

目次

序論	1
本論	6
第1章 植物由来抽出物ライブラリーを用いたスクリーニング	
第1節 スクリーニング	7
第1項 方法	7
第2項 結果	8
第2節 小括	23
第2章 <i>Annona</i> 属の成分探索	
第1節 バンレイシについて	25
第1項 分離	26
第2項 構造決定	27
第2節 ギュウシンリについて	28
第1項 分離	29
第2項 構造決定	30
第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関	32
第4節 細胞周期に対する影響	33
第5節 小括	34
第3章 ショクヨウホウズキについて	
第1節 分離	36
第2節 構造決定	37
第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関	42
第4節 小括	43

第4章 Withanolide について	
第1節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関	45
第2節 細胞周期に対する影響	49
第1項 フローサイトメトリー	49
第2項 ウェスタンブロッティング	50
第3節 小括	51
第5章 ヘンルーダについて	
第1節 分離	53
第2節 構造決定	54
第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関	69
第4節 小括	70
第6章 ツルモウリンカについて	
第1節 分離	72
第2節 構造決定	75
第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関	81
第4節 小括	83
総括	84
実験の部	89
引用文献	120
謝辞	130

序論

がんの克服は人類にとって重要な課題であり、その一つ的手段として抗がん剤の開発は全世界で行われている。当研究室でも腫瘍細胞増殖抑制作用を指標とした薬用植物の成分探索研究を行ってきた¹⁻³⁾。

近年、化学療法剤として、ビンカルカロイド（ビンブラスチン、ビンクリスチン）、エトポシド、パクリタキセル、イリノテカン、カンプトテシン等の多くの天然物由来抗がん剤が開発されている (Fig. 1)。しかしながら、この他にも多くの天然物由来成分の抗腫瘍活性が十分な検討をされないままの状況にある。このように地球上で詳細に研究された天然資源（植物、動物、微生物等）はほんの一部に過ぎず、多くの薬のシードが埋もれたままになっている。

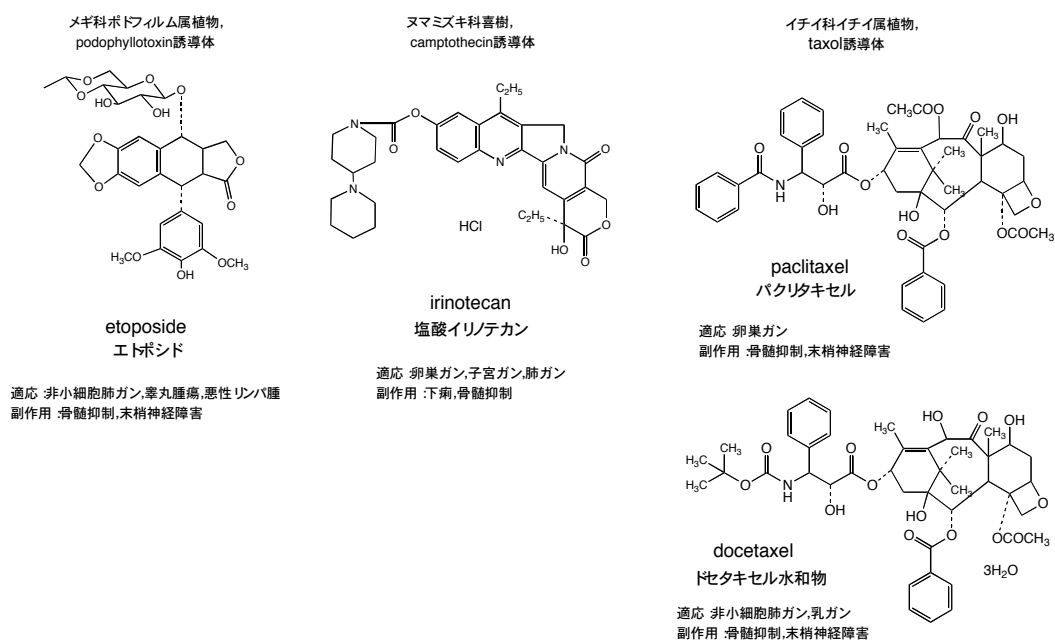


Fig. 1. 天然由来抗腫瘍薬

また、すべての抗がん剤の割合中 40%以上を天然物が占めると言われ、天然物由来成分の誘導体やそれらをリード化合物として開発された薬を含めると更に割合は増える。これらは今でも天然物が新薬を作り出すのに重要なマテリアルのひとつであることを示してい

る。実際、コンビナトリアルケミストリーで合成される薬品はその構造にバリエーションが低いのに対し、天然物由来のバリエーションには多様性があり、この化学構造の多様性が新薬を開発する上で重要な要素となっている。以上の観点から、創薬の種を植物より探し出すことは価値があると判断し、今回の実験を企図した。

成人 T 細胞白血病 (Adult T-cell Leukemia / Lymphoma : ATL) は悪性リンパ腫を伴う白血病の一種であり、ヒト T リンパ球向性ウイルス (Human Adult T Cell Leukemia Virus-1 : HTLV-1)^{4~7)} が原因となり発症する。HTLV-1 は 1970 年代に日本で初めて発見されたウイルスである。その後、HTLV-1 は初のヒトレトロウイルスとして認定された。通常、若年層の患者が多い白血病に比べ、ATL は高齢者の患者が多いことが知られている。ウイルス発見後も、未だに十分な治療成果は上げられず、患者はもちろんのこと、キャリアの不安もぬぐいきれていない⁸⁾。HTLV-1 は CD4 陽性 T 細胞に感染し、ATL や HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) を引き起こすことがわかっている。既に縄文時代には感染者がいたといわれており、現在、その感染者数は約 108 万人 (総人口の約 1%) で、B 型肝炎や C 型肝炎の感染者数に匹敵するほどの感染者数にも関わらず、国の対策は遅れている。

