

植物界（生薬及び植物）から薬用成分の探索と構造研究

中西 勤

Search and Structural Elucidation of Medicinal Products from the Vegetable Kingdom (Crude Drugs and Plant Materials)

Tsutomu NAKANISHI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, 45-1 Nagaotoge-cho, Hirakata City 573-0101, Japan

(Received June 13, 2007)

This review describes chemical and biological studies on natural products achieved by the author for the latest 47 years and its main contents are composed of the following researches of the eight sections, entitled 1) Hopane-type triterpenes from a lichen, *Parmelia leucotyiza*, 2) Spirostanol and firostanol glycosides from *Metanarthecium luteo-viride* (Liliaceae), 3) Selective reduction of double bonds: preparation of 22,23-dihydroergosterol from ergosterol, 4) Compositions and structures of fragrant sesquiterpenes from several types of agarwoods, 5) Triterpenes and other components from Meliaceae plants, 6) Constituents of seeds of crude drugs and medicinal plants, 7) Hopane-type triterpene glycosides from a fern, *Diplazium subsinuatum*, 8) Search and structural elucidation of biologically active components from American plants obtained from United States of America (Oregon and California), Mexico, Guatemala, and Honduras. In this review, many classes of natural products, *i.e.*, terpenoids (mono-, sesqui-, di-, and triterpenoids), steroids, glycosides, saponins, tannins, phenylpropanoids, lignans, flavonoids (flavones, flavonols, flavanones, biflavones, flavan-3-ols, *etc.*), *etc.* are dealt with and referred to.

Key words—natural product; biologically active substance; crude drug; medicinal plant; useful plant; American plant

1. はじめに

筆者の研究生活は、大阪大学薬学部4年次（1960年4月）になって恩師吉岡一郎教授（大阪大学名誉教授）が主催されていた生薬学研究室に配属されたときから始まった。頂いた研究テーマは「地衣類チジレウメノキゴケの成分研究」でした。当時は最先端の研究とみなされていたホパン型トリテルペンの構造化学的研究で、この研究を薬学研究科博士課程でも継続して進めました（第2章参照）。引き続き同研究室に助手として在席したときには、吉岡、北川 勲（当時助教授：大阪大学名誉教授）両先生のテーマである「ユリ科植物ノギランのスピロスタン型及びフロスタン型ステロイド配糖体の構造研究」（第3章参照）を行いました。助手在任中の1973-

1974年にSir Derek H. R. Barton教授の研究室（Imperial College of Chemistry and Technology, London University）に留学し、酵母中ステロールの生合成研究の一環として、「ergosterolから22,23-dihydroergosterolへの選択的還元反応の研究」に従事した（第4章参照）。1978年7月に生薬学研究室の助手から、大阪大学薬学部微量分析室の主任（講師：薬品製造学研究室に配属）に転出し、自分自身のテーマで研究を展開することができました。まず最初に手掛けたのが、「沈香（agarwood）の芳香セスキテルペン成分の組成、構造及び化学的研究」（第5章第1節参照）でした。沈香は、古くから日本で最も有名な薫香料で、高級品は「伽羅」や「伽楠香」と呼ばれ、線香等に含まれています。本研究では、沈香の香りの素となっているセスキテルペンの構造と組成を解明しました。その他、この時代から摂南大学時代の初期にかけて、数種の中国産等の生薬類（関木通、十大功劳、丹参、独脚金、甘草、冬青葉）の成分研究を行いました（第5章第2節参

摂南大学薬学部（〒573-0101 枚方市長尾峠町45-1）

現住所：〒572-0002 寝屋川市成田東が丘37-3

e-mail: t-nakanishi@y4.dion.ne.jp

本総説は、平成18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。

照).

1983年6月から摂南大学薬学部の生薬学・薬用植物園担当の教授として、赴任しました。摂南大学薬学部では、「センダン科植物の成分研究」(第6章第1節参照)、「生薬や薬用植物の種子の成分研究」(第6章第2節参照)、「紅麴及び蘇葉の生理活性成分」(第6章第3節参照)、「シダ植物ヘラシダの成分研究」(第6章第4節参照)というテーマで順次研究を展開しました。1990年代に入り、筆者が研究代表者で申請した文部省科学研究費に基づく国際学術研究が、1991-1992年度及び1997-1998年度の2度に渡り採択された。これら年度に、日本とは植生の異なる米国(オレゴン州、カリフォルニア州等)や中米(メキシコ、グアテマラ及びホンジュラス)で植物調査を行うとともに、これら地域で採集した植物や入手した米国・インディアンやマヤ文明のインディオ等の民族薬物について、生理活性を検討し、生理活性を示した植物を中心に、含有成分の分離と構造研究を行いました(第7章第1及び第2節参照)。この第7章の研究は、「薬用資源の開発をめざしたアメリカ大陸産植物の成分研究」と題し、アメリカ大陸産植物から医薬品のシーズとなる成分を探索することを目的とした研究と考えられ、このときまでの筆者の研究とは、微妙に研究の方向性やニュアンスが異なるようにも思える。しかし、筆者の47年間の研究、すなわち、本総説全体を通しての研究主題は、医薬品への開発を念頭に置いた“生薬や植物の成分の構造と生理活性に関する研究”であり、「表題」に示した研究としてまとめることができる。科学及び化学の進歩とともに、研究方法も変化してゆくことが判るように、本総説は筆者の研究を年代順に収載し、その詳細を述べました。本総説の内でも、「沈香の芳香セスキテルペン成分の研究」(第5章第1節)、「センダン科植物の成分研究」(第6章第1節)、「シダ植物ヘラシダの成分研究」(第6章第4節)及び「薬用資源の開発をめざしたアメリカ大陸産植物の成分研究」(第7章第1及び第2節)は、小さいながらも、それぞれまとまった総説だろうと思います。又、筆者が研究生活を終えて、振り返ってみると、筆者が研究対象としてきた植物は、菌類(酵母、紅麴)、地衣類(チジレウメノキゴケ; *Parmelia* 属)、シダ類(ヘラシダ)、裸子植物(*Juniperus* 属)、被子植物の単子葉植物(ノギラン)

及び双子葉植物(前記以外のすべての植物)と、蘚苔類以外のすべての植物分類群に渡っています。本総説により、植物分類群の違いによる含有成分のタイプ(種類)の違い[テルペノイド(モノ、セスキ、ジ及びトリテルペノイド)、ステロイド、サポニン、フェニルプロパノイド、リグナン、フラボノイド、タンニン等]も示唆されるものと思っています。

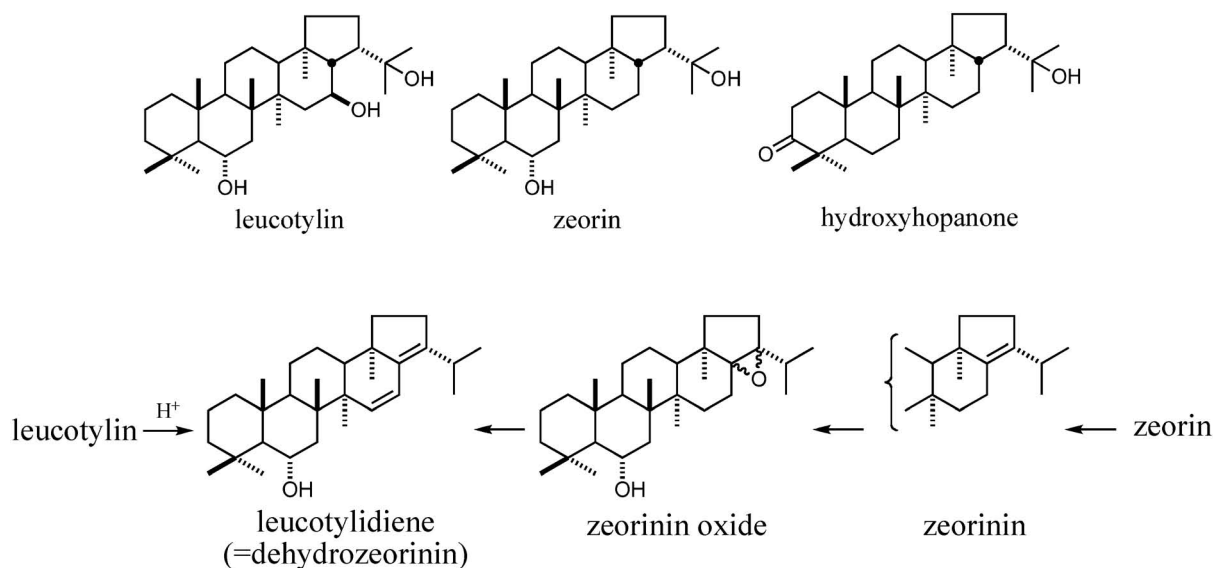
2. チジレウメノキゴケに含まれるホパン型トリテルペン類の研究

生薬学研究室に入り、筆者が吉岡先生から、最初に頂いたテーマは、地衣類植物のチジレウメノキゴケ *Parmelia leucotylica* Nyl. から単離され、leucotylin と名付けられていたトリテルペン¹⁾の構造を決定することでした。地衣(英語で lichen と言う)とは、ウメの古木や墓石等にべったりと張り付いている“コケ”のことで、植物学的には、菌類と藻類の共生体ですが、一般では、蘚苔類とともに両方も“コケ”と呼ばれています。国歌「君が代」で、“こけのむすまで”と唱われている“コケ”は、地衣類と蘚苔類の両方を含んでいると思われます。

この地衣からは、吉岡先生の先生である朝比奈泰彦先生(故人; 東大・名誉教授)が既に zeorin と leucotylin と命名した2種のトリテルペンを単離し、その物理化学的性質や官能基(ここでは、水酸基)の数などを報告されていた。朝比奈泰彦先生は、日本の地衣類研究の第一人者で、地衣(lichen: ライケン)に因んで、“蕾軒”と号されておられたと聞いています。

両者の内、zeorin と名付けられたトリテルペンについては、ノーベル賞受賞者であるバートン教授(Sir Derek H. R. Barton)²⁾が、1958年に新しい骨格であるホパン骨格(hopane-type skeleton)を持つトリテルペンであると提唱されていた。これが、歴史的には、ホパン型トリテルペンの構造決定の第1号だろうと思われる。同じ頃、ホパン骨格を持つもう1つのトリテルペンとして、Oxford大学のE. R. H. Jones教授により、ダマール樹脂から単離された hydroxyhopanone の推定構造³⁾が発表された。

Leucotylin は、メタノール性希塩酸と処理すると、共役ジエン体を与え、そのアセチル化体は、既に朝比奈、吉岡らにより、zeorin から誘導されていた dehydrozeorinin acetate^{1,4)} と同一化合物であったことから、天然界から第3番目に見い出されたホ

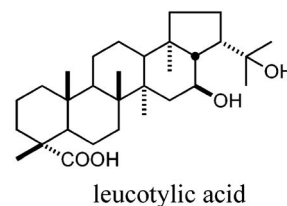


パン型トリテルペンと推定した。⁵⁾ さらに、 16β -equatorial 水酸基を持つことは、 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを初めて構造研究に応用し、 16α -axial プロトンの存在からも証明した。⁶⁾

しかし、この頃にはまだ、核磁気共鳴 (NMR)、質量分析 (Mass)、円二色性 (CD) スペクトル等の機器分析は、十分に発達しておらず、機器分析手段として使用されたのは赤外線及び紫外・可視線吸収スペクトル位で、構造研究の中心は、化学反応、元素分析、旋光度測定等であった。天然物化合物を合成する合成研究に対して、構造研究は、天然物化合物の分解反応等により構造を決定する研究であったと思う。

このような環境下にあったので、zeorin の構造にしても、leucotylin の構造にしても化学反応に基づいた構造決定では、正確な D/E 環及び isopropanol 基の configuration 及び E 環の conformation などを知ることは困難なので、それぞれの重原子 (Br) を含む誘導体、6-dehydroleucotylin 16-O-*p*-bromobenzoate^{7,8)} 及び zeorin 6-O-*p*-bromobenzoate^{9,10)} を調製し、X 線解析を行い、完全構造を決定した。

さらに、この地衣からは、もう 1 つの主成分として、新規のトリテルペン酸を単離し、leucotylic acid と名付けて構造を研究し、各種の化学反応に加えて、利用され始めた $^1\text{H-NMR}$ の解析結果等により、その構造を決定した。本化合物は初めて構造決定されたホパン型のトリテルペン酸と思われる。同時に、異性化反応等関連の化学反応も研究し、報



告した。¹¹⁻¹⁴⁾

3. ノギラン (ユリ科) から得られる spirostanol 型及び furostanol 型ステロイド配糖体の構造研究とその化学

1 年間の留学 (後述) から帰国後の生薬学研究室での助手時代は、吉岡、北川 勲 (当時助教授: 大阪大学名誉教授) 両先生のテーマでありましたが、ノギランに含まれる配糖体画分の酸加水分解後に得られていた A-環が芳香化したステロイダル・サポゲノールに対する真生サポゲノールの解明や spirostanol 型ステロイドの前駆体で、植物体内に存在するときの形とされている furostanol 型ステロイド配糖体の単離等を行い興味ある知見を得ました。

