

総 説

蓼藍の成分と機能性について — 機能性を併せ持つ染料の科学 —

佐々木健郎

Ingredients of *Polygonum tinctorium* and their biological functions - science of dye that possesses the biological functionality -

Kenroh SASAKI

(Received November 20, 2015)

はじめに

— 古代から続く藍と人類の関わり —

藍で染められた織物は日本各地で伝統的技術として独自の発展を遂げ、明治期の開国時に訪れた外国人たちにより、その独自の文化が「Japan Blue」として認識され現在もその美しさが注目されている。しかし、その隆盛は江戸時代をピークに減少し、現在は伝統工芸としてわずかに引き継がれている状況である。世界的にも藍染めの歴史は古く、世界中で最も古くから用いられてきた植物染料だと考えられている。現存する最古のものは、古代エジプトの紀元前 2000 年頃のミイラに巻かれた藍染の麻布であり、その後藍染めはインド・中国そして日本へと広がったと考えられている。藍がいつごろ日本に伝わり栽培作物になったかについては諸論があるが、3 世紀末に残された「魏志倭人伝」に、正始 4 年（西暦 243 年）に倭国から「絳箒（こうせい）の縑（かとり）、すなわち赤や青に染めた絹織物が魏王に献上された」とする記述があることから、記録に残る日本最古の染料のひとつであったと考えられる。¹⁾ 記録に残る「藍染」として染色に用いられた植物は 1 種ではなく、本邦に自生する数種の植物が用いられてきたことが推測されている。その理由として、古代中国および本邦では現在の緑色と青色を共に箒（せい）と呼称していたが、現在の青色ではなく、緑色が強く含まれた色調であったとされ、古代では藍染としてインジゴを生成しない植物も用いられた可能性が高い。このことから、魏志倭人伝に残る染色法は、日本に自生していたインジゴを含まないトウダイグサ科のヤマアイ（*Mercurialis leiocarpa*）を用いた青緑色の染色法であったと考えられている。¹⁾ 現在の藍染に用いられる藍と称される植物

は、主としてタデ科（Polygonaceae）のタデアイ・蓼藍（*Polygonum tinctorium*）であるが、他にもキツネノマゴ科（Acanthaceae）のリユウキュウアイ・琉球藍（*Strobilanthes cusia*）、ガガイモ科（Asclepiadaceae）のアイカズラ（*Marsdenia tinctoria*）、マメ科（Leguminosae）の共にインド藍と呼ばれるナンバンコマツナギ（*Indigofera suffruticosa*）およびキアイ（*Indigofera tinctoria*）、アブラナ科（Brassicaceae）のハマタイセイ（*Isatis tinctoria* var. *yezoensis*）およびタイセイ（*Isatis indigotica*）、ウォード（Woad, *Isatis tinctoria*）等が用いられており、これらはすべて青色色素成分のインジゴを染料として用いる植物である。タデアイは本来日本に自生しておらず、日本での栽培に関して残る最初の文献は、「出雲風土記」（733 年）に藍が栽培作物であると記されていることから、おそらくは遣唐使により渡来したものと考えることが妥当であろう。実際に正倉院には、天平勝宝 4 年（752 年）の大仏開眼会で用いられた藍染めの絹紐を巻き束ねたものが、宝物・縹縷（はなだのつる）として宮内庁により現在も管理されている。武家社会が確立した鎌倉時代以降は、濃紺の藍染色である葛色（褐色、かちいろ）の葛（褐）の音が「勝ち」に通ずるところから、藍色は武家の愛好するところとなり、現在でも剣道等の武道の装束等に幅広く愛用されている。

一方、藍染がこれほど普及してきた理由には、染料としての美的要素の他に、その多彩な機能性に起因するところが大きいと思われる。古来、藍で染めた肌着は冷え性や肌荒れ、汗もなどに効果があるとされてきた。現在と違い、繊維生地が貴重であった時代には、特にその抗菌・消臭効果が高いこと、防虫効果も高く藍染の衣料には虫食い

が認められず保存状態が良いことが体験的に伝承され、機能性を有する衣料繊維として高く評価され用いられてきた。この機能性を期待して現在では世界的に最も普及している「デニム（縦糸のみインジゴ染色を行った後に綾織りした綿織物）を用いたジーンズ」も本来は作業着として藍染による機能性を付加した衣服として普及したことが始まりであるとされている。また、現存する国宝経典の中には、その美術的・歴史的意義だけではなく、藍染を施した和紙（紺紙）による高い防虫機能による保存性により、平安時代末期の奥州藤原氏由来の「金銀字一切経」のように、紺紙への金字・銀字による写経本が腐朽することなく現存し、国宝となっていることも藍染の機能性を認識するに十分な史実であろう。さらに、内服薬としても *P. tinctorium* を基原とした藍草、藍実、藍葉あるいは *I. indigotica* を基原とする板藍根等が抗炎症効果を期待し生薬としても用いられてきた。²⁾

以上のように、藍染の歴史は大変古く人類はその恩恵を享受してきた。藍染の染料としての本質は、細胞内に大量に含有される配糖体であるインジカンの酵素的分解と、それに続く空気酸化作用によるインジゴの産生による。³⁾ インジゴの化学合成に関する研究は産業的に大規模な取り組みがなされ、19世紀の終わりにはインジゴの化学合成が工業的に完成され、広く合成インジゴが普及し

たことから藍の染料としての役割が衰退した。それに伴って、その化学分野での興味だけではなく、一般の基礎的な研究分野、特に生物活性に関する研究分野からも興味が失われてしまったように思われる。⁴⁾ しかし、近年、改めて藍の機能性について注目が集まっており、多くの報告がなされるようになってきている。このことから、本稿では藍染めに最も多く用いられる主として *P. tinctorium* の含有成分とその機能性・生物活性について概説する。

II. *Polygonum tinctorium* の成分とその機能性および生物活性

1. インドールアルカロイドとその誘導体

P. tinctorium の葉には無色の配糖体であるインジカン（インドキシル β -D-グルコシド）が細胞内に多量に含有されており、一番多い時期で生重量の数パーセントに達する。⁴⁾ インジカンは細胞内から漏出した際に、分子量約 50,000 の典型的な植物の β -グルコシダーゼにより酵素的代謝を受け、インドキシルとグルコースに分解される。この β -グルコシダーゼは、他の β -グルコシダーゼに比較し非常に高い基質特異性を持つこと、至適 pH が高く pH 9.5 付近の弱塩基性で反応が行われることなどの特徴を持つ。^{5,6)} 一般的な植物の β -グルコシダーゼは至適 pH が中性に近い 6.5 であり、かつイ

