

医薬素材としての棘皮動物ナマコ類のスフィンゴ糖脂質成分に関する創薬化学的研究

山田 耕史

Chemo-Pharmaceutical Studies on the Glycosphingolipid Constituents from Echinoderm, Sea Cucumbers, as the Medicinal Materials

Koji YAMADA

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University,
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

(Received August 26, 2002)

Glycosphingolipids (GSLs), together with glycopeptides, are typical constituents of various cell membranes in a wide variety of organisms. In particular, it is known that GSLs have numerous physiological functions due to variations in the sugar chain, in spite of the very small quantity of constituents. Those are classified into cerebrosides, sulfatides, ceramide oligohexosides, globosides, and gangliosides based on the constituent sugars. Gangliosides, sialic acid-containing GSLs, are especially enriched in the brain and nervous tissues and are involved in the regulation of many cellular events. Recently, a number of GSLs have been isolated from marine invertebrates such as echinoderms, poriferans, and mollusks. We have also been researching biologically active GSLs from echinoderms to elucidate the structure-function relationships of GSLs and to develop novel medicinal resources. This review summarizes the structures and biological activities of GSLs from sea cucumbers. This study showed that the characteristics of GSLs and structure-activity relationships had neuritogenic activity toward the rat pheochromocytoma cell line PC12. That is, most of the cerebroside constituents of the sea cucumber are same glucocerebrosides as in other animals, except for some constituents, while the ganglioside constituents were unique in that a sialic acid directly binds to the glucose of cerebroside, they are mutually connected in tandem, and some are located in the internal parts of the sugar chain. It also became apparent that sialic acid is indispensable for the neuritogenic activities.

Key words—echinoderm; sea cucumber; glycosphingolipid; ganglioside; cerebroside; neuritogenic activity

1. はじめに

超高齢化社会への階段を登りつつある我が国では、今なお、多くの人々が、インフルエンザなどの各種ウイルスや細菌の感染、さらにその毒素の脅威にさらされ、時には生命の危機に見回れている。また、癌や神経疾患をはじめとするいまだ治療法が確立されていない疾患も知られている。しかし、近年そのような疾患等において、細胞膜中の複合糖質の糖鎖が極めて重要な役割を担っていることが明らかにされつつある。中でも、糖たんぱく質と並んで複合糖質の代表的な構成成分であるスフィンゴ糖脂質は、極く微量成分でありながら、その多様な糖鎖構

造ゆえに様々な生理機能を示すことが知られている (Table 1)。¹⁻¹⁴⁾ スフィンゴ糖脂質はセラミド構造を

Table 1. スフィンゴ糖脂質成分の代表的な生理機能

1. 糖鎖の官能基による細胞表面の環境作成 R-SO ₃ H, R-NH ₂ , R-COOH, R-PO ₃ H, R-OH	4. 細胞分化マーカー 1) 細胞分化マーカー 2) 腫瘍抗原
2. 受容体機能 1) 対細胞毒素 2) 対細胞, ウイルス 3) 対トランスミッター, ホルモン	5. 細胞膜機能の調節 1) 膜酵素活性の調節 2) イオンチャネルの調節 3) トランスミッター放出の調節
3. 神経分化制御 1) 成長因子受容体調節 2) 神経突起伸展 3) シナプス形成 4) ミエリン形成	6. コリンの取り組み細胞内情報伝達機構制御 1) プロテインキナーゼ活性の調節 2) アデニル酸シクラーゼ活性調節 3) 糖脂質代謝によるシグナル伝達

九州大学大学院薬学研究院 (〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1)

e-mail: kyamada@phar.kyushu-u.ac.jp

*本総説は、平成 13 年度日本薬学会九州支部学術奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

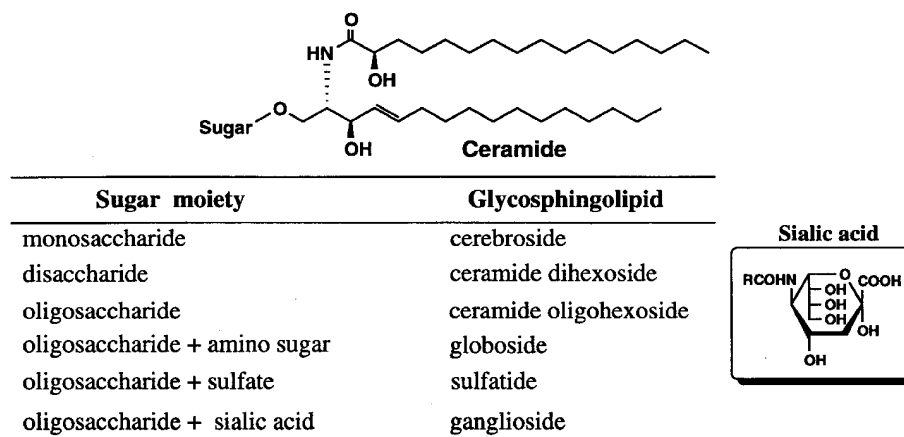


Fig. 1. スフィンゴ糖脂質成分の基本構造と分類

有する非糖部と糖鎖部から構成されているが、その糖鎖の構成糖の種類により様々な成分に分類されている (Fig. 1). 特に、単糖から成るセレブロシド類や糖鎖構造中にシアル酸を有するガングリオシド類は、重要な生命現象に深く関与することが明らかになり、新しい医薬素材として期待されている成分もある.¹⁵⁻²⁰⁾

近年、スフィンゴ糖脂質成分は脊椎動物のみならず海綿動物,²¹⁻²³⁾ 環形動物,²⁴⁾ 原索動物,²⁵⁻²⁷⁾ 棘皮動物類²⁸⁻³⁵⁾にも豊富に含まれていることが明らかになりつつある。特に、ガングリオシド成分については無脊椎動物類では Kochetkov, Smirnova,²⁸⁻³¹⁾ 星,³²⁾ 杉田³³⁻³⁵⁾らの報告に代表されるように、棘皮動物門の動物から多くの成分が得られている。しかし、近年軟体動物類のイカやタコからもガングリオシドが見出され、³⁶⁾ 海洋生物由来のスフィンゴ糖脂質成分の研究分野が広がりつつある。

