

糖と係わって 40 年

竹田 忠 紘

Carbohydrate Study for 40 Years

Tadahiro TAKEDA

Division of Natural Medicines, Faculty of Pharmacy, Keio University, 1-5-30 Shibakoen,
Minato-ku, Tokyo 105-8512, Japan

(Received March 4, 2009)

This review describes the carbohydrate study and the natural product related to the glycoside chemistry. What shall the people in the field of pharmacognosy and natural products chemistry search in scene in future? Forty years before while isolating dimeric compound having naphthoquinonepyrone skeleton from the coloring material produced by the pathogen that hosted in wheat and caused rotten root disease, silica gel has to be treated with oxalic acid to reduce the absorbency before separation. However now a days, availability of reversed phase adsorbents for liquid chromatography has made the separation and isolation of complex compounds possible, easy and rapid. With the advancement of mechanical/physicochemical analytic methods, it has even been possible to isolate traces of compounds present in complex. This advancement has made it possible to determine structure of saponins and complex polysaccharides without decomposition and carry out in vitro bioassay at the same time using various cells on-line. Further, this review describes the oligosaccharide syntheses and biological activities of glycosphingolipids, focusing especially on those found in invertebrates.

Key words—natural product; glycoside; glycosphingolipid; invertebrate; glycocluster

1. はじめに

筆者にとっての生薬学・天然物化学への係わりは菌類代謝産物の構造研究，すなわち麦に寄生し根腐病を惹き起こす植物病原菌 *Fusarium culmorum* の産生する色素 aurofusarin (黄金色) (1), fuscofusarin (黄褐色) (2) の構造決定から始まった。

関連化合物である rubrofusarin (3) は 1961 年 Stout らによる X 線結晶構造解析により構造決定がなされており，¹⁾ naphthoquinonepyrone 骨格を有する二量体構造を有し，²⁻⁵⁾ これら (1, 2) の構造決定は UV, IR, 100 MHz ¹NMR 測定並びに Fremy's salt による酸化反応を利用した誘導体化により決定した (Fig. 1)。

その後，糖質への係わりに到達させたものは地衣水溶性多糖体，イワタケ (*Gyrophora esculenta*)

からの GE-3 (4),⁶⁻⁹⁾ キウメノキゴケ (*Flavoparmelia caperata*) からの PC-3 (5)¹⁰⁾ であった (Fig. 2)。

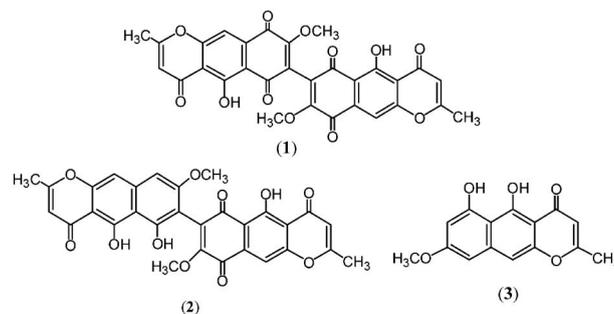


Fig. 1. Structures of Aurofusarin, Fuscofusarin and Rubrofusarin from *Fusarium culmorum*

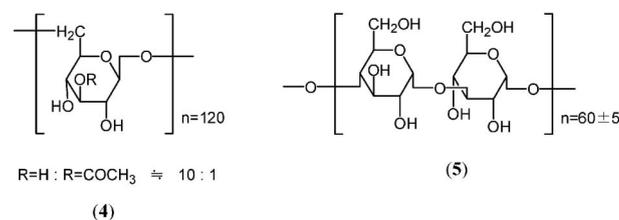


Fig. 2. Structures of GE-3 and PC-3

慶応義塾大学薬学部 (〒105-8512 東京都港区芝公園 1-5-30)

e-mail: takeda-td@pha.keio.ac.jp

本総説は，平成 20 年度退職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. 3. Selective β -glycosamidation Use of Phthalimido Derivative

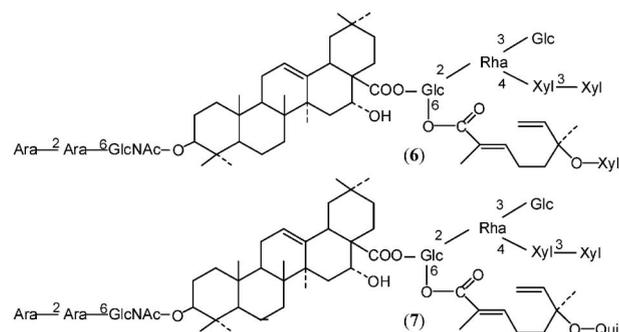
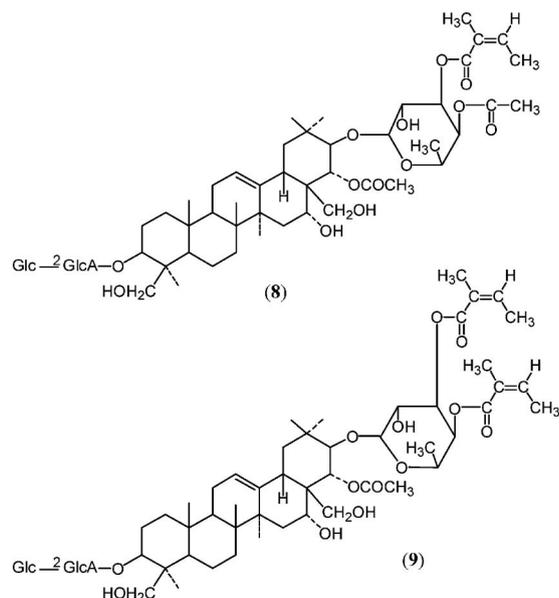
多糖研究を追求する中で,¹¹⁻¹³⁾ 基礎的な糖質化学研究の必要性を感じ、カナダ、アルバータ大学 Lemieux 教授の下で、糖合成の基礎を学び、フタルイミド誘導体によるアミノ糖の β 選択的グリコシデーション法を構築する中で¹⁴⁾ 低分子化合物と高分子化合物との接点を求め、合成的手段に基づくモデル化合物の合成へと向かった (Fig. 3).

一方、生薬との係わりは配糖体成分の検索という観点からの糖との係わりにあったと思われる。

2. 天然薬物有効成分の化学的研究

有用物質の探索と創製という見地から、幅広く新しい素材を求め、医薬素材の開発を目指し、生物活性成分の探索を進めてきた。

2-1. 配糖体成分 自然からの贈り物として、現在、待望されている医薬品の新規リード化合物の発見を目指して、メキシコにて抗マラリア、解熱剤として民間的に使用されているマメ科植物 *Calliandra anomala* の枝より calliandra saponin A (6), calliandra saponin B (7) 等の構造にみられるような *N*-acetylglucosamine, monoterpene acid 等を含むオレアナンタイプのビスデスモシド型サポニン A-O 15 種を (Fig. 4),¹⁵⁻¹⁸⁾ 古くは中国にて関節炎、小児夜尿症に効ありとされるムクロジ科植物、文冠果 *Xanthoceras sorbifolia* の果実より、*D*-fucose, angeloyl 基を含む bunkanka saponin A (8), bunkanka saponin B (9) 等のサポニン、並びに変換体、非糖部等 16 種を (Fig. 5),¹⁹⁻²³⁾ 月経不順、呼吸器感染症に効ありとされるヤブコウジ科植物 *Ardisia mamillata* の根より ardisiamamilloside C (10), E (11) 等 8 種を (Fig. 6),²⁴⁻²⁶⁾ 葉は kudingcha として飲用されているモチノキ科、タラ葉 *Ilex latifolia* の樹皮より五環性トリテルペノイドサポニン latifoloside I (12) 等 12 種を得た (Fig. 7).²⁷⁻²⁹⁾ メキシコ産、アカテツ科植物 *Calocarpum sapota* の種子より、青酸配糖体関連化合物 lucumin (13), lucuminamide (14), lucuminic acid (15) を (Fig.

Fig. 4. Components of *Calliandra anomala*Fig. 5. Components of *Xanthoceras sorbifolia*

8),³⁰⁾ 強精、強壯剤として用いられるメギ科植物、キバナイカリソウ *Epimedium koreanum* より、epimedin K (16), epimedin I (17) 等のフラボノイド配糖体を (Fig. 9),³¹⁻³⁶⁾ 中国産 *Panax ginseng* より ginsenoside Rh₈ (18) 等 (Fig. 10)³⁷⁻⁴¹⁾ 同じく中国産の *Platycodon grandiflorum*,⁴²⁻⁴⁴⁾ より platycoside B (19) をはじめ多くのサポニンの単離構造決定を行った (Fig. 11). さらには四川省産 *Curcuma*

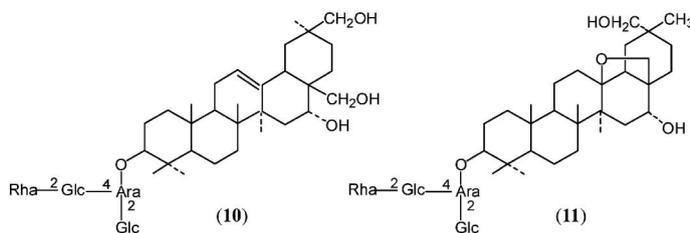
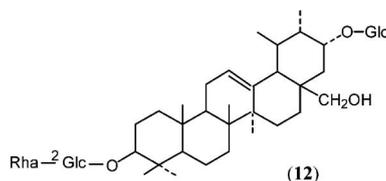
Fig. 6. Components of *Ardisia mamillata*

Fig. 7. Structure of Latifolloside I

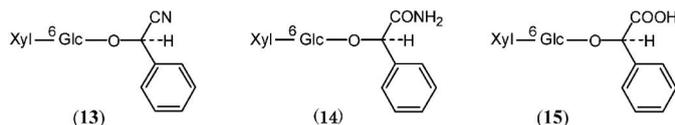
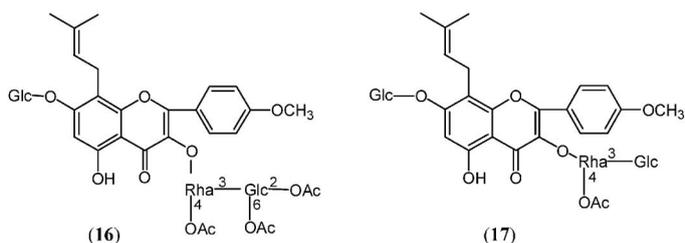
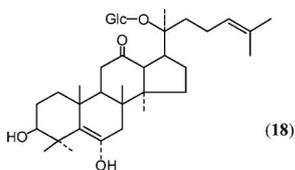
Fig. 8. Components of *Calocarpum sapota*Fig. 9. Components of *Epimedium koreanum*