	エイズウイルス	肝炎ウイルス	HTLV-1
国内感染者数 (推定)	1.5 万人	B 型 110~140 万人 C 型 190~230 万人	100~150 万人
新規感染者数 (人/年間)	約 1000 人 (2009 年)	約 400 人 (2009 年)	集計できる体制無し
拠点病院の整備	あり	あり	なし
治療法	発症を押さえる 抗ウイルス療法あり	インターフェロンなど 抗ウイルス療法あり	発症予防法無し 発症後の有効な治療法 確立していない
2010 年度の 厚労省予算	69 億円 (エイズ対策)	236 億円 (肝炎総合対策)	総合的予算無し

Fig. 2 HTLV-1 とエイズや肝炎ウイルス対策との比較 (西日本新聞より改変)

日本において HTLV-1 のキャリアは九州に集中していた⁹⁾が、交通網の発達等、人の移動が活発になった事もあり、全国的に広がっている。上述した様に感染者数は 108 万人を超え、関東・中部などの都市部でもキャリア数が増加し、感染拡大がさらなる問題となっている。

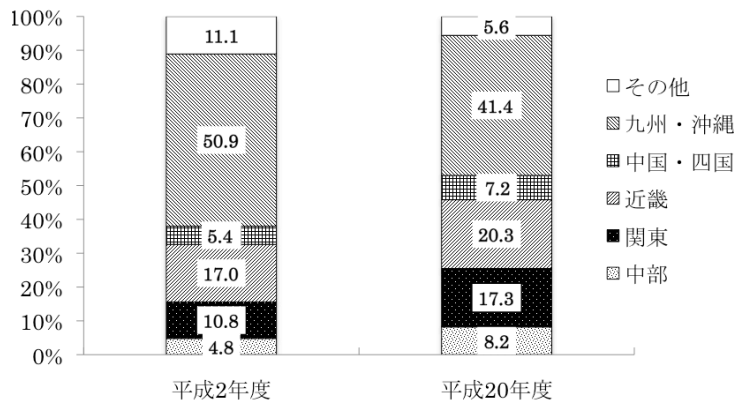


Fig. 3. 地域別 HTLV-1 感染者数の比較 (産経ニュースより改変)

HTLV-1 感染者のほとんどは無症候性キャリアであるが、そのうち 5~10%が発症してその後 1 年以内に死亡するため、5 年生存率は極めて悪い¹⁰⁾。感染経路として母子感染、性感染、血液感染などがあり、そのうち母子感染は約 6 割以上を占め母乳を介して感染する。しかし、授乳の制限により感染を抑えることが出来る。一方、血液感染については、現在、献血血液に HTLV-1 の抗体検査を実施しており、陽性となった血液は使用されていない。しかしながら当初は献血者が陽性であった場合でも検査結果を通知していなかったため、HTLV-1 抗体陽性献血者が頻回に献血している例もあった。これを見直して 1999 年より HTLV-1 抗体陽性者に対して、希望者には本人にその結果を通知するよう定められた。

ATL は末梢性 T 細胞腫瘍であり、症状により急性型・慢性型・くすぶり型に分類され、急激に悪化するものや徐々に進行するものなど、経過は様々である。

臨床病型分類	治療法
くすぶり型/予後不良因子を有しない慢性型	経過観察 or 皮膚科学的治療
予後不良因子を有する慢性型	内服化学療法 or 強力な化学療法
急性型/リンパ腫型	強力な化学療法 or 造血幹細胞移植

Fig. 4. ATL の診断

免疫不全状態が継続することにより、慢性肺疾患、日和見感染症、多臓器がん、慢性腎不全などに陥る。患者のほとんどは治療抵抗性を示し、初回治療[対症療法として慢性リンパ性白血病と同じ CHOP 療法(シクロホスファミド、アドリアマイシン、ビンクリスチン、プレドニゾロン)]で効果が現れても、しばしば再発し、約 1 年で半数が死亡する。

標準的治療法である LSG15 療法を用いても 5 年生存率は 17.5%とわずかである。ATL 以外の疾患に対する CHOP 療法の 5 年生存率が 40%程度であることを考えれば、いかに ATL の予後が悪いかは容易に推察される。実際、毎年 1000 人以上の患者が ATL により亡くなっている。

発表者	症例数	完全寛解率 (%)	生存期間中央値(月)	治療法
Gill ら (1995)	19	26	3	インターフェロン ジドブジン
魚住ら (1995) ¹¹⁾	43	20.9	6	RCM 療法
田口ら (1996) ¹²⁾	83	35.8	8.5	CHOP-V-MMV 療法
松下ら (1999) ¹³⁾	79	31	7.1	OPEC/MPEC 療法
JCOG (2007) ¹⁴⁾	57	40	12.7	mLSG 15
JCOG (2007) ¹⁴⁾	61	25	10.9	mLSG 19

Fig. 5. ATLに対する化学療法の成績

また、自己造血幹細胞移植も行われているが、移植後の再発や感染症の合併が多いため有用性は低い。それに対して、同種造血幹細胞移植では好成績をあげているが、大部分は高齢者で発症するため自動的に適応外となっているのが現状であり、効果的とは言えない。そこで、ミニ移植(骨髄非破壊的移植)と呼ばれる体力の落ちた人や高齢者にも可能な方法もとられるようになってきている。最近では臍帯血移植や分子標的治療も行われてもいるが、有用性がはっきりしていないのが実状である。このように化学療法や骨髄移植が行われているが治療成績は一定の効果に留まり、ATL 発症予防法や有効な治療法は確立していない。

しかし、2012 年 5 月にヒト化抗 CCR4 [CC chemokine receptor 4 : CC ケモカイン受容体 4] モノクローナル抗体であるモガムリズマブが発売され、日本初の ATL 治療薬の承認となった。本剤は抗体依存性細胞傷害活性を介して CCR4 陽性細胞を傷害するため、再発又は難治性の CCR4 陽性 ATL に対して用いる。希少疾病用医薬品の指定を受けており、CCR4 診断薬も同時に承認・発売された。さらに、ATL の悪性化を引き起こす原因としてマイク

