

アカメガシワ *Mallotus japonicus* (Euphorbiaceae) の果皮成分

有澤 宗久

Constituents of the Pericarps of *Mallotus japonicus* (Euphorbiaceae)

Munehisa ARISAWA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toyama Medical & Pharmaceutical University,
2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan

(Received January 6, 2003)

Rottlerin-like phloroglucinol derivatives isolated from the pericarps of *Mallotus japonicus* MUELL. ARG. (Euphorbiaceae) are reviewed. Chemical structures, cytotoxicity, antitumor and antitumor-promoting effects, antiviral activity, anti-HIV-RT activity, and inhibitory activity of activated macrophages (inhibitory activities of NO, prostaglandin E₂, tumor necrosis factor- α , and interleukin-6 production) of the phloroglucinol derivatives are described.

Key words—*Mallotus japonicus*; phloroglucinol derivatives; biological activity; Euphorbiaceae

1. はじめに

アカメガシワ (*Mallotus japonicus* MUELL. ARG.) はトウダイグサ科 (Euphorbiaceae) に属する落葉高木で、熱帯及び温帯アジアに広く分布している。樹皮は、生薬名を赤芽柏と称し、日本では苦味健胃薬として胃酸過多、胃潰瘍、胆石症に良いとし、台湾では民間で癌に用い、中国では胃や十二指腸の潰瘍に用いられ、葉はお出来や吹き出物に外用される。樹皮からは bergenin¹⁾ 及びその誘導体、²⁾ 多数のタンニン類^{3–6)} などが単離されており、葉からは rutin,⁷⁾ 不飽和脂肪族化合物,^{8,9)} valoneic acid dilactone¹⁰⁾ ほか数種のタンニン類^{3–5)} が、果実からは 2 種の rottlerin 様 phloroglucinol 誘導体、¹¹⁾ 生理活性成分として、種子の強心作用成分及びそれらの配糖体^{12,13)} などの報告がされていた。

ヒト由来の培養がん細胞である KB cell を用いる *in vitro* の細胞増殖抑制スクリーニングを行い、¹⁴⁾ 研究対象を検索していたところ、アカメガシワ果皮の他、生薬の猪蒺藜草、^{15,16)} サクラソウ科 (Primulaceae) のコナスビ (*Lysimachia japonica* THUMB.),¹⁷⁾ ユキノシタ科 (Saxifragaceae) のネコノメソウ属 (*Chrysosplenium*)^{18–20)} など数種に顕著な細胞増殖

抑制活性が認められた。

まず、多量の材料が容易に採集可能であったアカメガシワ果皮から研究に取り組み、培養 KB cell 増殖抑制活性を指標に分画して得た活性画分から、近縁植物生薬カマラの成分である rottlerin に類似の phloroglucinol 誘導体を活性成分として単離した。

それらの化学構造、細胞増殖抑制活性、抗腫瘍性、抗発がんプロモーター活性、抗ウイルス活性、human immunodeficiency virus (HIV) 逆転写酵素阻害作用、マクロファージ活性化抑制作用などについて検討した結果を纏めて記したものである。

2. 化学成分の構造

一連の rottlerin 様 phloroglucinol 誘導体は Fig. 1 に示した通り、単純な構造である 3-methylphloroacetophenone 誘導体の二重分子化合物ですべてキレート水酸基を有している。単純構造化合物としては天然から得た最初の例の mallophenone (=2,6-dihydroxy-3,5-dimethyl-4-methoxyacetophenone) (1)²⁵⁾ と 2,6-dihydroxy-3-methyl-4-methoxyacetophenone (2)^{23,11)} があり、mallotophenone (3)²³⁾ は methylene を中心とした対称型の典型的二重分子化合物 (5-methylene-bis-2,6-dihydroxy-3-methyl-4-methoxyacetophenone) である。化学成分として既に単離構造決定されており、¹¹⁾ 後に mallotojaponin (4) と命名^{21,23)} された誘導体の構造は 3-(3,3-dimethylallyl)-5-(3-acetyl-2,4-dihydroxy-5-methyl-6-methoxyben-