Fig. 10. Structure of Ginsenoside Rh8

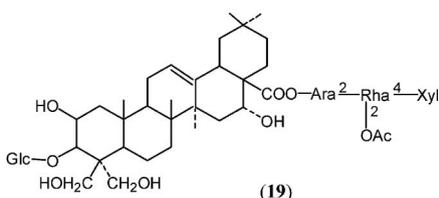
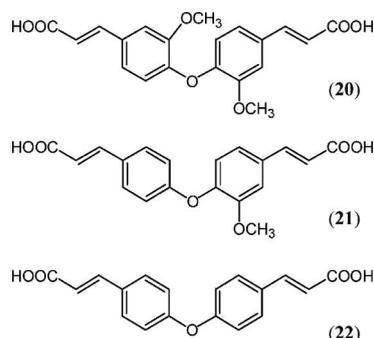
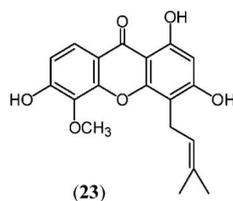


Fig. 11. Structure of Platycoside B

chuanyujin より, 1-feruloyloxy-2-methoxycinnamic acid (20), 1-feruloyloxy cinnamic acid (21), 1-*p*-hydroxycinnamoyl cinnamic acid (22) 等を (Fig. 12)⁴⁵⁾ タイ産バンレイシ科植物 *Anaxagorea luzonensis*⁴⁶⁻⁴⁹⁾ の心材より 1,3,6-trihydroxy-5-methoxy-4-prenylxanthone (23) を含め数種のキサントン化合物を単離, 構造決定した (Fig. 13). その他 20 数種の植物素材より, サポニン,⁵⁰⁻⁶¹⁾ フラボノイド,^{62,63)} イリドイド,^{64,65)} リグナン⁶⁶⁻⁷²⁾ 等の配糖体 100 数種に及ぶ新規化合物の構造決定を行った.

2-2. 植物タンパク質 植物タンパク質の医薬品への応用開発として, キカラスウリ (*Trichosanthes kirilowii* var. *japonicum*) の根に存在する高塩

Fig. 12. Components of *Curcuma chuanyujin*Fig. 13. Component of *Anaxagorea luzonensis*

DVSFRLSGATSSSYGVFISNLRKALPYERK
 LYDIPLLRSTLPGSQRYALIHLTNYADETI
 SVAIDVTNVYVMGYRAGDTSYFFNEASATE
 AAKYVFKDAKRKVTLPYSGNYERLQIAAGK
 IRENIPGLPALDSAITTLFYFNANSAASA
 LMVLIQSTSEAAARYKFIEQQIGKRVDKTFL
 PSLAIISLENSWSALSQKIQIASTNNGQFE
 TPVVLINAQNRVTTITNVDAGVVTSNIALL
 LNRNNMA

(24)

Fig. 14. Amino Acid Sequence of Karasurin A

基性タンパク質 Karasurin-A (24) (Fig. 14), B を単離精製し, Karasurin-A を選択的化学分解, 酵素分解により, その全一次構造解析を行ったところ, 分子量 28000 の本タンパク質は N 末が Asn で C 末端には Met-OH と Met-Ala-OH というように, Ala が付加したものが 1 : 4 の割合で存在する, すなわち 2 分子種が混在していることが判明した. また 246 (247) 個の全アミノ酸配列を決定した.⁷³⁻⁷⁷⁾ これらは墮胎作用及びタンパク質合成阻害活性に基づく種々の腫瘍細胞 (Bewo) に対し増殖阻害効果を示した.⁷⁸⁾

2-3. 生物活性を有するアントシアニン含有食品成分 近年, 食品あるいは植物製剤由来の成分が薬物代謝酵素に対して様々な影響を及ぼすことが問題となっており, 薬物代謝反応において, 硫酸転移酵素は薬物に高極性置換基を結合することによって

水溶性を高め有害物質の排出をする一方, ある条件において化合物を代謝活性化することにより発がん物質へと誘導することが知られている.⁷⁹⁾ そこで, ヒト小腸における薬物代謝モデル系としてヒト結腸がん由来細胞株 Caco-2 を用いた薬物の抱合反応に対する影響について検討を行い, 食品及び民間薬として用いられる天然物を素材として, 食品由来の薬物代謝酵素に影響を及ぼす成分の探索を行った. 薬物が生体内に取り込まれると, 肝臓やその他の組織で薬物代謝酵素により, 酸化, 還元, 加水分解等の第 I 相反応を受け, さらに第 II 相反応において, 転移酵素の触媒により, グルクロン酸, 硫酸, グルタチオン, 酢酸等と抱合して水溶性化合物に変換され, 体外へ排泄される. 第 II 相反応における転移酵素の 1 つに硫酸転移酵素 (Sulfotransferase; SULT) があり, SULT はアミノ酸配列により SULT1, SULT2 に大別され, SULT1 ファミリーはその基質特異性の違いからフェノール硫酸転移酵素 (P-ST) とエストロゲン硫酸転移酵素 (E-ST) に分類される. 硫酸転移酵素は肝臓, 腎臓, 腸管, 肺, 血小板, そして脳などに広く分布しており, 補因子として PAPS (3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate) を必要とし, PAPS から様々なアクセプターに硫酸基の転移を行い, 硫酸抱合体を生成する酵素である.⁸⁰⁾

われわれは食品中に広く存在する色素化合物の一種であるアントシアニンに着目し, 薬物代謝第 II 相反応, 特にフェノール硫酸転移酵素 (P-ST) に対する影響について検討した.

アントシアニン系色素を含有する食品類として野菜類 (紫キャベツ, 紫イモ, ナス, 赤ダイコン, 赤ジソ, 赤バジル), 穀類 (黒米, 黒豆, 紫トウモロコシ), 果実類 (コンコードグレープ, ブルーベリー) 等 10 数種の食品から 30 種以上のアントシアニンを単離した. 例えば, 紫イモを例にとると, 0.1% TFA 含有 MeOH にて抽出し (Fig. 15), HPLC にて分取することによりペオニジンをゲニンとする各種のアントシアニンを得た.

マウス小腸由来フェノール硫酸転移酵素に対する阻害活性並びにヒト結腸がん由来細胞株 Caco-2 を用いた薬物の抱合反応に対する影響について検討を行った. なお, 活性測定に使用した主な食品由来化合物は Fig. 16 に示すものであり, P-ST 活性に対

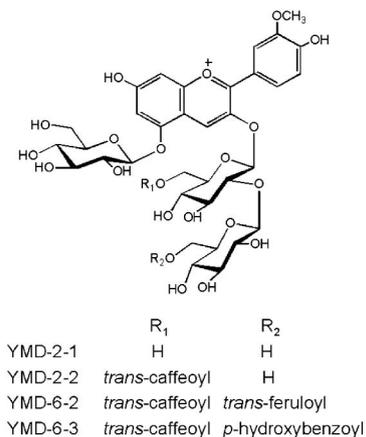


Fig. 15. Components of Yamagawamurasaki

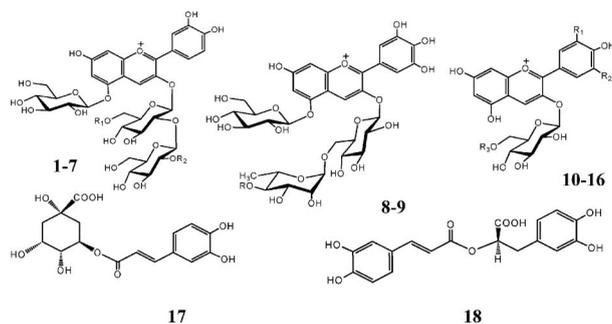
化合物 1-7:紫キャベツ、8,9,17:ナス、10-15:コンコードグレープ、
10:黒米及び黒豆、10,16:紫トウモロコシ、18:バジル

Fig. 16. Components (1-18) of Different Foods

し、すべての化合物が阻害活性を示した (Fig. 17). Caco-2 細胞における抱合反応の阻害効果についても P-ST 阻害活性と同様に単純な構造のアントシアニンに強い阻害効果が認められた (Fig. 18).⁸¹⁾

ザクロ、甜茶においても同様に硫酸抱合の阻害が認められ、その活性成分が *punicagin* 等の加水分解型タンニンであることが明らかとなった。⁸²⁾

アロニア果汁及び果実より単離した *quercetin* 並びにその配糖体成分に E-ST 阻害活性が認められた。

「薬食同源」の理念の基、21 世紀における生薬研究の新たな分野として機能性食品の新しい評価法でもあるニュートリゲノミクス⁸³⁾を含め「食品薬学」がさらに発展することが期待される。

2-4. ネパール産プロポリス プロポリスは蜜蜂が生活形態の中で種々の幹からの滲出物、芽、花の蜜等を集め形成する樹脂状の生薬であり、古来より抗菌、解熱等に民間的に使用されており、サプリメントとしての要素も強い (Fig. 19). HPLC にて

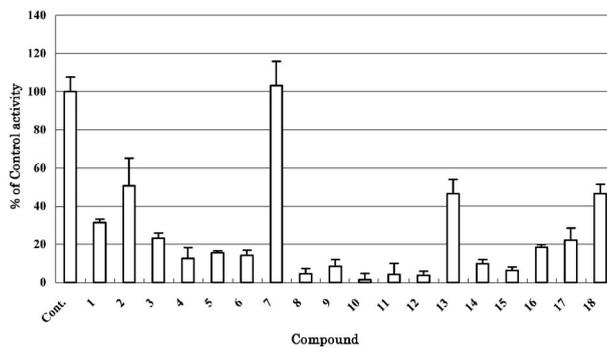


Fig. 17. Effects of Compounds 1-18 on Conjugation Reactions in Caco-2 cells

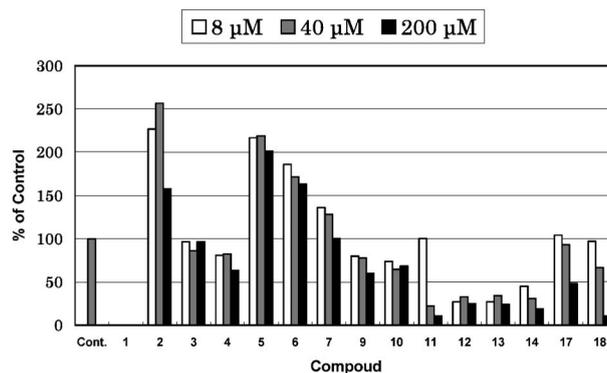


Fig. 18. Inhibitory Effects of Compounds 1-18 on P-ST Activity of Caco-2 cells

ネパール各地、すなわち Chitwan, Dang, Naryanghat, Jugadi, Kathmandu 各地のプロポリスの成分比較を行った結果 (Fig. 20), Kathmandu を除き他地区の成分は Chitwan と非常に類似しており、^{84,85)} 蜜蜂生息地域の植生に影響されることが判明するとともに、Kathmandu 産プロポリスの成分は 9 種の既知化合物を含めケイヒ酸誘導体が主要成分であることが判明した。