ロ RNA (miRNA) の一つである miRNA-31 の著しい減少が明らかになり、これを標的にした新しい ATL の治療法の開発が期待されている¹⁵⁾。

このように新しい治療薬も誕生しているが完全ではなく、従来の天然資源からの治療薬探索研究も一定の価値を有している。そこで著者は、植物由来抽出物のライブラリーのなかから成人 T 細胞白血病リンパ腫細胞株 (MT-1、MT-2 細胞) に対して、当研究室所有の植物抽出物を用い選択的細胞増殖抑制効果や殺細胞効果を持つ抽出物を検討するとともに有効成分を単離し、臨床応用を目的として本実験を開始した。

以下に実験計画の概要を示す。

- 1) 植物抽出物の成人T細胞白血病リンパ腫細胞株に対する細胞増殖抑制効果のスクリーニングを行う。
- 2) 第一段階の結果を踏まえ、更に絞られた有望な候補について、抗ATL成分の単離を行う。
- 3) 第二段階で選定された有望な抽出物の候補について、正常細胞 (健康人ボランティア抹消血単核球) に与える毒性を調べ、成人T細胞白血病リンパ腫細胞への選択性を確認する。
- 4) 単離された成分の細胞増殖抑制効果を確認した上で、作用機序 (アポトーシス誘導の有無、細胞周期への影響など) を調べる。

本論

第一章 植物由来抽出物ライブラリーを用いたスクリーニング

当研究室所有のエキブラライブラリーのなかから、ATLに対して効果のある植物エキスを
選定するために、MTT法を用いMT-1、MT-2細胞に対する細胞増殖抑制活性について検討
した。

第 1 節 スクリーニング

第 1 項 方法

植物エキスの調製

被験体となる植物エキスは以下の方法で調製した。

本学薬草園で栽培、または各地で採集した植物を、乾燥し、乾燥植物検体に MeOH を加え、2 時間還流煮沸した後、温時ろ過し、残渣はさらに 2 回、同様にして抽出し、ろ液と合わせ減圧濃縮後、真空乾燥し、検体エキスとした。

細胞増殖抑制活性の検定

細胞増殖抑制活性の検討として、HTLV-1 感染 T 細胞である MT-1¹⁶⁾, MT-2¹⁷⁾ 細胞に対して、MTT 法を用いて以下の方法で行った¹⁸⁾。

- 1) 細胞 (MT-1, MT-2) を 1.0×10^4 cell/well になるように播く。
- 2) 各濃度のサンプルを 50 μ L ずつ加える。(終濃度 : 100, 10, 1, 0.1 μ g/mL)
- 3) 72 hr インキュベート (37°C、5%CO₂)する。
- 4) MTT 試薬を 10 μ L ずつ播く。
- 5) 4 hr インキュベート (37°C、5%CO₂) する。
- 6) ホルマザンを溶解後、吸光度測定を行う。(波長 : 570 nm)。

第 2 項 結果

Table 1 に MT-1、MT-2 細胞に対する植物由来抽出物の細胞増殖抑制活性を示した。
(EC₅₀ : 0.1–1 µg/mL, +++; 1–10 µg/mL, ++; 10–100 µg/mL, +; >100 µg/mL, -)

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2			
アオイ科 (Malvaceae)	トロロアオイ	<i>Abelmoschus manihot</i>	葉	-	-			
			葉	-	-			
			葉	-	-			
	インドワタ	<i>Gossypium arboreum</i>	根	-	-			
			茎	-	-			
			茎	-	-			
			根	-	-			
			葉	-	-			
			葉	-	-			
アオイ科 (Malvaceae)	アメリカワタ	<i>Gossypium brasiliensis</i>	茎	-	-			
			根	-	-			
			葉	-	-			
			Malvaviscus arboreus	葉	-	-		
				葉	-	-		
				葉	-	-		
			アオギリ科 (Sterculiaceae)	ピンボンノキ	<i>Sterculia nobilis R. Brown</i>	葉	+	+
						樹皮	-	-
						心材	-	-
アカザ科 (Chenopodiaceae)	アメリカアリタソウ	<i>Chenopodium ambrosioides</i> <i>Chenopodium ambrosioides .var. anthelminticum</i> <i>Chenopodium graveolens</i>	地上部	-	-			
			葉	-	-			
			地上部	-	+			
アカテツ科 (Sapotaceae)		<i>Pouteria zapota</i>	種子	-	-			
アカネ科 (Rubiaceae)	ジュズネノキ	<i>Damnacanthus macrophyllus var. macrophyllus</i>	葉	-	-			
			根	-	-			
			茎	-	-			
	ヤエムグラ	<i>Galium pogonanthum</i> <i>Hamelia patens</i>	地上部	-	+			
			葉、小枝	-	-			
			全草	-	-			
	フタバムグラ	<i>Hedyotis diffusa</i> <i>Paederia scandens</i>	果実	-	-			
			葉	-	-			
			茎	-	-			
アカネ	<i>Rubia argyi</i> <i>Uncaria rhynchophylla</i>	根	+	+				
		鉤	-	-				
アブラナ科 (Cruciferae)	ホソバタイセイ	<i>Isatis indigotica</i>	果実	+	+			
			葉	-	-			
			根	-	-			
	マメゲンバイナズナ	<i>Lepidium apetalum</i>	種子	+	+			
			全草	-	-			
	ゲンバイナズナ	<i>Thlapsi arvense</i>	種子	-	-			
アヤメ科 (Iridaceae)	ヒメヒオウギズイセン	<i>Crocoshia aurea</i>	球根	-	-			