我々の研究室では、新規医薬素材探索を目的として、また棘皮動物由来のスフィンゴ糖脂質成分の構造と機能解明のための基礎研究を行うことを目的として、その化学的研究に取り組んでいる。これまでに樋口らは、ムラサキヒトデ (*Asterias amurensis versicolor*),³⁷⁾ ホシヒトデ (*Stellaster equestris*),³⁸⁾ イトマキヒトデ (*Asterina pectinifera*),^{39,40)} ヒラモミジガイ (*Astropecten latespinosus*),⁴¹⁾ オニヒトデ (*Acanthaster planci*),^{42,43)} アオヒトデ (*Linckia laevigata*),⁴⁴⁾ ヤツデスナヒトデ (*Luidia maculata*),⁴⁵⁾ ニッポンウミシダ (*Comanthus japonica*),⁴⁶⁾ ウデフリクモヒトデ (*Ophiocoma scolopendrina*)⁴⁷⁾などから、多くの生物活性スフィ

ンゴ糖脂質を分離し、その構造を明らかにすると共に生物活性についても検討を行ってきた。そして、イトマキヒトデ由来のガングリオシドがラット胎児の培養大脳皮質細胞の生存維持作用を示すことを、^{39,40)} またムラサキヒトデ³⁷⁾やオニヒトデ^{42,43)}からは、マウス神経芽腫瘍細胞 Neuro2A に対して神経突起伸展作用を示すガングリオシドを見出してきた。筆者は上記の研究の一環として、特にナマコ類の生物活性スフィンゴ糖脂質成分の検索を行い、構造並びに生物活性の解明を行ってきた。さらにそれら生物活性スフィンゴ糖脂質成分の医薬素材としての可能性を明らかにするために、構造活性相関について検討を行っている。⁴⁸⁻⁵³⁾ 本総説では筆者らがナマコ類より分離したスフィンゴ糖脂質成分の構造とラット副腎髄質由来褐色細胞腫 PC12 に対する神経突起伸展作用について紹介する。

2. ナマコ類のスフィンゴ糖脂質成分の構造

棘皮動物は5種の綱に分類されているが、そのうちナマコ類は海鼠綱に属する動物である。さらに海鼠綱は6目に分類されている (Fig. 2)。筆者はこれまで樹手目キンコ科のグミ (*Cucumaria echinata*)⁴⁸⁾と、楯手目クロナマコ科のトラフナマコ (*Holothuria pervicax*),⁴⁹⁻⁵¹⁾ ニセクロナマコ (*Holothuria leucospilota*),⁵²⁾ さらにはマナマコ科のマナマコ (*Stichopus japonicus*)⁵³⁾のスフィンゴ糖脂質成分の検索を行ってきた。今回はそれらナマコ類のセレブロシド及びガングリオシド成分について紹介する。なお、ナマコ類の生物活性成分としては、オリゴ配糖体類がよく知られているが、その研究については北川、小林らの文献並びにその引用文