一方、Chitwan 産プロポリスの NO 産生抑制作用並びに ABC トランスポーターへの影響について検討したところ Chitwan 産プロポリスの主要な構成成分であるマメ科植物 *Dalbergia sissoo* 滲出物中に含有される成分を含め、開環型ネオフラボノイドを含む新規 13 種のフラボノイド類の構造を決定するとともに、50 種近くの化合物を同定した。LPS 誘発マウス由来 macrophage 様細胞株 J774.1 を用いての NO 産生抑制作用は化合物 2, 23, 42, 43, 45, 48 に強い活性が認められた。⁸⁶⁾

ヒト白血病細胞 (human leukemia K562 cells) を

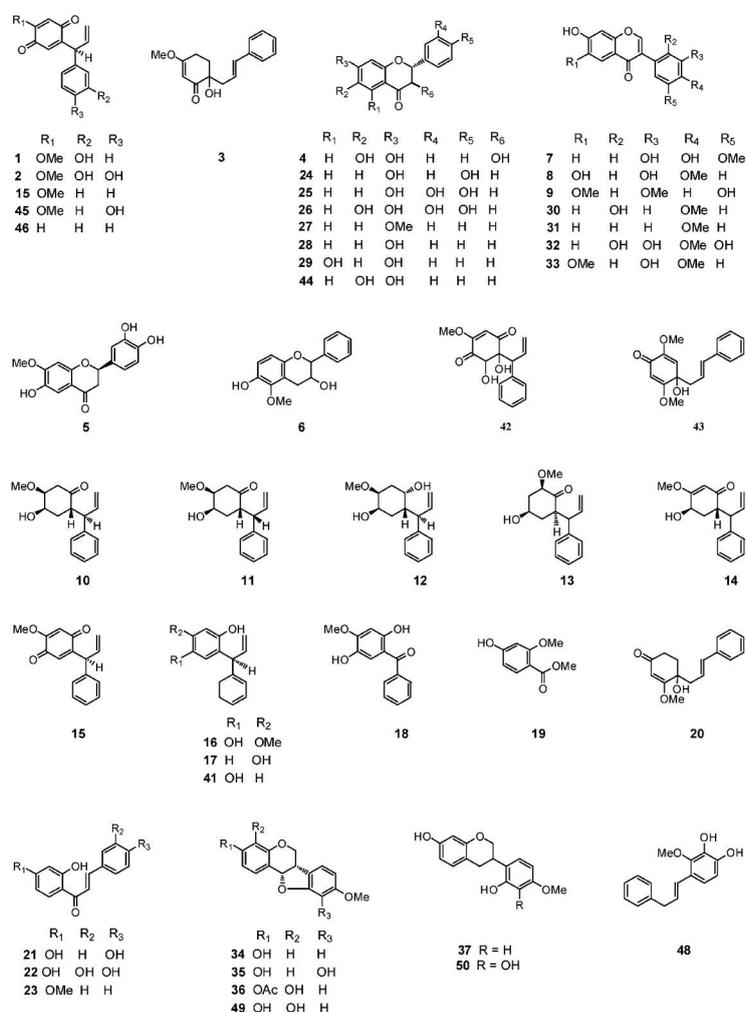
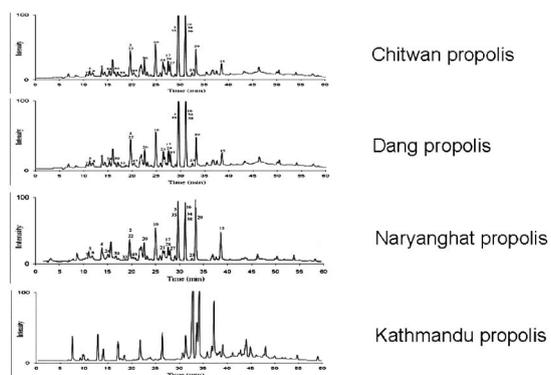
Fig. 19. Compounds Isolated from Trunk Exudates of *Dalbergia sissoo*

Fig. 20. HPLC Chromatograms of Nepalese Propolis

用い、⁸⁷⁾ その基質抗がん剤であるイリノテカンの代謝物 (SN-38) の細胞増殖抑制作用に対する BCRP の薬物排出機能の阻害を検討した結果、30種の化合物のうち、11, 22, 25, 34, 46の5種の化合物に比

較的強い阻害活性を認めた。

2-5. シソ科薬用植物の成分 近年、活性酸素、フリーラジカルに起因する生体の損傷が注目され、がん、動脈硬化、炎症、糖尿病などの種々の疾患や老化の進行への関与が明らかとなりつつあり、これらの病態の代謝過程において発生する活性酵素やフリーラジカルを有効かつ確実に制御することができれば各種疾患の治療や予防あるいは病態メカニズムの解明に役立つのではないかと考えられる。生理活性物質探索研究の一環としてラジカル消去活性を指標とし、主としてシソ科薬用植物の成分検索を行った。

DPPH ラジカル消去活性を指標とし、アフリカ原産の多年草 *Plectranthus nummularius* からは、アビエタンタイプのジテルペノイド plectranthol A (1), B (2) を (Fig. 21)⁸⁸⁾ 熱帯アフリカ原産の一年

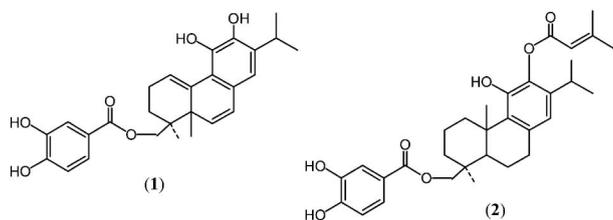
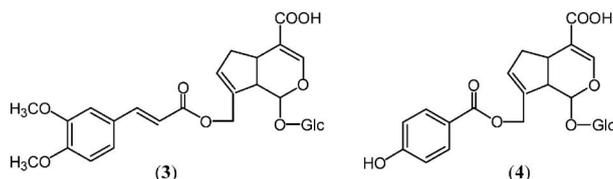
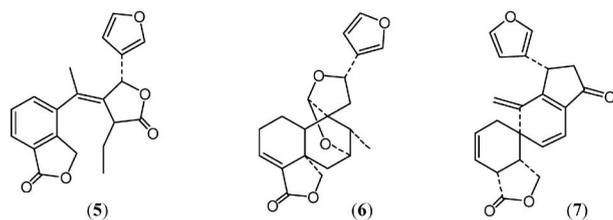


Fig. 21. Structures of Plectranthol A and B

Fig. 22. Components of *Leonotis nepetaefolia*Fig. 23. Components of *Salvia* Species

草 *Leonotis nepetaefolia* からはイリドイド配糖体 10-*O*-(*trans* and/or *cis*-3,4-dimethoxycinnamoyl) geniposidic acid (3), 10-*O*-(*p*-hydroxy benzoyl) geniposidic acid (4) を (Fig. 22),^{89,90} サルビア属植物 *Salvia fulgens*,⁹¹ *S. leucantha*⁹² からは, ネオクレロダントタイプのジテルペノイド salvifulgenolide (5), *trans*-1,2-dihydrosalvifaricin (6) 等を, 後者からは, spiroleucantholide (7) 等を, *S. miltiorrhiza* (丹参) からはアビエタンタイプのジテルペノイド 16 種の化合物を単離同定した (Fig. 23).

3. 多糖体

かつては, 一般的ながんの化学療法剤の多くは, がん細胞を直接攻撃 (cytotoxic reaction) することを意図したもので, 宿主である生体に対する一般毒性が強く, がんに対する生体固有の抵抗力を人工的に増強させる医薬品の開発研究の進展も望まれていた. このような研究方向の一環として, 抗腫瘍性多糖体の研究があり, これは, 宿主を介する間接的な作用 (host-mediated reaction) により, 抗腫瘍性

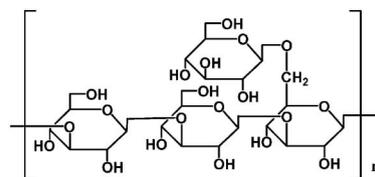


Fig. 24. Structure of Schizophyllan

を発現するものと考えられていた. これら, 多糖体の作用機序は, 動物, 人の生体が持っている免疫能を賦活化すると考え, まず, マクロファージを活性化し, 各種免疫担当細胞が活性化され, インターロイキンなどサイトカイン様の各種細胞因子が放出され, 腫瘍細胞を攻略することにつながり, 最終的に生体の恒常性維持機構に基づく免疫賦活メカニズムによると思われる. 古くは, Nauts,⁹³ Shear⁹⁴ 等の広範囲な研究に源を発し, 下等植物, 高等植物, 真菌類, 微生物, 酵母, 地衣類などから得られた多糖体についての多くの報告がある.⁹⁵ 1960年代後半にその研究の1つのピークがあり, がんに対して有効とされてきた民間伝承薬の検討に基づき, 担子菌類サルノコシカケ科のカワラタケ *Coriolus versicolor*,⁹⁶ 食用でもあるシイタケ *Lentinus edodes*,⁹⁷ キシメジ科のスエヒロタケ *Schizophyllum commune* の培養液から得られた多糖体⁹⁸等があり, 経口投与による有効性が認められ, クレスチン (PSK・krestin) は化学療法剤との併用により散剤として胃, 直腸がん, レンチナン (lentinan) は, テガフルとの併用で静注薬として胃がん, シゾフィラン (schizophyllan) (Fig. 24) は放射線療法との併用により子宮頸がん臨床応用されている. レンチナン, シゾフィラン等は β -1,3 グルカンが主要構造であり, 右巻き三重螺旋構造を有している.