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
イソマツ科 (Plumbaginaceae)	ルリマツリ	<i>Plumbago capensis</i>	全草	-	-
イチイ科 (Taxaceae)	カヤ	<i>Terreyia grandis</i>	種子	-	-
イヌガヤ科 (Cephalotaxaceae)	イヌガヤ	<i>Cephalotaxus harringtonia</i>	葉 茎、小枝	++ -	++ -
イノモトソウ科 (Pteridaceae)	イノモトソウ	<i>Pteris multifida</i>	根茎、根 地上部	- -	- -
イラクサ科 (Urticaceae)	イラクサ	<i>Urtica dioica</i> <i>Urtica thunbergiana</i>	葉、小枝 地上部	- -	- -
ウコギ科 (Araliaceae)	エゾウコギ ウド タラノキ ヤツデ カクレミノ キツタ ホンコンカポック カミヤツデ	<i>Acanthopanax senticosus</i> <i>Aralia cordata</i> <i>Aralia elata</i> <i>Fatsia japonica</i> <i>Gilibertia trifida</i> <i>Hedera rhombea</i> <i>Schefflera arboricola</i> <i>Tetrapanax papyriferum</i>	根皮 根 樹皮 葉 葉 樹皮 根 葉 樹皮 果実 茎 葉 果実 葉 葉 幹	+ - - - - - - - - - - + - - - - - - +	+ - - - - - - - - - - + - - - - - - -
ウマノスズクサ科 (Aristolochiaceae)	ウスバサイシン カンアオイ	<i>Aristolochia spp.</i> <i>Asiasarum sieboldii</i> <i>Asarum nipponicum</i>	根 根 根 地上部	++ - ++ -	++ - ++ -
ウラボシ科 (Polypodiaceae)	ハカマウラボシ	<i>Drynaria fortunei</i> <i>Phleboidum aureum</i>	根茎 根(fresh) 全草 根(dried)	- - - -	- + - -

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2		
ウリ科 (Cucurbitaceae)	ゴキズル	<i>Actinostemma lobatum</i>	地上部	-	-		
	コロシントウリ	<i>Citrullus colocynthis</i>	種子	-	-		
	アマチャズル	<i>Gynostemma pentaphyllum</i>	地上部	-	-		
	ヒョウタン	<i>Lagenaria leucantha</i> var. <i>gourda</i>	果実	++	+		
			種子	-	-		
			茎	-	-		
			根	-	-		
			葉	-	-		
			センナリヒョウタン	<i>Lagenaria leucantha</i> var. <i>microcarpa</i>	種子	-	-
			トカドヘチマ	<i>Luffa acutangula</i>	種子	+	++
	地上部	+			+		
	ヘチマ	<i>Luffa aegyptiaca</i>	果実	-	-		
	ツルレイシ	<i>Momordica charantia</i>	地上部	-	-		
			根	-	-		
ナンバンカラスウリ			<i>Momordica cochinchinensis</i>	種子	-	-	
括呂根	<i>Trichosanthes kirilowii</i> var. <i>japonica</i>	塊根	-	-			
		ウルシ科 (Anacardiaceae)	マンゴウ	<i>Mangifera indica</i>	種子	+	+
オシロイバナ科 (Nyctaginaceae)	オシロイバナ	<i>Mirabilis jalapa</i>	果皮	+	+		
			葉	+	-		
			樹皮	-	-		
			果肉	-	-		
			葉	-	+		
根	-	-					
オトギリソウ科 (Guttiferae)	フクギ	<i>Garcinia subelliptica</i>	樹皮	-	-		
			葉	-	-		
			心材	-	-		
	キャニモモ	<i>Garcinia xanthochymus</i>	種子	+	+		
			果肉	-	-		
ガガイモ科 (Asclepiadaceae)	トウワタ	<i>Asclepias curassavica</i>	茎	++	++		
			根	+	++		
			葉	+	+		
	イケマ	<i>Cynanchum caudatum</i>	葉	-	-		
	コンズランゴ	<i>Marsdenia cundurango</i>	根	-	-		
	キジョラン	<i>Marsdenia tomentosa</i>	葉	-	-		
			茎	-	-		
	ガガイモ	<i>Metaplexis japonica</i>	根	-	-		
			五加皮	<i>Periploca</i> spp.?	根皮	+	+
	ツルモウリンカ	<i>Tylophora ovata</i>	小枝	++	++		
			新鮮葉	++	++		
			新鮮葉	++	++		
小枝			-	-			
根			+++	+++			
地上部	++	+++					

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
カタバミ科 (Oxalidaceae)	ゴレンシ	<i>Averrhoa carambola</i>	葉	-	-
			樹皮	-	-
キキョウ科 (Campanulaceae)	党参	<i>Codonopsis spp.</i>	根	-	-
キク科 (Asteraceae)	セイヨウノコギリソウ	<i>Achillea millefolium</i>	葉	-	-
			茎	-	-
	ノブキ	<i>Adenocaulon himalaicum</i>	地上部	-	+
			根	-	-
	ヌマダイコン	<i>Adenostemma lavenia</i>	地上部	-	+
			ゴボウ	<i>Arctium lappa</i>	種子
	ニガヨモギ	<i>Artemisia absinthium</i>	根	-	-
			地上部	+	+
	リュウキュウヨモギ	<i>Artemisia campestris</i>	葉	-	-
			茎	-	-
	カワラヨモギ	<i>Artemisia capillaris</i>	地上部	-	+
			根	-	-
	ダルマガク	<i>Artemisia ludoviciana var. mixicana</i>	地上部	-	-
			葉	+	+
	オオバナオケラ	<i>Atractylodes japonica</i>	茎	+	+
			根茎	-	-
	アメリカセンダングサ	<i>Bidens frondosa</i>	根、根茎	+	+
			地上部	-	-
	テバコモミジガサ	<i>Cacalia tebakaensis</i>	地上部	-	-
	ベニバナ	<i>Carthamus tinctorius</i>	花卉	-	-
ヨモギギク	<i>Chrysanthemum vulgare</i>	地上部	+	+	
チコリ	<i>Cichorium intybus</i>	地上部	-	-	
		根	-	-	
キバナアザミ	<i>Cnicus benedictus</i>	葉	+	-	
コスモス	<i>Cosmos bipinnatus</i>	種子	-	-	
ベニバナボロギク	<i>Crassocephalum crepidioides</i>	地上部	-	-	
		根、根茎	-	-	
ホソバワダン	<i>Crepidiastrum lanceolatum</i>	根	-	-	
タカサブロウ	<i>Eclipta prostrata</i>	地上部	-	-	
		全草	-	-	
フジバカマ	<i>Eupatorium stoechadosmum</i>	根	-	-	
		葉	-	-	
ユリオプスデージー	<i>Euryops pectinatus</i>	茎	-	-	
		葉	-	-	
			茎	-	-