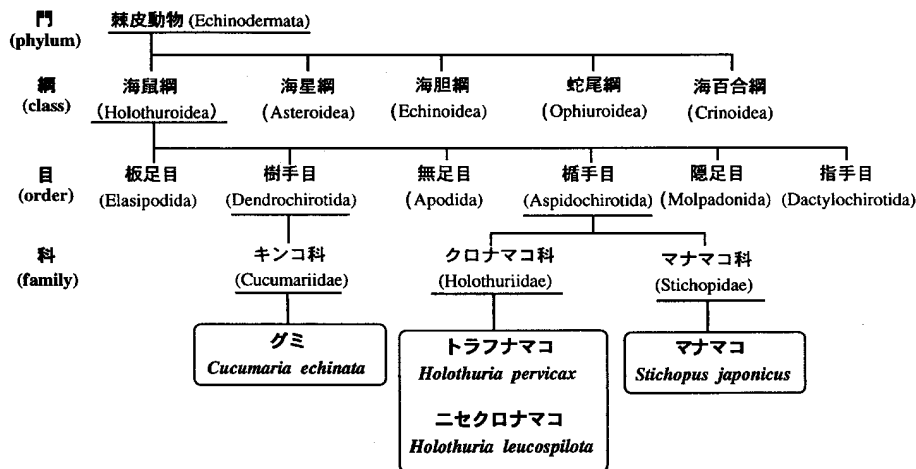


Fig. 2. 棘皮動物門と海鼠綱の分類表

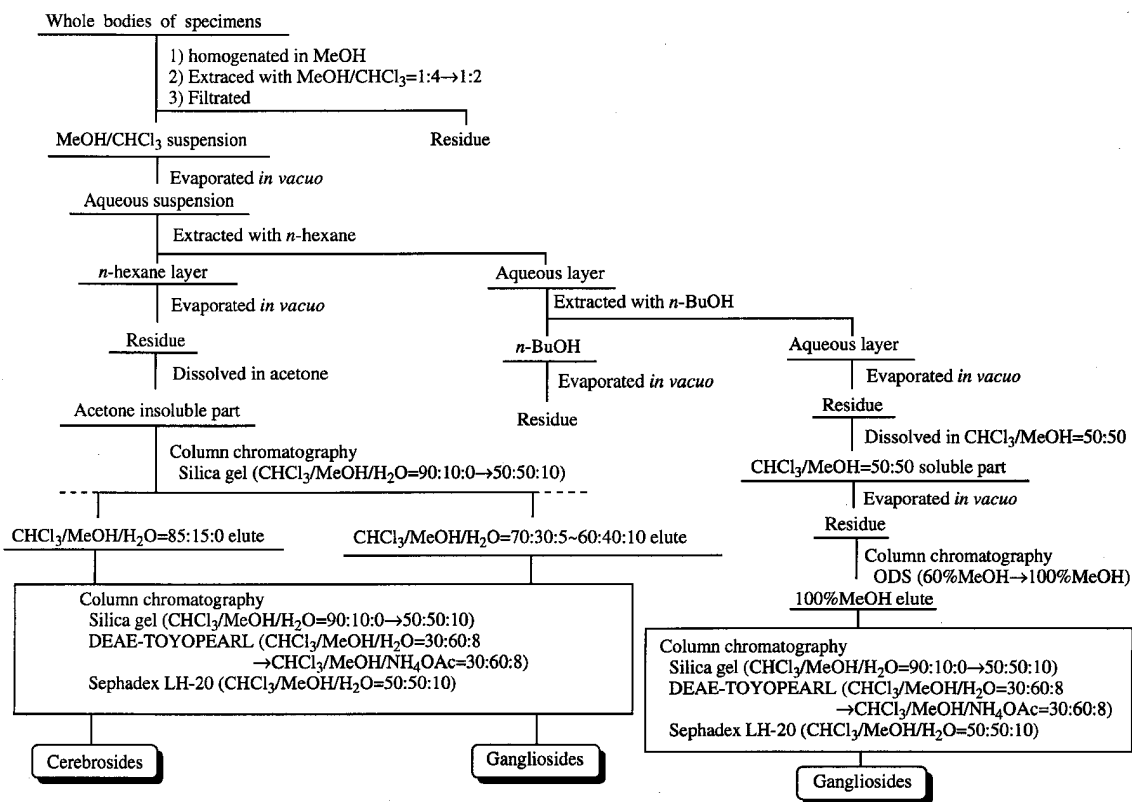


Fig. 3. ナマコ類からのスフィンゴ糖脂質成分の分離例

献を参照していただきたい。⁵⁴⁻⁶³⁾

2-1. ナマコ類のスフィンゴ糖脂質成分の抽出・分離 筆者らは、ナマコ類のスフィンゴ糖脂質成分の抽出・分離方法としては、おおよそ Fig. 3 に示したような方法で行っている。興味深いことに、我々は試料動物を CHCl₃-MeOH 混液で抽出後濃縮して得られた水懸濁液を n-hexane で分配すると、

大半のスフィンゴ糖脂質成分は他の脂質成分と共に n-hexane 層に分配されることを見出し、その方法を適用している。なお、より高極性な成分については従来どおり n-BuOH で分配後、水層部分から得ている。

2-2. グミ (*C. echinata*) のスフィンゴ糖脂質成分 樹手目キンコ科のグミは、体長 5-10 cm 程

の小型のナマコである。1980年代に博多湾海域で異常発生し、その後生息海域を変えながら、現在では玄界灘一帯に大量発生しているナマコである。水深20m程の海底一面に生息し、エビやオコゼなどの底引き網漁に悪影響を与えることで大きな社会問題になっている。グミのセレブロシド成分としては、3種の成分を得ることができた (Fig. 4)。それらは、スフィンゴシン型長鎖塩基にノンヒドロキシ脂肪酸並びに、 α -ヒドロキシ脂肪酸が結合した成分 (CE-1並びにCE-2) や、^{48,64} フィトスフィンゴシン型長鎖塩基に α -ヒドロキシ脂肪酸が結合した成分 (CE-3) であり、⁴⁸ 共に分子種として得ることができた。構成糖はすべて β -D-グルコピラノースであった。一方、そのガングリオシド成分については、モノシアロ2糖のガングリオシドCG-1を主成分として得ることができた (Fig. 5)。⁴⁸ その特徴としては、シアル酸がN-グリコシルノイラミン酸であり、その8位に硫酸基が結合していることがあげられる。その糖鎖構造は、久保、星らによってムラサキウニ (*Anthocidaris crassispina*) から分離されているガングリオシドT1³²と類似の構造を有していることが明らかになったが、そのセラミドの組成