この時代は、トリテルペンやステロイドの配糖体、サポニン等の酸加水分解により得られるサポゲノール部であるトリテルペンやステロイドの構造研究が構造研究の中心で、配糖体そのものの構造研究が盛んになるのは、もう少し時代が新しくなって、科学機器類がさらに発達してからのことでありました。一方、ちょうどこの頃に、吉岡先生は、サポニンや各種配糖体の加水分解に土壤菌加水分解法を考

案され、真生サボゲノール解明への道を開かれました。今回の研究でも、本法を適用し、真生サボゲノールの構造を解明しました。

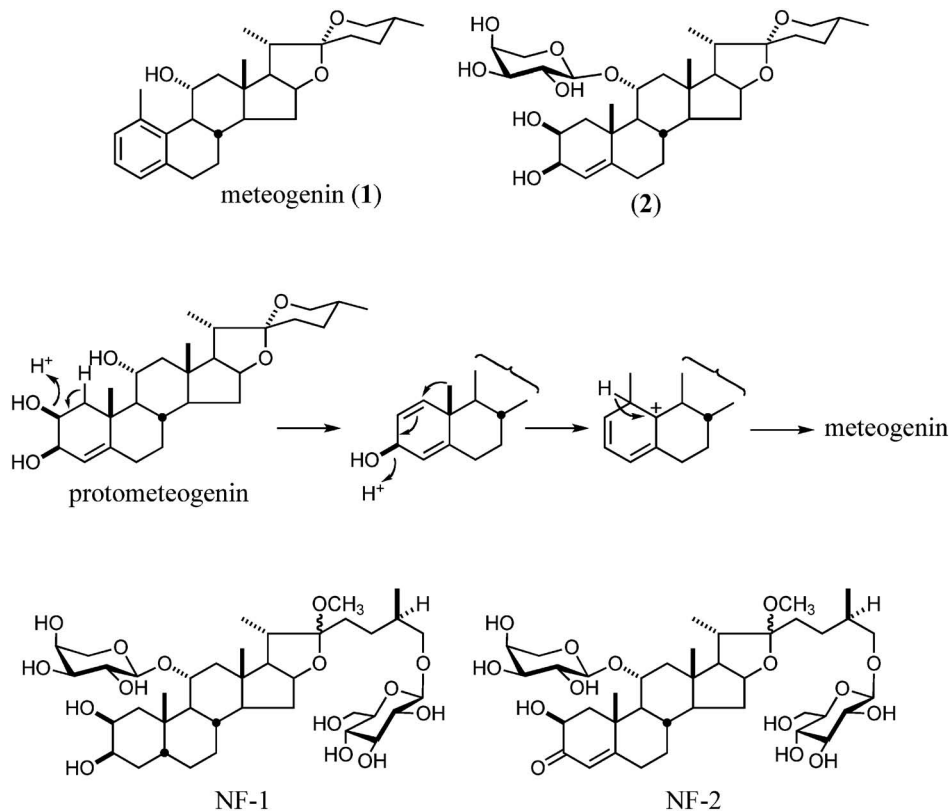
ユリ科植物ノギラン *Metanartheicum luteo-viride* Maxim. の主サボゲノールには、A-環が芳香化した珍しい構造を持つステロイドの **meteogenin (1)** が含まれていることが知られていた。しかし、この化合物は、ステロイド配糖体の酸加水分解時に生成される2次産物と考えられたので、芳香化される前の真生化合物の探索を行い、新規構造を持つ **steroidal monoglycoside (2: 完全アセチル化体として単離)** を単離することにより、**protometeogenin** の構造を決定し、芳香化の機構も推論した。^{15,16)}

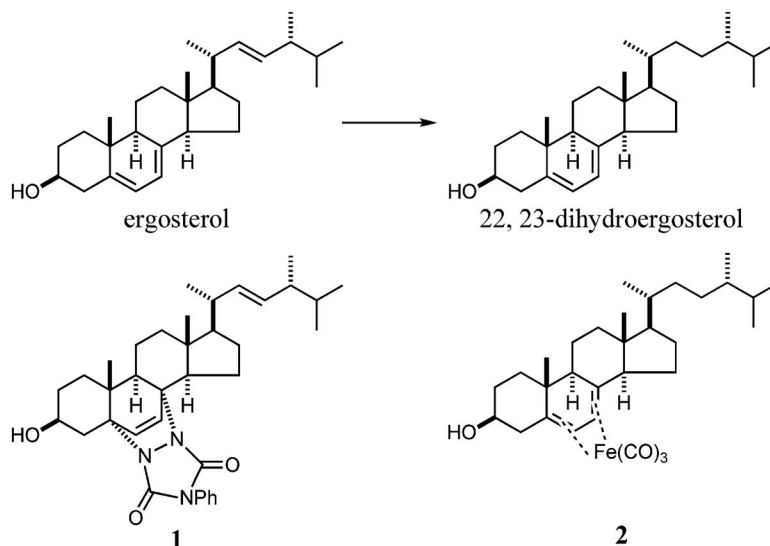
さらに、今まで同定されているスピロスタノール型ステロイドの前駆体と考えられる、NF-1 及び NF-2 と命名した2種の新規フロスタノール型ステロイド配糖体を初めて単離（ともに完全アセチル化体として単離）し、それらの構造を決定した。¹⁷⁾ 中西は、この研究で文部省科学研究費を受けた。

4. Ergosterol から 22,23-dihydroergosterol への選択的還元反応に関する研究

1973-1974年の1年間バートン (Sir Derek H. R.

Barton) 教授の研究室に留学することができました。バートン教授は、筆者が留学する少し前の1969年に、「分子の立体配座概念の確立」でノーベル化学賞を受賞され、また、Sir (卿) の称号も受けておられました。したがって、当時の先生の研究室には、世界中からたくさんの優秀な研究者が集まってきていました。そのときの先生の研究テーマの1つとして、「酵母 (yeast) のステロールの生合成研究」が行われておりました。筆者が頂いたテーマは、上記の生合成研究上の重要な基質の1つである **22,23-dihydroergosterol** を、**ergosterol** から、収率よく合成することでした。すなわち、**ergosterol** のB-環上の5,7-diene構造はそのまま、側鎖上の22,23-2重結合のみを、選択的に還元して、収率よく **22,23-dihydroergosterol** を得る方法の開拓にありました。4-phenyl-1,2,4-triazoline-3,5-dione 付加体 (1) [塩入先生 (名古屋市立大学名誉教授) がバートン研に留学時に開発された付加体] を用いる合成法、iron tricarbonyl 付加体 (2) を経由する方法など3方法を開発し、いずれも高収率で **22,23-dihydroergosterol** に誘導できました。¹⁸⁾ 本研究は、バートン教授、D. A. Widdowson 助教授の下で、





A. A. L. Gunatilaka, H. Patin, B. R. Worth の各先生との共同研究です。また、筆者は、この研究で、ロンドン大学・インペリアルカレッジの卒業証書 (Diploma) を頂くことができました。さらに、この留学を通じて、簡潔な英論文の作成法を始め、研究に取り組む姿勢などたくさんのごことを学ぶことができました。

5. 大阪大学薬学部講師時代等における研究

5-1. 沈香 (agarwood) の芳香セスキテルペン成分の組成及び構造

筆者が本研究に着手した頃には、大型の超伝導の核磁気共鳴 (NMR) 装置も普及し始め、大学や企業等の大きな研究施設では、400 MHz ¹H-NMR 装置が設置されつつありました。同時に ¹³C-NMR も実用的な解析法となり、decoupling の技法 (現在の 2 次元 ¹H-¹H COSY に相当) や selective decoupling の技法 (現在の 2 次元 ¹H-¹³C COSY に相当) も構造解析に用いることができるようになっていました。

当時大塚製薬の天然物研究所には、ブルカー (Bruker) 社製の 400 MHz ¹H-NMR 装置が設置されており、担当の三浦 巖先生に共同研究をお願いしました。

一方、研究テーマとしては、有名で重要な“生薬”の成分研究を行いたく、生薬事情について詳しい大阪大学薬学部・生薬材料科学研究室の米田該典助教授と共同研究を進めることにしました。

最初のテーマとして、日本で薫香料として最も有名な「沈香 (Agarwood) の芳香成分の検索とその構造研究」を取り上げました。

沈香とは、インド、ベトナム、ミャンマー、マレーシア、インドネシア等に産するジンチョウゲ科 (Thymelaeaceae) の *Aquilaria agalloca* Roxb., *A. malaccensis* Benth., *A. sinensis* などの大木の傷ついた木や土中に埋もれて年を経た木に、黒く樹脂が沈着する。この樹脂が沈着した部分は、水に沈むことから“沈水香”，転じて，“沈香”と呼ばれています。沈香は香炉などで焚いて香りを出すもので、東洋で仏教の儀式の際に使用されたり、日本では香りを楽しむ「香道」の主役とされてきました。

高級品は、「伽羅香 (きゃらこう)」や「伽楠香 (かなんこう)」と呼ばれています。また、東大寺正倉院にはベトナム産の大きな「黄熟香」が所蔵され、別名の「蘭奢待」の文字の中には、「東大寺」の文字が隠されています。¹⁹⁾ 沈香の生薬としての薬効は、鎮静作用、疲労回復作用等が知られており、伝統大衆薬の“樋屋奇応丸”や“大人司命丸”等に配合されています。

筆者らが本研究を開始したとき、ベトナム産の *A. agalloca* を起源とする沈香 (A-型の沈香と呼ぶ) から、芳香セスキテルペン成分として、agarospirol,²⁰⁾ β-agarofuran 及び norketoagarofuran^{21,22)} などが同定されていました。

ところが、われわれが入手したインドネシア産で、シンガポール経由で輸入された沈香 (B-型の沈香と呼ぶ) は、GC-MS や TLC による検索で、上記ベトナム産の沈香 (A-型) とは含有セスキテルペン成分の組成がかなり異なっていることが明らかになり、組織学的考察に基づく両沈香の区別は難

しいと考えられたが、本沈香（B-型）は、*A. malaccensis* に基づくものと推定され、本沈香中の芳香セスキテルペン成分の検索と構造研究を行った。²³⁾

その結果、Chart 1 に示したように、8種のセスキテルペン成分を順次構造決定しました。構造決定後、公表した順に解説する。

最初に構造決定した prezizane 型の新規セスキテルペン jinkohol は、²³⁾ 爽やかな芳香を呈した。Spirovetivane 型の agarospirol は、甘い芳香を与え、標品との比較により構造を同定したのち、²⁴⁾ 合成によっても構造の正しさを証明した。^{25,26)} さらに、prezizane 型の新規セスキテルペン jinkohol II 及び valencane (=nootkatane) 型の jinkoh-eremol と名付けた2種の新規セスキテルペンの構造を決定した。²⁷⁾ 単離したもう1種の valencane (=nootkatane) 型セスキテルペンは、クスノキから単離・同定されていた kusunol (Valeriana Oil から単離されている valerianol と同一成分) と同定した。²⁷⁾ Jinkohol II は、jinkohol より弱い、爽やかな芳香を与え、kusunol は、樟脳に似た匂いを示した。また、jinkoh-eremol は無臭と思われるが、のちに、jinkoh-eremol と agarospirol の鎮静作用が報告されています。²⁸⁾

引き続き、oxo-agarospirol, α -agarofuran, (-)-

10-*epi*- γ -eudesmol の構造を順次決定した。²⁹⁾ これら同定した芳香セスキテルペン類は、水酸基1個以上の極性を示す分子構造を持っており、比較的高い沸点を持つ液体と考えられます。したがって、これらは常温ではそれ程気化せず、あまり匂わないが、沈香を香炉で燻べたり、熱板上に置いて少し熱を加えると、セスキテルペン成分が気化して強い芳香を与えるものと思われる。沈香や伽羅香、伽楠香を含んだ線香を燃やすと幽玄な芳香を与えることを思い起こしてみてください。

また、Chart 1 に示したように、valencane 型 (=nootkatane 型) の kusunol, jinkoh-eremol, spirovetivane 型の agarospirol, oxo-agarospirol, さらに α -agarofuran は、いずれも前駆体の (-)-10-*epi*- γ -eudesmol から A, B, C で示したそれぞれのルート (route) に従い、生合成されると考えられる。この生合成仮説を根拠に精油成分を詳しく精査した結果、(-)-10-*epi*- γ -eudesmol を単離・同定できました。

別途、筆者らは、高級品の沈香、“伽楠香”から、2種の新規芳香セスキテルペン成分、karanone 及び dihydrokaranone の構造も決定した。³⁰⁾ さらに、 β -agarofuran^{21,22)} 及び nor-ketoagarofuran^{21,22)} も agarwood oil から単離し、各種データの比較により、同定した。³¹⁾