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
キク科 (Asteraceae)	ヒマワリ	<i>Helianthus annuus</i>	地上部	+	+
	ハンカイソウ	<i>Ligularia japonica</i>	葉	+	-
			根	-	-
	シュウブソウ	<i>Rhynchospermum verticillatum</i>	地上部	-	-
	ワタスキギク	<i>Santolina chamaecyparissus</i>	茎	-	-
			葉	-	-
	モッコウ	<i>Saussurea lappa</i>	根	+	++
	ノボロギク	<i>Senecio vulgaris</i>	全草	-	-
	メナモミ	<i>Siegesbeckia glabrescens</i>	葉	-	-
			根	-	-
	オニノゲシ	<i>Sonchus asper</i>	地上部	-	-
	マリーゴールド	<i>Tagetes patula</i>	地上部	-	+
			根	-	-
			根	-	-
	フキタンポポ	<i>Tussilago farfara</i>	根	-	-
	ネコノシタ	<i>Wedelia prostrata</i>	全草	+	+
	ソウジ	<i>Xanthium strumarium</i>	果実	-	-
キツネノマゴ科 (Acanthaceae)	ハグロソウ	<i>Dicliptera japonica</i>	地上部	-	-
	キツネノマゴ	<i>Justicia procumbens</i>	全草	++	+
キョウチクトウ科 (Apocynaceae)	ラフマ	<i>Apocynum venetum</i>	全草	-	-
	ミフクラギ	<i>Cerbera manghas</i>	葉	++	++
			樹皮	+	+
	トウテイカカズラ	<i>Trachelospermum jasminoides</i>	地上部	+	+
	リュウキュウテイカカズラ	<i>Trachelospermum liukuense</i>	地上部	-	+
キンポウゲ科 (Ranunculaceae)	サラシナショウマ	<i>Cimicifuga simplex . var. ramosa</i>	地上部	-	-
			地下部	-	-
	センニンソウ	<i>Clematis paniculata</i>	地上部	-	-
	オウレン	<i>Coptis japonica</i>	根茎	+	+
	アキカラマツ	<i>Thalictrum thunbergii</i>	地下部	-	-
		地上部	-	-	
クスノキ科 (Lauraceae)	ニッケイ	<i>Cinnamomum cassia</i>	樹皮	+	+
	テンダイウヤク	<i>Lindera strychnifolia</i>	根	-	-
	アボガド	<i>Persea americana</i>	葉	-	-
			果肉	-	-
			種子	-	-
			小枝	-	-

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
クマツヅラ科 (Verbenaceae)	ダンギク	<i>Aloysia triphylla</i>	葉	-	-
		<i>Caryopteris incana</i>	地上部	-	-
	クサギ	<i>Clerodendron trichotomum</i>	葉	-	-
			樹皮	-	-
			果実	-	-
	ボタンクサギ	<i>Clerodendrum bungei</i>	花	-	-
			茎	-	-
	ランタナ	<i>Lantana camara</i> var. <i>aculeata</i>	花	-	-
			葉	-	-
	コバノランタナ	<i>Lantana montevidensis</i>	葉	-	-
			地上部	-	-
	スイートハーブメキシカン	<i>Lippia dulcis</i>	地上部	-	-
	コウスイボク	<i>Lippia triphylla</i>	葉	-	-
	アレチハナガサ	<i>Verbena brasiliensis</i>	茎	-	-
			地上部	-	-
クマツヅラ	<i>Verbena officinalis</i>	根	-	-	
		地上部	-	-	
ミツバハマゴウ	<i>Vitex trifolia</i>	葉	-	-	
		枝	-	-	
クルミ科 (Jugulandaceae)	オニグルミ	<i>Juglans mandshurica</i> var. <i>sachalinensis</i>	樹皮	-	-
クロウメモドキ科 (Rhamnaceae)	クマヤナギ	<i>Berchemia racemosa</i>	茎	-	-
			葉	-	-
	ケンボナン	<i>Hovenia dulcis</i>	果実	-	-
	ナツメ	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>jujuba</i>	果実	-	-
サネブトナツメ	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>spinosa</i>	種子	-	-	
クワ科 (Moraceae)	イチジク	<i>Ficus carica</i>	葉	-	-
			果実	-	-
	オオイタビ	<i>Ficus pumila</i>	葉	-	-
			茎	-	-
	カナムグラ	<i>Humulus japonicus</i>	地上部	+	+
クワ	<i>Morus alba</i>	樹皮	-	-	
ケシ科 (Papaveraceae)	キケマン	<i>Corydalis heterocarpa</i> var. <i>japonica</i>	地上部	+	+
			根	-	-
	エンゴサク	<i>Corydalis turtshchaninovii</i> forma <i>yanhusuo</i>	塊茎	-	+
	タケニグサ	<i>Macleaya cordata</i>	地下部	+	+
			地上部	-	-