3-1. 抗腫瘍活性を有する地衣水溶性多糖体

各種地衣類の熱水抽出画分水溶性多糖体に Sarcocoma-180 に対する顕著な腫瘍成長阻止作用を示すことをみだし (Fig. 25),^{6,12} 中でも食用ともなる *Gyrophora esculenta* (イワタケ) の活性本体 GE-3 はエタノール沈殿画分を凍結-溶解法で精製するだけで極めて容易かつ好収率 (10%) で粉末状物質として単離でき, GE-3 は β 1-6 結合のみからなる直鎖状グルカンで重合度 120 よりなり, 分子内に 2% のアセチル基をグルコース残基の 3 位に有する pustulan 型グルカンであることが判明した.⁶⁻⁸ これら β 1-

Sample	Dose mg/kg x day	Inhibition Ratio(%)	Complete Regression
<i>Acroscyphus sphaerophoroides</i>	200x10	93.0	5/10
<i>Cetraria islandica</i>	200x10	100.0	10/10
<i>Gyrophora esculenta</i>	150x10	93.7	4/10
<i>Lasallia papulosa</i>	200x10	98.4	9/10
<i>Parmelia caperata</i>	200x10	82.7	5/10

Fig. 25. Effect on Sarcoma-180 of Crude Polysaccharide Preparations from Five Species of Lichens

6 グルカンはいワタケと近縁の地衣 *Lasallia papulosa*, *Umbilicaria angulata*, *U. caroliniana*, *U. polyphylla* 等にも含有されていた。⁹⁾ また、一属一種よりなる *Acroscyphus sphaeropholoides* より α 1-3, α 1-4, α 1-6 よりなる acroscyphan を得た。^{11,13)} なお、*Cetraria islandica* には、 β -グルカンである lichenan, α -グルカンである isolichenan が含有されていることはよく知られている。⁶⁾

これらは 40 年後の今、妙なところから甦り、注目を集め現時点での研究に結び付いた。

3-2. カイコを用いた自然免疫促進活性の評価

関水らは、⁹⁹⁾ カイコの筋収縮を指標とした系で GE-3 が自然免疫を活性化し、筋収縮を引き起こすこと (Fig. 26), バキュロウイルスによるカイコの感染死に対する治療効果を示した。

今後、免疫賦活剤と認識分子としての Toll-like receptor (TLR) との係わりを明確にする中で、がん自然免疫療法の可能性が期待される。

3-3. LTP (long-term potentiation) 長期増強作用

動物がものを学習・記憶するとき、大脳辺縁系の海馬では、LTP (long-term potentiation・長期増強) と呼ばれるシナプスの可塑性がみられる。近年、動物実験により海馬における LTP が記憶形成の基礎メカニズムである可能性が齊藤らにより指摘され、¹⁰⁰⁾ LTP を促進させる物質が老人性痴呆治療薬のターゲットとしても注目されている。活性測定法は、LTP の誘発にあたり、それ自身では LTP を誘発し得ない程度のしきい値下のテタヌス刺激 (60 Hz, 30 発) を貫通繊維に与えシナプス応答の変化を 60 分間観察し誘発電位値を測定したものである。

Cetraria islandica より得た α -グルカンである isolichenan には、顕著な LTP 増大作用が認められ

検体	比活性 ^a (units/mg)
GE-3	28 \pm 7
メカブフコイダン	14 \pm 5

^a Contraction value (収縮値) = 0.15 を 1 unit と定義

Fig. 26. Contraction Values of GE-3

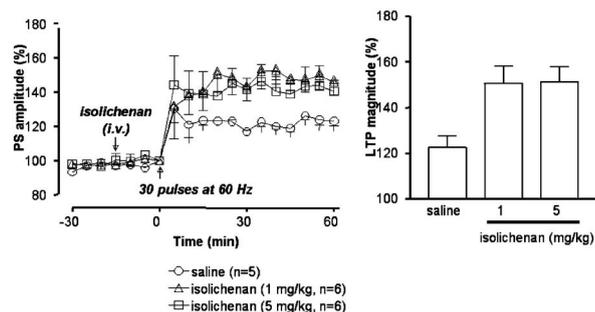


Fig. 27. Optimal Timing of Injection of Isolichenan to Enhance LTP

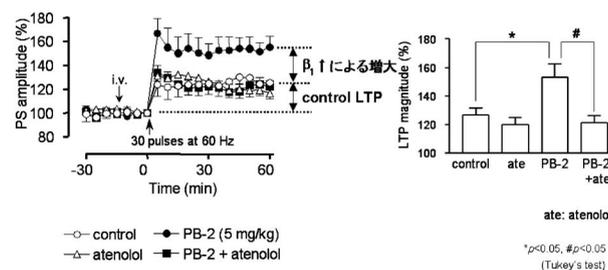


Fig. 28. Optimal Timing of Injection of PB-2 to Enhance LTP

(Fig. 27), 日本産キウメノキゴケ (*Flavoparmelia caperata*), 北米産キウメノキゴケ (*F. baltimolensis*) の冷水可溶部 PC-2 と PB-2 にも顕著な LTP 増強活性が認められた。¹⁰¹⁻¹⁰⁵⁾ 拮抗薬であるアテノロールを加えると LTP 強度が減少することはアドレナリン β_1 受容体が活性化されノルエピネフリン様シグナル伝達を介し、中枢の受容体を活性化し、LTP 増強を促すものと推測される (Fig. 28)。

3-4. 抗 HIV 活性を有する多糖体 「すくも」とは徳島県を中心に伝統的に伝わる染料で、タデアイの葉の発酵物であり、その水溶性画分に抗 HIV 活性があり、これはウイルスのエンベロープタンパクと宿主細胞表面上のレセプターを介して細胞内に進入する過程を阻止することにより認められると山本らは提唱している。¹⁰⁶⁾ このものを β グリコシダーゼ酵素処理し、その高分子画分に活性が認めら

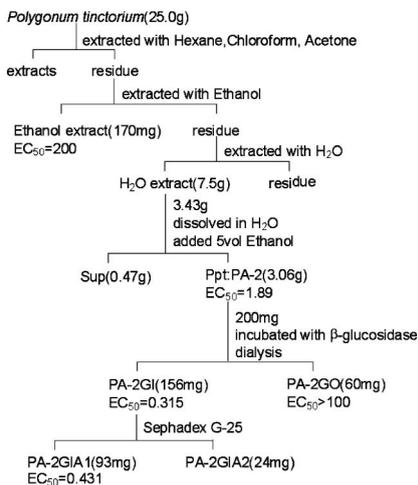


Fig. 29. Flow Diagram of the Fractionation of *Polygonum tinctorium*

PA-2GIA1の糖部分

	構成糖					
	Rha	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc
PA-2GIA1	0.7	5.3	1	0.8	2.7	1.2

PA-2GIA1のタンパク部分

分子量 6万 Ser-Ala-Pro-Val-Ser-Asp-Ile-Phe-Phe-Tyr-Gly-Thr...

分子量 1.4万 Ala-Glu-Pro-Phe-His-Asp-Asn-Ala-Phe-Leu...
Ser-Gln-Thr-Pro-Ser-Pro-Val-Asp-Leu-Ala...

Fig. 30. Component Sugar Residue and Protein Sequences of PA-2GI A1

れ (Fig. 29), アラビノガラクトン様の糖タンパク質が活性本体であることが推測された (Fig. 30). 生のタデアイについても検討したところ活性が認められた.

3-5. その他の多糖体の構造研究及び生物活性

インドセンダン *Melia azadirachta* の樹皮より抗腫瘍活性を有する多糖体としてヨード呈色反応陽性 (青緑色) の arabinoglucan (α -1,4 結合グルコース 5 ユニットにアラビノフラノースがグルコースの 6 位にて分岐) が得られ¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾ そのモデル化合物 6 糖を合成した.^{110,111)} 抗炎症作用を有する arabinofucoglucan (α -1,4 結合のグルコースを主鎖とし 6 位に α -L-アラビノフラノース, β -L-フコピラノースが分岐) をも併せ得た.^{112,113)}

皮膚糸状菌 *Trichophyton mentagrophytes*, *Epi-dermophyton floccosum* より α -1,6 結合のマンノピ

オースに 2 位にて分岐した三糖ユニットの繰り返し単位を有するマンナンを単離構造決定するとともにそのモデル化合物三糖の合成を行った.^{114,115)}

さらにハマジシャ *Tetragonia tetragonoides* 多糖に抗炎症活性が認められた.¹¹⁶⁾

4. 細胞表層に存在する複合糖質のモデル合成とその応用

核酸, タンパク質とともに生体高分子の第 3 の鎖である糖鎖は, その種類の多さ, 多様さが特徴的であり, 糖鎖が含む潜在的情報量が前 2 者と比較し圧倒的に多い. ヒトゲノム解析が終了し, ポストゲノム時代を迎えた今, 糖鎖科学の発展に注目が集まっており, 糖タンパク質, 糖脂質, プロテオグリカン等複合糖質の構成成分として生体内で多種多様な分子群を形成している.

近年, 植物, 動物を問わず, 接着, 分化, がん化, 免疫等の重要な役割, さらには細胞の認識に係わる現象に様々な形で, 細胞表層糖鎖が関与することが示唆されており,¹¹⁷⁾ 複合糖質の糖鎖の担う生物機能を解明するため, その素材を 1) 腎糸球体基底膜に存在し, 腎炎惹起活性を有する糖ペプチド, 2) 植物病原菌由来のエリシター活性糖タンパク質, 3) キシャヤスデ等多くの無脊椎動物中に含有される糖脂質, 4) 漢薬柴胡中に含有される多糖体に求めた. これらの複合糖質のモデル合成, あるいは全合成を行うことにより, 糖鎖及び糖鎖複合体の高次構造を明らかにすることは基より, 機能性糖鎖や糖鎖プローブの合成を経て, 活性発現最小単位を含む機能性分子の設計という創薬プロセスを展開した.

4-1. 腎炎惹起物質ネフリトジェノシド 正常ラット腎糸球体基底膜から抽出単離された糖ペプチド (ネフリトジェノシド) は, 同種動物に 1 回注射するだけで腎炎を引き起こし, 6-8 ヶ月後には慢性腎炎に至らせる力を有すると言われていたため, ネフリトジェノシド腎炎は慢性糸球体腎炎の治療法の開発のための実験モデルというばかりでなく, その発症機序の解析に有用であると思われた. しかしこの物質は 150 匹のラットから 3-4 mg しか得られない微量物質であり, かつ精製が困難であるため, 大量に合成品を調製しない限り広範な腎炎の研究を進めることは困難であった. この有効な糖ペプチドの構造について, グルコースのみからなる三糖部分が 21 個のアミノ酸よりなるペプチド部分とアスパラ

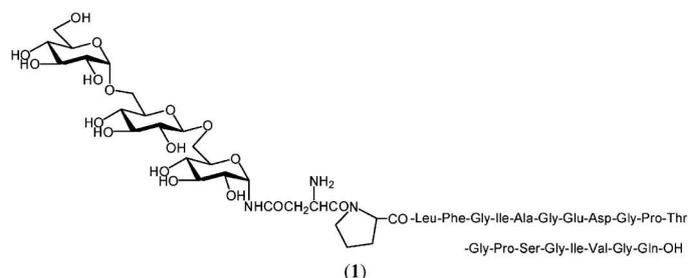


Fig. 31. Structure of Nephritogenoside

ギンを介して α -N-グリコシド結合した珍しい直鎖型の糖ペプチドであると報告した。¹¹⁸⁻¹²³⁾

三糖グリコシルアジドをグリコシルアミン体とし、ジペプチドであるアスパラギンプロリンと縮合させ、^{124,125)} 三糖- α -ジペプチド体とした後、^{126,127)} アジド法にて固相合成にて調製したノナデカペプチドと縮合させ、目的とするネフリトジェノシド (1) の合成に成功した (Fig. 31).¹²⁸⁻¹³¹⁾