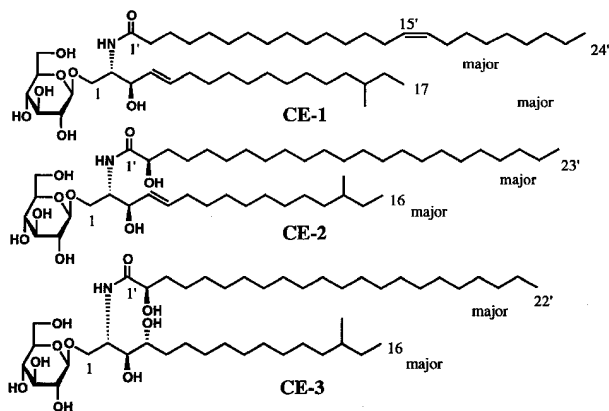


Fig. 4. グミ (*C. echinata*) のセレブロシド成分

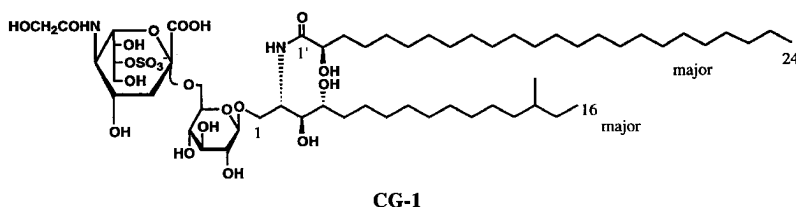
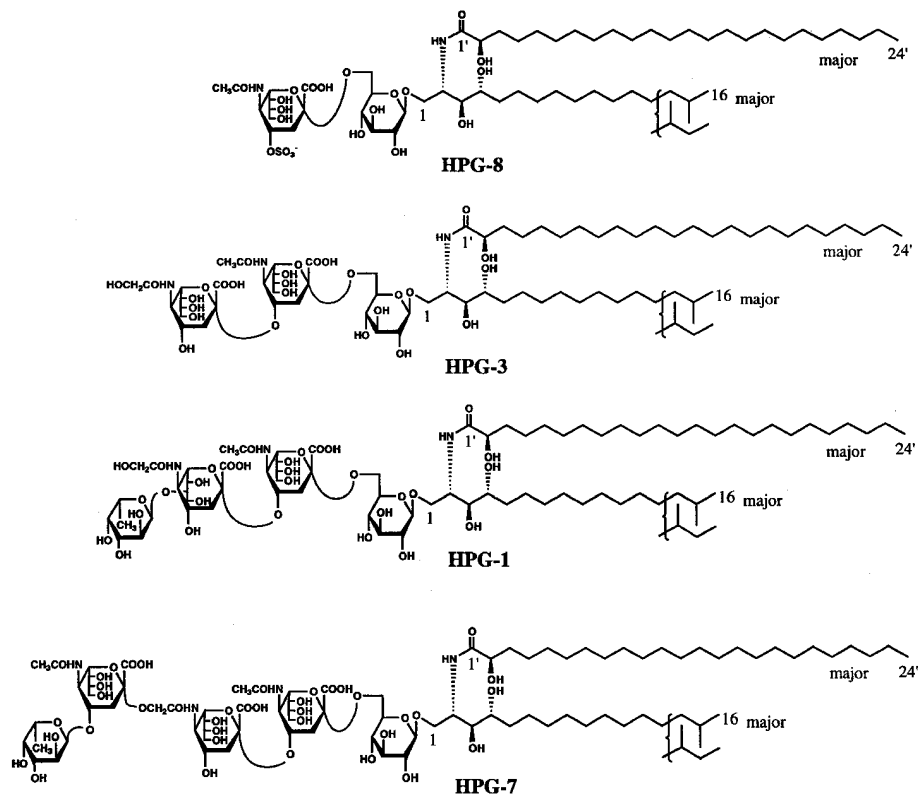
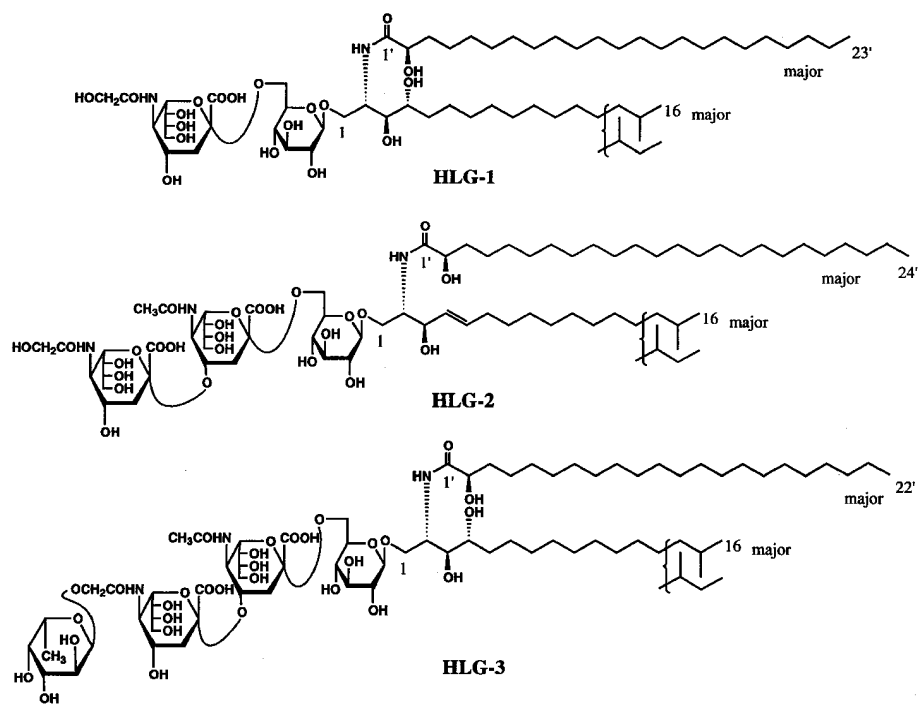


Fig. 5. グミ (*C. echinata*) のガングリオシド成分

が異なることが分かった。グミのガングリオシド成分については、現在もさらに詳細に検索中である。

2-3. トラフナマコ (*H. pervicax*) のスフィンゴ糖脂質成分 クロナマコ科のトラフナマコは、本州中部以南の海岸に広く生息している体長20—30cm程の動物である。福岡県津屋崎海岸で採集したトラフナマコからは、グミと同じタイプの3種のグルコセレブロシドを分子種として分離している。⁴⁹ 一方、そのガングリオシド成分としては、硫酸基含有モノシアロ2糖から成る糖鎖構造を有する**HPG-8**をはじめ、トリシアロ5糖のガングリオシド**HPG-7**に至る合計4種の成分を分離し、その構造を明らかにすることができた (Fig. 6)。^{50,51} その特徴としては、哺乳動物のガングリオシドとは異なりシアル酸がタンデム型に直結していることや、糖鎖の内部にシアル酸が結合していることなどがあげられる。

2-4. ニセクロナマコ (*H. leucospilota*) のスフィンゴ糖脂質成分 前種と同じクロナマコ科に属するニセクロナマコは、紀伊水道付近以南に分布し、潮間帯の石の上や砂底部に生息する体長20—30cm程の動物である。ニセクロナマコは玉足海參と称され、中国では中風や脳震盪、脊椎損傷によって起こる痙攣などの治療に有効とされている。⁶⁵ 筆者らは、熊本県牛深市沿岸で採集したニセクロナマコから前種と同様に3種のグルコセレブロシド成分を分離している。それらはトラフナマコとほぼ同様の組成を有する分子種であった。一方、そのガングリオシド成分についても、トラフナマコのそれと類似の糖鎖構造を有する3種のガングリオシド成分**HLG-1—HLG-3**を得ることができた (Fig. 7)。⁵² 特に**HLG-2**は哺乳動物のガングリオシド成分に特有なスフィンゴシン型長鎖塩基を有している点で、ナマコ類のガングリオシド成分としては特徴的な成分である。

Fig. 6. トラフナマコ (*H. pervicax*) のガングリオシド成分Fig. 7. ニセクロナマコ (*H. leucospilota*) のガングリオシド成分