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
コショウ科 (Piperaceae)		<i>Piper spp.</i>	葉	+	+
ゴマノハグサ科 (Scrophlariaceae)	ペンステモン	<i>Pentstemon gloxinoides</i>	根茎	-	-
			葉	-	-
			茎	-	-
		<i>Picrorhiza scrophulariiflora</i>	根茎	-	-
	アカヤジオウ	<i>Rehmannia glutinosa var. purpurea</i>	根	-	-
	ハナチョウジ	<i>Russelia equisetiformis</i>	地上部	-	-
	ゴマノハグサ	<i>Scrophularia buergeriana</i>	根	-	-
	ビロードモウズイカ	<i>Verbascum thapsus</i>	葉	-	-
サクラソウ科 (Primulaceae)	コナスビ	<i>Lysimachia japonica</i>	全草	-	-
ザクロ科 (Punicaceae)	ザクロ	<i>Punica granatum</i>	果皮	+	+
サトイモ科 (Araceae)	ムサシアブミ	<i>Arisaema ringens</i>	塊茎	-	-
	カラスビシャク	<i>Pinellia ternata</i>	塊茎	-	-
シクンシ科 (Combretaceae)	ミロバラン	<i>Terminalia chebula</i>	果実	+	+
シソ科 (Labiatae)	キランソウ	<i>Ajuga decumbens</i>	全草	-	-
	ツルジュウニヒトエ	<i>Ajuga reptans</i>	葉	-	-
			根	-	-
	ナギナタコウジュ	<i>Elsholtzia ciliata</i>	地上部	-	-
	キンセンソウ	<i>Glechoma longituba</i>	全草	-	-
	ヒキオコシ	<i>Isodon japonicus</i>	葉	-	-
			茎	-	-
			根	-	-
	ホトケノザ	<i>Lamium amplexicaule</i>	全草	-	-
	メハジキ	<i>Leonurus sibiricus</i>	地上部	+	+
			根	-	-
			種子	-	-
	ローズマリー	<i>Rosmarinus officinalis</i>	葉	+	+
	タンジン	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	根	-	-
	コガネバナ	<i>Scutellaria baicalensis</i>	根	-	-
		<i>Scutellaria barbata</i>	全草	+	+
	ニガクサ	<i>Teucrium japonicum</i>	葉	-	-
シナノキ科 (Tiliaceae)	カラスノゴマ	<i>Corchoropsis tomentosa</i>	果実	+	+
			葉	-	-
			茎	-	-

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
ショウガ科 (Zingiberaceae)	ハナミョウガ	<i>Alpinia japonica</i>	種子	-	+
			果実	-	-
	ガジュツ	<i>Curcuma zedoaria</i>	根茎	+	+
	ハナシユクシヤ	<i>Hedychium coronarium</i>	根茎	+	+
	ショウガ	<i>Zingiber officinale</i>	根茎	+	++
ジンチョウゲ科 (Thymelaeaceae)	イワフジ	<i>Daphne genkwa</i>	花	+	+
	ジンチョウゲ	<i>Daphne odora</i>	根	-	-
	ミツマタ	<i>Edgeworthia chrysantha</i>	根	-	-
スイカズラ科 (Caprifoliaceae)	スイカズラ	<i>Lonicera japonica</i>	葉	-	-
			茎	-	-
	キンギンカ	<i>Lonicera japonica</i>	花	-	-
	ソクズ	<i>Sambucus chinensis</i>	葉	-	-
		茎	-	-	
スベリヒユ科 (Portulacaceae)	スベリヒユ	<i>Portulaca oleracea</i>	全草	-	+
セリ科 (Umbelliferae)	トウキ	<i>Angelica acutiloba</i>	根	-	-
	ヨロイグサ	<i>Angelica dahurica</i>	果実	+	+
	ノダケ	<i>Angelica decursiva</i>	根	+	+
			地上部	-	-
	アシタバ	<i>Angelica keiskei</i>	根	+	+
			地上部	-	-
			果実	-	-
	ハマウド	<i>Angelica kiusiana</i>	葉	-	-
	シシウド	<i>Angelica pubescens</i>	根	-	-
	ツボクサ	<i>Centella asiatica</i>	全草	-	-
	オカゼリ	<i>Cnidium monnieri</i>	果実	-	-
	センキュウ	<i>Cnidium officinale</i>	根茎	-	-
	コエンドロ	<i>Coriandrum sativum</i>	葉	-	-
	オオバチドメグサ	<i>Hydrocotyle nepalensis</i>	地上部	-	-
	ヤブニンジン	<i>Osmorhiza aristata</i>	根	+	+
			地上部	-	-
	ノダケ	<i>Peucedanum decursivum</i>	果実	+	+
ボタンボウフウ	<i>Peucedanum japonicum</i>	茎、根皮	+	+	
		葉	-	-	
		木部	-	-	
	<i>Peucedanum praeruptorum</i>	根	+	+	
センダン科 (Meliaceae)		<i>Melia azedarach var. toosendan</i>	果実	+	+
センリョウ科 (Chloranthaceae)	センリョウ	<i>Sarcandra glabra</i>	根	-	-

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
ソテツ科 (Cycadaceae)	ソテツ	<i>Cycas revoluta</i>	葉	-	-
			種仁	-	-
			果皮	-	-
タデ科 (Polygonaceae)	オオケタデ	<i>Polygonum orientale</i>	種子	-	-
	タデアイ	<i>Polygonum tinctorium</i>	全草	+	+
	イタドリ	<i>Reynoutria japonica</i>	根	-	-
		<i>Rheum palmatum</i>	根茎	-	-
	スイバ	<i>Rumex acetosa</i>	根、根茎	+	+
	ギシギシ	<i>Rumex japonicus</i>	根茎、根	-	+
ツヅラフジ科 (Menispermaceae)	アオツヅラフジ	<i>Cocculus trilobus</i>	葉	-	-
			蔓	-	-
			果実	-	-
	シマハスノハカズラ	<i>Stephania tetrandra</i>	根	+	+
	イボツヅラフジ	<i>Tinospora tuberculata</i>	茎	-	-
ツユクサ科 (Commelinaceae)	ツユクサ	<i>Commelina communis</i>	全草	-	-
ツリフネソウ科 (Balsaminaceae)	ツリフネソウ	<i>Impatiens textori</i>	地上部	+	+
トウダイグサ科 (Euphorbiaceae)	エノキグサ	<i>Acalypha australis</i>	根	-	-
		<i>Croton spp.</i>	葉	-	-
	トウダイグサ	<i>Euphorbia helioscopia</i>	根	-	+
			地上部	+	+
	イワダイゲキ	<i>Euphorbia jolkini</i>	地上部	-	-
			根	-	-
	コニシキソウ	<i>Euphorbia supina</i>	全草	-	-
	ミドリサンゴ	<i>Euphorbia tirucalli</i>	地上部	-	-
		<i>Hura polyandra</i>	種子	-	-
	アメダマノキ	<i>Phyllanthus aciduse</i>	葉柄、小枝	-	-
		小葉	-	-	
	コミカンソウ	<i>Phyllanthus urinaria</i>	全草	-	-
トチノキ科 (Hippocastanaceae)	トチノキ	<i>Aesculus turbinata</i>	種子	-	-
トチュウ科 (Eucommiaceae)	トチュウ	<i>Eucommia ulmoides</i>	樹皮	+	+
トベラ科 (Pittosporaceae)	トベラ	<i>Pittosporum tobira</i>	果皮	+	+
			葉	-	-
			樹皮	-	-
			果実	-	-