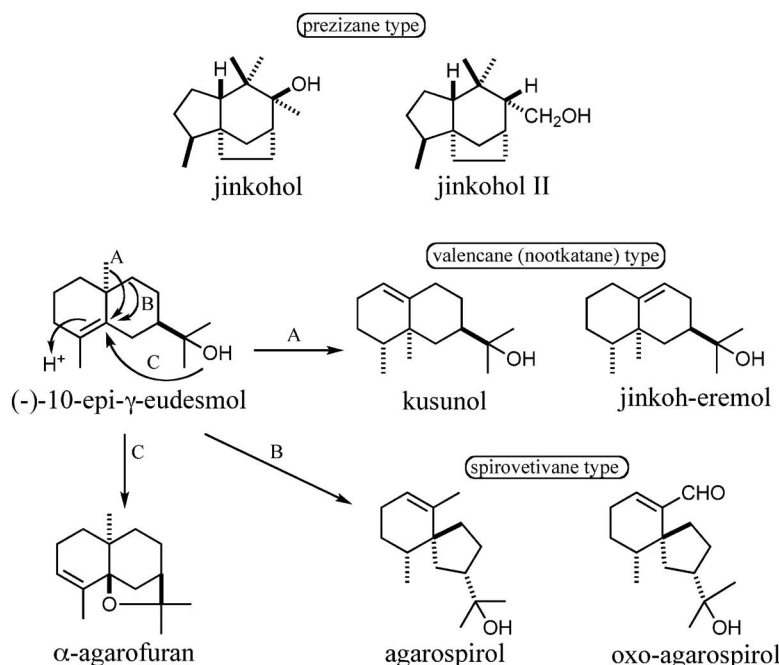
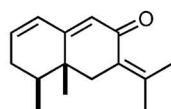
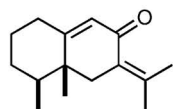


Chart 1

伽楠香から

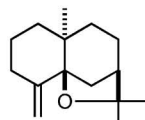
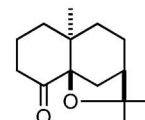


karanone



dihydrokaranone

Agarwood Oilから

 β -agarofuran

nor-ketoagarofuran

Chart 1 に記載した 8 種のセスキテルペンに、dihydrokaranone, β -agarofuran, nor-ketoagarofuran を加えた 11 種のセスキテルペンを標品 (=指標) として、ベトナム産で *A. agalloca* 基原の沈香 (A 型沈香 = Type A wood) とインドネシア産で、シンガポール経由で輸入された *A. malaccensis* 基原の沈香 (B 型沈香 = Type B wood) を、GLC 及び GC-MS 分析により比較すると、Table 1 に示したように芳香セスキテルペン組成の違いが観察された。³¹⁾

さらに、入手経路が明らかな各種の東南アジア諸国産沈香 (シンガポール, スマトラ, インドネシア, マレーシア産で、シンガポールから入手される沈香及びベトナム, タイ, ボルネオ, カンボジア産の沈香) の精油成分組成を、Chart 1 に記載した 8 種のセスキテルペンに、dihydrokaranone を加えた 9 種を指標として、GLC 及び GC-MS 分析を行ったところ、次に示した典型的な 3 通りのクロマトグラム [シンガポール I 型 (SI 型; sample (14)), シンガポール II 型 (SII 型; sample (3)) 及びベトナム型 (V 型; sample (50))] が観察された。³²⁾

さらに興味深いのは、沈香中の芳香セスキテルペンを、他の香料中の芳香セスキテルペンと比較・検討すると、沈香中の kusunol 及び agarospirol は、石鹸香料や香水の保香料とされているベチバー油 [ベチバーグラス *Vetiveria zizanoides* (イネ科) から得られる精油] 中の芳香セスキテルペン成分である α -vetivone 及び β -vetivone と、それぞれ同じ骨格を持っており、非常に類似性が強い。また、沈香 (B 型 = Type B) 中の主成分の 1 つである (-)-10-epi- γ -eudesmol は、調合香料や石鹸香料として使われているゼラニウム油 [*Pelargonium capitatum* 等 (フウロソウ科) の精油] の主成分でもあります。³³⁾ このように、芳香セスキテルペン類が、沈香の芳香の根源と考えて間違いがないものと思われま

す。もう 1 つ、特筆すべきことは、沈香の原木である

Table 1. Sesquiterpenoids of Agarwood

GC peak	Compounds	Type A wood	Type B wood
1	β -Agarofuran	0.6 ^{a)}	—
2	α -Agarofuran	—	1.3
3	Nor-ketoagarofuran	0.6	—
4	(-)-10-Epi- γ -eudesmol	—	6.2
5	Agarospirol	4.7	7.2
6	Jinkohol	—	5.2
7	Jinkoh-eremol	4.0	3.7
8	Kusunol	2.9	3.4
9	Dihydrokaranone	2.4	—
10	Jinkohol II	—	5.6
11	Oxo-agarospirol	5.8	3.1

a) Percentage of essential oil.

Aquilaria agalloca Roxb., *A. malaccensis* Benth. 等の若い生植物からは、上記の芳香セスキテルペン成分の単離が報告されていないことである。このことから、芳香セスキテルペン成分は生の原木中の成分ではなく、若木が老木となる間に、または土中に埋もれている間に、菌等の感染によってできるファイトアレキシン (phytoalexins) またはストレス化合物 (stress compounds) であると考えられますが、今までのところ確証はありません。ただ、菌に感染した罹病ジャガイモは、solavetivone や lubimin というファイトアレキシンを与えることが知られています。³⁶⁾ 偶然かもしれませんが、これらの成分は、沈香の芳香成分である agarospirol や oxo-agarospirol と同様に spirovetivane 型のセスキテルペンです。

さらに、沈香の高級品である“伽楠香”は、既知 (1) 及び新規 (2) の 2-(2-phenylethyl) chromone 誘導体、すなわち 2-[2-(4'-methoxyphenyl)-ethyl] chromone (1) 及び 6-methoxy-2-[2-(4'-methoxyphenyl)-ethyl] chromone (2) を含んでいることを見出した。これらのクロモン類は、“伽楠香”に特徴的な成分と思われ、薄層クロマトグラフィーで展開後、1% $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ -10% H_2SO_4 を噴霧し、加熱

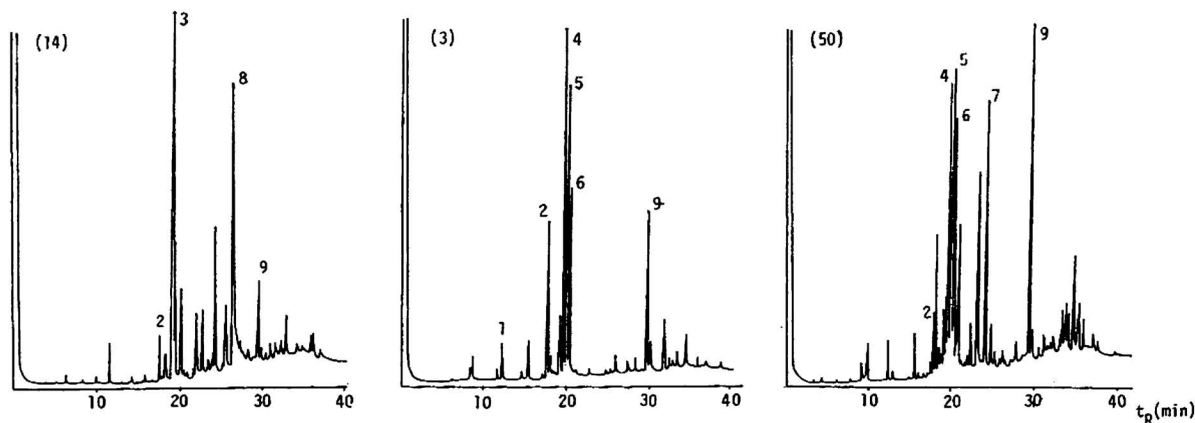
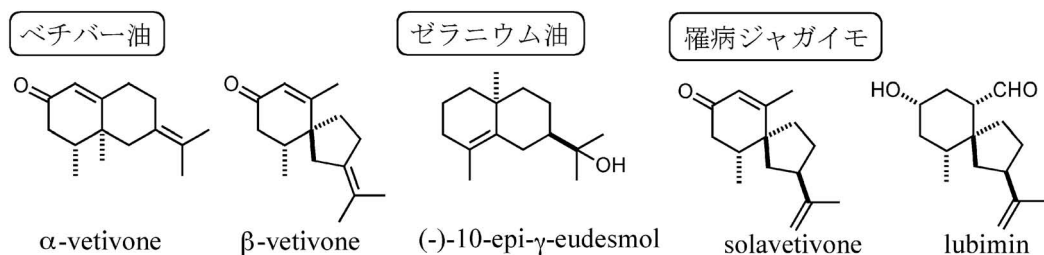


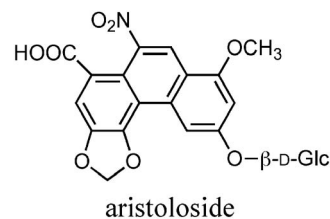
Fig. 1. Gas Chromatograms of Agarwood (Samples (14), (3), (50) are Typical Chromatograms of SI, SII and V Types respectively)
1: α -agarofuran, 2: (-) 10-epi- γ -eudesmol, 3: jinkohol, 4: agarospirol, 5: jinkoh-eremol, 6: kusunol, 7: dihydrokaranone, 8: jinkohol II, 9: oxo-agarospirol.



すると明るい黄色に呈色することが判った。興味深いのは、これらの成分は、“伽楠香”以外の沈香には、全く含まれないか、含まれていても少量であることが分かりました。³⁷⁾

5-2. 関木通, 十大功劳, 丹参, 独脚金, 甘草, 冬青葉の成分研究 大阪大学時代から、摂南大学に赴任直後にかけて、沈香のほか、次の6種の生薬の成分を明らかにしました。中国で生薬“木通”の1つとして使われていた生薬“関木通” [*Aristolochia manshuriensis* (ウマノスズクサ科) の茎] から、数種の既知アリストロキニン酸とともに、新規構造を持つアリストロキニン酸配糖体 aristoloside (= aristolochic acid-D 6-O- β -D-glucopyranoside) を単離し、それらの構造を決定した。³⁸⁾

“十大功劳”または“功劳葉”と呼ばれる中国の生薬 [*Ilex cornuta* (モチノキ科) の葉] から ursane 型 triterpene である pomolic acid の diglucoside (ilexside I と命名し, methyl ester 体で構造決定) と bisdesmoside (ilexside II と命名) を単離し、それらの構造を決定した。³⁹⁾ また、生薬“丹参” (*Salvia miltiorrhiza*) の細胞培養により、赤色色素 cryptotanshinone とジテルペン ferruginol を単離・同定した。^{40,41)}



摂南大学薬学部が1983年4月に開設され、6月から生薬学及び薬用植物園担当の教授として就任しました。取りあえず、就任当初は、大阪大学薬学部時代から続けていた“数種の生薬の成分研究”を完結しました。

中国産の生薬“独脚金” [*Striga asiatica* (ゴマノハグサ科) の全草] から、天然に存在が珍しい2種のフラボン (luteolin 3',4'-dimethyl ether 及び luteolin 7,3',4'-trimethyl ether) を含む6種のフラボン類を同定しました。⁴²⁾

有名な重要生薬の1つ、“甘草” (ウラルカンゾウ *Glycyrrhiza uralensis* (マメ科) の根) の熱水抽出エキスから、主フラバノン成分として知られている liquiritin とともに、liquiritin 分子中の糖である D-glucopyranose の2位に、もう1分子の糖の D-apio-D-furanose が結合した新規化合物を、主成分の1つ

として単離し、構造を決定した。⁴³⁾

モチノキ科植物基原の生薬の2例目として、中国産生薬の“冬青葉”(ナナミノキ *Ilex chinensis* Sims の葉) から, *ilexoside A* 及び *B* と命名した新規トリテルペン配糖体を単離した。これらの構造は, それぞれ *siaresinolic acid* 及び *pomolic acid* の 3-*O*-xylopyranoside であった。⁴⁴⁾ したがって, この両配糖体のトリテルペン・サポゲノール部分は, オレアナン型とウルサン型の互いに異性体の関係にあります。

6-7. 摂南大学薬学部における研究

6-1. センダン科 (Meliaceae) 植物の成分研究

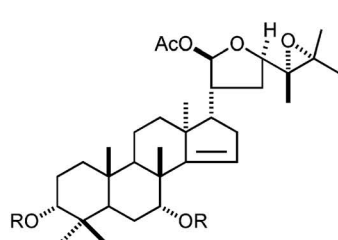
この章以降に述べる研究が, 筆者が摂南大学着任後に開始し, 在任中に行った研究の主なものです。