2-5. マナマコ (*S. japonicus*) のスフィンゴ糖脂質成分

マナマコ科のマナマコは全長が 20—30 cm 程の大きさで、日本各地の浅海の岩礁や礫底、内湾の砂泥底に生息している。その体色には赤、青、黒の三型があり、それぞれアカコ（又はアカナマコ）、アオコ（又はアオナマコ）、クロコ（又はクロナマコ）と呼ばれる俗称がある。生食、イリコ、コノワタとして食されている。海參の原料は主にマナマコの体壁を煎った後の乾燥品である。滋養強壯、肺結核の治療、血友病患者の止血剤として昔から用いられてきた。⁶⁶⁾ 筆者らは供与して頂いた瀬戸内海産の食用マナマコの成分検索を行った。その結果、セレブロシド成分としてはこれまで紹介してきたナマコ類の成分と類似の 3 タイプのグルコセレブロシド成分を分子種として得ることができたが、ganglioside 成分としては 1 種の成分 **SJG-1** を主成分として得ている (Fig. 8).⁵³⁾ その特徴としては、セラミド部がノンハイドロキシ脂肪酸とフィトスフィンゴシン型長鎖塩基で構成されていることが挙げられる。さらにマナマコからは長鎖塩基部分に分枝構造を有する 2 種のグルコセレブロシドや、全く新規な糖鎖構造を有する 1 種の ganglioside 成分をそれぞれ分子種として分離することに成功しており、現在その構造などについて投稿中である。

2-6. ナマコ類のスフィンゴ糖脂質成分の特徴

前述のように、ナマコ類にも他の棘皮動物と同様に 3 タイプのグルコセレブロシド成分が多数含まれていることが明らかになったが、それ以外にもユニークな構造を有するグルコセレブロシドが存在することも明らかになりつつある。また、ナマコ類の ganglioside 成分は、1) シアル酸がセレブロシドのグルコースに直接結合していること、2) シアル酸がタンデム型に連結していること、3) シアル酸が糖鎖の内部に結合していることなどの点で哺乳動物のそれとは全く異なる構造を有している成分が存在

することが明らかになった。また、その糖鎖構造が同じ棘皮動物であるウニ類やクモヒトデ類の ganglioside 成分の糖鎖構造と類似する成分が多いことも明らかになったが、セラミドのコア部分の構造や組成が異なる点に相違が見られる。また、他の動物には見られない全く新規な糖鎖構造を有する成分が存在することも明らかになりつつある。

3. スフィンゴ糖脂質成分の神経突起伸展作用

哺乳動物由来のスフィンゴ糖脂質、特に ganglioside 成分の中には神経突起伸展作用を示す成分が多く報告されている。したがって、筆者らの研究室では哺乳動物の ganglioside 成分とは異なる構造を有する棘皮動物の ganglioside 成分の神経突起伸展作用について興味を持ち、その活性試験を行っている。特にナマコ類には特徴のある構造を有するセレブロシド成分や ganglioside 成分が含有されることが明らかになったことから、我々はこれらナマコ類のスフィンゴ糖脂質成分についても神経突起伸展作用を示すことを期待して、ラット副腎髄質由来褐色細胞腫 PC12 に対する神経突起伸展作用の検討を行った。今回は前述のナマコのスフィンゴ糖脂質成分を代表して、ニセクロナマコ由来の 3 種の ganglioside **HLG-1—HLG-3**、並びにマナマコ由来の ganglioside **SJG-1** の神経突起伸展作用について紹介する。なお、糖鎖構造と活性との相関について考察するために、筆者らの研究室においてヒトデ類より得ている ganglioside で、ナマコ類のそれとは異なる糖鎖構造を有する ganglioside 成分についても、比較のために同時に活性試験を行ったのでその結果についても合わせて紹介する。

3-1. PC12 細胞に対する神経突起伸展作用試験に用いたスフィンゴ糖脂質成分

今回活性試験には、マナマコ、ニセクロナマコ、ムラサキヒトデ、オニヒトデ由来の 7 種の ganglioside 成分と 1 種の合成 ganglioside 成分、さらには 3 種のスフィ

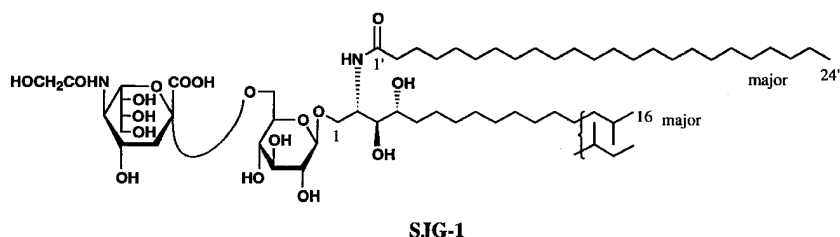


Fig. 8. マナマコ (*Stichopus japonicus*) の ganglioside 成分

ンゴ糖脂質の合計 11 種の成分の作用を調べた。その構造式は、Fig. 9 に示したとおりである。

3-2. 活性試験結果 PC12 細胞に対する神経突起伸展作用試験については、Fig. 10 に示したプ

ロトコールに従い無血清培地中で行った。活性には各サンプルを数段階の濃度に調整し、NGF (Nerve Growth Factor) と共に添加した。活性の判定には 96 時間後細胞体より長い突起を伸ばしている細胞

マナマコ (*Stichopus japonicus*)

SJG-1 NeuGc α 2-6Glc β 1-1Cer

ニセクロナマコ (*Holothuria leucospilota*)

HLG-1 NeuGc α 2-6Glc β 1-1Cer

HLG-2 NeuGc α 2-4NeuAc α 2-6Glc β 1-1Cer

HLG-3 Fuc α 1-11NeuGc α 2-4NeuAc α 2-6Glc β 1-1Cer

ムラサキヒトデ (*Asterias amurensis versicolor*)

GAA-7 NeuGc α 2-4(NeuGc α 2-6)GalNAc β 1-3Gal β 1-4Glc β 1-1Cer

オニヒトデ (*Acanthaster planci*)