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2	
ナス科 (Solanaceae)	ニオイバンマツリ	<i>Brunfelsia latifolia</i>	葉	-	-	
		<i>Nicandra physalodes</i>	根	-	-	
	オオセンナリ			葉	-	-
				莖	-	-
				果実	-	-
	センナリホウズキ	<i>Physalis angulata</i>	地上部	-	-	
			根	-	-	
	シヨクヨウホオズキ		<i>Physalis pruinosa</i>	根	++	++
				葉	+	+
	ツノナス		<i>Solanum mammosum</i>	地上部	-	-
根				-	-	
イヌホウズキ		<i>Solanum nigrum</i>	根	+	+	
			果実	+	-	
			地上部	+	-	
ナデシコ科 (Caryophyllaceae)	ムギセンノウ	<i>Agrostemma githago</i>	種子	-	-	
	ドウカンソウ	<i>Vaccaria segetalis</i>	種子	-	-	
ナンヨウスギ科 (Araucariaceae)	コバノナンヨウスギ	<i>Araucaria heterophylla</i>	葉	-	-	
ニガキ科 (Simaroubaceae)		<i>Bursera simarouba</i>	葉	+	+	
			果実	-	-	
	ニガキ	<i>Picrasma quassioides</i>	木部	-	-	
ニクズク科 (Myristicaceae)	ニクズク	<i>Myristica fragrans</i>	MeOH-ppt	-	-	
ニシキギ科 (Celastraceae)	ツルウメモドキ	<i>Celastrus orbiculatus</i>	蔓	-	-	
	マサキ	<i>Euonymus japonicus</i>	樹皮	+	+	
	ハリツルマサキ	<i>Maytenus diversifolia</i>	葉	-	-	
葉			-	-		
ヌマミズキ科 (Nyssaceae)	キジュ	<i>Camptotheca acuminata</i>	果実	+	+	
ノウゼンカズラ科 (Bignoniaceae)	ニンニクカヅラ	<i>Pseudocalymma alliaceum</i>	地上部	+	-	
	ラパー	<i>Tabebuia spp.</i>	樹皮	+	+	
ハエドクソウ科 (Phrymaceae)	ハエドクソウ	<i>Phryma leptostachya</i>	根	-	-	
			地上部	-	-	
パパイヤ科 (Caricaceae)	パパイヤ	<i>Carica papaya</i>	葉	-	-	
			根	-	-	
			樹皮	-	-	

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
ハマウツボ科 (Orobanchaceae)	ニクジュヨウ	<i>Cistanche deserticola</i>	肉質茎	-	-
ハマミズナ科 (Aizoaceae)	ツルナ	<i>Tetragonia expansa</i>	全草	-	-
バラ科 (Rosaceae)	キンミズヒキ	<i>Agrrimonia pilosa</i>	全草	-	-
	カリン	<i>Chaenomeles sinensis</i>	果実	-	-
	サンザシ	<i>Crataegus cuneata</i>	果実	-	-
	ヘビイチゴ	<i>Duchesnea chrysantha</i>	花期全草	-	-
	ヤブヘビイチゴ	<i>Duchesnea indica</i>	全草	-	-
	ビワ	<i>Eryobotria japonica</i>	樹皮	-	-
			種子	-	-
			葉	-	-
	ダイコンソウ	<i>Geum japonicum</i>	根	-	-
			地上部	-	-
	キジムシロ	<i>Potentilla fragarioides</i> var. <i>major</i>	地下部	+	+
			地上部	-	-
	アンズ	<i>Prunus armeniaca</i>	種仁	-	-
	ノイバラ	<i>Rosa multiflora</i>	果実	-	-
クサイチゴ	<i>Rubus hirsutus</i>	根	-	-	
		地上部	-	-	
ワレモコウ	<i>Sanguisorba officinalis</i> var. <i>carnea</i>	根	-	-	
パンヤ科 (Bombacaceae)	トックリキワタ	<i>Chorisia speciosa</i>	未熟果実	-	-
	パキラ	<i>Pachira macrocarpa</i>	樹皮	+	+
			葉	-	+
バンレイシ科 (Annonaceae)	チェリモヤ	<i>Annona cherimola</i>	樹皮	++	++
			葉	+	+
	トゲバンレイシ	<i>Annona muricata</i>	茎	+	-
			葉	-	-
	ギユウシンリ	<i>Annona reticulata</i>	葉	++++	++++
			樹皮	-	-
	バンレイシ	<i>Annona squamosa</i>	葉	+++	+++
		小枝	+	-	
ヒノキ科 (Cupressaceae)	コノテガシワ	<i>Biota orientalis</i>	葉	+	+
			茎	-	-
	カイズカイブキ	<i>Juniperus chinensis</i> var. <i>kaizuka hort.</i>	茎	++	+
			葉	+	+
	ネズ	<i>Juniperus rigida</i>	葉	++	++
		茎	+	-	
	ニオイヒバ	<i>Thuja occidentalis</i>	葉	+++	+++
		茎	+++	+	