生薬“川楝子”(トウセンダン *Melia toosendan* Sieb. et Zucc. の果実) から, 新規のアポチルカラン型 (apotirucallane-type) トリテルペンの 21-*O*-acetyl toosendantriol (**1**) を単離し, ¹³C-NMR スペクトル等の詳細な検討・解析に加えて, 重原子 (Br) を導入した誘導体 (**1a**) の X 線解析に基づき, その完全構造を決定した。⁴⁵⁾ さらに, チルカラン型 (tirucallane-type) トリテルペンの *melianone* (**2**) や *melianol* (**4**) では, hemiacetal 型の水酸基である C-21 位の水酸基は異性化し易く, 約 1:1 のエピマー混合物を与えるため, これまで, これら化合物 (**2** 及び **4**) の側鎖部の立体構造は決められていなかった。しかし, 今回 **2** の両エピマーのアセチル化体 (**3a** と **3b**) を調製し, これらの ¹³C-NMR スペクトルを, **1** のスペクトルと比較することにより, **2** の側鎖部の絶対構造を決定した。さらに, **4** は, **2** の NaBH₄ 還元体と一致することから, **4** の絶対構造も決定することができた。⁴⁵⁾

さらに, 本植物材料からは, *melianol* (**4**) の脂肪酸エステル体の *lipomelianol*⁴⁶⁾ や新規アポチルカラン型トリテルペンの 21-*O*-methyl toosendanpentol⁴⁷⁾ も単離・構造を決定しました。

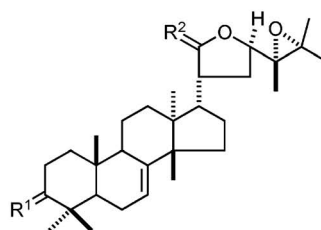
トウセンダンについては, 果実以外に, 葉部 (生薬“棟葉”と言う) の成分も詳しく研究しました。まず, *toosendansterol A* 及び *B* と命名した2種の新規プレグナンスステロイド⁴⁸⁾ 及び *toosendanoside* と名付けた新規プレグナンスステロイド 2-*O*-グルコサイド⁴⁹⁾ を単離し, 構造を決定した。

さらに, “棟葉”からは, 新規の2種の *ionone* (=megastigmane) glucosides, *melia-ionoside A* (**1**) 及び *B* (**2**) を単離し, それらの完全構造を決定した。**1** と **2** は, β-D-glucopyranosyl 基の結合位置の異なる異性体であった。また, **1** と **2** は, 酸加水分解により, 共通の真生アグリコン (**3**) を与えた。**3** を酵素 Molsin (protease type XIII from *Aspergillus saitoi*) により, 微生物酸化を行うと, 3種の水酸基 (C-3 位の2級 axial 水酸基, C-5 位に付いた1級水酸基及び側鎖上の C-9 位の2級水酸基) のうち, C-3 位の2級 axial 水酸基のみが選択的に酸化され, ケトン体 (**4**) を与えた。また, 興味深いのは, 配糖体 (**1** 及び **2**) を直接 Molsin と処理しても, 酵素による加水分解と選択的酸化が起こり, 共通のケトン体 (**4**) を与えることが分かった。つぎに, ケトン体 (**4**) を相応する 2,4-dinitrophenylhydrazone 体 (**5**) に導き, X 線解析を行い, **4** の相対構造を決定した。さらに, 絶対構造既知の *nigakialcohol* との CD スペクトルデータの比較から **4** の絶対構造を解明したのち, NMR スペクトルデータ等の解析に基づいて, **1** 及び **2** の完全構造を決定した。^{50,51)}



1: R=H

1a: R=

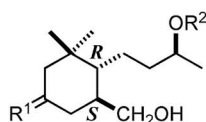


2: R¹ = O, R² = H, OH (C-21 epimeric mix)

3a: R¹ = O, R² = α-OAc, β-H

3b: R¹ = O, R² = α-H, β-OAc

4: R¹ = α-H, β-OH, R² = H, OH (C-21 epimeric mix)



- 1: $R^1 = \alpha\text{-O-}\beta\text{-D-Glc}$, $\beta\text{-H (S)}$, $R^2 = \text{H}$; melia-ionoside A
 2: $R^1 = \alpha\text{-OH}$, $\beta\text{-H (S)}$, $R^2 = \beta\text{-D-Glc}$; melia-ionoside B
 3: $R^1 = \alpha\text{-OH}$, $\beta\text{-H (S)}$, $R^2 = \text{H}$
 4: $R^1 = \text{O}$, $R^2 = \text{H}$
 5: $R^1 = \text{NNHC}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$, $R^2 = \text{H}$

“センダン科植物の成分研究”については、この後も、共同研究者の稲田 昭先生が中心となって、次に述べるように、多種類のセンダン科植物の成分が解明されました。その内のいくつかの成分については、生理活性の検討も行われています。

Chisocheton macrophyllus King の葉からのダンマラン型等のトリテルペン,⁵²⁾ *Trichilia connaroides* の果皮からのリモノイド及びトリテルペン,⁵³⁾ *Aglaia harmsiana* の葉からのシクロアルタン型トリテルペン,^{54,55)} *Aglaia grandis* の葉からのプレグナン型ステロイド及びトリテルペン⁵⁶⁾及びビスアミド体,⁵⁷⁾ *Aglaia grandis* の枝からのオイデスマン型セスキテルペン,⁵⁸⁾ *Aglaia odorata* の葉からの coumaranone 化合物等,⁵⁹⁾ *Aglaia elliptica* の葉からのジアミド化合物及びシクロアルタン型トリテルペン⁶⁰⁾等の単離及び構造決定を報告した。また、*Chisocheton macrophyllus* から得られた各種トリテルペンや *Aglaia odorata* からのリグナン化合物等については、Epstein-Barr virus の抑制活性を調べた。^{52,59)}

6-2. 生薬・薬用植物の種子の成分研究 本研究の主旨は、種子類生薬や“種子を薬用とする植物の種子”の成分研究ではなく、種子以外の部位を薬用部位とする“生薬や薬用植物”の種子の成分を研究することであった。種子は、植物の生育の源をなすものであり、種子中の成分が、親植物の各薬用部位の成分とどのような関係にあるのかなどに興味があり、本研究を開始した。

オミナエシ *Patrinia scabiosaefolia* Fisher (オミナエシ科) の全草は、敗醬 (草) と呼ばれる生薬で

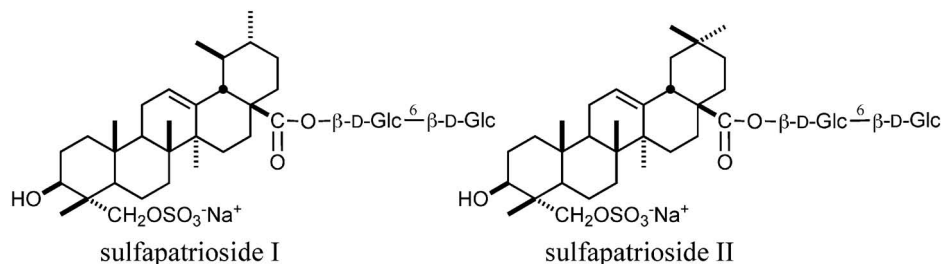
ある。まず、本植物の種子についての成分研究を行い、sulfapatrioside I 及び II と命名した硫酸塩を含んだウルサン (ursane) 型及びオレアナン (oleanane) 型トリテルペンの配糖体のペアーを単離し、それらの構造を決定した。⁶¹⁾

C-23 位に硫酸塩を持つトリテルペン及びその配糖体が植物界から単離されたのはこれが初めてと考えられる。また、sulfapatrioside I は、*Patrinia* 属 (オミナエシ属) から単離・同定されたウルサン型トリテルペンの初めての例と思われる。

さらに、本研究を継続し、3種類の異なる糖部を持つウルソール酸配糖体とオレアノール配糖体のペアーを単離・構造決定した。3ペアー、6種の配糖体のうち、patrinia-glycoside A-I, B-I, B-II と命名した3種は新規化合物であった。⁶²⁾

キキョウの根は、生薬“桔梗 (根)”と呼ばれる重要生薬の1つで、トリテルペンサポニンを主成分として含むことが知られているが、今回キキョウの種子の成分を研究し、ともに新規化合物である dihydroflavonol glycoside 及び 3-methyl-1-butanol glycoside を単離し、flavoplatyoside 及び grandoside と命名し、それらの構造を決定した。⁶³⁾ 当然かもしれませんが、キキョウの種子は、根に含まれるトリテルペンサポニン類とは全く異なるタイプの成分を含んでいることが分かった。

オミナエシと同属のオトコエシ *Patrinia villosa* (Thunb.) Juss. の種子からは、flavovilloside と命名した新規構造を持つフラボノール配糖体のほか、23位に硫酸基を持つウルソール酸とオレアノール酸のペアーを天然界から初めて単離し、構造を決定し



た.⁶⁴⁾

6-3. ベニコウジ (紅麴) 及びソヨウ (蘇葉) の生理活性成分 この頃、大阪大学薬学部・微生物薬品化学の三村 努教授 (故人) 及びグンゼ(株)の田辺伸和、小畑裕士氏と共同で、ベニコウジ (紅麴) (三村及び田辺) やソヨウ (蘇葉) (田辺及び小畑) の生理活性成分の研究を行った。ベニコウジ菌 (*Monascus pilosus*) との培養で得られた紅麴米 (red mold rice) から、血圧降下成分として acetylcholine chloride 及び γ -aminobutylic acid を同定した。⁶⁵⁾

また、シソ (*Perilla frutescens* Britton var. *acuta* Kudo) の葉 [ソヨウ (蘇葉)] から、既知 (1) 及び新規 (2) のコーヒ酸エステル (caffeic ester) を単離し、それぞれを 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-propenoic acid の (Z,E)-2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethenyl ester (1) 及び (Z,E)-2-(3,5-dihydroxyphenyl) ethenyl ester (2) と決定した。さらに、これら 2 成分の xanthine oxidase 抑制活性を、天然の xanthine oxidase inhibitor とされているフラボノイド類や指標物質の allopurinol と比較・検討したところ、Table 2 に示すようにともに強い活性を示した。特に、caffeic ester (1) は、指標物質の allopurinol に匹敵する強さを示した。⁶⁶⁾

6-4. シダ植物ヘラシダのホパン型トリテルペン配糖体成分 九州のある地方で、シダ植物ヘラシ

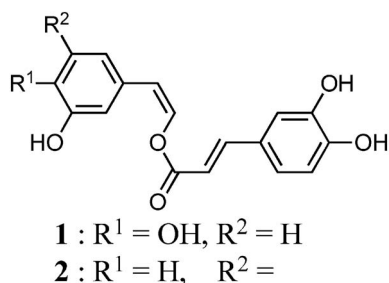


Table 2. XO Inhibitory Activity

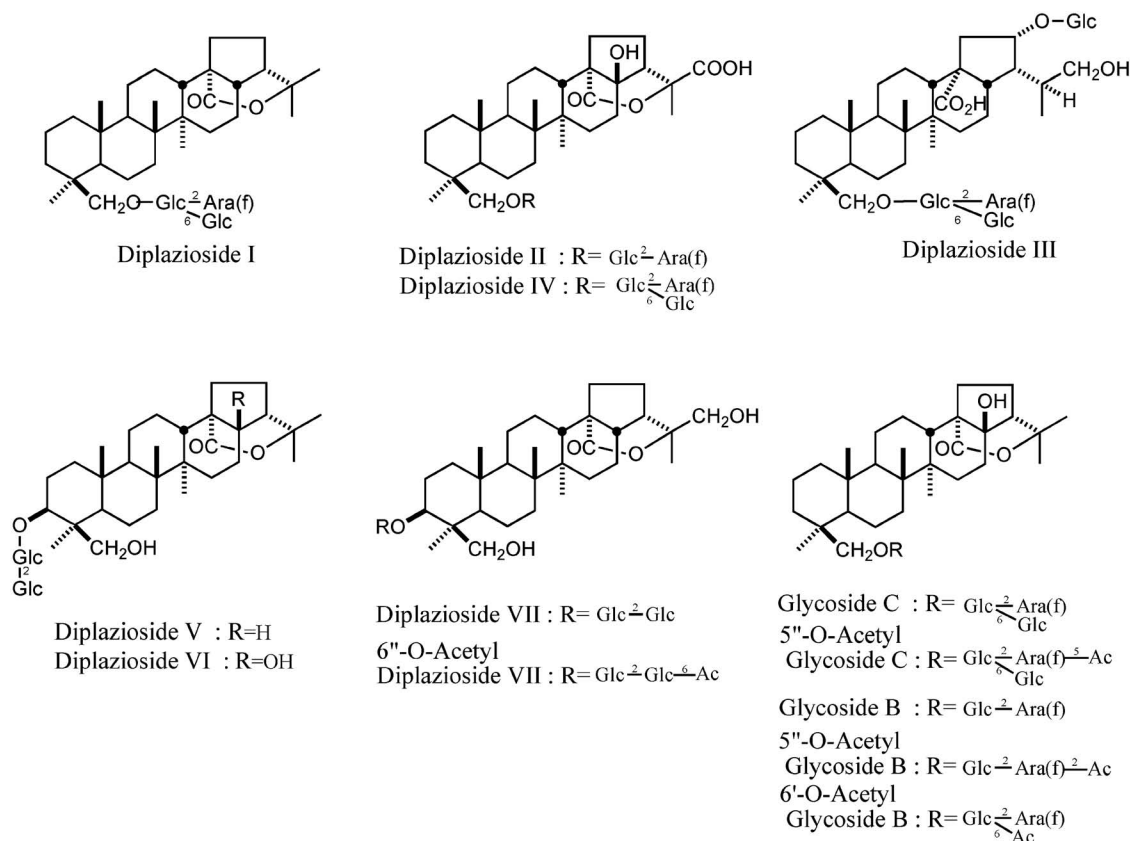
Compound	IC ₅₀ (μ g/ml)
1	0.021
2	0.124
luteolin	0.110
quercetin	>0.400
allopurinol	0.021