4-2. エリシター活性を有する糖ペプチドのモデル合成 植物において病原菌の感染に際して生体防御系が動員され、種々の抗菌性物質を生産することはよく知られている。病原糸状菌の一種であるエンドウ褐紋病菌 *Mycosphaerella pinodes* の感染に対してエンドウが動員するファイトアレキシンはピサチンであり、糸状菌分生芽胞から発芽中に媒介体分泌される糖タンパク質がピサチンの生成、蓄積を誘導するエリシターの1つであることが見い出され、分子量130万、糖とアミノ酸の比率は1:3で、Glc-Man-Manの三糖部分がセリンを介し、O-グリコシド結合した構造であることが報告された。エリシター活性体とエンドウ葉細胞のレセプターとの構造-活性相関を明らかにするために最小の分子構造を有するエリシター活性体を見出すことを目的とし、最小単位である三糖-セリン縮合体 Glc β 1-6Man α 1-6Man α 1-Ser、三糖-セリンプロリン縮合体 Glc β 1-6Man α 1-6Man α 1-Ser-Pro (2) を合成した。¹³²⁻¹³⁴⁾ 一方、サプレッサー (3) の合成をも併せ行い、¹³⁵⁾ 白石らの下で検定が行われた (Fig. 32).¹³⁶⁾

4-3. 無脊椎動物由来糖脂質の合成 動物界の系統樹にみられるよう (Fig. 33)、無脊椎動物由来糖脂質の合成に関しその機能面、生物活性面に興味を持ち、実線で示した部分の動物に含有される化合

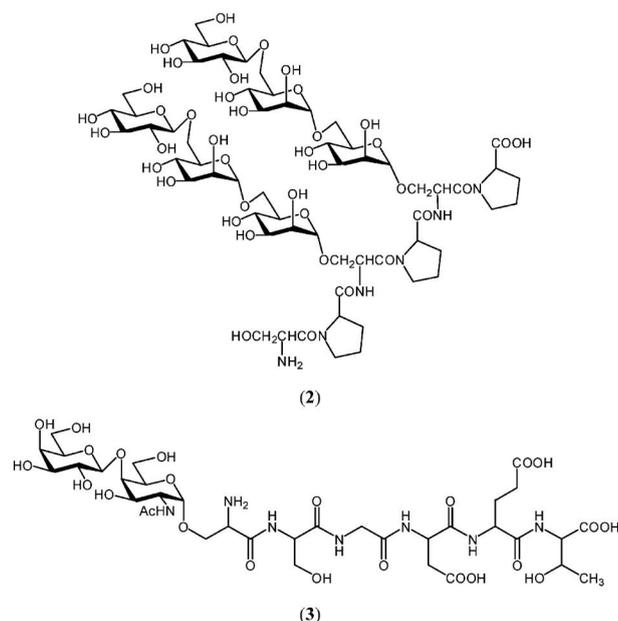


Fig. 32. Structures of Synthetic Glycopeptide Having Elicitor Activity and Suppressin B

物の合成を行った (Fig. 34).

4-3-1. 二枚貝精子表層成分糖脂質の糖鎖部分八糖 基本的な生命現象に深く関与している複合糖質中、多彩な生理機能を担うガングリオシドの相応物質として淡水産二枚貝の一種イケチヨウガイ *Hyriopsis schlegelii* の精子より杉田ら¹³⁷⁾により得られた酸性糖脂質 Lipid IVの糖鎖部分の合成を行った。¹³⁸⁻¹⁴¹⁾ 非還元末端三糖誘導體であるチオグリコシド体を糖供与体とし、還元末端五糖受容体とDMTSTで縮合し八糖誘導體とし、順次脱保護することにより合成した。¹⁴²⁻¹⁴⁵⁾ この八糖は7種類の単糖からなり、8種類のグリコシド型のうち6種類までを有しており、現在までに合成されたオリゴ糖の中で非常に複雑な構造を有するものの1つであった (Fig. 35).

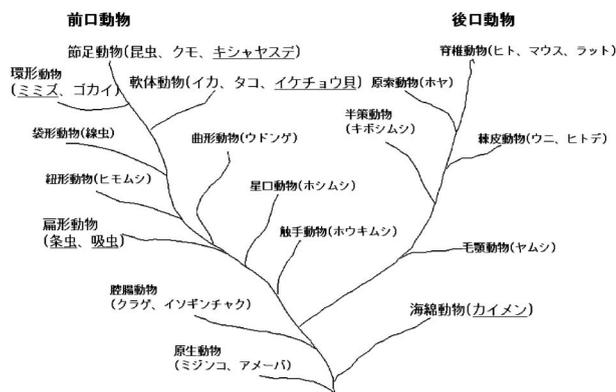


Fig. 33. Animal Family Tree

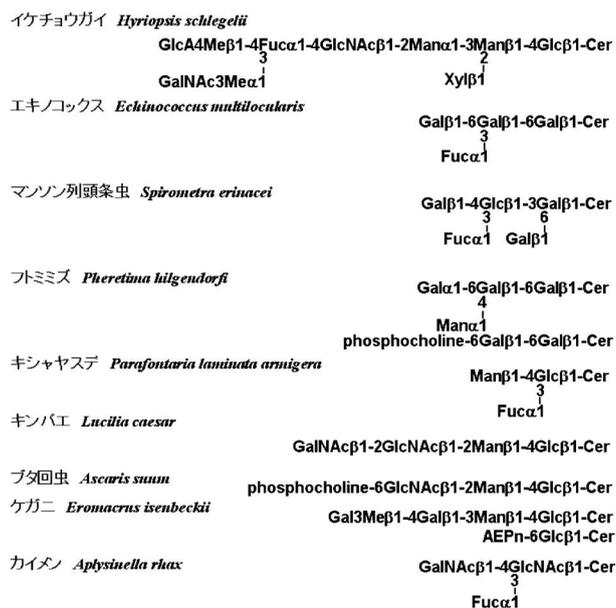


Fig. 34. Target Compounds from Various Invertebrate Species

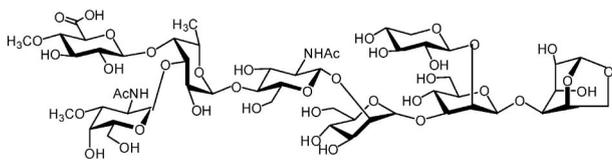


Fig. 35. Structure of Carbohydrate Moiety of Lipid IV

合成八糖は天然の Lipid IV を加水分解して得られた八糖と同様の活性を示した。¹⁴⁶⁾

4-3-2. 節足動物キシヤヤステに含有される糖脂質 8年に一度大発生すると言われる節足動物門の倍脚類に属するキシヤヤステ (*Parafontaria laminata armigera*) の糖脂質に焦点を合わせ、¹⁴⁷⁾ フ

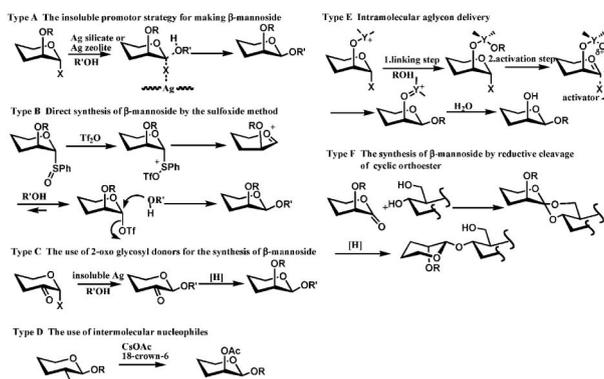


Fig. 36. Type of β -mannosidation

コシル基を持ち、また、糖合成の中で最も難しいとされている β マンノシド結合を有している新規化合物である $\text{Man}\beta\text{1-4}(\text{Fuca}\alpha\text{1-3})\text{Glc}\beta\text{-Cer}$ の合成を行った。これまでに多くの糖化学者がこの β -マンノシド結合構築を目指してきた。主な方法としては、1) $\text{S}_\text{N}2$ 反応を利用した直接的なグリコシル化、¹⁴⁸⁾ 2) グルコタイプで縮合したのち、2位水酸基をエピマー化して得る方法、¹⁴⁹⁾ 3) 分子内アグリコン転位反応、¹⁵⁰⁾ 4) 環状オルソエステル還元開裂による方法¹⁵¹⁾などが知られている (Fig. 36)。

4)の方法にて導いた、 β -マンノシド二糖体にフコース誘導体を縮合させ、三糖としたのちセラミド誘導体とした。^{152,153)} FAK のリン酸化や Erk のリン酸化を抑制することによるメラノーマ細胞の増殖を抑制した。¹⁵⁴⁾

4-3-3. ブタ回虫由来糖脂質 ブタ回虫 (*Ascaris suum*) は袋形動物門の線虫類に属する寄生虫であり、 $\text{GlcNAc}\beta(1-3)\text{Man}\beta(1-4)\text{Glc}\beta(1)\text{Cer}$ 及び GlcNAc の6位にホスホコリンが置換した化合物を合成した。すなわち、前記の β マンノシドーシオン法3)に基づき、順次縮合させ、三糖体としたのち、ホスホコリンを導入した。HL-60細胞を用いて IL-8 誘導活性上昇が認められるとともにマクロファージによる IL-12 及び TNF- α の産生誘導活性も認められた。¹⁵⁵⁻¹⁵⁷⁾

4-3-4. エキノコックス由来糖脂質 扇形動物門の条虫綱に属する蠕虫 *Echinococcus multilocularis* で、北海道の風土病「多包虫症」は、その卵の経口感染により引き起こされる人獣共通伝染病として知られており、成虫は主にキタキツネの小腸に寄生し、できた卵は糞として体外に出る。卵は主にゲッ

シ目に摂取され、寄生虫の中間宿主又はヒトに偶発的に取り込まれる。しかし、包虫症患者の血清診断のためのよい抗原はいまだ見いだされていないため、Gal β (1-6)[Fuc α (1-3)]Gal β (1-6)Gal β (1-1)Cerとその部分共通糖鎖構造を持つ糖脂質群であるこれらを合成し (Fig. 37), その多包虫症患者血清との抗原性をイライザ法を用いて検定した。^{158,159)}

健常人と比べ、陽性患者2群では明らかにOD値が高い傾向を示しており、特にフコース残基を持つ化合物に顕著に高い値を示す検体の割合が高く、特異的な抗原性を持つことが判明した。¹⁶⁰⁾

一方、*E. multilocularis* の血清診断に利用される抗原には Em18, EmA9, Em2 などがあり、このうち Em2 は Gal β (1-3)GalNAc を核として分岐したムチン型の糖鎖を持った糖タンパク質構造を取っていることが判明している。Em2 のペプチド部分には抗原性がないことが示唆されており、本研究では Fig. 38 に示すように還元末端側に 2-(trimethylsilyl)ethyl 基を導入したモデル化合物 A から F の全合成を行った。

1) モデル化合物 A, D, E, F の合成 モデル化合物 A, D, E, F は共通して Gal β 1-3GalNAc からなるコア構造の GalNAc の 6 位に糖鎖が結合した分