富山医科薬科大学薬学部 (〒930-0194 富山市杉谷 2630)
e-mail: marisawa@ms.toyama-mpu.ac.jp

*本総説は、平成 14 年度退官にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

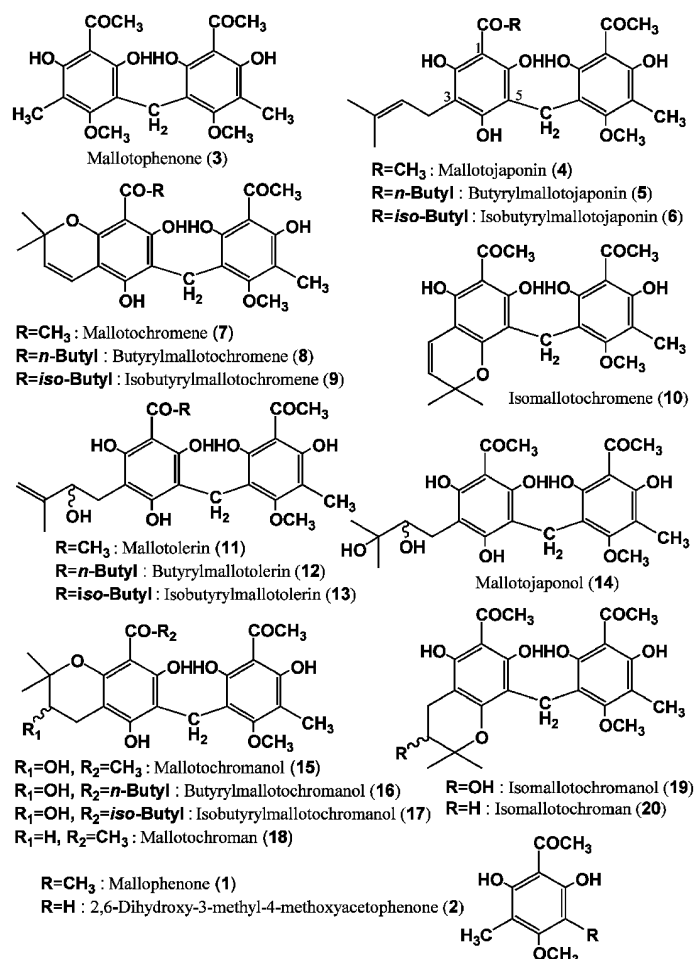


Fig. 1. Structures of Phloroglucinol Derivatives from the Pericarps of *M. japonicus*

zyl)-phloroacetophenone である。この phloroacetophenone 部に替わる phlorobutyrophenone, phloroisobutyrophenone が, それぞれ butyrylmallotolerojaponin (5) と isobutyrylmallotolerojaponin (6) であり,^{21,22)} 4, 5, 6 のそれぞれの 2 位水酸基との閉環体が mallotochromene (7),²³⁾ butyrylmallotochromene (8),²⁶⁾ isobutyrylmallotochromene (9)²⁶⁾ で, 4 の 4 位水酸基との閉環体が isomallotochromene (10)²⁵⁾ である。また, 4, 5, 6 それぞれの 3,3-dimethylallyl 部の酸化と二重結合の移動が生じたと考えられる mallotolerin (11),^{11,21)} butyrylmallotolerin (12),^{21,24)} isobutyrylmallotolerin (13),^{21,27)} 4 の allyl 部の酸化体の mallotolerojaponin (14)²¹⁾ が得られている。化合物 7, 8, 9 それぞれの chromene 環の加水体が mallotochromanol (15),²⁴⁾ butyrylmallotochromanol (16),²¹⁾ isobutyrylmallotochromanol (17)²¹⁾ であり, 7 の chromene 環の還元体が mallotochro-

man (18)²⁵⁾ である。化合物 10 の chromene 環の加水体が isomallotochromanol (19)²⁷⁾ で, 還元体が isomallotochroman (20)²⁵⁾ である。

3. 細胞増殖抑制活性

In vitro の細胞毒性あるいは細胞増殖抑制活性試験にはヒト由来の carcinoma KB, Hep-2, PC-13 cell, マウスの leukemia L5178Y, P-388 cell や melanoma B16 cell などの培養がん細胞を用い, 試験方法として, crystal violet 法,^{28,29)} 3-(4,5-dimethylthazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 法,³⁰⁾ 2,3-bis[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-5-[(phenyl-amino) carbonyl]-2*H*-tetrazolium hydroxide (XTT) 法³¹⁾ などを利用した。

種々の培養がん細胞に対する phloroglucinol 誘導体の細胞毒性あるいは細胞増殖抑制活性を Table 1 に示した。KB cell に対して, 化合物 3-13 は活性を示し, 3 位に繋がる側鎖部分や環状部分に不飽和結