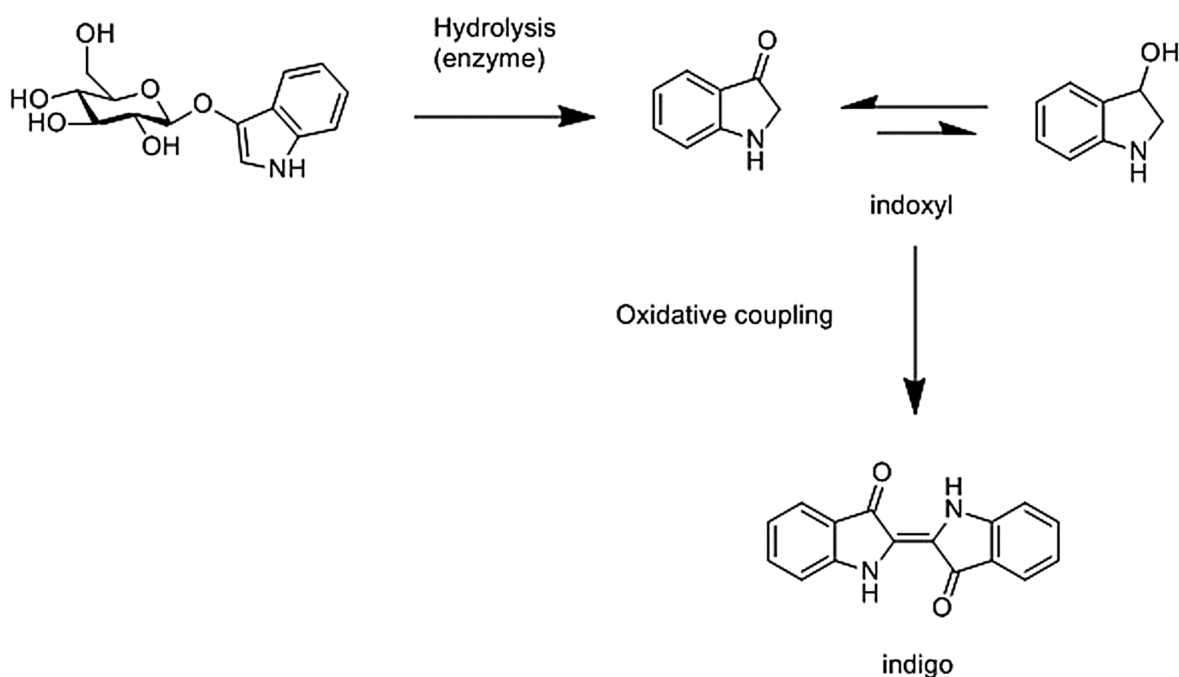


Fig. 1. Formation of indigo.

Indican is hydrolyzed to indoxyl by β -glucosidase followed by air oxidation and dimerization to form indigo.

ンジカン分解酵素は酸性オルガネラの液胞中ではほとんど活性を持たないことから、本酵素は液胞中には存在しないことが推察され、その局在について抗インジカン分解酵素抗体を用いた免疫化学的手法により葉の組織にのみ局在し、しかも葉のクロロプラストのストロマに存在することが明らかにされた。⁷⁾ 中間体として生成したインドキシルは非常に不安定なために、空気に触れると直ちに酸化され自発的に今度は非酵素的に重合し安定な二量体であるインジゴとなる (Fig. 1)。このインジゴを青色染料として用いることが藍染染色の原理であり、若干黄味がかった染色液から布を空气中に引き揚げた際に、瞬く間に青色が布に発色してくる様子は誰もが興味深く感じるものである。伝統的な染色法では、この際にインジゴをさらにバクテリアによりロイコ体へと発酵還元し染色に用いる。この発酵過程では、インジゴとそのロイコ体以外にも様々な化合物が生成していると考えられ、その染色溶液中には赤色色素のインジルビン、黄色色素のインジゴイエロー等の青色以外の色素成分も含まれている。その割合は地方の伝統技術ごとに異なっており、そのことが伝統技能としての各地の藍染が持つ様々な色合い・風合いの深さに結びついている。なお、ヨーロッパで主として染色に用いられるウォードの色素成分に関してはその抽出溶媒により組成が異なり、水/DMF (1:1, v/v)-Na₂EDTA 溶液による抽出法が色素抽出法として最も効率的であることが報告されている。⁸⁾ トリプタミン誘導体程度の生物活性を有する単純インドールアルカロイド類は蓼藍の生植物体から得られていない。

2. インドロキナゾリンアルカロイドとその誘導体 (Fig. 2)

インドロキナゾリンアルカロイドの発見は古く、19世紀初頭にはその基本構造が明らかにされた。医薬品あるいは生薬の有効成分として知られるものもあり、ミカン科ゴシュユ (*Evodia rutaecarpa*) に含有されるデヒドロエボジアミン、エボジアミン、ルタエカルピンは鎮痛、制吐、抗炎症、収斂および抗高血圧作用等の多彩な生物活性を示すことが古くから報告されている。⁹⁾ 近年、特に注目を浴びているインドロ[2,1-b]キナゾリン環を有するトリプタンスリン (インドロ[2,1-b]キナゾリン-6,12-ジオン, **1**) もその発見は大変古く、天然物と

しては、インドール化合物を大量に溶解した真菌 *Candida lipolytica* の培養液中から最初に得られ、報告¹⁰⁾ された。その後、琉球藍と称される *S. cusia* から得られ、¹¹⁾ 高等植物にも分布することが明らかになった。詳細は総説に著わされている。^{12,13)} その構造は単純であると捉えることができるが、たいへんユニークでもあり、基礎的なスペクトル解析 (UV, IR, NMR) では満足な構造決定に至らないとされ、その絶対構造の決定はX線結晶解析法により確立された。¹²⁾ その後真菌の *Schizophyllum commune*¹⁴⁾ および *Leucopaxillus cerealis*,¹⁵⁾ 細菌類の *Cytophaga* 属,¹⁶⁾ 高等植物ではサガリバナ科 (Lecythidaceae) の *Couroupita guianensis*,^{17,18)} タデ科の *P. tinctorium*,¹⁹⁾ *I. tinctoria*,²⁰⁾ キョウチクトウ科 (Apocynaceae) の *Wrightia tinctoria*,²¹⁾ ラン科 (Orchidaceae) のエビネ, *Calanthe discolor* および *C. liukuensis*,^{22,23)} *Phaius mishmensis*,²⁴⁾ ブドウ科 (Vitaceae) *Cissus sicyoides*,²⁵⁾ およびキツネノマゴ科 (Acanthaceae) の *Baphicacanthus cusia*²⁶⁾ から単離されている。

トリプタンスリンの生物活性は極めて多様である。古くから知られるその抗菌活性に関して、*Bacillus subtilis*,¹³⁾ *Escherichia coli*,²⁷⁾ メチシリン耐性 *Staphylococcus aureus* (MRSA),²⁸⁾ 病原性皮膚糸状真菌である *Plasmodium falciparum*,^{29,30)} *Leishmania donovani*,³¹⁾ *Trypanosoma brucei*,³²⁾ *Toxoplasma gondii*,³³⁾ および *Helicobacter pylori*³⁴⁾ 等に対する増殖抑制作用に関する報告がある。これらは、古典的な藍の有する抗菌作用の化学的な根拠とされるが、近年、トリプタンスリンに着目した新規の興味深い報告が認められてきている。特に、アトピー性皮膚炎等の皮膚疾患改善作用に関連する報告は興味深い。アトピー性皮膚炎の成因はいまだ不明であるが、近年フォーカスされてきた皮膚バリア機能の異常との関係性は重要と思われる。皮膚バリア機能の異常は、外来性抗原種の角質層通過による Th2 細胞の反応により惹起される。実際、Th2 に変調した BALB/c マウスでは、角質を除去した場合に真皮に好酸球と Th2 が出現する。³⁵⁾ 角質破壊は角化細胞から IL-1 α , TNF- α , GM-CSF の産生を高め、Th2 ケモカイン、好酸球 ケモカインの産生も促進させる。³⁶⁾ さらに、炎症反応による皮膚 pH の変化によってプロテアーゼが活性化され、protease activated receptor-2 (PAR-2) を介するシグナル伝達の誘発により、IL-7 様の