AG-2 Gal β 1-3Gal α 1-4NeuAc α 2-3Gal β 1-4Glc β 1-1Cer

AG-3 Gal β 1-3Gal α 1-3Gal α 1-4NeuAc α 2-3Gal β 1-4Glc β 1-1Cer

合成類縁体

Desulfo-CG-1 NeuGc α 2-6Glc β 1-1Cer

哺乳動物

GM-1 Gal β 1-3GalNAc β 1-4(NeuAc α 2-3)Gal β 1-4Glc β 1-1Cer

Globoside I GalNAc β 1-3Gal α 1-4Gal β 1-4Glc β 1-1Cer

CDH-1 Gal β 1-4Glc β 1-1Cer

Fig. 9. PC12 細胞に対する神経突起伸展作用試験を行ったスフィンゴ糖脂質成分

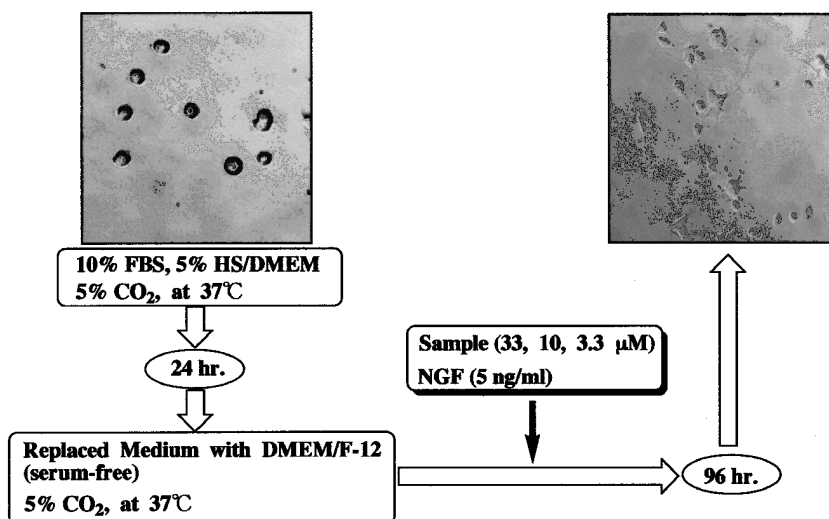


Fig. 10. Protocol for Evaluation of Neuritogenic Effect on PC12 Cells

の割合を求めて活性試験の結果とした。その1例を Fig. 11 に示したが、ほとんどのガングリオシドは NGF 共存下で PC12 細胞に対して突起の伸展作用を示すことが認められた。今回は $10\ \mu\text{M}$ 濃度での各試料の活性試験の結果を比較した。その結果をシアル酸の数ごとに並べて Fig. 12 に示した。これよりシアル酸の数が多いほどより強い活性を示すことが明らかになった。さらに詳細に構造と活性相関について検討を行うために、各タイプごとに活性を比

較した結果、まずジシアロタイプのガングリオシド間に若干の活性の相違が見られることが明らかになった。このことより糖鎖の末端部に結合しているシアル酸の数が多いほどより強い活性を示すことが示唆された。またモノシアロタイプのガングリオシドでは、ジシアロタイプのガングリオシドの場合とは異なり、シアル酸が糖鎖の内部に結合している **AG-2** や **AG-3** により強い活性が認められたが、これは糖鎖構造そのものの相違によるものと考えられ

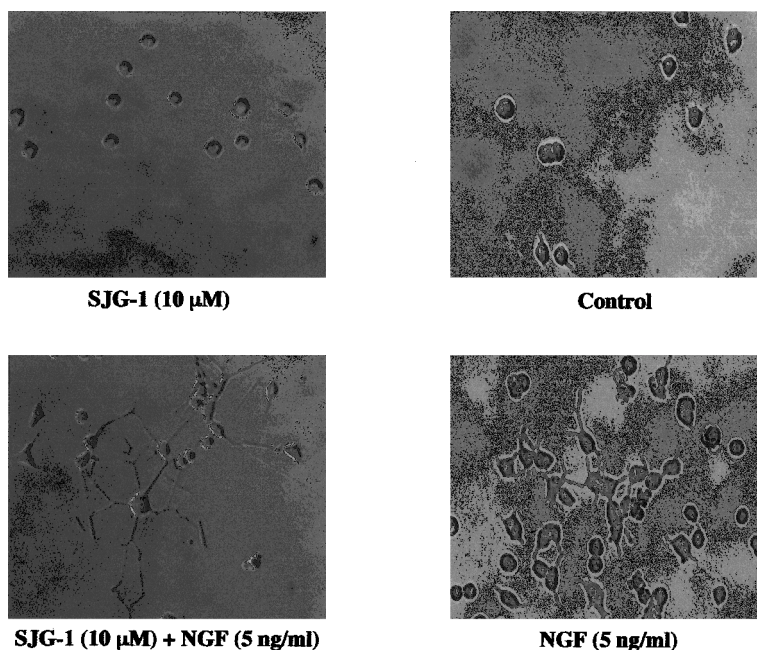


Fig. 11. Example of the Neuritogenic Effect on PC12 Cells for SJG-1

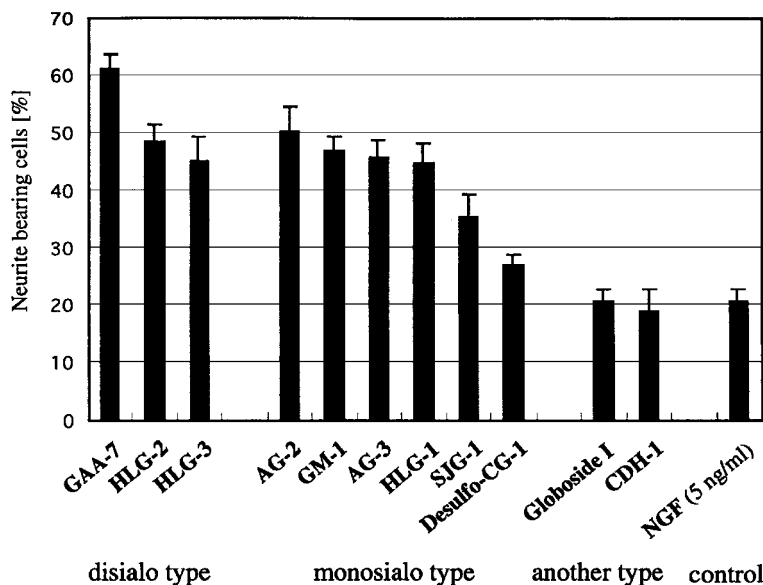


Fig. 12. Neuritogenic Activities of Glycosphingolipids

る。一方、シアル酸を有さないその他のスフィンゴ糖脂質成分にはあまり顕著な活性が認められなかった。このことから、活性発現にはシアル酸が必須であることが明らかになった。