Table 1. Cytotoxic Activities of Phloroglucinol Derivatives against Various Cultured Cancer Cell Lines (IC₅₀ μg/ml)

Compounds	Carcinoma			Melanoma	Leukemia	
	KB	Hep-2	PC-13	B16	L5178Y	P388
1	>20	>20	>20	>20	>20	>20
2	>20	>20	>20	>20	>20	>20
3	2.40±0.17	6.30±0.60	3.75±0.24	4.80±0.23	3.65±0.49	10.08±0.58
4	0.58±0.03	0.60±0.04	0.54±0.04	0.70±0.06	0.81±0.08	1.14±0.05
5	0.72±0.07	0.41±0.03	0.91±0.02	0.60±0.03	1.08±0.10	2.85±0.03
6	0.98±0.10	1.10±0.12	3.05±0.43	1.75±0.92	2.50±0.40	3.00±0.45
7	2.10±0.18	0.72±0.14	0.82±0.02	1.08±0.19	1.26±0.31	1.71±0.31
8	3.03±0.18	1.70±0.25	1.30±0.18	1.29±0.09	2.36±0.32	3.40±0.35
9	0.40±0.03	1.08±0.21	1.77±0.06	1.44±0.05	2.78±0.16	4.03±0.56
10	2.20±0.12	NT	NT	NT	NT	NT
11	1.22±0.12	1.08±0.08	1.53±0.12	1.01±0.23	1.61±0.02	2.18±0.04
12	0.95±0.11	0.91±0.20	0.63±0.06	2.38±0.24	1.27±0.04	1.22±0.19
13	0.84±0.09	0.93±0.09	1.80±0.43	1.96±0.28	2.50±0.15	3.85±0.06
14	>20	>20	>20	>20	>20	>20
15	>20	>20	>20	>20	>20	>20
16	13.50±1.10	NT	NT	NT	NT	NT
17	14.60±0.55	NT	NT	NT	NT	NT
18	8.90±0.40	NT	NT	NT	NT	NT
19	>20	>20	>20	>20	>20	>20
20	16.02±0.64	NT	NT	NT	NT	NT

Mean±SE of three determinations.

合のない化合物 **14-20** 及び monomeric な **1** と **2** は活性を示さなかった。化合物 **4-13** がその他の培養がん細胞に対しても十分な活性を示すのに比べ、**3** は弱い活性であった。活性発現には **3** 位に繋がる不飽和結合が関与しているものと考察される。³²⁾

4. 抗腫瘍活性^{24,32)}

DdY 系マウスの Ehrlich 腹水癌に対する **4** の延命効果は認められなかったが、Ehrlich 固形癌に対して 20 mg/kg/day の投与において T/C 49.5% の抑制が認められた (Table 2)。²⁴⁾ B6D2F₁ 系マウスの L5178Y 白血病に対する **4** の延命効果の検討で、10—40 mg/kg/day の投与において延命率 (Increase of life-span) (ILS) が 200% 以上の顕著な延命効果を示した (Table 3)。³²⁾ 併用による抗腫瘍活性については、溶連菌から得られ免疫賦活剤として使用されている OK-432 との併用効果を検討した。DdY 系マウスの Ehrlich 腹水癌に対し OK-432 単独投与では ILS が 14.7% であったのに比べ、**4** の併用で 97% となり (Table 4A)、また、B6D2F₁ 系マウスの L5178Y 白血病に対し OK-432 単独投与では ILS が 187% であったのに比べ、**4** の併用で 275% とな

Table 2. Effect of Compound **4** on Solid Tumor of Ehrlich Carcinoma in Mice

Dose (mg/kg/day)	Mortality	Tumor weight (g) Mean±S.E.	T/C (%)
Control	0/8	1.19±0.18	100
7	0/6	0.93±0.19	78.1
20	0/6	0.59±0.11	49.5

Mouse: Male 5-week-old ddY mice; 6 mice/group (8 mice for control group). Inoculum: Ehrlich carcinoma cells 3×10⁶/head, sc (inguinal region). Treatment: Qd, day 3-8; ip. The compound to be tested was suspended in 0.25% carboxymethylcellulose (CMC) solution. Determination: day 10.