サイトカインである thymic stromal lymphopoietin (TSLP) の産生と、ランゲルハンス細胞における Th2 細胞誘導性の機能変調が導かれる。³⁷⁾ TSLP は活性化したマスト細胞において高度に発現し、炎症反応を誘発する。³⁸⁾ また、急性および慢性のアトピー性皮膚炎患者の皮膚で TSLP が高度に発現していることも報告されている。³⁹⁾ アトピー性皮膚炎モデルマウスである NC/Nga マウスでは、IL-4 産生性 CD4+T 細胞または肥満細胞の浸潤と、Th2 サイトカインの産生が認められている。⁴⁰⁾ 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) は、マウス皮膚細胞におけるカスパーゼ-1 活性を上昇させ、⁴¹⁾ アトピー性皮膚炎様の病変を惹起する。⁴²⁾ このことから、トリプタンスリンの TSLP を介する情報伝達系に対する抑制効果について、ホルボールエステル (PMA) とカルシウムイオノフォア A23187 で活性化したヒト肥満細胞由来 HMC-1 細胞、DNFB で刺激した NC/Nga マウス皮膚組織、および抗 CD3/抗 CD28 で刺激した脾細胞において検討された。その結果、トリプタンスリンは HMC-1 細胞における receptor-interacting protein 2 (PIP-2) /カスパーゼ-1/NF- κ B 経路の遮断により、1) 細胞内カルシウム濃度の低下および TSLP mRNA 発現を抑制する、2) ヒスチジン脱炭酸酵素および IL-1 β のレベルを抑制する、3) アトピー性皮膚炎モデルマウスにおいても、皮膚細胞の TSLP、IL-4、IFN- γ 、IL-6、TNF- α 、カスパーゼ-1、および血清ヒスタミンと IL-4 のレベルを減少させる、4) 抗 CD3/抗 CD28 で刺激した脾細胞からの IL-4、IFN- γ 、さらに TNF- α の分泌をも抑制することが明らかになった。このことは、トリプタンスリンが TSLP のダウンレギュレーションを介してアトピー性皮膚炎の治療薬になる可能性を示唆するものである。⁴³⁾ ラット好塩基球性白血病 RBL-2H3 細胞における Th2 の変調、IgE 依存性の脱顆粒および IL-4 産生もトリプタンスリンにより抑制されることも報告されている。⁴⁴⁾

P. tinctorium の水抽出エキスをマウスに投与した場合にも同様の結果が得られることも報告され、⁴⁵⁾ 伝承薬の作用機序の一環としても大変興味深い。アトピー性皮膚炎は近年最も一般的で、深刻な慢性の皮膚疾患のひとつであり、その効果的な治療法が求められている。これまでは局所ステロイド療法、皮膚軟化剤、および経口抗ヒスタミン薬がその第一選択薬として長期にわたり使用されてき

た。その際、長期の局所ステロイド療法等は多くの場合、副作用および有害作用を誘発する。⁴⁶⁾ トリプタンスリンは薬用植物・生薬として用いられてきた植物の成分としてその安全性に関しても信頼されてきた。その意味でもトリプタンスリンを主とした蓼藍含有のインドロキナゾリンアルカロイドとその誘導体のアトピー性皮膚炎治療薬としての可能性に関する今後の研究に興味を持たれる。

一方、抗癌剤としてのトリプタンスリンの可能性^{47,48)} に関しても着目しなければならない。トリプタンスリンはドキソルビン耐性の乳癌細胞において、P-糖タンパク依存性の多剤耐性 (MDR)-1 遺伝子のダウンレギュレーションを誘発する⁴⁹⁾ ことから、化学療法剤における新規補助剤としての可能性も示されている。しかし、その作用機序の一部が明らかにされたのはごく最近である。Pathania ら⁵⁰⁾ はトリプタンスリンの臭素誘導体 (TBr) を合成し、白血病細胞に対する抗癌作用の分子機構を明らかにすることを試みた。その結果、TBr は STAT および ERK 系の情報伝達を阻害しカスパーゼ依存性アポトーシスを誘導すること、ヒト白血病由来 HL-60 細胞株におけるユビキチン依存性チロシン 705 とセリン 727 p-STAT3 の分解を介して細胞死を誘発することを明らかにした。トリプタンスリンはその多岐にわたるユニークな生物活性から、様々な分野への応用が期待されるが、その誘導体の可能性も検討されている。すなわち、トリプタンスリンをリード化合物とした新規医薬品の可能性の検討である。Hwang ら⁵¹⁾ はトリプタンスリンが *in vitro* で強い *Mycobacterium tuberculosis* に対する静菌作用を示すことから、その抗結核作用に関して、げっ歯類での薬物動態を含めたモデル動物における検討を行った結果、トリプタンスリン誘導体の C-11 デオキシ体 (2) と A 環飽和体 (3) に有効性を認めている。最近、トリプタンスリン誘導体の抗結核作用を *M. tuberculosis* が有する enoyl-acyl carrier protein reductase (InhA) をターゲットとして *in silico* での量子化学的検討が行われ、強い酵素結合活性を有する化合物の誘導と阻害活性が検討された。その結果、天然物としてラン科 *Phaius mishmensis* から単離された Phaitanthrin 誘導体 (4-11)⁵²⁾ が極めて類似した構造を有し、実際に強く InhA 活性を阻害したことから、⁵³⁾ 有望な抗結核薬としての可能性が示唆されている。一方、

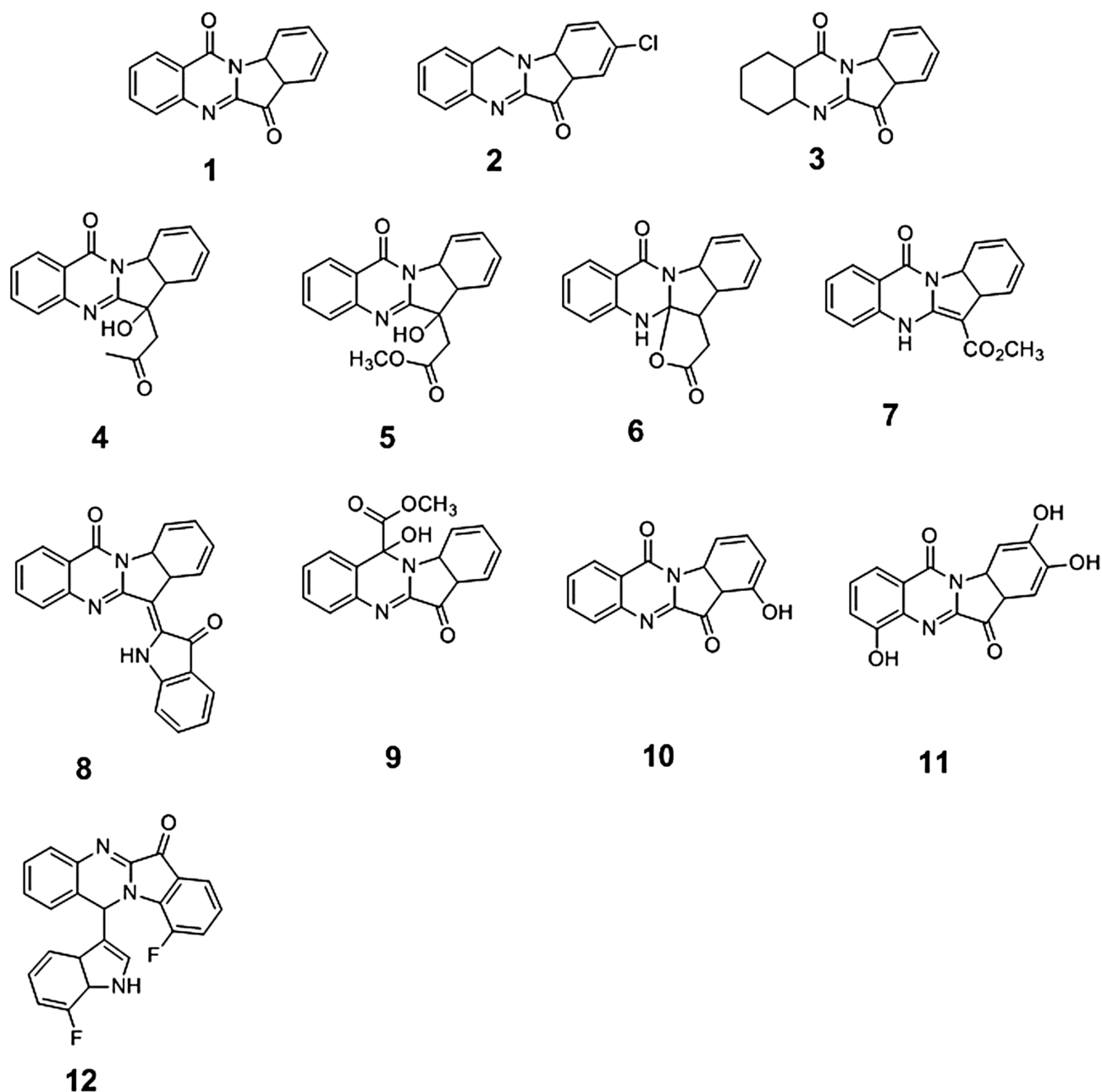


Fig. 2. Structures of natural tryptanthrin derivatives (1, 4–11) and synthetic analogues (2, 3, 12).