ダの水煎液を民間療法で糖尿病の治療に用いているという情報を得たので、千葉県安房郡で採集したヘラシダ [*Diplazium subsinuatum* (Wall. ex Hook. et Grev.) Tagawa] を、実際に服用するときのように、漢方煎じ器を用いて熱水で抽出した。抽出した水溶液をブタノール (*n*-BuOH) で分液したブタノール層は糖尿病に対する効果は観察されなかったが、ラットを用いての PCA (homologous cutaneous anaphylaxis) 反応で、positive control の ketotifen [10 mg/kg (rat) の濃度で 69%] よりは弱いが、エキスとしては比較的強い阻害活性 [100 mg/kg (rat) の濃度で 63%] を示したことから、⁶⁷⁾ 本ブタノール移行部の成分研究を行った。

当時東京理科大の田中信寿先生らによって、本シダの葉からホパン型トリテルペン配糖体の glycoside B 及び C 等が単離・構造決定されていた。⁶⁸⁾ 今回、筆者らは、glycoside C を同定するとともに、diplazioside I 及び II と命名した新規のホパン型トリテルペン配糖体を単離し、それらの構造を決定した。⁶⁹⁾

ホパン型トリテルペンは、地衣植物やシダ植物に含まれていることが多いと言われているが、田中先生や今回の筆者らの一連の研究で報告したホパン型トリテルペン配糖体の例は、ホパン型トリテルペンが、配糖体の形で自然界から単離・同定された初めてのケースと考えられる。また、余談であるが、筆者自身は、研究対象として、地衣中のトリテルペン以来約 30 年振りにホパン型トリテルペンに巡り会うこととなった。しかし、今回構造を明らかにしたトリテルペンは、分子中にカルボキシル基や δ -ラクトン環を持つ等やや複雑な構造であった。

さらに、ヘラシダの水煎液からは、diplazioside III 及び IV と命名した 2 種の新規ホパン型トリテルペン配糖体を単離し、構造を決定した。⁷⁰⁾ 前者は、ホパン型トリテルペンの bisdesmoside 型の配糖体として初めての単離例であるばかりでなく、サポゲノール部分の構造自体も初めての報告例であった。同時に、既知ホパン型トリテルペン配糖体の糖部分の monoacetyl 化体 3 種も同定した。⁷⁰⁾ この頃には、NMR 技法の進歩により、アセチル化などのアシル化された化合物の構造が、比較的容易に決定できるようになった。さらに、ホパン型トリテルペンの C-24 位に 1 級アルコール基が存在し、C-3 位



に糖が結合した水酸基を持つ diplazioside V, VI 及び VII を, VII の外側のグルコシル基の 6 位 (=6''-OH 位) のアセチル化体とともに単離し, これらの構造を決定した.⁷¹⁾

Diplazioside V, VI 及び VII は, 配糖体として新規化合物であることはもちろんのこと, サボゲノールであるホパン型トリテルペン自体も, 新規化合物であった.

今日までの生合成研究では, 高等植物に含まれるトリテルペン類は squalene 2,3-epoxide を前駆体として生合成されるとされており, したがって, 高等植物から得られるトリテルペンは C-3 位に水酸基を持つものが多いと言われている. これに対して, 地衣類やシダ類に含まれるホパン型トリテルペンは, squalene を経由して生合成されるとされており, C-3 位に水酸基を持たないトリテルペンが, これまで自然界から報告されてきている. したがって, diplazioside V, VI 及び VII のように C-3 位に水酸基を持つホパン型トリテルペンの自然界からの単離例は非常に珍しいと考えられる.

さらに, この研究の途上で, diplazioside V, VI, VII 及び VII の 6''-OH 位のアセチル化体の

¹H-NMR スペクトル (pyridine-*d*₅ 中) において, C-24 位の水酸基のプロトンは, C-24 位のメチレン・プロトンの 1 つと大きな結合常数 ($J=11.4$ Hz) でカップリングしているという興味ある事象が観察された. 普通, C-24 位水酸基を立体的に固定する要因が加わらなければ, 24 位の炭素とそれに結合した水酸基の間の結合は自由回転すると思われる. 今回のように, 水酸基が固定された状態で観察された理由についても論文の中で推論した.⁷¹⁾

7. 文部科学省科学研究費補助金 (国際学術研究) に基づく “薬用資源の開発” をめざした植物調査研究

7-1. 米国 (オレゴン州及びカリフォルニア州) での調査研究 (1991-1992 年度)

筆者が代表者となって申請した「北米西部の粘液分泌植物を対象とする抗がん物質の開発」と題する研究が, 1991-1992 年度の文部科学省科学研究費補助金 (国際学術研究) に採択され, これが筆者の研究の中心テーマとなりました.

東京大学大学院理学研究科の邑田 仁教授, 本学の稲田 昭, 邑田裕子の両先生, 岐阜薬科大学の水野瑞夫元学長 (名誉教授), 飯沼宗和教授, 田中稔

幸教授らに研究分担者としてご協力を頂き、 呂田仁先生らのご紹介で、 海外の分担者をお願いした南オレゴン州立大学のラング (Frank A. Lang) 教授の案内の下、 1991 年夏に米国オレゴン州南西部及びカリフォルニア州北部の蛇紋岩地で、 粘液分泌植物を中心に、 86 種の植物を採集した。 翌 1992 年夏には、 オレゴン州南東部の乾燥 (砂漠) 地帯を中心に、 163 種の植物をそれぞれ採集した。

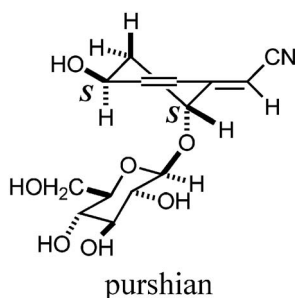
採集した植物を、 葉、 枝等の部位に分別したのち、 アセトン、 エタノール、 70%エタノール等で順次抽出した。

得られた各種の抽出エキスについて、 1) HIV-1 逆転写酵素阻害活性、 2) 発がんプロモーター抑制活性、 3) マウス白血病腫瘍抑制活性、 をそれぞれ検討し、 各種の抗がん物質の検索及び構造研究を行った。

HIV-1 逆転写酵素阻害活性に関しては、 キク科の *Grindelia* 属、 クロウメモドキ科の *Ceanothus* 属、 ツツジ科の *Arctostaphylos* 属、 バラ科の *Purshia* 属植物に強い活性が認められた。⁷²⁾ また、 発がんプロモーター抑制活性については、 *Sophora leachiana*, *Eriodictylon californicum*, *Navarretia propinqua* 等かなりの数の植物が強い抑制活性を示した。

日本にはない植生に生育する外国産植物を対象にして、 薬用資源の開発をめざしたこの種の研究は、 この分野での国際学術研究に最も適合した研究ではないかと思われます。 このときに採集した植物の成分研究でも、 次のような化学構造的に、 及び生理活性的に興味ある知見を得ました。

米国オレゴン州で、 採集したバラ科植物 *Purshia tridentata* DC. の茎のエタノールエキスは、 強い HIV-1 逆転写酵素阻害活性を示したことから、 その成分研究を行った。 上記エキスから purshianin



と命名した新しい cyanoglucoside を単離し、 差 NOE や NOESY スペクトル等の詳細な考察に基づいて、 そのコンフォーメーションを含む絶対構造を決定した。 また、 同時に単離した既知の cyanoglucoside, menisdaurin に対しても同様の考察を加えた結果、 その絶対構造を改正した。⁷³⁾ しかし、 これらの cyanoglucoside 類は HIV-1 逆転写酵素阻害活性成分ではなく、 活性成分の特定には至っていない。

さらに、 オレゴン州 Harney County で採集したグミ科植物 *Shepherdia argentea* の葉から得られた 2 種の新しい加水分解型タンニン shephagenin A 及び B は、 標準物質の (-)-epigallocatechin gallate より強い HIV-1 逆転写酵素阻害活性を示した。⁷⁴⁾ また、 同じくオレゴン州で採集したバラ科植物 *Rosa woodsii* の 70%エタノールエキスから 11 種の ellagitannin 類、 5 種の polyphenol 類を単離・同定した。 これらの化合物は、 polyphenol 類の ellagic acid を除いて、 いずれも強い HIV-1 逆転写酵素阻害活性を示した。⁷⁵⁾ これらタンニン類の成分研究は、 岡山大学薬学部の吉田隆志教授 (当時) との共同研究として行った。

7-2. 米国 (オレゴン州及びカリフォルニア州) 及び中米 (メキシコ、 グアテマラ及びホンジュラス) での植物調査研究 (1997-1998 年度) 第 1 回植物調査研究 (7-1) から 5 年後の 1997-1998 年度にも、 筆者が研究代表者となった「アメリカ大陸の薬用植物資源の開発」と題する研究が文部省科学研究費補助金 (国際学術研究) に採択された。 研究分担者として、 本学の稲田 昭、 呂田裕子、 稲富由香の各先生に加えて、 岐阜薬科大学の水野瑞夫元学長 (名誉教授)、 飯沼宗和教授、 田中稔幸教授、 東京大学大学院理学研究科の呂田 仁教授、 和田正三教授 (当時: 東京都立大学大学院理学研究科)、 河原孝行先生 (当時: 農水省森林総合研究所北海道支所遺伝研究室長)、 田中法生先生 (当時: 国立科学博物館筑波研究資料センター研究官) の各先生及び国外では、 Frank A. Lang 教授 (南オレゴン大学生物学科) 及び Thomas B. Croat 博士 (ミズーリ植物園植物学主任研究員) にご協力頂きました。

1997 年度は、 米国オレゴン州及びカリフォルニア州の沿岸部、 さらに中米のグアテマラ (グアテマラシティ、 パナハッチェル、 チチカステナンゴ、 コ

バン等)及びホンジュラス(テグシガルパ, テラ, セイバ, サンペドロスーラ等)で, 1998年度はメキシコ(メキシコシティ, チアパス州のトゥクトラ・グティエレス, サン・クリストバル・デラ・カサス等), グアテマラ(ウエウエテナンゴ, ソロラ, グアテマラシティ, コパン等)及びホンジュラス(テグシガルパ, セイバ, エルランチョ, コパン, カタカマス等)で, アメリカ・インディアンやマヤ文明のインディオ等の民族薬や薬有用植物等についての聞き取り調査や市場での民族薬物(生薬)の聞き取り調査, 調達等を行うとともに, 自分たちの持ち合わせている植物や薬用途についての情報を基に成分研究用や証拠標本用の植物資料の採集を行った.

本研究の主たる目的は, 日本とは異なる植生の地域に生育する植物の薬用資源としての開発研究であるが, このほかに, 木材資源等として使用されてきている植物の薬用資源としての開発, あるいは, これら植物の樹林下に生育する植物の薬用利用に向けての研究等も, 本研究の目指す目的の1つである.

1997-1998年度の2年間の現地調査の結果, 成分研究用植物176種, 証拠標本等800点, 市場調査により入手した市場品(民族薬)30品を得ることができた.

採集した植物を, 全草, 茎や枝, 葉, 果実, 根, 根茎等の部位に分けたのち, それぞれのアセトン, メタノール, 70%メタノールの各エキスを調製した. 一部については, メタノール及び70%メタノールの代わりにエタノール及び70%エタノールを用いてエキスを調製した.

調製した各エキスについて, 1) HIV-1 virus 増殖抑制スクリーニング試験, 2) KB細胞を用いた *in vitro* で細胞増殖阻害試験, 3) ヒト肺がん細胞株 PC-12 及びヒト胃がん細胞株 NUGC-3 を用いた *in vitro* での腫瘍細胞増殖抑制試験, をそれぞれ行い, 研究成果報告書を文部科学省に提出した.