り (Table 4B) 併用効果の有効性を示した。³²⁾

5. 抗発ガンプロモーター活性^{33,34)}

In vitro の発ガンプロモーター抑制活性は 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) をプロモーターとし、C3H10T1/2 細胞のリン脂質への ³H-choline の取り込み阻害作用で検討した。検討化合物 **2-4, 7, 10, 11, 15, 18, 19** の 9 種すべてに活性が認められ、中でも **4, 10, 11** が顕著であった。³³⁾ 化合物 **4** の活性は、天然由来の強力な抗発ガンプロモーター化合物として知られる quercetin, berberine sul-

Table 3. Effect of Compound 4 on Mouse L5178Y Leukemia *in vivo*

Dose (mg/kg)	Mean body weight (g)		MST ^{a)} (day)	ILS ^{b)} (%)	No. of survivors/ tested on 60th day
	day 0	day 7			
None	22.1	23.6		16	0/7
10	23.5	24.6	54.5	240	3/7
20	23.5	24.1	60	275	7/7
40	22.6	22.7	49	206	3/7 (Toxic)

The experiment was terminated at 60th day after the leukemia cell implantation.

a) Median survival time.

b) Increase of life-span = [MST (treated) / MST (control)] × 100 - 100.

Table 4. Antitumor Effects of Combined Use of a and OK-432 in Mice

A. Ehrlich Ascites Carcinoma				
Agent	Dose (mg/kg)	MST ^{a)} (day)	ILS ^{b)} (%)	No. of survivors/ tested on 60th day
None		17		0/8
4	10	18	5.8	0/6
OK-432	7.5 ^{c)}	19.5	14.7	0/6
4	10			
+	+	33.5	97	0/6
OK-432	7.5			
B. Mose L5178Y Leukemia				
Agent	Dose (mg/kg)	MST ^{a)} (day)	ILS ^{b)} (%)	No. of survivors/ tested on 60th day
None		16		0/8
4	10	54.5	240	3/6
OK-432	10	46	187	2/6
4	10			
+	+	60	275	6/6
OK-432	10			

a, b) See footnotes in Table 3. c) Corresponds to 100 KE; one KE (Klinische Einheit) of OK-432 contains 0.1 mg of dried streptococcal cells.

Table 5. Effect of 4 and Naturally Occurring Antitumor-Promoting Agents on TPA-Enhanced ³²P_i Incorporation into Phospholipids of Cultured Cells

Condition	³² P _i Incorporation cmp/mg protein × 10 ⁻¹	Inhibition (%)
Control	1.43	
TPA	845	
TPA + 4	1.58	97.9
TPA + quercetin	5.61	40.5
TPA + berberine sulfate	7.02	20.4
TPA + curcumin	7.18	18.1

HeLa cells were incubated with one of the test compound (2 μg/ml). After 1 h, ³²P_i (74 kBq/culture) was added with or without TPA (50 nM). Incubation was continued for 4 h, and then the radioactivity incorporated into phospholipid fractions was measured. Data are mean values of duplicate experiments, each of which scarcely deviated (within 2.5%).

fate, curcumin の活性をはるかに凌ぐもので 50% inhibitory dose (ID₅₀) は 0.4 μM (0.2 μg/ml) であった (Table 5).³⁴⁾ ICR 系マウスを用い, 7,12-dimethyl-benz[a]anthracene (DMBA) をイニシエーター, TAP をプロモーターとした二段階皮膚発ガン実験における化合物 4 の発ガン抑制試験の成績は Fig. 2 及び 3 に示した. Figure 2 では control 群は 6 週で発ガンが確認されるのに対し, 162 nmol 投与群は 10 週で発ガンが確認され, マウス一匹当たりの腫瘍数の比較においても週を経るに従い差異が認められる. Figure 3 では control 群は 7 週で発ガンが確認されるのに対し, 1620 nmol 投与群は 20 週を経ても発ガンが確認されず, マウス一匹当たりの腫瘍数の比較においても有意な抑制効果が確認された.³⁴⁾

6. 抗ウイルス活性²⁵⁾

宿主細胞として HeLa 229 細胞を用いて単純ヘルペス 1 型ウイルスの増殖抑制効果について検討を行った. 抗ウイルス活性はプラーク検定法により判定した. 抗ウイルス剤としての有効性を示す 1 つの指標は, 細胞毒性と抗ウイルス活性の比である治療係数で表わされるが, 化合物 16 と 20 はそれぞれ 10.9, 9.1 と抜き出した数値を示した (Table 6).²⁵⁾