アトピー性皮膚炎の改善作用に関連する興味深い結果も報告⁵⁴⁾されている。トリプタンスリンおよび合成された13種の誘導体 (T2-NH₂, T2-Cl, T2-Br, T2-NO₂, T8-OMe, T8-Me, T8-F, T8-Br, T8-NO₂, T2-NH₂-8-OMe, T2-NH₂-8-NO₂, T2-Br-8-Br および T2-NO₂-8-NO₂) は MRSA 等のグラム陽性菌に対して強い抗菌作用を示した。特に、皮膚常在真菌でありアトピー性皮膚炎の起炎真菌のひとつと考えられている *Malassezia furfur* に対して、T2-Cl, T2-Br, T8-F, T8-Br, および T2-Br-8-Br 誘導体に強い抗真菌作用を認めている。

抗菌作用に関しては、インドールの重合体を合成

して *B. anthracis*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* および *F. tularensis* に対する増殖抑制作用を検討した結果、HepG2 細胞に対する細胞傷害を示すことなく、強力な静菌作用を発現する化合物が見いだされている。⁵⁵⁾ その化合物のひとつはインドール三量体であり、天然物としても得られている 2,2-ビス (3-インドリル) インドキシルの誘導体であった。もうひとつのさらに強力な抗菌作用を認めた化合物群は、トリプタンスリン様化合物であった。トリプタンスリン誘導体 SAB-J85 (12) は、2つのアントラニル酸と1つのインドールの重合体と認めることができるが、天然物とし

ては得られていない。その重合は、インドールの反応性の高いC3とトリプタンスリンのC11であるが、この構造が高い抗菌活性を発現することに寄与している可能性が示唆されている。

トリプタンスリン誘導体の癌免疫療法への応用への可能性も示唆されている。インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ (IDO-1) は、トリプトファン代謝異常により惹起されると考えられる癌、神経疾患の治療のための新規な治療ターゲットとして着目されている。現在、その阻害剤はほとんど見つかってはいないが、トリプタンスリン誘導体に強いIDO-1阻害活性が認められている。⁵⁶⁾ トリプタンスリンの8位にフッ素を導入した誘導体はIDO-1を阻害するとともに、T細胞の増殖を増強した。また、ルイス肺癌 (LLC) 腫瘍担癌マウスにおける腫瘍増殖を抑制し、さらに抗腫瘍免疫応答に対して拮抗すると考えられているFoxp3を発現しているT細胞 (Foxp3+T細胞) の数を減少させたことから、癌の免疫療法においても有効である可能性が示唆されたことは興味深い。

トリプタンスリンとその誘導体以外にもインドロキナゾリンアルカロイドとして、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3 (GSK-3 β) およびサイクリン依存性キナーゼ阻害剤として知られるインジルビンとその誘導体の癌、特に白血病、乾癬等の増殖性疾患、あるいは脳神経疾患やバルーン血管形成術やステント留置術後の再狭窄における寛解効果等の興味深い報告も多く認められるが既に総説⁵⁷⁾に詳しい。インジルビンはインドキシルとその酸化体イサチンとの縮合体であり、インジゴが青色色素であるのに対し、赤色色素であり発酵過程で生成される。後述のセイタイ (青黛)²⁾等、生薬として中医学で用いられることのある藍染発酵生成物中に認められる。トリプタンスリンが生植物中に含有されるのに対し、発酵過程でさらにインジルビンのような生物活性成分が生成される可能性があることは、蓼藍の優れた有用性を裏付ける科学的な根拠と考えるべきであろう。

3. フラボノイドとポリフェノール類

P. tinctorium に含有されるポリフェノール量は大量であり、総ポリフェノールとして3.03%、タンニンが1.05%、総フラボノイドがイソクエルシトリン量として0.3%含有される。⁵⁸⁾ これまでに多くの植物葉に分布する没食子酸、カフェー酸、ク

ロロゲン酸、さらにケンフェロール、ケルセチンとその3-O-グルクロン酸配糖体、3,5,4'-トリヒドロキシ-6,7-メチレンジオキシフラボンが報告されている。これらのフェノール性誘導体はアスコルビン酸に比較して高い抗酸化作用を示し、⁵⁹⁾ インディゴを高濃度で含有する葉の成熟以前が最も抗酸化作用が高い。この抗酸化活性は、酢酸エチル抽出液およびメタノール抽出液ともに認められるが、メタノール抽出液が最も高い。⁵⁹⁾ フラボノイドに関しては、3,5,4'-トリヒドロキシ-6,7-メチレンジオキシ-3-O- β -D-グルコピラノシド⁶⁰⁾ が血小板阻害作用を示す⁵⁹⁾ ことも報告されてきたが、その成分含量が微量であることから、長らく成分分析が滞ってきた。しかし、近年の分析技術の目覚ましい向上により、微量成分の分析により興味深い結果が報告されてきている。Kimuraら⁶¹⁾ は、蓼藍の葉からUPLC-ESI-TOF/MSEを用いて、メチレンジオキシフラボンをアグリコンとする3種の新規化合物を含む11種のフラボノールおよびそのO配糖体を同定した。これらの化合物は現在のところ、他の植物からの報告が認められないためユニークな成分である。そのアグリコンが3-hydroxy-3-methylglutaric acid (HMG) でアシル化された配糖体は、抗脂血症治療のターゲットであるコレステロール合成酵素のHMG-CoA レダクターゼ⁶²⁾ 活性に対する阻害作用が検討された。藍葉の80%メタノール抽出液において認められたHMG-CoA レダクターゼ阻害活性から、活性成分を探索した結果、そのひとつは陽性対照として用いたプラバスタチン⁶³⁾ およびHMG⁶⁴⁾ に比較して弱い、HMG-CoA レダクターゼ阻害活性を示し、その活性はルチン、⁶⁵⁾ ロバスタチン⁶⁶⁾ に比較して2倍以上強いものであった。HMG-フラバノン類に関しては、ブルチエリジン、メリチジンおよびHMG-ネオエリオシトリンを含有するベルガモット (*Citrus bergamia*, Rutaceae) の果実が高コレステロール血症ラットにおける総コレステロールおよびLDLコレステロールの血清レベルを減少させたことが報告⁶⁷⁾ されている。その作用機序として、HMG-フラバノン類のシンバスタチンとの構造類似性によるとの考察があるが、⁶⁸⁾ HMG残基を有しないフラバノン類がさらに強く阻害活性を示したとする報告もある。⁶⁹⁾ また、ヘスペリジンやナリンギンといったフラボン-O-配糖体が2型糖尿病モデルマウスにおいてHMG-CoA レダクターゼおよびアシル

CoA コレステロールアシル転移酵素に対する強い阻害作用を示し、ラット肝および血中コレステロールを低下させたことから、HMG 残基の関与は弱いとする報告がある。⁷⁰⁾ さらに、イソクエルシトリンやケルセチン-ゲンチオピクロシド複合体のようなケルセチン配糖体は HMG-CoA レダクターゼ阻害作用を示す⁷¹⁾ こともあり、フラボノイド類の抗 HMG-レダクターゼ阻害作用に関しては今後さらに検討が必要であるが、蓼藍含有ポリフェノール類の高脂血症に対する予防あるいは改善効果に興味を持たれる。