4. おわりに

近年、哺乳動物などの脳や神経細胞から多数のスフィンゴ糖脂質成分が分離・構造決定されるようになり、さまざまな生理機能などが解明されている。その一方でスフィンゴ糖脂質は棘皮動物などの海洋動物にも多数含有されていることが見だされてきている。その中で、筆者らは主にナマコ類のスフィンゴ糖脂質、特にセレブロシド成分やガングリオシド成分の検索を行い以下の知見を得てきた。1) ナマコ類のスフィンゴ糖脂質中には、哺乳動物や他の棘皮動物のスフィンゴ糖脂質成分とは異なるユニークな構造を有する成分が存在すること、2) ナマコ類のガングリオシド成分は NGF 存在下で PC12 細胞に対して神経突起伸展作用を示すこと、3) ナマコ類のガングリオシドの神経突起伸展作用は、糖鎖構造中に存在するシアル酸の数が多いほど、また糖鎖の末端部に結合しているシアル酸の数が多い程より強い活性を示すこと、4) ナマコ類のガングリオシド成分の中には、ニセクロナマコのガングリオシド **HLG-2** などのように、現在神経疾患などの治療に用いられている哺乳動物のガングリオシド **GM1**⁶⁷⁾ と同等若しくは、それ以上の強い活性を示す成分が存在することなどを明らかにすることができた。以上のことから、哺乳動物のガングリオシドとは異なるユニークな構造を有するナマコ類のガングリオシド成分は、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経疾患などの治療改善薬開発のための素材としての可能性が期待される。

謝辞 本研究は、九州大学大学院薬学研究院医薬資源探索学分野において行われたものであり、終始懇切な御指導を賜りました九州大学大学院薬学研究院教授、樋口隆一先生に心から御礼申し上げます。また、本研究の全般にわたり御助言、御協力頂きました九州大学大学院薬学研究院助教授、宮本智文先生並びに九州大学大学院薬学研究院助手、稲垣昌宣先生に心から感謝の意を表します。また、機器スペクトルの測定に御協力くださいました、九州大学大学院薬学研究院助手、田中彬嗣先生、元九州大

学大学院薬学研究院技官、添田恭子氏並びに、東和大学工学部教授、磯部隆一先生に厚く御礼申し上げます。さらに、本研究遂行にあたり多大な御助力を賜りました九州大学大学院薬学研究院医薬資源探索学分野の教室員一同に深く感謝いたします。また、貴重なマナマコを研究材料として御提供くださいました、(有)備前海産の関係者の方々に厚く御礼申し上げます。最後に、本研究の一部は、文部科学省研究費補助金、日本学術振興会科学研究費補助金、財医薬資源研究振興会研究費補助金を得て行われたものであり、併せて感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Nojiri H., Takaku F., Terui Y., Miura Y., Saito M., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**, 782-786 (1986).
- 2) Nojiri H., Kitagawa S., Nakamura M., Kirito K., Enomoto Y., Saito M., *J. Biol. Chem.*, **263**, 7443-7448 (1988).
- 3) Kitagawa S., Nojiri H., Nakamura M., Gallagher R. E., *J. Biol. Chem.*, **264**, 16149-16154 (1989).
- 4) Obata K., Oide M., Handa S., *Nature*, **266**, 369-371 (1977).
- 5) Morgan J. I., Seifert W., *J. Spermol. Struct.*, **10**, 111-124 (1979).
- 6) Hauw J. J., Fenelon S., Boutry J., *M. C. R. Acad. Sci.*, **292**, 569-571 (1981).
- 7) Roisen F. J., Bartfeld H., Nagele T., *Science*, **214**, 577-578 (1981).
- 8) Tsuji S., Arita M., Nagai Y., *J. Biol. Chem.*, **94**, 303-306 (1983).
- 9) Arita M., Tsuji S., Omatsu M., Nagai Y., *J. Neurosci. Res.*, **12**, 289-297 (1989).
- 10) Rahmann H., Iwamori M., Nagai Y., *J. Exp. Med.*, **49**, 147-149 (1979).
- 11) Nordio F., Canella R., Cario A. L., *Muscle Nerve*, **5**, 107-110 (1982).
- 12) Oderfeld-Nowak G., Wojcik M., Vlas J., "Gangliosides in Neurological and Neuromuscular Function, Development and Repair," eds. by Rapport M. W., Gorio A., Raven Press PP., 1981, pp. 197-203.
- 13) Skaper S. D., Leon A., Toffano G., *Mol. Neurobiol.*, **3**, 173-199 (1989).
- 14) Schengrund C., *Brain Res. Bull.*, **24**, 131-141 (1990).