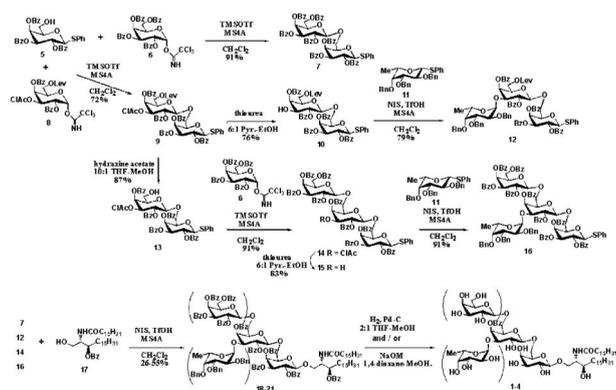


Fig. 37. Synthesis of Glycolipid from *Echinococcus multilocularis*

Gal β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc α 1-OR	A
Gal β 1-4Gal β 1-3GalNAc α 1-OR	B
Gal β 1-4Gal β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc α 1-OR	C
Gal β 1-3(Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)GalNAc α 1-OR	D
Gal β 1-3(Gal β 1-4Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)GalNAc α 1-OR	E
Gal β 1-3(Gal α 1-4Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)GalNAc α 1-OR	F

R=2-(trimethylsilyl)ethyl

Fig. 38. Target Compounds from Em2

岐構造を取っているので、6位を水酸基遊離とした Gal β 1-3GalNAc を共通の糖受容体とし、それぞれ適切な単糖、二糖、三糖供与体を縮合させた。まず 3,4,6-tri-O-acetylgalactal のアジド化から 4 段階の反応で得られた GalNAc 受容体とトリクロロアセトイミデート体の Gal 供与体を縮合し、ベンジリデン基を 6 位選択的に還元開裂して二糖受容体 **1** を得、続いて 2,6-ジメチルチオフェニル (SDMP) 基を還元末端に持つ **E** の分岐部に相当する三糖供与体 **2** と **1** を NIS/TfOH を用いて縮合し、**E** の五糖誘導体 **3** へ導いた (Fig. 39)。モデル化合物 A, D, F についても同様に縮合を行い対応する誘導体を得た。

2) モデル化合物 B, C の合成 モデル化合物 B は直鎖状の糖鎖であり、C は B の GalNAc の 6 位に GlcNAc が結合した形を取っており、したがって、GalNAc の 4,6 位をベンジリデン基で保護した B の誘導体をステップワイズに合成したのち、GlcNAc 供与体を縮合することでそれぞれのモデル化合物の合成を目指した。適切な単糖誘導体を還元末端側から縮合して得られた B 誘導体の 6 位を選択的に還元開裂して三糖受容体 **4** とし、SDMP 基を脱離基とした GlcNAc 供与体 **5** と縮合し、C の誘導体 **6** を得た (Fig. 40)。

得られた誘導体はそれぞれ適切に脱保護を行い、モデル化合物 A-F へと導びいた。¹⁶¹⁾

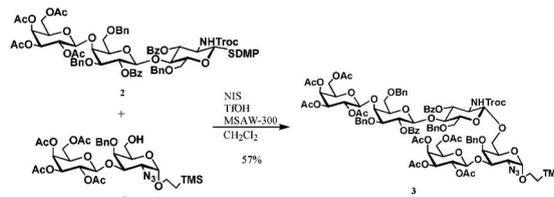


Fig. 39. Synthesis of Pentasaccharide

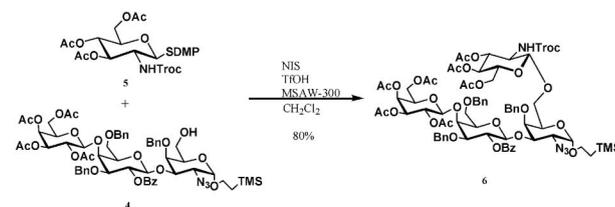


Fig. 40. Synthesis of Tetrasaccharide

4-3-5. その他の無脊椎動物由来糖脂質 マンソン裂頭条虫 (*Spirometra erinacei*),¹⁶²⁾ フトミミズ (*Pheretima hilgendorfi*),¹⁶³⁻¹⁶⁵⁾ キンバエ (*Lucilia caesar*), ケガニ (*Eromacrus isenbeckii*),¹⁶⁶⁾ カイメン (*Aplysinella rhax*)¹⁶⁷⁾ 等無脊椎動物由来の糖脂質の合成を完了した。

なお、これら化合物の合成、活性の詳細については、羽田による平成 18 年度日本薬学会関東支部奨励賞受賞を記念して記述された総説を参照することをお勧めする。¹¹⁷⁾

4.4. 柴胡由来ペクチン様多糖 漢方処方において繁用される柴胡 (*Bupleurum falcatum*) は柴胡剤の構成生薬として慢性肝炎や自己免疫疾患などの治療に用いられており、その根部から強い抗潰瘍活性を有する多糖体が見い出された。¹⁶⁸⁾ 最も活性の強い多糖体 bupleuran 2 II c は、80%以上の (1→4) 結合ポリガラクトツロナン部分と、櫛状に中性糖鎖が分岐したラムノガラクトツロナンコア部分 (PG-1),¹⁶⁹⁾ 酵素抵抗性の低分子部分 (PG-2) の 3 つの部分よりなることが推定され、その中で、PG-1 部分が最も強い薬理活性を有すると報告されている (Fig. 41)。

一方、bupleuran 2 II c/PG-1 に対する抗体が作成され、そのエピトープとして、PG1 の側鎖部分である $\text{GlcA}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal}$, $\text{GlcA}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal}$, $\text{GlcA4Me}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal}$, $\text{GlcA4Me}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal}\beta(1\rightarrow6)\text{Gal}$ が関連していることが予測され、またこのエピトープ部分にはリンパ球幼若化活性及び腸管免疫調節活性なども報告されており、これらを含んだモデル化合物を合成することは、柴胡の薬理活性の解明に有用であると考えた。¹⁷⁰⁾ β -アラニンを出発原料とし *N*-置換型の新しいタイプのクラスター化を応用し、¹⁷¹⁾ 2 種類のクラスタータイプと (1, 2), デンドロンタイプ (3) のクラスターを合成した。¹⁷²⁾ このクラスターは、フレキシブルな構造を有し、糖鎖をリガンドとする受容体タンパク質が特定されていないときなどに活性増強の効果が期待できると考えられる。合成された二糖、三糖のトリマー体を用いて腸管パイエル板細胞からの骨髄細胞増殖促進因子産生に対する影響、腸管パイエル板細胞からのインターロイキン-6 産生に対する影響及び脾臓リンパ球に対する幼若化活性について検討した結果、脾臓リンパ球に対する幼若化活性についてはデンドリ

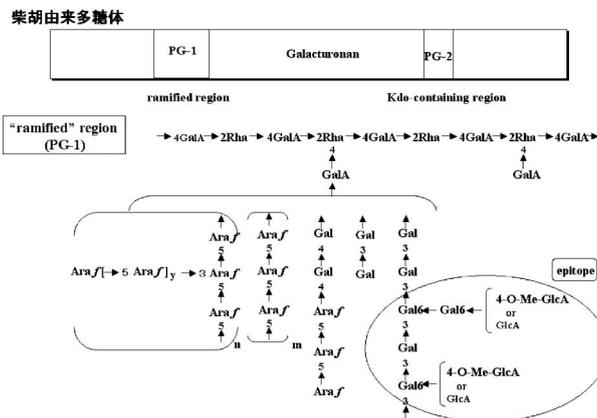


Fig. 41. Structural Model of Bupleurum 2IIc and Its "Rami-fied" Region (PG-1)

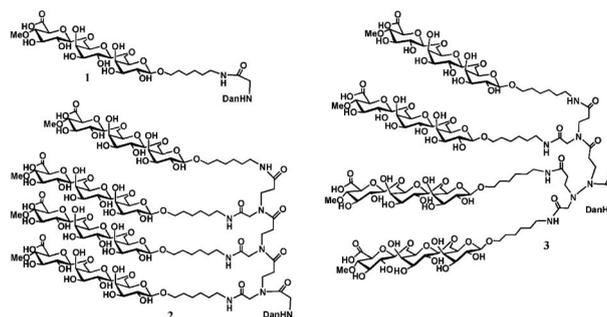


Fig. 42. Structures of Synthetic Compounds Related to an Antigenic Epitope from *Bupleurum falcatum*

マー体でわずかながらコントロールとモノマー体に対して有意差が認められた。一方、合成したこれらモノマー体、及びクラスター体について、細胞膜上での挙動とクラスター化によるモノマー体との比較を行うことで、その有効性について検討を行った (Fig. 42)。

数種のガングリオシド (GM1, GM3, GD1a, GT1b) とリン脂質 (ジパルミトイルフォスファチジルコリン) からなる擬似細胞膜 (LB 膜) に化合物を加え、膜表面を原子間力顕微鏡で観察したところ、単量体を加えた膜表面は全体に均一なドメインや窪みが観察されたのに対し、クラスター体を加えた膜ではこれらが局在化していることが確認された。^{173,174)}

このことから単量体からクラスター体にすることで化合物が集積し、糖鎖-タンパク質相互作用における機能解明へのツールとしての応用が期待される。

なお、オウギ由来多糖の β 1-6 ガラクトンのモデル化合物の合成についても同様な構想の基、合成を

行った。

5. おわりに

ここに記載した内容は、東京大学薬学部、名古屋市立大学薬学部、共立薬科大学、慶応義塾大学薬学部に在職していた40年間に亘る研究成果であります。その間、ご指導ご鞭撻を頂きました東京大学柴田承二名誉教授、名古屋市立大学荻原幸夫名誉教授に深謝致します。また、研究の遂行に当たり献身的に支援して頂いた卒業生、大学院生、学部生諸氏にお礼申し上げます。