II. *Polygonum tinctorium* 粗抽出エキスの生物活性

漢方薬として古来用いられてきた *P. tinctorium* の水抽出エキスの生物活性と作用機序に関しては、解毒作用、解熱作用、抗炎症作用、抗癌作用、抗アレルギー作用、抗菌作用および抗ピロリ菌作用等について多くの報告がなされている。その主たる作用は抗炎症作用であることが推察された。作用機序としては、一酸化窒素の合成酵素である iNOS の発現を抑制することが挙げられる。⁷²⁾ さらに、その活性本体として同定されたトリプタンスリンにシクロオキシゲナーゼ-2 への選択性は弱いものの、シクロオキシゲナーゼの阻害によるプロスタグランジン E_2 の抑制と iNOS の発現を抑制することが認められている。⁷³⁾ 抗ウイルス作用⁷⁴⁾ に関しては、水疱性口内炎ウイルス、インフルエンザウイルス A/PR/8/34、バクシニアウイルス、ヒトヘルペスウイルス (HSV-1) およびマウスサイトメガロウイルスに対する作用が報告されている。漢方薬として用いられてきた藍草の酢酸エチル粗抽出エキスには、ヒト由来の培養癌細胞 (HGC, HLC) および白血病細胞 (HL-60) に対する細胞増殖抑制効果が認められ、その活性本体もトリプタンスリンである可能性が報告されている。⁷⁵⁾ さらに、蓼藍水抽出エキス含有ジェルを用いた慢性期の歯周炎患者を対象とした二重盲検試験⁷⁶⁾ において、歯肉溝滲出液 (GCF) の経時的な減少から歯肉の炎症を有意に抑制する可能性が示唆されている。

一方、天然藍染色法では二段階の発酵過程が必要であり、第一段階の発酵過程では「すくも」と呼ばれるインジカンを含む発酵した藍葉を原料とした染料が作製される。二次段階では「すくも」中のインジカンの還元発酵により染色を行うが、この「すくも」に強い HIV-1 ウイルスに対

する阻害作用が認められている。すなわち、MT-4 細胞における急性の HIV-1 (Ⅲ_B) 感染に対して EC₅₀ 値 0.5 $\mu\text{g/ml}$ で阻害作用を示すが、MT-4 細胞に対する殺細胞作用は高濃度 (CC₅₀ < 1000 $\mu\text{g/ml}$) でも認められない。その抽出エキスは HIV ウイルスのエンベロープの糖タンパク質や受容体に作用することが推察されている。また、この抽出エキスはヘルペスウイルスに対しても同様に効果を示したが、インフルエンザ A、ポリオウイルス、SARS コロナウイルスに対しては効果がなかった。⁷⁷⁾ 蓼藍地上部の水抽出物については、高脂肪食誘発性高脂血症モデルである C57BL/6J マウスの血清コレステロールと血清トリグリセリド濃度を軽減させたことも報告されている。⁷⁸⁾

他にも「藍」を基原とした生薬・薬用植物が知られている。⁷⁹⁾ アブラナ科のタイセイの根はバンランコン (板藍根) として流行性感熱性熱毒症、例えばおたふく風邪、咽喉炎、フルンケル (皮膚膿瘍)、発疹に用いるとされる。その葉はダイセイヨウ (大青葉、または大青、リュウキュウアイの葉の場合もある) として同様に用いる他に、皮膚感染症に外用あるいはアフタに直接用いられることもある。さらに、「藍染」の発酵過程において発酵液表面に泡状の「華」と呼ばれるインジゴを大量に含有した泡末が産生されるが、それを乾燥させたセイタイ (青黛、主としてタデアイ、リュウキュウアイ、タイセイが用いられる) と呼ばれる生薬がある。また、その製造時の沈殿物をランデン (藍靛または藍澱) と称し、やはり生薬として用いることがある。²⁾ これらはいずれも中医学および漢方医学では清熱解毒作用を期待して用いられ、薬性としては「寒」であり「陰」であるために、中焦の虚寒証や強い虚証の患者、すなわち、日ごろから胃腸機能が弱く、膨満感が強く、食欲不振や食事をすると嘔気を催したり、小便不利や軟便傾向および冷えを訴える患者に用いることは禁忌とされる。しかし、ランジツ (藍実) と呼ばれるタデアイの果実のみを用いる生薬は、唐代に著わされた「薬性論」に「骨髓を填める、耳目を明らかにする、五臓を利す、六腑を調える、関節を利す、経絡中の結気を治し、人を健やかにする、睡眠を少なくする、心力を益す」²⁾ とあり、昨今話題のアンチエイジングをうたったサプリメントのような効能が示されている。特に、五臓の心力を益すとあることから、精神、意識活動および血

液の循環に影響があるとされることは、特に高齢者の健康維持のために有用である可能性がある。このような古典に根差した漢方理論を理解し、その理論に基づいた正しい使用をすることで、藍由来生薬は現代でもその有用性が期待できる。最近、藍抽出エキスの成分検索に対して新しい試み^{80,81)}もなされ始めてきていることと合わせ、今後、新規成分あるいはその有用性の確立のための栽培法の確立に関する研究が進展することが期待される。

Ⅲ. おわりに

人類の最古の機能性染料として用いられてきたと考えられる、複数の植物を基原とした「藍」「藍染」と呼ばれる天然物、そして伝統的な染色技術に関連する成分と機能性に関して現在までの知見を基に概説した。蓼藍の有用成分とその機能性について Fig. 3 に示す。興味深い知見が認められるが、特にその機能性成分に関する研究は驚くべきことに緒についたばかりとの感が否めない。その理由として考えられることは、その優れた機能性が「あるはずのもの、論を俟たないもの」として、おそらくは研究者を含む多くの人々に捉えられてきたことに帰結するものと思われる。生薬・薬用植物を取り巻く研究の環境においては、いにしえから人類と深く関係してきた自然界の事象が多数見逃されてきた現実がしばしば認められることが

ある。昨今、医薬・医療に関するエビデンスが求められることと、近年の生薬・薬用植物研究への再評価の機運が高まっていることは、天然物研究における「温故知新」の意向とも諸うことができよう。本論文の副題とした——機能性を併せ持つ染料の科学——に関する研究は薬学・医学の分野ではその機能性、特に生物活性に関して未知の部分が多く、今後の研究対象として興味深い分野であると考えられる。蓼藍の成分の中では、染料として発達してきたインドール誘導体の他にも、インドロキナゾリンアルカロイド類に極めて興味深い生物活性があることが明らかにされてきつつあるが、その報告は最近の知見によるものがほとんどである。また、分析機器の発達とともに、その微量成分の解析が進んできていることもあり、その中には新規のユニークな生物活性物質も含まれる。これらの化合物に関する知見が今後蓄積されていくことで藍に関する新たな有用性が明らかになる可能性が期待される。一方、藍の有効成分の探索だけではなく、藍抽出液の多成分系としての医薬への応用の可能性についても興味深い。生薬として数千年前から用いられ、現在も中医学等で用いられ続けている複数の「藍」に由来する医薬品、健康食品が存在し人類の健康に寄与してきた。その利用法はすべて植物体をそのまま服用・外用するもの、あるいは何らかの粗製抽出液である。