7. HIV 逆転写酵素阻害作用³⁵⁾

化合物 3, 4, 7, 11 の 4 種について, (rA)_n · (dT)₁₂₋₁₈ を template · primer として HIV 逆転写酵素阻害作用について検討した. 化合物 4 と 7 は 10 μg/ml の濃度で約 70% 阻害と強い作用を示し, 3 と 11 はそれらより弱い阻害作用であった (Fig. 4). 化合物 4 の HIV 逆転写酵素に対する阻害様式は (rA)_n · (dT)₁₂₋₁₈ に関して拮抗型, dTTP に関しては非拮抗型で, K_i 値は 6.1 μM であった.³⁵⁾

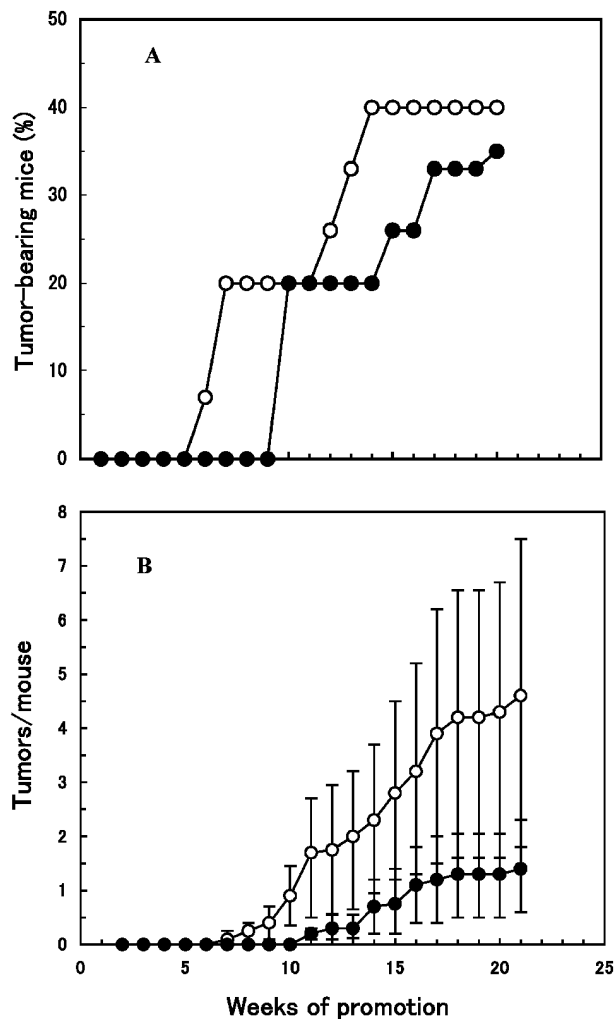


Fig. 2. Effect of Compound 4 on the Promotion of Skin Tumor Formation by TPA in DMBA-Induced Mice

A: Percentage of tumor-bearing mice. B: Average number of tumors per mouse \pm SE. \circ = Group treated with DMBA+TPA, \bullet = Group treated with DMBA+TPA+ compound 4 (162 nmol/painting).

8. マクロファージ活性化抑制作用

マクロファージの異常活性化は、様々な病態形成や症状悪化に関与し、活性酸素、一酸化窒素 (NO)、プロスタグランジン (PG)、腫瘍壊死因子 (TNF)- α 、インターロイキン (IL) 類などを産生する。マクロファージ活性化抑制作用として、NO 産生抑制作用、PGE₂ 産生抑制作用、サイトカイン産生抑制作用などについて検討した。

NO 産生抑制作用は lipopolysaccharide (LPS) とインターフェロン (IFN)- γ で活性化したマウスの RAW 264.7 細胞を用いて検討した。化合物 2-4, 7, 10, 12, 15, 17-19 の 10 種のうち、2 と 18 以外の 8 種に抑制活性が認められ、とりわけ 10 (IC₅₀ 14.3