REFERENCES

- 1) Stout G. H., Dereyer D. L., Jensen L. H., *Acta Cryst.*, **15**, 451–455 (1961).
- 2) Shibata S., Morishita E., Takeda T., Sakata K., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 4855–4860 (1966).
- 3) Shibata S., Morishita E., Takeda T., Sakata K., *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 405–410 (1968).
- 4) Morishita E., Takeda T., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 411–413 (1968).
- 5) Takeda T., Morishita E., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 2213–2215 (1968).
- 6) Shibata S., Nishikawa Y., Takeda T., Tanaka M., Fukuoka F., Nakanishi M., *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 1639–1641 (1968).
- 7) Shibata S., Nishikawa Y., Takeda T., Tanaka M., *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 2362–2369 (1968).
- 8) Fukuoka F., Nakanishi M., Shibata S., Nishikawa Y., Takeda T., Tanaka M., *Gann*, **59**, 421–432 (1968).
- 9) Nishikawa Y., Takeda T., Shibata S., Fukuoka F., *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1910–1916 (1969).
- 10) Takeda T., Nishikawa Y., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1074–1075 (1970).
- 11) Takeda T., Funatsu M., Shibata S., Fukuoka F., *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 2445–2449 (1972).
- 12) Takahashi K., Takeda T., Shibata S., Inomata M., Fukuoka F., *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 404–408 (1974).
- 13) Takahashi K., Takeda T., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 238–241 (1979).
- 14) Lemieux R.U., Takeda T., Chung B.Y., *Synth. Methods Carbohydr.*, **39**, 90–115 (1976).
- 15) Takeda T., Nakamura T., Takashima S., Yano O., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 2132–2137 (1993).
- 16) Nakamura T., Takeda T., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 1111–1115 (1994).
- 17) Tani C., Ogihara Y., Mutuga M., Nakamura T., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 816–822 (1996).
- 18) Tani C., Ogihara Y., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 723–725 (1998).
- 19) Chen Y., Takeda T., Ogihara Y., *Shoyakugaku Zasshi.*, **38**, 203–206 (1984).
- 20) Chen Y., Takeda T., Ogihara Y., Iitaka Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3378–3383 (1984).
- 21) Chen Y., Takeda T., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 127–134 (1985).
- 22) Chen Y., Takeda T., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1043–1048 (1985).
- 23) Chen Y., Takeda T., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 1387–1394 (1985).
- 24) Huang J., Ogihara Y., Zhang H., Shimizu N., Takeda T., *Phytochemistry*, **54**, 817–822 (2000).
- 25) Huang J., Ogihara Y., Zhang H., Shimizu N., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1413–1417 (2000).
- 26) Huang J., Zhang H., Shimizu N., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 875–877 (2003).
- 27) Huang J., Ogihara Y., Shimizu N., Takeda T., Akiyama T., *Nat. Med.*, **54**, 107 (2000).
- 28) Huang J., Wang W., Ogihara Y., Shimizu N., Takeda T., Akiyama T., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 239–241 (2001).
- 29) Huang J., Wang X., Ogihara Y., Shimizu N., Akiyama T., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 765–767 (2001).
- 30) Takeda T., Gonda R., Hatano K., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 697–699 (1997).
- 31) Sun P., Zhao J., Wen Y., Pei Y., Zhang G., Wang Z., Chen Y., Xu Y., Ogihara Y., Takeda T., *J. Shenyang Pharm. Univ.*, **12**, 266–269 (1995).
- 32) Sun P., Ye W., Zhao J., Pei Y., Wang Z., Chen Y., Ogihara Y., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 703–704 (1995).
- 33) Sun P., Ye W., Zheng G., Wang Z., Chen Y., Ogihara Y., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **44**, 446–447 (1996).
- 34) Sun P., Chen Y., Wen Y., Pei Y., Liu Z., Yao X., Takeda T., Ogihara Y., *Acta Pharm. Sin.*,

- 31, 602–606 (1996).
- 35) Sun P., Xu Y., Wen Y., Pei Y., Chen Y., Shimizu N., Takeda T., *Chin. J. Med. Chem.*, **8**, 122–126 (1998).
- 36) Sun P., Chen Y., Shimizu N., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **46**, 355–358 (1998).
- 37) Chen Y., Xu S., Ma Q., Yao X., Ogihara Y., Takeda T., *J. Shenyang Coll. Pharm.*, **4**, 282–289 (1987).
- 38) Zhang S., Takeda T., Zhu T., Chen Y., Yao X., Tanaka O., Ogihara Y., *Planta Med.*, **56**, 298–300 (1990).
- 39) Chen Y., Zhang S., Wang Z., Lu Y., Xu S., Yau X., Cui C., Tezuka Y., Kikuchi T., Ogihara Y., Takeda T., *Acta Pharm. Sin.*, **25**, 379 (1990).
- 40) Zhang S., Lin Y.J., Pei Y., Chen Y., Liu C., Xu S., Yao X., Ogihara Y., Takeda T., *J. Shenyang Coll. Pharm.*, **9**, 103 (1992).
- 41) Dou D. Q., Chen Y. J., Liang L. H., Pang F. G., Shimizu N., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 442–446 (2001).
- 42) Fu W. W., Dou D. Q., Shimizu N., Takeda T., Pei Y. H., Chen Y. J., *J. Nat. Med.*, **60**, 68–72 (2006).
- 43) Fu W. W., Shimizu N., Dou D. Q., Takeda T., Fu R., Pei Y. H., Chen Y.J., *Chem. Pharm. Bull.*, **54**, 557–560 (2006).
- 44) Fu W. W., Shimizu N., Takeda T., Dou D. Q., Chen B., Pei Y. H., Chen Y. J., *Chem. Pharm. Bull.*, **54**, 1285–1287 (2006).
- 45) Huang J., Ogihara Y., Gonda R., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1228–1229 (2000).
- 46) Gonda R., Takeda T., Akiyama T., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1219–1222 (2000).
- 47) Takeda T., Yokoyama S., *Mater. Technol.*, **18**, 238–241 (2000).
- 48) Gonda R., Takeda T., Akiyama T., *Nat. Med.*, **55**, 316 (2001).
- 49) Gonda R., Takeda T., Akiyama T., *Nat. Med.*, **56**, 10–12 (2002).
- 50) Inoue O., Takeda T., Ogihara Y., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1289–1293 (1978).
- 51) Amagaya S., Takeda T., Ogihara Y., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 2044–2047 (1979).
- 52) Takabe S., Takeda T., Ogihara Y., *Carbohydr. Res.*, **76**, 101–108 (1979).
- 53) Takabe S., Takeda T., Ogihara Y., *Shoyakugaku Zasshi*, **34**, 69–74 (1980).
- 54) Takabe S., Takeda T., Ogihara Y., Yamasaki K., *J. Chem. Res. (s)*, 16 (1981).
- 55) Kobayashi Y., Takeda T., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 2222–2229 (1981).
- 56) Kimura Y., Kobayashi Y., Takeda T., Ogihara Y., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1923–1927 (1981).
- 57) Kobayashi Y., Takeda T., Ogihara Y., Iitaka Y., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 2795–2799 (1982).
- 58) Akai E., Takeda T., Kobayashi Y., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3715–3723 (1985).
- 59) Akai E., Takeda T., Kobayashi Y., Chen Y., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4685–4690 (1985).
- 60) Takabe S., Takeda T., Chen Y., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 4701–4706 (1985).
- 61) Nose M., Amagaya S., Takeda T., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1293–1296 (1989).
- 62) Takeda T., Ishiguro I., Masegi M., Ogihara Y., *Phytochemistry*, **16**, 619–620 (1977).
- 63) Sakushima A., Nishibe S., Takeda T., Ogihara Y., *Mass Spectrosc.*, **36**, 71–80 (1988).
- 64) Miyagoshi M., Takeda T., Nakamura T., Ogihara Y., *Shoyakugaku Zasshi*, **44**, 167–170 (1990).
- 65) Ozipek M., Saracoglu I., Maruyama M., Takeda T., Calis I., *Hacettepe Univ. J. Fac. Pharm.*, **18**, 9–14 (1998).
- 66) Deyama T., Nishibe S., Kitagawa S., Ogihara Y., Takeda T., Ohmoto T., Nikaido T., Sankawa U., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 435–439 (1988).
- 67) Li J., Pu H., Takeda T., Ogihara Y., *Chin. Trad. Herbal Drugs*, **19**, 8–10 (1988).
- 68) Fujimoto T., Nose M., Takeda T., Ogihara Y., Nishibe S., Minami M., *Shoyakugaku Zasshi*, **46**, 224–229 (1992).
- 69) Nose M., Fujimoto T., Takeda T., Nishibe S., Ogihara Y., *Planta Med.*, **58**, 520–523 (1992).
- 70) Nishibe S., Fujimoto T., Nose M., Takeda T., Ogihara Y., Xu G., *Phytochemistry*, **32**, 1579–1581 (1993).
- 71) Fujimoto T., Nose M., Takeda T., Ogihara Y., Nishibe S., *Shoyakugaku Zasshi*, **47**, 218–221 (1993).

- 72) Saracoglu I., Varel M., Hada J., Hada N., Takeda T., Donmez A. A., Calis I., *J. Biosci.*, **58**, 820–825 (2003).
- 73) Toyokawa S., Takeda T., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 716–719 (1991).
- 74) Toyokawa S., Takeda T., Kato Y., Wakabayashi K., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1244–1249 (1991).
- 75) Toyokawa S., Takeda T., Kato Y., Wakabayashi K., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2132–2134 (1991).
- 76) Kitagawa T., Yoshida M., Hu J., Sakai A., Bay G., Fujiwara K., Ogihara Y., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 599–603 (1994).
- 77) Takeda T., Kondo T., Mizukami H., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 730–732 (1994).
- 78) Kondo T., Mizukami H., Takeda T., Ogihara Y., *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 1485–1489 (1996).
- 79) Weisburger E. W., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **18**, 395 (1978).
- 80) Isozaki T., Tamura H., *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 1076–1078 (2001).
- 81) Takeda T., Narukawa Y., Asano T., “Development of Medicinal Foods,” Supervisor: Yoshikawa M., CMC Books, 2007, pp. 267–277
- 82) Saruwatari A., Okamura S., Nakajima Y., Narukawa Y., Takeda T., Tamura H., *J. Med. Food*, **11** (4), 623–628 (2008).
- 83) Roberfroid M. B., *B. J. Nutr.*, **88**, 133–138 (2002).
- 84) Shrestha S. P., Narukawa Y., Takeda T., *J. Nat. Med.*, **61**, 73–76 (2007).
- 85) Shrestha S. P., Narukawa Y., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 926–929 (2007).
- 86) Shrestha S. P., Amano Y., Narukawa Y., Takeda T., *J. Nat. Prod.*, **71**, 96–101 (2008).
- 87) Katayama K., Masuyama K., Yoshioka S., Hasegawa H., Mitsuhashi J., Sugimoto Y., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **60**, 789–797 (2007).
- 88) Narukawa Y., Shimizu N., Shimotohno K., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 1182–1184 (2001).
- 89) Takeda T., Narukawa Y., Hada N., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 284–286 (1999).
- 90) Narukawa Y., Shimizu N., Takeda T., *Nat. Med.*, **55**, 79–82 (2001).
- 91) Narukawa Y., Fukui M., Hatano K., Takeda T., *J. Nat. Med.*, **60**, 58–63 (2006).
- 92) Narukawa Y., Hatano K., Takeda T., *J. Nat. Med.*, **60**, 206–209 (2006).
- 93) Nauts H. C., *Acta Med. Scand.*, **145**, 276 (1953).
- 94) Brues A. M., Shear M. J., *J. Nat. Cancer Inst.*, **5**, 195 (1944).
- 95) Nakahara W., Whistler R. L., *Nature*, **216**, 374 (1967).
- 96) Sakagami H., Aoki T., Tanuma S., *Anticancer Res.*, **11**, 993–999 (1991).
- 97) Taguchi T., Kaneko Y., Chihara G., *Biotherapy*, **2**, 509–521 (1988).
- 98) Fujimoto S., Orita K., Kondoh T., Taguchi T., Yoshida K., Kimura T., Ogawa N., Furue H., *Biotherapy*, **2**, 500–508 (1988).
- 99) Sekimizu K., Larranaga J., Hamamoto H., Sekine M., Furuchi T., Katane M., Homma H., Matsuki N., *J. Biochem.*, **137**, 199–203 (2005).
- 100) Edagawa Y., Smiriga M., Nishiyama N., Saito H., *Neurosci. Lett.*, **314**, 139–142 (2001).
- 101) Takeda T., Nishikawa Y., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 1074–1075 (1970).
- 102) Hirano E., Saito H., Ito Y., Ishige K., Edagawa Y., Shimizu N., Takeda T., Narui T., Shibata S., Abe K., *Brain Res.*, **963**, 307–311 (2003).
- 103) Takeda T., Shimizu N., Watanabe S., Edagawa Y., Ito Y., Narui T., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **51**, 1436–1438 (2003).
- 104) Edagawa Y., Sato F., Saito H., Takeda T., Shimizu N., Narui T., Shibata S., Ito Y., *Brain Res.*, **1032**, 183–192 (2005).
- 105) Edagawa Y., Yamaguchi C., Saito H., Takeda T., Shimizu N., Narui T., Shibata S., Ito Y., *Neurosci. Res.*, **53**, 363–368 (2005).
- 106) Zhong Y., Yoshinaka Y., Takeda T., Shimizu N., Yoshizaki S., Inagaki Y., Matsuda S., Honda G., Fujii N., Yamamoto N., *Antiviral Res.*, **66**, 119–128 (2005).
- 107) Fujiwara T., Takeda T., Ogihara Y., Shimizu M., Nomura T., Tomita Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 4025–4030 (1982).
- 108) Fujiwara T., Sugishita E., Takeda T., Ogihara Y., Shimizu M., Nomura T., Tomita Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 1385–1391 (1984).
- 109) Fujiwara T., Takeda T., Ogihara Y., Shimizu M., Nomura T., Tomita Y., *Shoyakugaku*