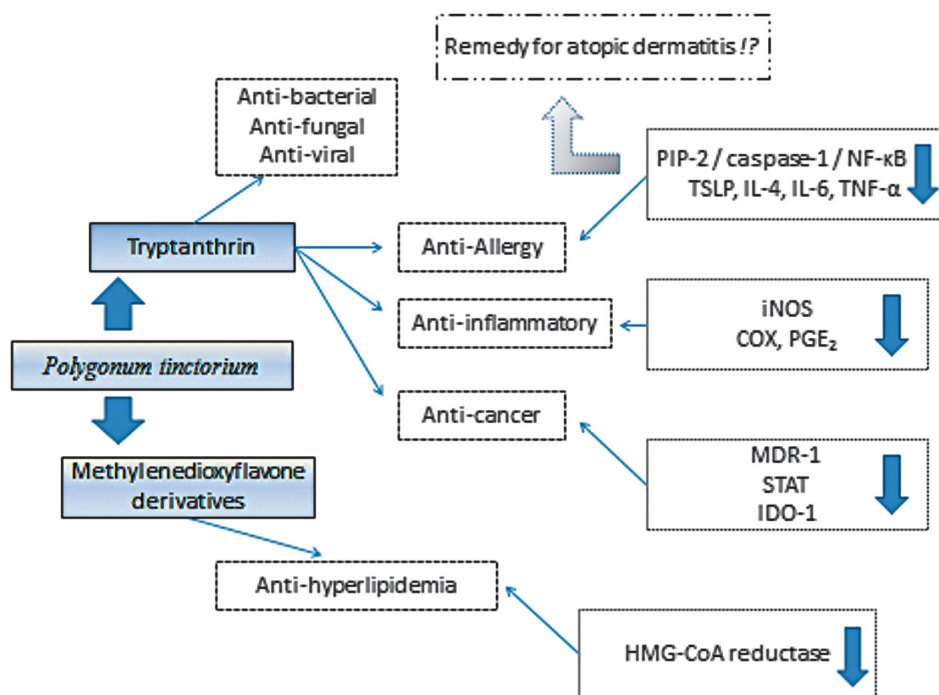


Fig. 3. Major biological activities of *Polygonum tinctorium*.

その意義を解明すること、さらに、その新しい有効な抽出法等の開発・応用を探ることにより、人類への寄与の可能性を大きく発展させることもまた、天然物由来の医薬品研究において重要である。

今後、「藍」由来成分をリード化合物としたアトピー性皮膚炎治療薬、抗癌薬、抗高脂血症薬、抗菌・抗真菌薬および抗炎症薬の開発、さらに「藍」由来の多成分系抽出液の抗菌・消臭性保健衛生用品、香粧品、健康食品、機能性繊維等への応用に対して開発が進むことが大いに期待される。

REFERENCES

- 1) 北村哲郎, 日本の藍 — 染織の美と伝統 —, 日本藍染文化協会編集 (1994).
- 2) 中薬大辞典, 上海科学技術出版社, 小学館編, 小学館 (1998).
- 3) Angelini LG., Tozzi S., Nasso N., Environmental factors affecting productivity, indican content, and indigo yield in *Polygonum tinctorium* Ait., a subtropical crop grown under temperate conditions, *J. Agric. Food. Chem.*, **52**(25), 7541–7547 (2004).
- 4) 南 善子, タデ科植物アイのインジカン代謝, 化学と生物, **39**(3), 202–207 (2001).
- 5) Minami Y., Kanafuji T., Miura K., Purification and Characterization of a β -Glucosidase from *Polygonum tinctorium*, Which Catalyzes Preferentially the Hydrolysis of Indican, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**(1), 147–149 (1996).
- 6) Minami Y., Shigeta Y., Tokumoto U., Tanaka K., Yoneyama-Sakakibara K., Oh-oka H., Matsubara H., Cloning, sequencing, characterization, and expression of a β -glucosidase cDNA from the indigo plant, *Plant Sci.*, **142**, 219–226 (1999).
- 7) Minami Y., Takao H., Kanafuji T., Miura K., Kondo M., Hara-Nishimura I., Nishimura M., Matsubara H., beta-Glucosidase in the indigo plant: intracellular localization and tissue specific expression in leaves, *Plant Cell Physiol.*, **38**(9), 1069–1074 (1997).
- 8) Manhita A., Ferreira T., Candeias A., Barrocas Dias C., Extracting natural dyes from wool—an evaluation of extraction methods, *Anal. Bioanal. Chem.*, **400**, 5, 1501–1514 (2011).
- 9) Tang W., Eisenbrand G., (Eds.), *Evodia rutaecarpa* (Juss) Benth, *Chinese Drugs of Plant Origin*, Springer-Verlag, Berlin, pp.509–514 (1992).
- 10) Schindler H., Zähler H., Metabolic products of microorganisms. 91. Tryptanthrin, a tryptophan derived antibiotic from *Candida lipolytica*, *Arch. Mikrobiol.*, **79**(3), 187–203 (1971).
- 11) Honda G., Tabata M., Isolation of antifungal principle tryptanthrin, from *Strobilanthes cusia* O. Kuntze, *Planta Med.*, **36**, 85–90 (1979).
- 12) Ashli M., Grundt TP., The chemistry of tryptanthrin and its derivatives, *ARKIVOC*(i), 546–569 (2012).
- 13) Jahng Y., Progress in the studies on tryptanthrin, an alkaloid of history, *Arch. Pharm. Res.*, **36**, 517–535 (2013).
- 14) Hosoe T., Nozawa K., Kawahara N., Fukushima K., Nishimura K., Miyaji M., Kawai K., Isolation of a new potent cytotoxic pigment along with indigotin from the pathogenic Basidiomycetous fungus *Schizophyllum commune*, *Mycopathologia*, **146**, 9–12 (1999).
- 15) Jarrah MY., Thaller V., 300 MHz ^1H n. m. r. spectra of indolo[2,1-b]quinazoline-6,12-dione, tryptanthrin, and its 2- and 8-chloro-derivatives, *Chem. Res., Synop.*, 186 (1980).
- 16) Shaaban M., Maskey RP., Wagner-Döbler I., Laatsch H., *J. Nat. Prod.*, **65**, 1660–1663 (2002).
- 17) Sen AK., Mahato SB., Dutta NL., Couroupitine A., A new alkaloid from *Courouita guianensis*, *Tetrahed. Lett.*, **15**, 609–610 (1974).
- 18) Bergman J., Egestad B., Lindstrom JO., The structure of some indolic constituents in *Courouita guianensis* Abul, *Tetrahed. Lett.*, **18**, 2625–2626 (1977).
- 19) Honda G., Tosirisuk V., Tabata M., Isolation of an antidermatophytic, tryptanthrin, from indigo plants. *Polygonum tinctorium* and *Isatis tinctoria*, *Planta Med.*, **38**, 275–276 (1980).
- 20) Danz, H., Stoyanova S., Wippich P., Brattstrom A., Hamburger M., Identification and isolation of the cyclooxygenase-2 inhibitory principles in *Isatis tinctoria*, *Planta Med.*, **67**, 411–416 (2001).
- 21) George V., Koshy AS., Singh OV., Nayar MNS., Pushpangadan P., Tryptanthrin from *Wrightia tinctoria*, *Fitoterapia* **67**, 553–554 (1996).
- 22) Yoshikawa M., Murakami T., Kishi A., Sakurama T., Matsuda H., Nomura M., Matsuda H., Kubo M., Novel