ヒトのがん細胞を用いた *in vitro* の実験で, シダ植物 *Marsilea* 属, イソマツ科の1種, ヒノキ科 *Juniperus* 属の2種, アカバナ科の *Ludwigia* 属, *Oenothera* 属, ミソハギ科の1種, バラ科のワレモコウ属, ナス科の植物等が強い抑制活性を示した.

また, これら生理活性試験の結果の一部として, 米国西部で採集した84種の植物から得られた264種のエキスについて HIV-1 virus に感染した細胞の

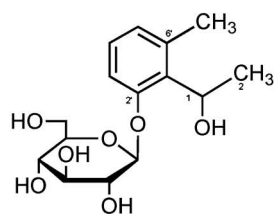
増殖抑制活性を調べたスクリーニング試験の結果に加えて, 活性を示した地衣 *Lethalia vulpine* Hue の活性成分の検索と構造決定を学術雑誌に報告した.⁷⁶⁾

また, 潜在的有用植物資源の開発とその応用の観点から, 日本とは植生の大きく異なる北米の荒地・砂漠地帯や中米の熱帯雨林地域に生育する野生植物に着目し, これらから新規の機能性食品添加物の開発を目的として, 筆者が研究代表者となり, 本学衛生微生物学研究室の渡部一仁教授と共同で, 「アメリカ大陸で採集した荒地及び熱帯植物由来新規機能性食品添加物の開発と応用及び安全性に関する研究」という題目で1998年度及び1999年度の勸三榮源食品化学振興財団研究助成金を受託した. 1991-1992年度及び1997年度の文部科学省科学研究費(国際学術研究)に基づき, 米国西部や中米のグアテマラ, ホンジュラスで採集した植物やグアテマラの市場等で購入した植物性民族薬物(計38科64種)から調製した抽出エキス170検体につき, 保存料への応用として, 細菌性食中毒原因菌のサルモネラ菌や黄色ブドウ球菌等に対する増殖阻害活性を検討したところ, イソマツ科, コショウ科及びアカバナ科の植物等に抗菌活性が認められた. 詳細な研究結果を当財団に提出した.^{77,78)}

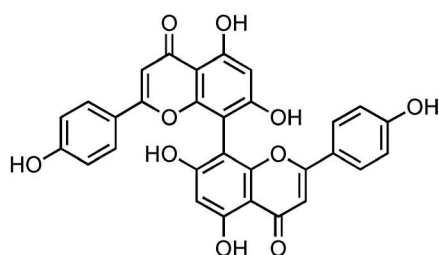
さらに, 1997-1998年度の文部科学省科学研究費(国際学術研究)に基づき, 米国のオレゴン州及びカリフォルニア州, 中米のメキシコ, グアテマラ及びホンジュラスで採集した植物を材料として, 生理活性の研究や成分の構造研究を行い, 以下に述べるように, 数々の興味ある知見を得た.

まず, 今回採集した植物のうち, 21種の植物(22種のエキス)について, 腸出血性大腸菌 *Escherichia coli* O 157: H7 によるペロ毒素産成抑制を調べた結果, *Limonium californicum* (Boiss) A. Heller, *Cupressus lustianica* Miller, *Salvia urica* Epling 及び *Jussiaea peruviana* L. に強い抑制活性(31.3-125 mg/ml)が観察された.⁷⁹⁾

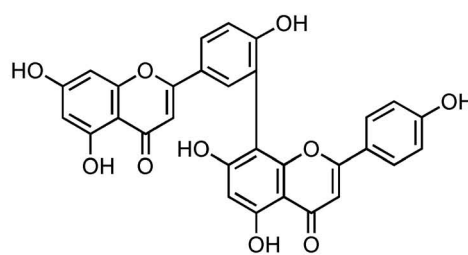
オレゴン州で採集した裸子植物ヒノキ科(Cupressaceae)の *Juniperus occidentalis* Hook. の地上部には, HIV-1 virus 増殖抑制成分が含まれるのではないかと期待された.⁷⁶⁾ そこで, 本植物の葉のエタノールエキスの含有成分を検索し, juniperoside I 及び II と命名した新規のフェノール配糖



juniperoside I (1) : 1*S*
juniperoside II (2) : 1*R*



cupressuflavone



amentoflavone

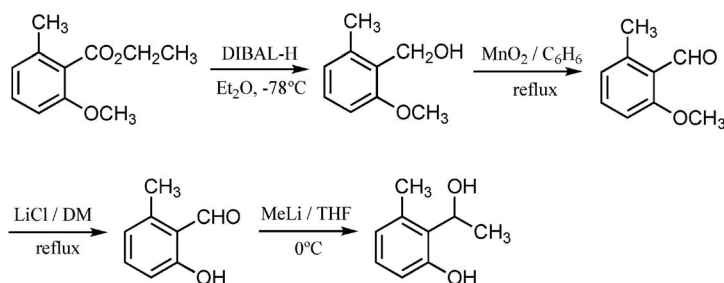


Chart 2

体を、2種の既知ビフラボン (cupressuflavone 及び amentoflavone) 等とともに単離し、それらの構造を決定した。⁸⁰⁾

juniperoside I 及び II のアグリコン部は、フェニルエタノイドに属する化合物と推定され、また、ベンゼン環上に炭素官能基同士が隣接するという珍しい構造を持っていたため、2次元 NMR 等によるスペクトル解析に加えて、ラセミ体の合成 (Chart 2 参照) によっても、その平面構造を確認した。しかし、単離・同定したいずれの化合物も有意な抗 HIV-1 virus 活性を示さなかった。

オレゴン州で採集したもう1種の *Juniperus* (ビャクシン) 属植物である *Juniperus communis* var. *depressa* についても詳細な成分研究を行った。地上部のメタノールエキスから、junipercomnoside A (1) 及び B (2) と命名した2種の新規ネオリグナン配糖体を、2種の既知ネオリグナン配糖体及び7種の既知フラボノイド配糖体とともに単離し、それらの構造を決定した。⁸¹⁾

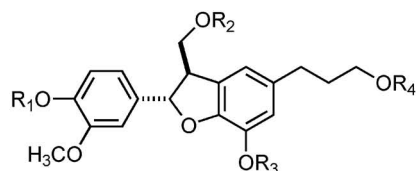
特に、1 及び 2 における dihydrofuran 環部分の絶対構造は、NOESY 及び CD スペクトルの詳細な解析に基づいて決定した。類似構造を持つ既知ネオリグナン配糖体 (3 及び 4) についても、初めて NMR スペクトルにおける ¹H 及び ¹³C の帰属を決定し、報告した。2 や 4 のような、neolignan 3a-*O*-

glycoside や neolignan 5c-*O*-glycoside が自然界から見い出されるのは稀なことと思われる。また、2 のような neolignan diglycoside の存在も珍しいと思われる。さらに、今回同定された polyhydroxyflavone 類 (5 及び 6) の植物中での存在は、*Juniperus* (ビャクシン) 属への分類の指標の1つとなるのではないかと、筆者らは推測している。

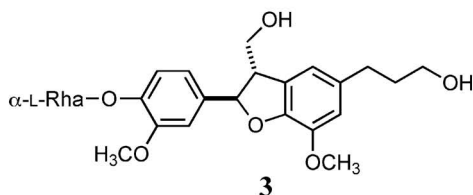
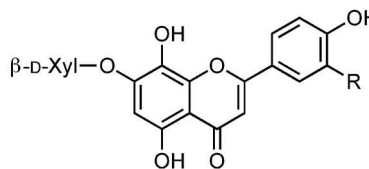
さらに、同じメタノールエキスから、前述の junipercomnoside A (1) 及び B (2) とは異なった骨格を持つ新規 neolignan glucoside 類の junipercomnoside C (7) 及び D (8)、2種の新規 phenylpropanoid glycoside 類の junipercomnoside E (9) 及び F (10) を、7種の既知フラボノイドとともに単離し、それらの構造を決定した。⁸²⁾

既に述べたように、われわれは *J. communis* var. *depressa* の地上部 (枝と葉) のメタノールエキスからフラボン2量体 (biflavone) の cupressuflavone を単離・同定しているが、さらに同じメタノールエキスの成分を検索し、cupressuflavone の 4'位に、β-D-glucopyranose が結合した化合物をアトロープ異性体のペアー [(*M*)-及び (*P*)-cupressuflavone 4'-*O*-β-D-glucopyranoside (11 及び 12)] として単離し、2D-NMR や CD スペクトル等の詳細な解析に基づき、ペアーの両異性体の構造を決定した。⁸³⁾

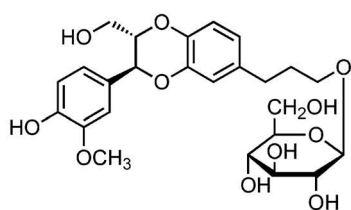
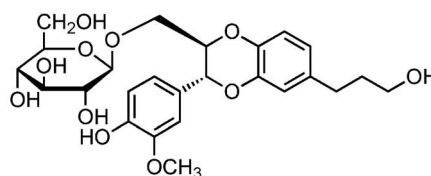
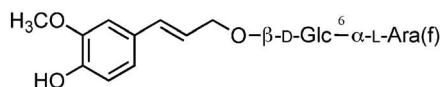
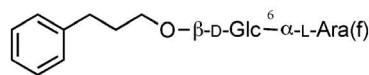
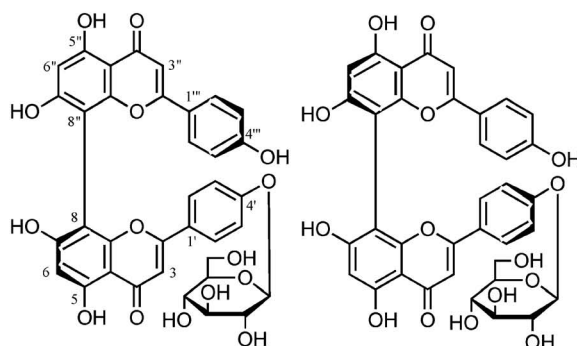
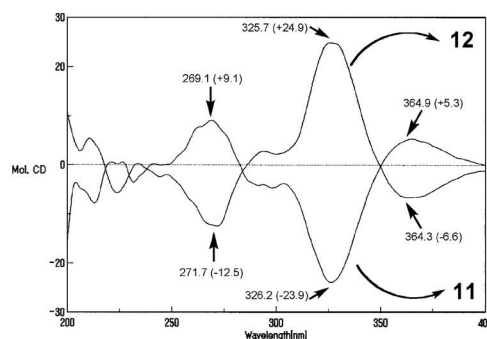
光学活性体ではない cupressuflavone に D-glu-



junipercomnoside A (**1**) : $R_1 = \beta\text{-D-Xyl}$, $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$
 junipercomnoside B (**2**) : $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \alpha\text{-L-Rha}$, $R_3 = \text{CH}_3$, $R_4 = \beta\text{-D-Glc}$
4 : $R_2 = \alpha\text{-L-Rha}$, $R_1 = R_3 = R_4 = \text{H}$

**3**

5 : $R = \text{H}$
6 : $R = \text{OH}$

junipercomnoside C (**7**)junipercomnoside D (**8**)junipercomnoside E (**9**)junipercomnoside F (**10**)**11****12**CD spectra of **11** and **12** in MeOH

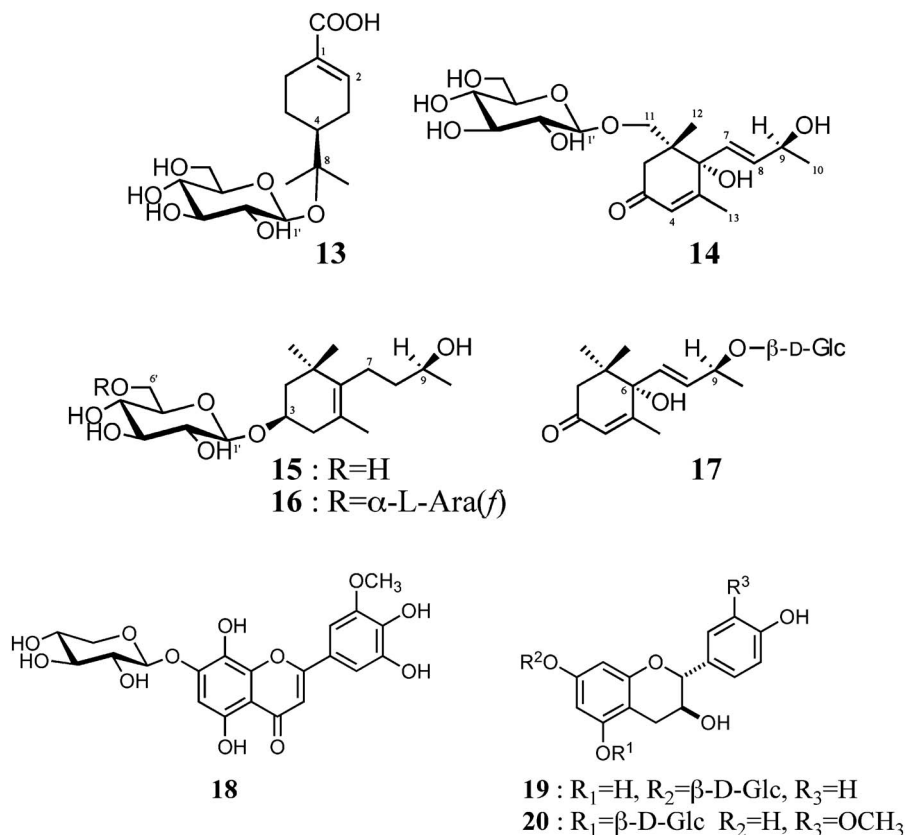
copyranose が結合することにより、アトロープ異性体が発生した (=出現した) もので、(*M*)-体と(*P*)-体の両者がペアとして自然界から得られたのは初めての例であり、非常に興味深い現象とその報告と思われる。

