖体, ルテオリン配糖体であった. それぞれの含量は,
 $1056.3, 67.2 \mu\text{mol} \cdot 100 \text{g}^{-1}\text{FW}$ であった. 'CH-19 甘' 茎葉
において, 実験 2 で同定されたアグリコン型のアピゲニン
は検出されなかった. これは, 実験 2 において 5.3 kgFW 茎
葉から単離されたアピゲニンが 7.2 mg であったことから,
茎葉におけるアグリコン型アピゲニンの含量は $0.5 \mu\text{mol} \cdot$
 $100 \text{g}^{-1}\text{FW}$ 程度で, HPLC の検出限界以下であったために実
験 3 ではアグリコン型アピゲニンが検出されなかったと考
えられる.

また, '京唐菜' 茎葉においても含まれる主要なポリフェ
ノール類は 2 種のアピゲニン配糖体と 6 種のルテオリン
配糖体であった (第 5 図). またアピゲニン配糖体, ルテオ
リン配糖体それぞれの総含量は, 平均 $29.3, 227.0 \mu\text{mol} \cdot$
 $100 \text{g}^{-1}\text{FW}$ であった. 加水分解処理によっても, '京唐菜'
に含まれているポリフェノール類がアピゲニン配糖体およ
びルテオリン配糖体であることが確認された (第 5 図).
Sakakibara ら (2003) は本研究と同様の方法で約 50 種の野
菜のポリフェノール組成を調査している. この結果, パセ



第 5 図 '京唐菜' に含まれるポリフェノール類の HPLC 分析結果

(A) HPLC 分析のクロマトグラム, (B) 各ピークの UV-Vis スペクトル (検出波長 200 ~ 400 nm)

リ (243.6 ~ 1204.0 $\mu\text{mol} \cdot 100 \text{ g}^{-1}\text{FW}$) およびセロリ (23.3 ~ 67.0 $\mu\text{mol} \cdot 100 \text{ g}^{-1}\text{FW}$) がアピゲニンおよびその配糖体を多く含む野菜として挙げられている。また、ルテオリンおよびその配糖体を多く含む野菜としてセロリ (7.1 ~ 21.0 $\mu\text{mol} \cdot 100 \text{ g}^{-1}\text{FW}$) およびブロッコリー (13.9 $\mu\text{mol} \cdot 100 \text{ g}^{-1}\text{FW}$) が挙げられている。これらと比較しても‘京唐菜’はセロリと同等量にアピゲニン配糖体を含み、さらには、非常に多くのルテオリン配糖体を含んでいることが明らかになった。ルテオリンには、アピゲニンと同様に NO 産生阻害作用があることが報告されている (Kim, 1999)。‘京唐菜’茎葉にはアピゲニンおよびルテオリンは大部分が配糖体の形で存在しており、配糖体の形では細胞検定での NO 産生抑制活性はない (Kim, 1999)。しかし、配糖体は人体に吸収される際には糖部分が切れて活性があるアグリコンの形で吸収されることが明らかになっている (寺尾, 1998)。このことから、‘京唐菜’は、NO 産生抑制物質であるアピゲニンおよびルテオリンの豊富な摂取源であると考えられる。

さらにアピゲニンの機能性については、抗酸化、抗アレルギー (Matsuda ら, 2002)、鎮静 (Avallone ら, 2000)、抗ガン (Gupta ら, 2001) などの作用が知られている。同様にルテオリンにも、抗酸化 (Brown・Rice-Evans, 1998)、抗アレルギー (Kimata ら, 2000)、抗発ガン (Cai ら, 1997)、ガン細胞へのアポトーシス誘導 (Cheng ら, 2005; Leung ら, 2005; Michels ら, 2005) などの作用が報告されている。以上のように、‘京唐菜’はアピゲニン配糖体とルテオリン配糖体を豊富に含んでいることが明らかになった。アピゲニン配糖体とルテオリン配糖体はアグリコン型の形で人体に吸収され、NO 産生抑制活性と併せて、これらの機能性を期待できると考えられる。