- indole S,O-bisdesmoside, calanthoside, the precursor glycoside of tryptanthrin, indirubin, and isatin, with increasing skin blood flow promotive effects, from two *Calanthe* species (Orchidaceae), *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 886–888 (1998).
- 23) Murakami T., Kishi A., Sakurama T., Matsuda H., Yoshikawa M., Chemical constituents of two oriental orchids, *Calanthe discolor* and *C. liukiuensis*: Precursor indole glycoside of tryptanthrin and indirubin, *Heterocycles*, **54**, 957–966 (2001).
- 24) Jao CW., Lin WC., Wu YT., Wu OL., Isolation, structure elucidation, and synthesis of cytotoxic tryptanthrin analogues from *Phaius mishmensis*, *J. Nat. Prod.*, **71**, 1275–1279 (2008).
- 25) Xu F., Matsuda H., Hata H., Sugawara K., Nakamura S., Yoshikawa M., Structure of new flavonoids and benzofurantype stilbene and degranulation inhibitors of rat basophilic leukemia cells from the Brazilian herbal medicine *Cissus sicyoides*, *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 1089–1095 (2009).
- 26) Liu Y., Ouyang F., Yu H., Li L., Wang N., Yao X., Chemical constituents in the leaves of *Baphicanthus cusia*, *Chin. J. Med. Chem.*, **19**: 273–275 (2009).
- 27) Bandekar PP., Roopnarine KA., Parekh VJ., Mitchell TR., Novak MJ., Sinden RP., Antimicrobial activity of tryptanthrins in *Escherichia coli*, *J. Med. Chem.*, **53**, 3558–3565 (2010).
- 28) Kawakami J., Matsushima N., Ogawa Y., Kakinami H., Nakane A., Kitahara H., Nagaki M., Ito S., Structure-activity relationship analysis for antimicrobial activities of tryptanthrin derivatives using quantum chemical calculations, *J. Comput. Chem. Jpn.*, **12**(2), 109–112 (2013).
- 29) Pitzer KK., Scovill JP., Kyle DE., Gerena L., Indolo[2,1-B]quinazoline-6,12-dione antimalarial compounds and methods of treating malaria, therewith. U.S. Patent 6531487, 2003.
- 30) Bhattacharjee AK., Hartell MG., Nichols DA., Hicks RP., Stanton B., van Hamont JE., Milhous WK., Structure-activity relationship study of antimalarial indolo[2,1-b]quinazoline-6,12-diones (tryptanthrins). Three dimensional pharmacophore modeling and identification of new antimalarial candidates, *Eur. J. Med. Chem.*, **39**, 59–67 (2004).
- 31) Bhattacharjee AK., Skanchy DJ., Jennings B., Hudson TH., Brendle JJ., Werbovetz KA., Analysis of stereoelectronic properties, mechanism of action and pharmacophore of synthetic indolo[2,1-b]quinazoline-6,12-dione derivatives in relation to antileishmanial activity using quantum chemical, cyclic voltammetry and 3-D-QSAR CATALYST procedures, *Bioorg. Med. Chem.*, **106**, 1979–1989 (2002).
- 32) Scovill JBE., Konnick M., Nenorats E., Shapiro T., Antitrypanosomal activities of tryptanthrins, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **46**, 882–883 (2002).
- 33) Krivogorsky B., Grundt P., Yolken R., Jones-Brando L., Inhibition of *Toxoplasma gondii* by indirubin and tryptanthrin analogs, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **52**, 4466–4469 (2008).
- 34) Kataoka M., Hirata K., Kunikata T., Ushio S., Iwaki K., Ohashi K., Ikeda M., Kurimoto M., Antibacterial action of tryptanthrin and kaempferol, isolated from the indigo plant (*Polygonum tinctorium* Lour.), against *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils, *J. Gastroenterol.*, **36**(1), 5–9 (2001).
- 35) Onoue A., Kabashima K., Kobayashi M., Mori T., Tokura Y., Induction of eosinophil- and Th2-attracting epidermal chemokines and cutaneous late-phase reaction in tape-stripped skin, *Exp. Dermatol.*, **18**(12), 1036–1043 (2009).
- 36) Nishijima T., Tokura Y., Imokawa G., Seo N., Furukawa F., Takigawa M., Altered permeability and disordered cutaneous immunoregulatory function in mice with acute barrier disruption, *J. Invest. Dermatol.*, **109**(2), 175–182 (1997).
- 37) Nakajima S., Igyártó BZ., Honda T., Egawa G., Otsuka A., Hara-Chikuma M., Watanabe N., Ziegler SF., Tomura M., Inaba K., Miyachi Y., Kaplan DH., Kabashima K., Langerhans cells are critical in epicutaneous sensitization with protein antigen via thymic stromal lymphopoietin receptor signaling, *J. Allergy. Clin. Immunol.*, **129**(4), 1048–1055 (2012).
- 38) Liu YJ., Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation, *J. Exp. Med.*, **203**, 269–273 (2006).
- 39) Isaksen DE., Baumann H., Zhou B., Nivollet S., Farr AG., Levin SD., Ziegler SF., Uncoupling of proliferation and Stat5 activation in thymic stromal lymphopoietin-mediated signal transduction, *J. Immunol.*, **168**(7), 3288–3294 (2002).

- 40) Vestergaard C., Yoneyama H., Murai M., Nakamura K., Tamaki K., Terashima Y., Imai T., Yoshie O., Irimura T., Mizutani H., Matsushima K., Overproduction of Th2-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis-like lesions, *J. Clin. Invest.*, **104**(8), 1097–1105 (1999).
- 41) Matos TJ., Jaleco SP., Gonçalves M., Duarte CB., Lopes MC., Release of IL-1 β via IL-1 β -converting enzyme in a skin dendritic cell line exposed to 2,4-dinitrofluorobenzene, *Mediators, Inflamm.*, **2005**(3), 131–138 (2005).
- 42) Shi YL., Gu J., Park JJ., Xu YP., Yu FS., Zhou L., Mi QS., Histone deacetylases inhibitor Trichostatin A ameliorates DNFB-induced allergic contact dermatitis and reduces epidermal Langerhans cells in mice, *J. Dermatol. Sci.*, **68**(2), 99–107 (2012).
- 43) Han NR., Moon PD., Kim HM., Jeong HJ., Tryptanthrin ameliorates atopic dermatitis through down-regulation of TSLP, *Arch. Biochem. Biophys.*, **15**, 542, 14–20 (2014).
- 44) Iwaki K., Ohashi E., Arai N., Kohno K., Ushio S., Taniguchi M., Fukuda S., Tryptanthrin inhibits Th2 development, and IgE-mediated degranulation and IL-4 production by rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells, *J. Ethnopharmacol.*, **134**(2), 450–459 (2011).
- 45) Han NR., Kang SW., Moon PD., Jang JB., Kim HM., Jeong HJ., Genuine traditional Korean medicine, Naju Jjok (Chung-Dae, *Polygonum tinctorium*) improves 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis-like lesional skin, *Phytomed.*, **21**(4), 453–460 (2014).
- 46) Charman CR., Morris AD., Williams HC., Topical corticosteroid phobia in patients with atopic eczema, *Br. J. Dermatol.*, **142**(5), 931–936 (2000).
- 47) Kimoto T., Hino K., Koya-Miyata S., Yamamoto Y., Takeuchi M., Nishizaki Y., Micallef MJ., Ushio S., Iwaki K., Ikeda M., Kurimoto M., Cell differentiation and apoptosis of monocytic and promyelocytic leukemia cells (U-937 and HL-60) by tryptanthrin, an active ingredient of *Polygonum tinctorium* Lour., *Pathol. Int.*, **51**, 315–325 (2001).
- 48) Yu ST., Chen TM., Chern JW., Tseng SY., Chen YH., Down-regulation of GST π expression by tryptanthrin contributing to sensitization of doxorubicin-resistant MCF-7 cells through c-jun NH2-terminal kinase-mediated apoptosis, *Anticancer. Drug.*, **20**, 382–388 (2009).
- 49) Yu ST., Chen TM., Tseng SY., Chen YH. (2007) Tryptanthrin inhibits MDR1 and reverses doxorubicin-resistance in breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **358**, 79–84 (2007).
- 50) Pathania AS., Kumar S., Guru SK., Bhushan S., Sharma PR., Aithagani SK., Singh PP., Vishwakarma RA., Kumar A., Malik F., The synthetic tryptanthrin analogue suppresses STAT3 signaling and induces caspase dependent apoptosis via ERK up regulation in human leukemia HL-60 cells, *PLoS One*, **9**(11), e110411 (2014).
- 51) Hwang JM., Oh T., Kaneko T., Upton AM., Franzblau SG., Ma Z., Cho SN., Kim P., Design, synthesis, and structure-activity relationship studies of tryptanthrins as antitubercular agents, *J. Nat. Prod.*, **76**(3), 354–367 (2013).
- 52) Jao CW., Lin WC., Wu YT., Wu PL., Isolation, structure elucidation, and synthesis of cytotoxic tryptanthrin analogues from *Phaius mishmensis*, *J. Nat. Prod.*, **71**(7), 1275–1279 (2008).
- 53) Kamal A., Reddy BV., Sridevi B., Ravikumar A., Venkateswarlu A., Sravanthi G., Sridevi JP., Yogeeswari P., Sriram D., Synthesis and biological evaluation of phaitanthrin congeners as anti-mycobacterial agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**(18), 3867–3872 (2015).
- 54) Kawakami J., Matsushima N., Ogawa Y., Kakinami H., Nakane A., Kitahara H., Nagaki M., Ito S., Antibacterial and Antifungal Activities of Tryptanthrin Derivatives, *Transact. Mat. Res. Soc. Jap.*, **36**(4), 603–606 (2011).
- 55) McClay K., Mehboob S., Yu J., Santarsiero BD., Deng J., Cook JL., Jeong H., Johnson ME., Steffan RJ., Indole trimers with antibacterial activity against Gram-positive organisms produced using combinatorial biocatalysis, *AMB Exp.*, **5**: 38 (2015).
- 56) Yang S., Li X., Hu F., Li Y., Yang Y., Yan J., Kuang C., Yang Q., Discovery of tryptanthrin derivatives as potent inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase with therapeutic activity in Lewis lung cancer (LLC) tumor-bearing mice, *J. Med. Chem.*, **56**(21), 8321–8331 (2013).
- 57) Blažević T., Heiss EH., Atanasov AG., Breuss JM., Dirsch VM., Uhrin P., Indirubin and Indirubin