両異性体の構造と、非常によい対称性を示している CD スペクトルを示した。

さらに、同じメタノールエキスからは、これまで述べてきたフェニルプロパノイド系やフラボノイド

系化合物のほかに、テルペン系化合物の配糖体も単離し、これらの構造も決定した。すなわち、1 種の新規 monoterpene glucoside (**13**) 及び自然界から初めて単離された 3 種の megastigmane glucoside (**14–16**) を、既知の megastigmane glucoside (**17**) とともに単離し、これらの構造を決定した。⁸⁴⁾

また、単離・同定した化合物 (**13**, **14**, **15** 及び **17**) の *Helicobacter pylori* の 3 種の strain (NCTC11637, NCTC11916 及び OCO1) に対する抗菌活性が検討

Table 3. MIC Values of **13**, **14**, **15** and **17** against *Helicobacter pylori*

Compound	MIC (μ g/ml) <i>H. pylori</i>		
	NCTC11367	NCTC11916	OCO1
13	100	100	100
14	100	100	100
15	50	50	50
17	>200	>200	>200
Nat. Hinokitiol	100	100	50
Syn. Hinokitiol	100	100	50

され、Table 3 に示したように、化合物 **13**, **14** 及び **15** は、標準物質の hinokitiol と比べて、強い、あるいは、ほぼ同等の抗 *H. pylori* 活性を示した。⁸⁴⁾

さらに最近、同じメタノールエキスから、新規の flavone xyloside (**18**) 及び 2 種の新規 flavan-3-ol glucoside (**19** 及び **20**) を、3 種の既知 flavone 類、5 種の既知 flavan 類及び既知の dihydrochalcone とともに単離し、これらの構造を決定した。⁸⁵⁾

また、本植物材料から、比較的多量に単離された成分の Maillard 反応の抑制活性を検討した結果を Table 4 に示した。(-)-catechin 及び (+)-epicatechin は、positive control の aminoguanidine よりも

Table 4. Inhibitory Activity of Some Abundantly Isolated Compounds in the Maillard Reaction

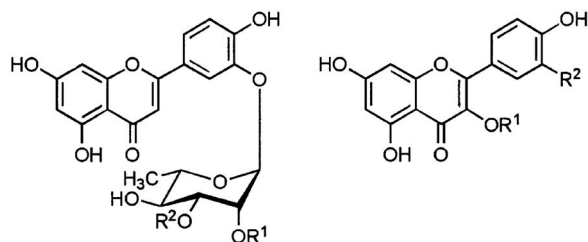
Compound	Inhibitory activity in 400 μ M (%)	IC ₅₀ (μ M)
(-)-Catechin	91	17.4
(+)-Epicatechin	86	13.0
Phlorizin	62	—
Isoquercitrin	51	—
Isoscutellarein 7-O- β -D-xyloside	39	—
Kaempferol 3-O- α -L-rhamnoside	38	—
Quercetin 3-O- α -L-rhamnoside	51	—
Kaempferol 3-O-rutinoside	38	—
Aminoguanidine ^{a)}	70	100.0

a) Positive control.

強い抑制活性を示した。⁸⁵⁾

以上述べてきた *Juniperus communis* var. *depressa* については、現在まで 20 種の新規化合物を含む 60 余種の化合物を単離し、さらに研究を継続中である。

次に主に熱帯地方に生育するカンラン科 (Burseraceae) の *Bursera* 属植物について研究を行った。メキシコで採集した *Bursera graveolens* の葉のメタノールエキスは、40 μ g/ml の濃度で、強いメイラード反応抑制活性を示した。そこで、本エキスの



- 1** : $R_1=R_2=H$
2 : $R_1=p\text{-coumaroyl}$, $R_2=Ac$
3 : $R_1=p\text{-coumaroyl}$, $R_2=H$
4 : $R_1=H$, $R_2=p\text{-coumaroyl}$
5 : $R_1=\beta\text{-D-Glc}$, $R_2=H$
6 : $R_1=\beta\text{-D-Xyl}$, $R_2=H$
7 : $R_1=\beta\text{-D-Gal}$, $R_2=OH$
8 : $R_1=\alpha\text{-L-Ara}(f)$, $R_2=OH$

Table 5. Inhibitory Activity of Isolated Compounds in the Maillard Reaction

Compound	IC ₅₀ (μM)
1	1.7
2	—
3	—
4	—
5	13.4
6	21.5
7	—
8	2.9
Aminoguanidine ^{a)}	100.0

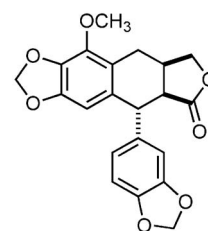
a) Positive control.

成分研究を行い、フラボン配糖体である luteolin 3'-*O*-rhamnopyranoside (**1**) の糖部分に acetyl 基と *p*-coumaroyl 基 (**2**)、または *p*-coumaroyl 基のみ (**3** 及び **4**) が結合した 3 種の新規化合物を、5 種の既知フラボノール配糖体 (**5-8**) とともに単離し、これらの構造を決定した。⁸⁶⁾

さらに、これらフラボノイド誘導体 (**1-8**) のメイラード反応抑制活性を調べると、Table 5 に示したように、**1** や **8** 等は、標準物質の aminoguanidine と比べても、非常に強い抑制活性を示した。⁸⁶⁾

一方、本植物 (*B. graveolens*) の茎のメタノールエキスは、*in vitro* で強い細胞毒性を示した。成分研究の結果、抗がん作用を示す podophyllotoxin と類似の構造を持つ 2 種の 4 α -aryltetralin 型のリグナンを、既知トリテルペン (lupeol 及び *epi*-lupeol) とともに、単離した。

リグナンの内、1 種は新規化合物で、burseranin と命名し、既知の picropolygamain とともに、構造を決定した。さらに、原料のメタノールエキスとともに、単離した各成分の HT1080 human fibrosarco-

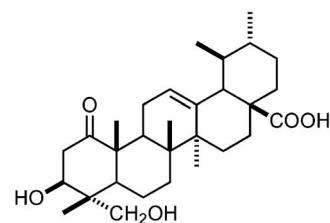


burseranin

Table 6. Cytotoxic Activities of the MeOH Extract and Its Components

Sample	Cell culture [ED ₅₀ (μg/ml)] HT1080
MeOH extract	60.0
Burseranin	5.5
Picropolygamain	1.9
<i>Epi</i> -lupeol	>100
Lupeol	16.7
Adriamycin ^{a)}	0.1

a) Positive control.



cheiranthic acid

ma cells に対する抑制活性を検討した結果、Table 6 に示す通り、2,3-*cis*- γ -lactone 環を持った 2 種の 4 α -aryltetralin 型のリグナンは、標準物質の adriamycin よりは弱い、かなり強い抑制活性を示した。⁸⁷⁾

最後に述べる成分研究として、米国オレゴン州の砂浜で採集したアカバナ科植物 *Oenothera cheiranthifolia* の全草のメタノールエキスから cheiranthic acid と命名した ursane 型の新規トリテルペン (**1**) を、oleanane 型と ursane 型の既知トリテルペンの異性体のペアー (arjunolic acid 及び asiatic acid)、3 種の既知 flavonol glucuronide 類 (quercetin 3-*O*-glucuronide, quercetin 3-*O*-glucuronide *n*-butyl ester 及び myricetin 3-*O*-glucuronide) 等とともに単離し、これらの構造を決定した。⁸⁸⁾ 今日の時代になお、新規トリテルペンが、天然界から見いだされるのは珍しいことと思われる。また、既知トリテルペ

ンには、抗発がんプロモーター活性等の各種生理活性が報告されている。

8. おわりに

以上述べてきましたように、大学学部の4回生から停年退職まで約47年に渡り、たくさんの方々からのご協力を頂戴し、生薬あるいは植物から薬のシーズとなる成分を追い求めてきた。地衣類、シダ類、裸子植物及び被子植物(単子葉及び双子葉植物)とほぼ植物界全域に渡る分類群の植物の成分を研究してきた結果、地衣類やシダ類に特有の成分、裸子植物に多く含まれる成分等を含め、多岐に渡るタイプの成分を単離・同定することができた。これら成分の中には、今まで生理活性が知られていなかった成分でも、*in vitro* で有意な生理活性が観察されたものもあり、将来1つでも多く医薬品のシーズにつながることを念じている。

謝辞 本総説の中心をなす摂南大学薬学部における研究は、生薬学・薬用植物園研究室の稲田昭、邑田裕子、稲富由香の諸先生、過去に研究室に在籍された尾垣淳治、小西麻里、中川 緑の諸先生、研究室に在籍された大学院生の田中啓詞、飯田直紀の両君、学部4回生の諸君及び多くの共同研究者の方々の方々の努力によってなし遂げられたものであります。本稿をまとめるに当たり、ここに心より厚く御礼申し上げます。また、本学機器分析室の西正敏博士、山口昌之研究員には、多くのNMRやMassスペクトル等の試料を測定頂き、また、ときに有益な討論やご助言を頂いた。併せて、御礼申し上げます。また、2度に渡る文部科学省科学研究費補助金に基づく国際学術研究の遂行に当たって、採集計画及び準備、日程及び行程の調整、植物の採集及び乾燥、日本への持ち帰り等については、研究分担者で本学の邑田裕子先生が中心となって行動していただきました。心より感謝申し上げます。

また、種々のご指導を頂くとともに、研究の面白さ、奥深さを教えて下さいました恩師吉岡一郎先生、北川 勲先生、Sir Derek H. R. Barton先生に厚く御礼申し上げます。

さらに、大阪大学の講師時代に、ご鞭撻やご助力を頂き、お世話になりました大阪大学名誉教授岩田宙造先生に、心より御礼申し上げます。また、当時の研究は、生薬材料学研究室主任の米田該典助教授

(当時)を始め、同研究室の大学院生であった菅野悦子、宮坂 均、児玉真理子及び学部4回生の諸君、並びに大塚製薬(株)天然物化学研究所の三浦巖、森 英雄の両氏の協力により達成されたものであり、衷心より感謝し、御礼申し上げます。

さらに、生理活性の研究については、次の各研究機関に協力して頂きました。抗腫瘍効果等については、第一製薬(株)・創薬第4研究所：日馬恒雄所長、岩花倫生及び笠原幹夫の両氏、同社創薬基盤研究所：北川正之及び吉田孝利の両氏にお世話になりました。また、第一製薬(株)との共同研究の道を付けて下さいました取締役探索第三研究所長奥田順三氏(1994年当時)及びアレルギーI型活性等をご測定頂いた同研究所相川俊三氏に厚く感謝申し上げます。HIV-1 virus 逆転写酵素阻害活性を、ご測定下さいました愛知県がんセンター研究所小野克彦及び中根英雄の両氏、HIV-1 virus 増殖抑制効果をご検討下さいました大阪府立公衆衛生研究所山崎勝弘、大竹徹の両氏、腸出血性大腸菌のベロ毒素産制抑制効果及び抗ヘリコバクタ・ピロリ活性をご測定下さいました近畿大学農学部坂上吉一先生、発がんプロモーター抑制活性をご測定下さいました京都府立医科大学西野輔翼、徳田春邦の両先生、メイラード反応阻害活性をご検討下さいました岡山理科大学理学部松浦信康先生、抗ヘリコバクタ・ピロリ活性をご検討下さいました富山医科薬科大学・名誉教授小橋恭一先生、抗腫瘍活性をご検討下さいました静岡県立大学薬学部奥 直人教授の諸氏に深謝致します。最後に、文部科学省科学研究費補助金並びに三栄源食品化学研究振興財団研究補助金によるご援助に感謝申し上げます。

REFERENCES

- 1) Asahina Y., Akagi H., *Berichte*, **71**, 980 (1938).
- 2) Barton D. H. R., de Mayo P., Orr J. C., *J. Chem. Soc.*, 2239 (1958).
- 3) Dustan W. J., Fazakerlay H., Halsall T. G., Jones E. R. H., *J. Chem. Soc.*, 1877 (1959).
- 4) Asahina Y., Yosioka I., *Berichte*, **73**, 742 (1940).
- 5) Yosioka I., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **11**, 1468-1470 (1963).
- 6) Yosioka I., Nakanishi T., Kitagawa I., *Tetra-*