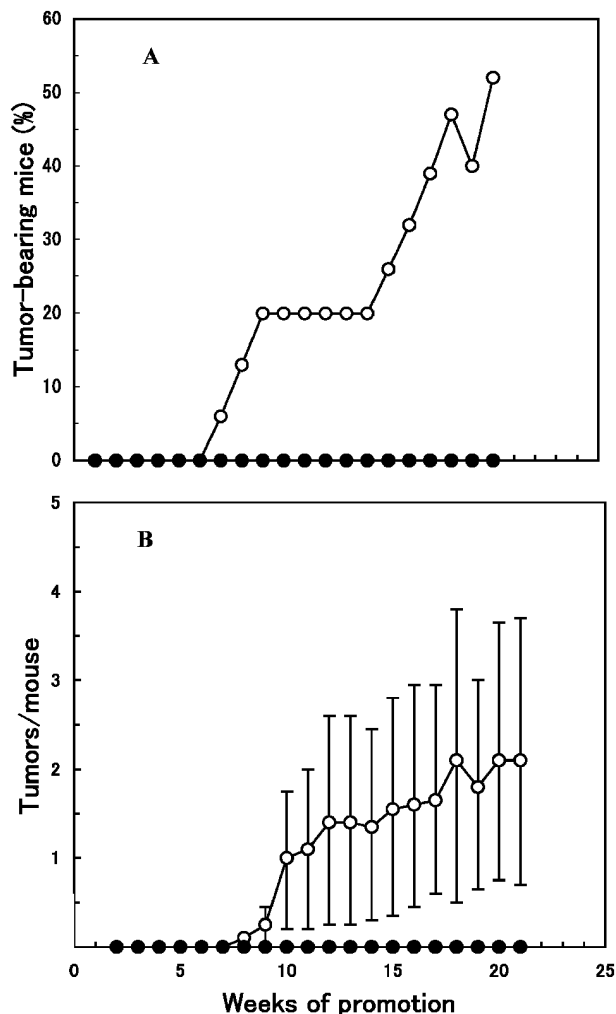


Fig. 3. Effect of Compound 4 on the Promotion of Skin Tumor Formation by TPA in DMBA-Initiated Mice

Experimental condition was the same as described in the legend for Fig. 2, except the dose of compound 4 (1620 nmol/painting).

μ M) と 19 (IC₅₀ 10.7 μ M) は強い抑制活性を示した。また、化合物 4, 10, 15, 19 は 30 μ M で 16 時間継続的な抑制作用を示した。³⁶⁾ この作用機序は誘導型合成酵素 (iNOS) の mRNA 発現を抑制することにより iNOS 蛋白の誘導を抑制することと、iNOS の酵素活性への阻害作用に基づくことを明らかとした。³⁶⁾

PGE₂ 産生抑制作用は LPS で活性化したマウスの RAW 264.7 細胞を用いて検討した。化合物 3, 4, 8, 10, 15, 17, 19 の 7 種について作用を検討したところすべてに抑制活性が認められ、そのうち化合物 19 が IC₅₀ 1.0 μ M と最も強い活性を示した。その作用機序は、炎症、血管透過性亢進、発熱、発痛に関与しているとされる^{38,39)} PG エンドペルオキシド H

Table 6. Cytotoxicity and Anti-HSV-1 Activity of Phloroglucinol Derivatives

Compound	Cytotoxicity ID ₅₀ (ng/ml)	Anti-HSV-1 activity ED ₅₀ (ng/ml)	Therapeutic index ID ₅₀ /ED ₅₀
1	14800	6180	2.4
2	34000	18600	1.8
3	25200	5600	4.5
4	365	185	2.0
5	362	165	2.2
6	340	88	3.9
7	5500	3180	1.7
8	3680	2080	1.8
9	2200	1140	1.9
10	285	116	2.5
11	470	154	3.1
12	342	196	1.7
13	2450	890	2.8
15	21200	19200	1.1
16	2500	230	10.9
17	6900	6600	1.0
18	49100	48000	1.0
19	2640	655	4.0
20	8800	970	9.1

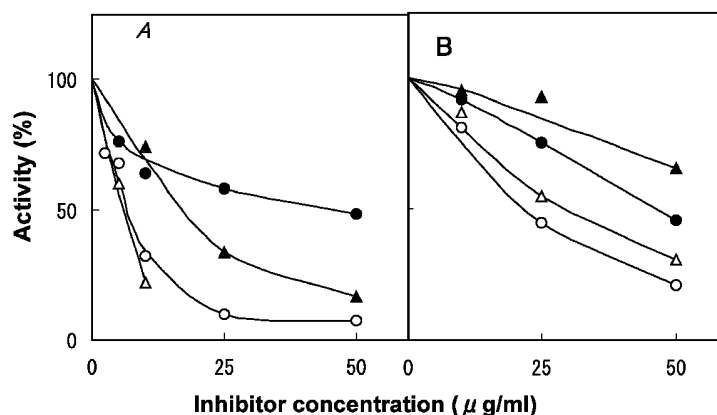


Fig. 4. Effects of Phloroglucinol Derivatives on the Activity of HIV-1 Reverse Transcriptase

Reverse transcriptase activity was measured with each of (rA)_n · (dT)₁₂₋₁₈ (A) and initiated MS-2 phage RNA (B) in the presence of various concentrations of each phloroglucinol derivatives as indicated in figure, by determining the incorporation of [³H]dTTP. The compounds tested and symbols used are: 3 (▲), 4 (○), 7 (△) and 11 (●). The 100% values were 5.8 (A) and 2.7 (B) pmol.