- Derivatives for Counteracting Proliferative Diseases, *Evid. Bas. Complement. Alternat. Med.*, 2015, 654098 (2015).
- 58) Kimura H., Ishihara T., Michida M., Ogawa S., Akihiro T., Yokota K., Identification and quantitative analysis of polyphenolic compounds from the indigo plant (*Polygonum tinctorium* Lour), *Nat. Prod. Res.*, **28**(7), 492–495 (2014).
 - 59) Kim K., Hwang WH., Jang HG., Heo BG, Suhaj M., Leontowicz H., Leontowicz M., Jastrzebski Z., Tashma Z., Gorinstein S., Assessment of Indigo (*Polygonum tinctorium* Ait.) water extracts' bioactive compounds, and their antioxidant and antiproliferative activities, *LWT-Food Science and Technology*, **46**, 500–510 (2012).
 - 60) Kohda H., Niwa A., Nakamoto Y., Takeda O., Flavonoid glucosides from *Polygonum tinctorium*, *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 523–524 (1990).
 - 61) Kimura H., Tokuyama S., Ishihara T., Ogawa S., Yokota K., Identification of new flavonol O-glycosides from indigo (*Polygonum tinctorium* Lour) leaves and their inhibitory activity against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **108**, 102–1012 (2015).
 - 62) Joseph L., Goldstein & Michael SB., Regulation of the mevalonate pathway, *Nature*, **343**, 425–430 (1990).
 - 63) Pinkaew D., Hutadilok-Towatana N., Teng BB., Mahabusarakam W., Fujise K., Morelloflavone, a biflavonoid inhibitor of migration-related kinases, ameliorates atherosclerosis in mice, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **302**(2), 451–458 (2012).
 - 64) Moorjani S., Lupien PJ., Effect in vitro of 3-hydroxy-3-methylglutaric acid on the synthesis of mevalonate and its precursors, *Arch. Physiol. Biochem.*, **85**, 1–10 (1977).
 - 65) Falé PL., Ferreira C., Maruzzella F., Helena Florêncio M., Frazão FN., Serralheiro ML, Evaluation of cholesterol absorption and biosynthesis by decoctions of *Annona cherimola* leaves, *J. Ethnopharmacol.*, **150** (2), 718–723 (2013).
 - 66) Bok SH., Shin WH., Bae KH., Jeong TS., Kwon YK., Park YB., Choi MS, Effects of naringin and lovastatin on plasma and hepatic lipids in high-fat and high-cholesterol fed rats, *Nutr. Res.*, **20**, 1007–1015 (2000).
 - 67) Donna D., Iacopetta D., Cappello AR., Gallucci G., Martello E., Fiorillo M., Dolceand V., Sindona G., Hypocholesterolaemic activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl flavones enriched fraction from bergamot fruit (*Citrus bergamia*):in vivo studies, *J. Funct. Foods*, **7**, 558–568 (2014).
 - 68) Leopoldini M., Malaj N., Toscano M., Sindona G., Russo N., On the inhibitor effects of bergamot juice flavonoids binding to the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGR) enzyme, *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 10768–10773 (2010).
 - 69) Bok SH., Lee SH., Park YB., Bae KH., Son KH., Jeong TS., Choi MS, Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids, *J. Nutr.*, **129**, 1182–1185 (1999).
 - 70) Jung UJ., Lee MK., Park YB., Kang MA., Choi MS., Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice, *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, **38**(7), 1134–1145 (2006).
 - 71) Kwon KE., Lee DY., Lee H., Kim DO., Baek NL., Kim YE, Kim HY., Flavonoids from buds of *Rosa damascene* inhibit the activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase and angiotensin-I-converting enzyme, *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 882–886 (2010).
 - 72) Ishihara T., Okura T., Kohno K., Tanimoto T., Ikegami H., Kurimoto M., *Polygonum tinctorium* extract suppresses nitric oxide production by activated macrophages through inhibiting inducible nitric oxide synthase expression, *J. Ethnopharmacol.*, **72**(1-2), 141–150 (2000).
 - 73) Ishihara T., Kohno K., Ushio S, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M., Tryptanthrin inhibits nitric oxide and prostaglandin E(2) synthesis by murine macrophages, *Eur. J. Pharmacol.*, **407**(1-2), 197–204 (2000).
 - 74) Tatefuji T., Aga M., Kunikata T., Ikeda M., Masashi Kurimoto M., Antiviral Effect of *Polygonum tinctorium* Lour. Extracts on Virus-Infected Cells, *Natural Med.*, **53**(6), 297–301 (1999).
 - 75) 木本哲夫, 山本祐規子, 日野恵子, 古谷聡美, 阿賀創, 橋本貴治, 花谷利春, 新井成之, 池田雅夫, 福田恵温, 栗本雅司, 蓼藍 (*Polygonum tinctorium* Lour.) に含まれる悪性腫瘍細胞傷害物質について,

- Natural Med.*, **53**(2), 72–79 (1999).
- 76) 畑中加珠, 福家教子, 妹尾京子, 富山高史, 岩城完三, 國方敏夫, 政木直也, 福田恵温, 前田博史, 新井英雄, 高柴正悟, タデ藍水抽出エキスの菌肉の炎症に対する効果, *日歯周誌*, **50**(3), 167–175 (2008).
- 77) Zhong Y., Yoshinaka Y., Takeda T., Shimizu N., Yoshizaki S., Inagaki Y., Matsuda S., Honda G., Fujiif N., Yamamotoa N., Highly potent anti-HIV-1 activity isolated from fermented *Polygonum tinctorium* Aiton, *Antiviral Res.*, **66**, 119–128 (2005).
- 78) 井上伸一郎, 高山 悟, 牛尾慎平, 岩城完三, 大橋邦啓, 政木直也, 福田恵温, 池田雅夫, 栗本雅司, 脂肪食誘導性高脂血症に及ぼす蓼藍 (*Polygonum tinctorium* Lour.) の改善効果, *Natural Med.*, 54, 261–264 (2000).
- 79) サンディ・スワンダ, 田力著, 三浦瘡菟編, 漢方生薬実用事典, ガイアブックス (2009) .
- 80) Zhou J., Qu F., Analysis of the extracts of *Isatis tinctoria* by new analytical approaches of HPLC, MS and NMR, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, **8**, 33–45 (2011).
- 81) Guldbrandsen N., Kostidis S., Schäfer H., De Mieri M., Spraul M., Skaltsounis AL., Mikros E., Hamburger M., NMR-Based Metabolomic Study on *Isatis tinctoria*: Comparison of Different Accessions, Harvesting Dates, and the Effect of Repeated Harvesting, *J. Nat. Prod.*, **78**(5), 977–986 (2015).