- hedron Lett.*, 1485–1490 (1968).
- 7) Nakanishi T., Fujiwara T., Tomita K., *Tetrahedron Lett.*, 1491–1495 (1968).
 - 8) Yosioka I., Nakanishi T., Kitagawa I., *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 279–290 (1969).
 - 9) Nakanishi T., Yamauchi H., Fujiwara T., Tomita K., *Tetrahedron Lett.*, 1157–1160 (1971).
 - 10) Yosioka I., Nakanishi T., Yamauchi H., Kitagawa I., *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 147–156 (1971).
 - 11) Yosioka I., Nakanishi T., Tsuda E., *Tetrahedron Lett.*, 607–612 (1966).
 - 12) Yosioka I., Yamaki M., Nakanishi T., Kitagawa I., *Tetrahedron Lett.*, 2227–2235 (1966).
 - 13) Yosioka I., Nakanishi T., Kitagawa I., *Tetrahedron Lett.*, 5185–5189 (1966).
 - 14) Yosioka I., Nakanishi T., Yamaki M., Kitagawa I., *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 487–501 (1972).
 - 15) Kitagawa I., Nakanishi T., Morii Y., Yosioka I., *Tetrahedron Lett.*, 1885–1888 (1976).
 - 16) Kitagawa I., Nakanishi T., Morii Y., Yosioka I., *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 2343–2349 (1977).
 - 17) Kitagawa I., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 1299–1311 (1981).
 - 18) Barton D. H. R., Gunatilaka A. A. L., Nakanishi T., Patin H., Widdouson D. A., Worth B. R., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 821–826 (1976).
 - 19) Yamada K., “Koryo no Michi,” Chu Ko Shin-sho, 1981.
 - 20) Varma K. R., Maheshwari M. L., Bhattacharyya S. C., *Tetrahedron*, **21**, 115 (1965).
 - 21) Maheshwari M. L., Jain T. C., Bates R. B., Bhattacharyya S. C., *Tetrahedron*, **19**, 1079 (1963).
 - 22) Maheshwari M. L., Varma K. R., Bhattacharyya S. C., *Tetrahedron*, **19**, 1519 (1963).
 - 23) Nakanishi T., Yamagata E., Yoneda K., Miura I., *Phytochemistry*, **20**, 1597–1599 (1981).
 - 24) Deighton M., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 662 (1975).
 - 25) Iwata C., Ida Y., Miyashita K., Nakanishi T., Yamada M., *Chem. Ind.*, 165 (1982).
 - 26) Iwata C., Ida Y., Miyashita K., Nakanishi T., Yamada M., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2738–2741 (1982).
 - 27) Nakanishi T., Yamagata E., Yoneda K., Miura I., Mori H., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 601–604 (1983).
 - 28) Okugawa H., Ueda R., Matsumoto K., Kawanishi K., Kato A., *Planta Med.*, **62**, 2–6 (1996).
 - 29) Nakanishi T., Yamagata E., Yoneda K., Nagashima T., Kawasaki I., Yoshida T., Mori H., Miura I., *Phytochemistry*, **23**, 2066–2067 (1984).
 - 30) Nagashima T., Kawasaki I., Yoshida T., Nakanishi T., Yoneda K., Miura I., The 9th International Congress of Essential Oils, Singapore, 13–17 March, 1983.
 - 31) Yoneda K., Yamagata E., Nakanishi T., Nagashima T., Kawasaki I., Yoshida T., Mori H., Miura I., *Phytochemistry*, **23**, 2068–2069 (1984).
 - 32) Yoneda K., Yamagata E., Sugimoto Y., Nakanishi T., *Shoyakugaku Zasshi*, **40**, 252–258 (1986).
 - 33) Lawrence B. M., Hogg J. W., Harney P. M., *Flavours*, 42 (1975).
 - 34) Pant P., Rastogi R. P., *Phytochemistry*, **19**, 1869 (1980).
 - 35) Gunasekera S. P., Kinghorn A. D., Cordell G. A., Farnworth N. R., *J. Nat. Prod.*, **44**, 569 (1981).
 - 36) Katsui N., Takahashi Y., Sato N., Murai A., Masamune T., *Nippon Kagaku Kaishi*, 659–664 (1981).
 - 37) Nakanishi T., Inada A., Nishi M., Yamagata E., Yoneda K., *J. Nat. Prod.*, **49**, 1106–1108 (1986).
 - 38) Nakanishi T., Iwasaki K., Nasu M., Miura I., Yoneda K., *Phytochemistry*, **21**, 1759–1762 (1982).
 - 39) Nakanishi T., Terai H., Nasu M., Miura I., Yoneda K., *Phytochemistry*, **21**, 1373–1377 (1982).
 - 40) Nakanishi T., Miyasaka H., Nasu M., Hashimoto H., Yoneda K., *Phytochemistry*, **22**, 721–722 (1983).
 - 41) Miyasaka H., Nasu M., Yamamoto T., Matsumura K., Nakanishi T., Yoneda K., *Shokubutsu Soshikibaiyo*, **1**, 57–59 (1984).
 - 42) Nakanishi T., Ogaki J., Inada A., Murata H.,

- Nishi M., Iinuma M., Yoneda K., *J. Nat. Prod.*, **48**, 491–493 (1985).
- 43) Nakanishi T., Inada A., Kambayashi K., Yoneda K., *Phytochemistry*, **24**, 339–341 (1985).
- 44) Inada A., Kobayashi M., Murata H., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 841–845 (1987).
- 45) Nakanishi T., Inada A., Nishi M., Miki T., Hino R., Fujiwara T., *Chem. Lett.*, 69–72 (1986).
- 46) Nakanishi T., Inada A., Lavie D., *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 100–104 (1986).
- 47) Inada A., Konishi M., Nakanishi T., *Heterocycles*, **28**, 383–387 (1989).
- 48) Inada A., Kobayashi M., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 609–612 (1988).
- 49) Nakanishi T., Kobayashi M., Murata H., Inada A., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4148–4152 (1988).
- 50) Nakanishi T., Konishi M., Murata H., Inada A., Fujii A., Tanaka N., Fujiwara T., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 830–832 (1990).
- 51) Nakanishi T., Konishi M., Murata H., Inada A., Fujii A., Tanaka N., Fujiwara T., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2529–2533 (1991).
- 52) Inada A., Somekawa M., Murata H., Nakanishi T., Tokuda H., Nishino H., Iwashima A., Darnaedi D., Murata J., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 617–619 (1993).
- 53) Inada A., Konishi M., Murata H., Nakanishi T., *J. Nat. Prod.*, **57**, 1446–1449 (1994).
- 54) Inada A., Murata H., Inatomi Y., Nakanishi T., *J. Nat. Prod.*, **58**, 1143–1146 (1995).
- 55) Inada A., Ohtsuki S., Sorano T., Murata H., Inatomi Y., Darnaedi D., Nakanishi T., *Phytochemistry*, **46**, 379–381 (1997).
- 56) Inada A., Murata H., Inatomi Y., Nakanishi T., Darnaedi D., *Phytochemistry*, **45**, 1225–1228 (1997).
- 57) Inada A., Shono K., Murata H., Inatomi Y., Darnaedi D., Nakanishi T., *Phytochemistry*, **53**, 1091–1095 (2000).
- 58) Inada A., Akiba T., Murata H., Inatomi Y., Nakanishi T., Darnaedi D., *Nat. Med.*, **56**, 147–149 (2002).
- 59) Inada A., Iwahashi S., Yamaguchi I., Inatomi Y., Murata H., Nakanishi T., Darnaedi D., Nishino H., Tokuda H., *Nat. Med.*, **52**, 364–367 (1998).
- 60) Inada A., Sorano T., Murata H., Inatomi Y., Darnaedi D., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 1226–1228 (2001).
- 61) Inada A., Yamada M., Murata H., Kobayashi M., Toya H., Kato Y., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 4269–4274 (1988).
- 62) Nakanishi T., Tanaka K., Murata H., Somekawa M., Inada A., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 183–186 (1993).
- 63) Inada A., Murata H., Somekawa M., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 3081–3083 (1992).
- 64) Inada A., Murata H., Tanaka K., Somekawa M., Nakazawa T., Nishi M., Nakanishi T., *Shoyakugaku Zasshi*, **47**, 301–304 (1993).
- 65) Kohama Y., Matsumoto S., Mimura T., Tanabe N., Inada A., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 2484–2489 (1987).
- 66) Nakanishi T., Nishi M., Inada A., Obata H., Tanabe N., Abe S., Wakashiro M., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 1772–1774 (1990).
- 67) Aibara S., Mori M., Tsubokawa M., Iwamoto T., Tsukada W., *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **98**, 146–152 (1992).
- 68) Tanaka N., Yamauchi K., Murakami T., Saiki Y., Chen C.-M., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 3632–3639 (1982).
- 69) Nakanishi T., Inatomi Y., Nishi M., Murata H., Inada A., Aibara S., *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 2256–2260 (1995).
- 70) Nakanishi T., Inatomi Y., Nishi M., Murata H., Inada A., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 8–12 (1997).
- 71) Inatomi Y., Inada A., Murata H., Nishi M., Nakanishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1930–1934 (2000).
- 72) Nakanishi T., Inada A., Murata H., Iinuma M., Tanaka T., Yamamoto H., Kato M., Mizuno M., Nakane H., Ono K., Lang F. A., Murata J., *Shoyakugaku Zasshi*, **47**, 295–300 (1993).
- 73) Nakanishi T., Nishi M., Somekawa M., Murata H., Mizuno M., Iinuma M., Tanaka T., Murata J., Lang F. A., Inada A., *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 2251–2255 (1994).
- 74) Yoshida T., Ito H., Hatano T., Kurata M., Nakanishi T., Inada A., Murata H., Inatomi Y., Matsuura N., Ono K., Nakane H., Noda

- M., Lang F. A., Murata J., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 1436–1439 (1996).
- 75) Ito H., Nishitani E., Hatano T., Nakanishi T., Inada A., Murata H., Inatomi Y., Matsuura N., Ono K., Lang F. A., Murata J., Yoshida T., *Nat. Med.*, **55**, 218 (2001).
- 76) Nakanishi T., Murata H., Inatomi Y., Inada A., Murata J., Lang F. A., Yamasaki K., Nakano M., Kawahata T., Mori H., Otake T., *Nat. Med.*, **52**, 521–526 (1998).
- 77) Nakanishi T., Watabe K., The 5th Annual Report of the San-Ei Gen Foundation for Food Chemical Research, 125–131 (1999).
- 78) Nakanishi T., Watabe K., The 6th Annual Report of the San-Ei Gen Foundation for Food Chemical Research, 105–112 (2000).
- 79) Sakagami Y., Murata H., Nakanishi T., Inatomi Y., Watabe K., Iinuma M., Tanaka T., Murata J., Lang F. A., *J. Health Sci.*, **47**, 473–477 (2001).
- 80) Nakanishi T., Inatomi Y., Murata H., Iida N., Inada A., Lang F. A., Murata J., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 1358–1361 (2002).
- 81) Nakanishi T., Iida N., Inatomi Y., Murata H., Inada A., Murata J., Lang F. A., Iinuma M., Tanaka T., *Phytochemistry*, **65**, 207–213 (2004).
- 82) Nakanishi T., Iida N., Inatomi Y., Murata H., Inada A., Murata J., Lang F. A., Iinuma M., Tanaka T., *Heterocycles*, **63**, 2573–2580 (2004).
- 83) Inatomi Y., Iida N., Murata H., Inada A., Murata J., Lang F. A., Iinuma M., Tanaka T., Nakanishi T., *Tetrahedron Lett.*, **46**, 6533–6535 (2005).
- 84) Nakanishi T., Iida N., Inatomi Y., Murata H., Inada A., Murata J., Lang F. A., Iinuma M., Tanaka T., Sakagami Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 783–787 (2005).
- 85) Iida N., Inatomi Y., Murata H., Inada A., Murata J., Lang F. A., Matsuura N., Nakanishi T., *Chem. Biodiv.*, **4**, 32–42 (2007).
- 86) Nakanishi T., Inatomi Y., Arai S., Yamada T., Fukatsu H., Murata H., Inada A., Matsuura N., Ubukata M., Murata J., Iinuma M., Farrera M. A. P., Tanaka T., *Heterocycles*, **60**, 2077–2083 (2003).
- 87) Nakanishi T., Inatomi Y., Murata H., Shigeta K., Iida N., Inada A., Murata J., Farrera M. A. P., Iinuma M., Tanaka T., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 229–231 (2005).
- 88) Nakanishi T., Inatomi Y., Murata H., Ishida S., Fujino Y., Miura J., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 334–336 (2007).