合成酵素 (PGHS)-2 の mRNA 発現を阻害して PGHS-2 蛋白の誘導を抑制する機序により, PGE₂ 産生抑制作用が現れるものと結論された.³⁷⁾

サイトカイン産生抑制作用は TNF-α 及び IL-6 の産生抑制作用で検討した.⁴⁰⁾ TNF-α 抑制作用は化合物 2-4, 10, 15, 17, 19 の 7 種のうち 2 を除いてすべて濃度依存的に抑制作用を示し, 中でも化合物 19 は IC₅₀ 0.7 μM と最も強く, 作用は 16 時間継続的であった. さらに, この作用機序は TNF-α の

mRNA 発現を抑制して, TNF-α の産生を抑制することによると結論づけた. IL-6 の産生抑制作用は前述の 7 種のうち 2 と 17 を除いてすべて濃度依存的に抑制作用を示し, 中でも化合物 19 は IC₅₀ 0.3 μM と最も強く, 作用は 16 時間継続的で TNF-α 抑制作用と同様の傾向を示し, 作用機序も IL-6 の mRNA 発現を抑制することにより, その産生を抑制していると考察された.

9. おわりに

アカメガシワ果皮成分の研究は細胞増殖抑制成分の探索から始まり、その化学成分である phloroglucinol 誘導体をして種々の生理活性研究へ展開し有意義な成果をもたらした。中でも mallotojaponin (4) は L5178Y 白血病に対し顕著な延命効果を有し、また、溶連菌免疫賦活剤の OK-432 との併用効果の有効性を示し、さらに、4 は *in vitro* 及び *in vivo* の発ガンプロモーター抑制活性試験において顕著な抑制活性があり、抗癌剤あるいは癌の化学予防剤としての有用性を示している。種々行ったマクロファーシ活性化抑制作用の検討で、isomaltochromanol (19) は著しい抑制活性を示し、消炎薬としての応用が期待される。

本稿で述べてきたデータは、これらの phloroglucinol 誘導体が抗腫瘍薬、ガン予防薬又は炎症治療薬などの開発にとって有意義なリード化合物群であることを示唆している。

謝辞 本稿を纏めるに際し、これまで快く協同研究して戴いた各研究機関の代表的な協力者の方々を列挙し、感謝の意を表します。

元金沢大学がん研究所所長 越村三郎先生、京都府立医科大学 西野輔翼教授、愛知がん研究所 中根英雄博士、本学薬学部 林利光教授、本学医学部 林京子博士、日本大学薬学部 北中進教授、埼玉県衛生研究所 石井里枝博士、第一薬品工業 K.K. 研究所 藤田章夫博士。