- 15) Ceccarelli B., Aporti F., Finesso M., *Adv. Exp. Med. Biol.*, **21**, 275–293 (1976).
- 16) Spero D. A., Roisen F. J., *Dev. Brain Res.*, **13**, 37–48 (1984).
- 17) Fusco M., Dona M., Tessari F., Hallman H., Jonsson G., Gorio A., *J. Neurosci. Res.*, **15**, 467–479 (1986).
- 18) Vantini G., Fusco M., Bigon E., Leon A., *Brain Res.*, **448**, 252–258 (1988).
- 19) Bradley W. G., *Muscle & Nerve*, **13**, 833–842 (1990).
- 20) Skaper S. D., Leon A., Toffano G., *Mol. Neurobiol.*, **3**, 173–199 (1989).
- 21) Natori T., Koezuka Y., Higa T., *Tetrahedron Lett.*, **34**, 5591–5592 (1993).
- 22) Kobayashi E., Motoki K., Natori T., Uchida T., Fukushima H., Koezuka Y., *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 350–353 (1996).
- 23) Natori T., Morita M., Akimoto K., Koezuka Y., Higa T., *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **110** (suppl. 1), 63–68 (1997).
- 24) Tanaka R., Miyahara K., Noda N., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1151–1156 (1996).
- 25) Rosario D., Santiago N., Javier S., *Tetrahedron*, **54**, 14597–14602 (1998).
- 26) Loukaci A., Bultel-Ponce V., Longeon A., Guyot M., *J. Nat. Prod.*, **63**, 799–802 (1998).
- 27) Aiello A., Fattorusso E., Mangoni A., Menna M., *Eur. Org. Chem.*, **2002**, 1047–1050.
- 28) Chekareva N. V., Smirnova G. P., Kochetkov N. K., *Bioorg. Khim.*, **17**, 398–402 (1991).
- 29) Smirnova G. P., *Bioorg. Khim.*, **22**, 134–139 (1996).
- 30) Smirnova G. P., Chekareva N. V., Kochetkov N. K., *Bioorg. Khim.*, **12**, 507–513 (1986).
- 31) Chekareva N. V., Smirnova G. P., Kochetkov N. K., *Bioorg. Khim.*, **17**, 387–397 (1991).
- 32) Kubo H., Irie A., Inagaki F., Hoshi M., *J. Biochem.*, **108**, 185–192 (1990).
- 33) Sugita M., *J. Biochem.*, **82**, 1307–1312 (1977).
- 34) Sugita M., *J. Biochem.*, **86**, 289–300 (1979).
- 35) Sugita M., *J. Biochem.*, **86**, 765–772 (1979).
- 36) Saito M., Kitamura H., Sugiyama K., *Biochem. Biophys. Acta.*, **1511**, 271–280 (2001).
- 37) Higuchi T., Inukai K., Xin J. J., Honda M., Komori T., Tsuji S., Nagai Y., *Liebigs Ann. Chem.*, **1993**, 359–366.
- 38) Higuchi R., Harano Y., Mitsuyuki M., Isobe R., Yamada K., Miyamoto T., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1996**, 593–599.
- 39) Higuchi R., Natori T., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, 51–55.
- 40) Higuchi R., Inagaki K., Natori T., Komori T., Kawajiri S., *Liebigs Ann. Chem.*, **1991**, 1–10.
- 41) Higuchi R., Matsumoto S., Fujita M., Komori T., Sasaki T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1995**, 545–550.
- 42) Kawano Y., Higuchi R., Isobe R., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1988**, 19–22.
- 43) Kawano Y., Higuchi R., Isobe R., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1988**, 1181–1183.
- 44) Inagaki M., Isobe R., Higuchi R., *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 771–774.
- 45) Kawatake S., Inagaki M., Isobe R., Miyamoto T., Higuchi R., *Liebigs Ann. Chem.*, **1997**, 1797–1800.
- 46) Arao K., Inagaki M., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 687–689 (1999).
- 47) Inagaki M., Shibai M., Isobe R., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 1521–1525 (2001).
- 48) Yamada K., Hara E., Miyamoto T., Higuchi R., Isobe R., Honda S., *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 371–378.
- 49) Yamada K., Sasaki K., Harada Y., Isobe R., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 1467–1470 (2002).
- 50) Yamada K., Harada Y., Nagaregawa Y., Miyamoto T., Isobe R., Higuchi R., *Eur. J. Org. Chem.*, **1998**, 2519–2525.
- 51) Yamada K., Harada Y., Miyamoto T., Isobe R., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 157–159 (2000).
- 52) Yamada K., Matsubara R., Kaneko M., Miyamoto T., Higuchi R., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 447–452 (2001).
- 53) Kaneko M., Kisa F., Yamada K., Miyamoto T., Higuchi R., *Eur. J. Org. Chem.*, **1999**, 3171–3174.
- 54) Chanley J. D., Ledeen R., Wax J., Niegrelli R. F., Sobotka H., *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 5180–5183 (1959).
- 55) Kelecom A., Dalozze D., Tursch B., *Tetrahedron*, **32**, 2353–2359 (1976).
- 56) Kitagawa I., Sugawara T., Yoshioka I., Kuriyama K., *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 275–284 (1976).

- 57) Kitagawa I., Yamanaka H., Kobayashi M., Nishino T., Yoshioka I., Sugawara T., *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 3722–3731 (1978).
- 58) Kitagawa I., Kobayashi M., Hori M., Kyogoku Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 282–285 (1981).
- 59) Kitagawa I., Nishino T., Kobayashi M., Matsuno T., Akutsu H., Kyogoku Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 1942–1950 (1981).
- 60) Kitagawa I., Nishino T., Kobayashi M., Kyogoku Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 1951–1956 (1981).
- 61) Kitagawa I., Kobayashi M., Inamoto T., Yasuzawa T., Kyogoku Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 2387–2391 (1981).
- 62) Kitagawa I., Kobayashi M., Kyogoku Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2045–2050 (1982).
- 63) Kitagawa I., Kobayashi M., Inamoto T., Fuchida M., Kyogoku Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 5214–5224 (1985).
- 64) Higuchi R., Inagaki M., Togawa K., Miyamoto T., Komori T., *Liebigs Ann. Chem.*, **1994**, 79–81.
- 65) South China Sea Institute of Oceanology, China Academy of Science, Marine Biology Research Department, “South China Sea Marine Medicinal Organisms,” Science Press, Beijing, 1978, p. 92.
- 66) Jiangsu New Medical Institute, “Dictionary of Traditional Chinese Medicine, the last volume,” Shanghai People’s Press, 1977, p. 1928.
- 67) Geisler F. H., Dorsey F. C., Coleman W. P., *N. Engl. J. Med.*, **324**, 1885–1887 (1991).