摘 要

本実験では、トウガラシ ‘CH-19 甘’ および ‘京唐菜’ 茎葉中の NO 産生阻害成分について調査した。‘CH-19 甘’ の葉および果実を用いて、NO 産生抑制活性の細胞検定を行った。葉のアセトン抽出物の複数の画分で強い NO 産生抑制活性が認められた。カラムクロマトグラフィーにより葉のアセトン抽出物から、NO 産生抑制成分の一つとしてアピゲニンを分離同定した。アピゲニンがポリフェノール的一种であることから、軟弱野菜用品種 ‘京唐菜’ の茎葉中のポリフェノール組成を調査した。‘京唐菜’ に含まれる主なポリフェノール類は、アピゲニン配糖体およびルテオリン配糖体であることが明らかになった。また、アピゲニン配糖体、ルテオリン配糖体の含量はそれぞれ平均 227.0, 29.3 $\mu\text{mol} \cdot 100 \text{ g}^{-1}\text{FW}$ であった。

謝 辞 本研究の実施に際して、京都市開発種子配布センターの諸氏に御協力を頂いた。ここに記して感謝の意を表する。

引用文献

- Avallone, R., P. Zanolli, G. Puia, M. Kleinschultz, P. Schreier and M. Baraldi. 2000. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochem. Pharmacol.* 59: 1387–1394.
- Brown, J. E. and C. A. Rice-Evans. 1998. Luteolin-rich artichoke extract protects low density lipoprotein from oxidation *in vitro*. *Free Radical Res.* 29: 247–255.
- Cai, Q., R. O. Rahn and R. Zhang. 1997. Dietary flavonoids, quercetin, luteolin and genistein, reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals. *Cancer Letters* 119: 99–107.
- Cheng, A.-C., T.-C. Huang, C.-S. Lai and M.-H. Pan. 2005. Induction of apoptosis by luteolin through cleavage of Bcl-2 family in human leukemia HL-60 cells. *Eur. J. Pharmacol.* 509: 1–10.
- Gupta, S., F. Afaq and H. Mukhtar. 2001. Selective growth-inhibitory, cell-cycle deregulatory and apoptotic response of apigenin in normal versus human prostate carcinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 287: 914–920.
- 科学技術庁資源調査会編. 1996. 日本食品成分表. 医歯薬出版. 東京.
- Kim, H. K., B. S. Cheon, Y. H. Kim, S. Y. Kim and H. P. Kim. 1999. Effects of naturally occurring flavonoids on nitric oxide production in the macrophage cell line RAW264.7 and their structure–activity relationships. *Biochem. Pharmacol.* 58: 759–765.
- Kim, O. K., A. Murakami, Y. Nakamura and H. Ohigashi. 1998. Screening of edible Japanese plants for nitric oxide generation inhibitory activities in RAW 264.7 cells. *Cancer Letters* 125: 199–207.
- Kimata, M., N. Inagaki and H. Nagai. 2000. Effects of luteolin and other flavonoids on IgE-mediated allergic reactions. *Planta Medica* 66: 25–29.
- Leung, H. W.-C., C.-H. Wu, C.-H. Lin and H.-Z. Lee. 2005. Luteolin induced DNA damage leading to human lung squamous carcinoma CH27 cell apoptosis. *Eur. J. Pharmacol.* 508: 77–83.
- Matsuda, H., T. Morikawa, K. Ueda, H. Managi and M. Yoshikawa. 2002. Structural requirements of flavonoids for inhibition of antigen-Induced degranulation, TNF- α and IL-4 production from RBL-2H3 cells. *Bioorg. Med. Chem.* 10: 3123–3128.
- Michels, G., W. Watjen, P. Niering, B. Steffan, Q.-H. TranThi, Y. Chovolou, A. Kampkotter, A. Bast, P. Proksch and R. Kahl. 2005. Pro-apoptotic effects of the flavonoid luteolin in rat H4IIE cells. *Toxicology* 206: 337–348.
- Owen, R. W., R. Haubner, W. Mier, A. Giacosa, W. E. Hull, B.

- Spiegelhalder and H. Bartsch. 2003. Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food Chem. Toxicol.* 41: 703-717.
- Sakakibara, H., Y. Honda, S. Nakagawa, H. Ashida and K. Kanazawa. 2003. Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits and teas. *J. Agric. Food Chem.* 51: 571-581.
- 谷口直之・鈴木敬一郎. 1999. NOの生理作用と疾患. 羊土社. 東京.
- 寺尾純二. 1998. フラボノイドの体内動態. p. 18-23. 吉川敏一編著. フラボノイドの医学. 講談社. 東京.
- 矢澤 進・大津圭吾・中村年一・田中義行・山口加乃子. 2004. トウガラシ幼植物の葉茎菜としての利用および茎葉に含まれる機能性物質の探索. *園学雑.* 73 (別2): 168.