REFERENCES

- Honma K., *J. Agr. Chem. Soc. Jpn.*, **15**, 394–396 (1939).
- Yoshida T., Seno K., Takama Y., Okuda T., *Phytochemistry*, **21**, 1180–1182 (1982).
- Saijo R., Nonaka G., Nishioka I., *Phytochemistry*, **28**, 2443–2446 (1989).
- Okuda T., Seno K., *Tetrahedron Lett.*, 139–142 (1978).
- Saijo R., Nonaka G., Nishioka I., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2063–2070 (1989).
- Saijo R., Nonaka G., Nishioka I., Chen I.-S., Hwang T.-H., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2940–2947 (1989).
- Shibata K., Shimokoriyama M., *J. Chem. Soc. Jpn.*, **20**, 36–37 (1949).
- Noda T., Take T., Watanabe T., Abe J., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **43**, 2174–2176 (1970).
- Suga T., Shishibori T., Nakaya K., *Phytochemistry*, **19**, 232–233 (1980).
- Schmidt O., Komarek E., *Justus Liebig's Ann. Chem.*, **591**, 156–176 (1955).
- Shigematsu N., Kouno I., Kawano N., *Phytochemistry*, **22**, 323–325 (1983).
- Okabe K., Inoue K., Yamauchi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 108–113 (1976).
- Okabe K., Yamauchi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 2886–2888 (1976).
- Arisawa M., *Natural Medicines*, **48**, 338–347 (1994).
- Arisawa M., Nimura M., Ikeda A., Hayashi T., Morita N., Momose Y., Takeda R., Nakanishi S., *Planta Medica*, **52**, 38–41 (1986).
- Arisawa M., Nimura M., Fujita A., Hayashi T., Morita N., Koshimura S., *Planta Medica*, **52**, 297–299 (1986).
- Arisawa M., Ohmura K., Kobayashi A., Morita N., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2431–2434 (1989).
- Arisawa M., Hayashi T., Shimizu M., Morita N., Bai H., Kuze S., Ito Y., *J. Nat. Prod.*, **54**, 898–901 (1991).
- Arisawa M., Bai H., Shimizu S., Koshimura S., Tanaka M., Sasaki T., Morita N., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 3274–3276 (1992).
- Arisawa M., Takeshima Y., Bai H., Hayashi T., Morita N., *Shoyakugaku Zasshi*, **47**, 334–337 (1993).
- Arisawa M., Fujita A., Morita N., *J. Nat. Prod.*, **53**, 638–643 (1990).
- Kouno I., Shigematsu N., Iwagami M., Kawano N., *Phytochemistry*, **24**, 620–621 (1985).
- Arisawa M., Fujita A., Suzuki R., Hayashi T., Morita N., Kawano N., Koshimura S., *J. Nat. Prod.*, **48**, 455–459 (1985).
- Arisawa M., Fujita A., Saga M., Hayashi T., Morita N., Kawano N., Koshimura S., *J. Nat. Prod.*, **49**, 298–302 (1986).
- Arisawa M., Fujita A., Hayashi T., Hayashi K., Ochiai H., Morita N., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 1624–1626 (1990).
- Fujita A., Hayashi T., Arisawa M., Shimizu M., Morita N., Kikuchi T., Tezuka Y., *J. Nat.*

- Prod.*, **51**, 708–812 (1988).
- 27) Arisawa M., Fujita A., Hayashi T., Morita N., Kikuchi T., Tezuka Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 698–700 (1990).
- 28) Smith C. G., Lummis W. L., Grady J. E., *Cancer Res.*, **19**, 843–846, 847–853 (1959).
- 29) Grady J. E., Lummis W. L., Smith C. G., *Cancer Res.*, **20**, 1114–1117 (1960).
- 30) Mosmann T., *J. Immunol. Method*, **65**, 55–63 (1983).
- 31) Scudiero D. A., Shoemaker R. H., Paul K. D., Monks A., Tierney S., Nofzinger T. H., Currens M. J., Seniff D., Boyd M. R., *Cancer Res.*, **48**, 4827–4833 (1988).
- 32) Arisawa M., Fujita A., Morita N., Koshimura S., *Planta Medica*, **56**, 377–379 (1990).
- 33) Arisawa M., Fujita A., Morita N., Okuyama T., Nishino H., *J. Nat. Prod.*, **54**, 1409–1412 (1991).
- 34) Satomi Y., Arisawa M., Nishino H., Iwashima A., *Oncology*, **51**, 215–219 (1994).
- 35) Nakane H., Arisawa M., Fujita A., Koshimura S., Ono K., *FEBS Lett.*, **286**, 83–85 (1991).
- 36) Ishii R., Horie M., Saito K., Arisawa M., Kitanaka S., *Biochim. Biophys. Acta*, **1568**, 74–82 (2001).
- 37) Ishii R., Horie M., Saito K., Arisawa M., Kitanaka S., *Biochim. Biophys. Acta*, **1571**, 115–123 (2002).
- 38) Vane J. R., Mitchell J. A., Appleton I., Tomlinson A., Bishop-Bailey D., Croxtall J., Willoughby A. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 2046–2050 (1994).
- 39) Crofford L. J., Wilder R. L., Ristimaki A. P., Sano H., Remmers E. F., Epps H. R., Hla T., *J. Clin. Invest.*, **93**, 1095–1101 (1994).
- 40) Ishii R., Horie M., Saito K., Arisawa M., Kitanaka S., *Biochim. Biophys. Acta*, **1620**, 108–118 (2003).