- Zasshi*, **38**, 334–340 (1984).
- 110) Fujiwara T., Takeda T., Ogihara Y., *Carbohydr. Res.*, **141**, 168–171 (1985).
- 111) Kurokawa Y., Takeda T., Komura Y., Ogihara Y., Shimizu M., Takai M., *Carbohydr. Res.*, **175**, 144–152 (1988).
- 112) Kurokawa Y., Takeda T., Ogihara Y., Shimizu M., Takai M., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2654–2660 (1988).
- 113) Kurokawa Y., Takeda T., Ogihara Y., *Shoyakugaku Zasshi*, **44**, 29–37 (1990).
- 114) Kawarasaki I., Takeda T., Ogihara Y., Shimonaka H., Nozawa Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 2073–2075 (1979).
- 115) Takeda T., Kawarasaki I., Ogihara Y., *Carbohydr. Res.*, **89**, 301–308 (1981).
- 116) Kato M., Takeda T., Ogihara Y., Shimizu M., Nomura T., Tomita Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3675–3680 (1985).
- 117) Hada N., *Yakugaku Zasshi*, **127**, 1065–1076 (2007).
- 118) Takeda T., Sugiura Y., Ogihara Y., Shibata S., *Can. J. Chem.*, **58**, 2600–2603 (1980).
- 119) Sawaki M., Takeda T., Ogihara Y., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 3698–3701 (1984).
- 120) Shibata S., Natori Y., Takeda T., *Basement Membr.*, 25–37 (1985).
- 121) Sawaki M., Takeda T., Ogihara Y., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 5134–5136 (1985).
- 122) Shibata S., Takeda T., Natori Y., *J. Biol. Chem.*, **263**, 12483–12485 (1988).
- 123) Takeda T., Sawaki M., Ogihara Y., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 54–56 (1989).
- 124) Takeda T., Sugiura Y., Hamada C., Fujii R., Suzuki K., Ogihara Y., Shibata S., *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 3196–3201 (1981).
- 125) Takeda T., Sugiura Y., Ogihara Y., Shibata S., *Carbohydr. Res.*, **105**, 271–275 (1982).
- 126) Takeda T., Utsuno A., Okamoto N., Ogihara Y., Shibata S., *Carbohydr. Res.*, **207**, 71–79 (1990).
- 127) Takeda T., Kojima K., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2699–2701 (1991).
- 128) Takeda T., Sawaki M., Ogihara Y., Shibata S., *Carbohydr. Res.*, **139**, 133–140 (1985).
- 129) Takeda T., Sawaki M., Ogihara Y., Shibata S., *Basement Membr.*, 419–420 (1985).
- 130) Kojima K., Takeda T., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 296–298 (1992).
- 131) Takeda T., Kojima K., Ogihara Y., *Carbohydr. Res.*, **243**, 79–89 (1993).
- 132) Takeda T., Kanemitsu T., Ishiguro M., Ogihara Y., Matsubara M., *Carbohydr. Res.*, **256**, 59–69 (1994).
- 133) Takeda T., Kanemitsu T., Shimizu N., Ogihara Y., Matsubara M., *Carbohydr. Res.*, **283**, 81–93 (1996).
- 134) Takeda T., Kanemitsu T., Ogihara Y., *Bioorg. Med. Chem.*, **4**, 1873–1880 (1996).
- 135) Kanemitsu T., Ogihara Y., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 643–650 (1997).
- 136) Kiba A., Takeda T., Kanemitsu T., Toyoda K., Ichinose Y., Yamada T., Shiraiishi T., *Plant Cell Physiol.*, **40**, 978–985 (1999).
- 137) Hori T., Sugita M., Ando S., Kuwahara M., Kumauchi K., Sugie E., Itasaka O., *J. Biol. Chem.*, **256**, 10979–10985 (1981).
- 138) Kanie O., Takeda T., Ogihara Y., *Carbohydr. Res.*, **190**, 53–64 (1989).
- 139) Kanie O., Takeda T., Ogihara Y., Hatano K., *Carbohydr. Res.*, **193**, 271–274 (1989).
- 140) Kanie O., Takeda T., Ogihara Y., *Carbohydr. Res.*, **197**, 289–294 (1990).
- 141) Kanie O., Takeda T., Ogihara Y., *J. Carbohydr. Chem.*, **9**, 159–165 (1990).
- 142) Kanie O., Takeda T., Hada N., Ogihara Y., *J. Carbohydr. Chem.*, **10**, 561–581 (1991).
- 143) Takeda T., Hada N., Ogihara Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1930–1933 (1992).
- 144) Takeda T., Kojima K., Ogihara Y., *Carbohydr. Res.*, **243**, 79–89 (1993).
- 145) Hada N., Takeda T., Ogihara Y., *Carbohydr. Res.*, **258**, 93–104 (1994).
- 146) Hada N., Sugita M., Takeda T., Maki T., Ogihara Y., *Yakugaku Zasshi*, **114**, 333–341 (1994).
- 147) Sugita M., Hayata C., Yoshida T., Suzuki M., Suzuki A., Takeda T., Hori T., Nakatani F., *Biochim. Biophys. Acta*, **1215**, 163–169 (1994).
- 148) Paulsen H., Lockhoff O., *Chem. Ber.*, **114**, 3102–3114 (1981).
- 149) Lichtenthaler F. W., Adams T. S., *J. Org. Chem.*, **59**, 6735–6738 (1994).
- 150) Ito Y., Ogawa T., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **33**, 1765–1767 (1994).

- 151) Ohtake H., Imori T., Ikegami S., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 3413–3414 (1997).
- 152) Hada N., Ohtsuka I., Sugita M., Takeda T., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 9065–9068 (2000).
- 153) Hada N., Sonoda Y., Takeda T., *Carbohydr. Res.*, **341**, 1341–1352 (2006).
- 154) Sonoda Y., Hada N., Kaneda T., Suzuki T., Ohashio T., Takeda T., Kasahara T., *Biol. Pharm. Bull.*, **31**, 1279–1283 (2008).
- 155) Ohtsuka I., Hada N., Ohtaka H., Sugita M., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 600–604 (2002).
- 156) Ohtsuka I., Hada N., Sugita M., Takeda T., *Carbohydr. Res.*, **337**, 2037–2047 (2002).
- 157) Kean D. E., Ohtsuka I., Sato K., Hada N., Takeda T., Lochnit G., Geyer R., Harnett M. M., Harnett E., *Parasite Immunol.*, **28**, 69–76 (2006).
- 158) Hada N., Hayashi E., Takeda T., *Carbohydr. Res.*, **316**, 58–70 (1999).
- 159) Yamamura T., Hada N., Kaburaki A., Yamano K., Takeda T., *Carbohydr. Res.*, **339**, 2749–2759 (2004).
- 160) Yamano K., Hada N., Yamamura T., Takeda T., Honma H., Sawada Y., *J. Helminthol.*, **80**, 387–391 (2006).
- 161) Koizumi A., Hada N., Kaburaki A., Yamano K., Schweizer F., Takeda T., *Carbohydr. Res.*, (2009) (in press).
- 162) Hada N., Kuroda M., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1160–1165 (2000).
- 163) Hada N., Matsusaki A., Sugita M., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1265–1268 (1999).
- 164) Hada N., Sato K., Sakushima J., Goda Y., Sugita M., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **49**, 1464–1467 (2001).
- 165) Hada N., Shida Y., Shimamura H., Sonoda Y., Kasahara T., Sugita M., Takeda T., *Carbohydr. Res.*, **343**, 2221–2228 (2008).
- 166) Kimura K., Itonori S., Hada N., Itasaka O., Dulaney J. T., Takeda T., Sugita M., *J. Oleo Sci.*, **51**, 83–91 (2002).
- 167) Hada N., Nakashima Y., Shrestha S. P., Masui R., Narukawa Y., Tani K., Takeda T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 5912–5915 (2007).
- 168) Yamada H., Sun X. B., Matsumoto T., Ra K. S., Hirano M., Kiyohara H., *Planta Med.*, **57**, 555–559 (1991).
- 169) Maruyama M., Takeda T., Shimizu N., Hada N., Yamada H., *Carbohydr. Res.*, **325**, 83–92 (2000).
- 170) Yamada H., Hirano M., Kiyohara H., *Carbohydr. Res.*, **219**, 173–192 (1991).
- 171) Jin Y., Hada N., Oka J., Kanie O., Daikoku S., Kanie Y., Yamada H., Takeda T., *Chem. Pharm. Bull.*, **54**, 485–492 (2006).
- 172) Sato K., Hada N., Takeda T., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 9331–9335 (2003).
- 173) Hada N., Jin Y., Takeda T., Ohtsuka I., Yokoyama S., *Chem. Pharm. Bull.*, **54**, 1281–1284 (2006).
- 174) Ohtsuka I., Hada N., Jin Y., Takeda T., Yokoyama S., *Mater. Tech.*, **24**, 104–109 (2006).