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
ヒメハギ科 (Polygalaceae)	イトヒメハギ	<i>Polygala tenuifolia</i>	根	-	-
ヒユ科 (Amaranthaceae)	イノコヅチ	<i>Achyranthes fauriei</i>	根	-	-
	ノゲイトウ	<i>Celosia argentea</i>	種子	-	-
	センニチコウ	<i>Gomphrena globosa</i>	全草	-	-
フウロソウ科 (Geraniaceae)	ニオイテンジクアオイ	<i>Pelargonium graveolens</i>	葉	-	+
			莖	-	+
ブドウ科 (Vitaceae)	ヤブガラシ	<i>Cayratia japonica</i>	地上部	-	-
フトモモ科 (Myrtaceae)	レンブ	<i>Eugenia javanica</i>	樹皮	-	-
			葉	-	-
	ピタンガ	<i>Eugenia uniflora</i>	小枝	-	+
			葉	-	-
	テリハバンジロウ	<i>Psidium cattleianum</i>	枝	+	-
			葉	-	-
			果実	-	-
			枝	-	-
バンジロウ	<i>Psidium guajava</i>	枝	-	-	
		葉	-	-	
キミノバンジロウ	<i>Psidium littorale</i>	小枝	-	+	
		葉	-	-	
ベンケイソウ科 (Crassulaceae)	セイロンベンケイ	<i>Bryophyllum pinnatum</i>	根	+	++
	ベンケイソウ ツメレンゲ キリンソウ ツルマンネングサ	<i>Hylotelephium erythrosticum</i> <i>Orostachys japonicus</i> <i>Sedum aizoon</i> var. <i>floribundum</i> <i>Sedum tomentosum</i>	地上部	-	-
			根	-	-
			全草	-	-
			根	-	-
全草	-	-			
ポタン科 (Paeoniaceae)	シャクヤク	<i>Paeonia lactiflora</i>	根	-	-
ホルトノキ科 (Elaeocarpaceae)		(2000-8)	根	+	+
		(Guareque, cut-1)	根	+	+
		(Guareque, cut-2)	根	-	-
		(Guareque, whole)	根	+	+
	ホルトノキ	<i>Elaeocarpus sylvestris</i> var. <i>ellipticus</i>	樹皮	+	+
			葉	-	+
	<i>Muntingia calabura</i>	葉	-	-	
マキ科 (Podocarpaceae)	イヌマキ	<i>Podocarpus macrophyllus</i>	莖	-	-
			葉	-	-

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
マタタビ科 (Actinidiaceae)	シナサルナシ	<i>Actinidia chinensis</i>	果実	-	-
マチン科 (Loganiaceae)	カロライナジャスミン	<i>Gelsemium sempervirens</i>	葉 茎	- -	- -
マツブサ科 (Schisandraceae)	サネカズラ	<i>Kadsura japonica</i>	蔓 葉	- -	+ -
	チョウセンゴミシ	<i>Schisandra chinensis</i>	果実	-	-
マメ科 (Leguminosae)		<i>Acacia melanoxylon</i>	葉	-	+
		<i>Acacia melanoxylon</i>	樹皮	-	-
	キバナオウギ	<i>Astragalus membranaceus</i>	根	-	-
	アピオス	<i>Apios americana</i>	花	-	-
	ナタマメ	<i>Canavalia gladiata</i>	根 種子	- +	+ +
	エビスグサ	<i>Cassia obtusifolia</i>	種子	-	-
		<i>Cassia spp.</i>	花、葉、枝	-	-
	クロタラリア	<i>Crotalaria juncea</i>	葉 茎 種子	- - -	+ - -
	デイゴ	<i>Erythrina variegata var. orientalis</i>	樹皮	-	-
	ミヤマトベラ	<i>Euchresta japonica</i>	根	-	+
		<i>Eysenhardtia polystachia</i>	材	-	-
		<i>Gliricidia sepium</i>	葉	-	-
	イヌカンゾウ	<i>Glycyrrhiza pallidiflora</i>	地下部	-	-
	カンゾウ	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	根	-	-
		<i>Haematoxylum brasiletto</i>	材	++	++
	ウマゴヤシ	<i>Medicago polymorpha</i>	全草	-	-
	シナガワハギ	<i>Melilotus officinalis</i>	全草	-	-
	オランダヒユ	<i>Psoralea corylifolia</i>	種子	-	+
	タンキリマメ	<i>Rhynchosia volubilis</i>	種子	+	-
	エンジュ	<i>Sophora japonica</i>	果実	+	+
	コメツブツメクサ	<i>Trifolium dubium</i>	地上部	-	-
		<i>Zornia spp.</i>	葉	-	+
ミカン科 (Rutaceae)	マツカゼソウ	<i>Boenninghausenia albiflora</i>	根 地上部	+++ +	+ +
	ザボン	<i>Citrus grandis</i>	果皮	-	-
	ナツダイダイ	<i>Citrus natsudaidai</i>	未熟果実	-	-
	ゴシユユ	<i>Evodia rutaecarpa</i>	樹皮 果実	- -	- -
	カラスノサンショウ	<i>Fagara ailanthoides</i>	樹皮 葉 果実 木部	+ + + -	+ + - +

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
ミカン科 (Rutaceae)	コクサギ	<i>Orixa japonica</i>	葉	-	-
			莖	-	-
	オウバク	<i>Phellodendron amurense</i>	樹皮	+	++
	ヘンルーダ	<i>Ruta graveolens</i>	根	+	++
			葉	+	++
			地上部	+	+
	サンショウ	<i>Zanthoxylum bungeanum</i>	果皮	+	+
ミズキ科 (Cornaceae)	サンシュユ	<i>Cornus officinalis</i>	果実	-	-
ミンハギ科 (Lythraceae)	メキシコハナヤナギ	<i>Cuphea hyssopifolia</i>	地上部	-	-
			根	-	-
ムクロジ科 (Sapindaceae)	フウセンカズラ	<i>Cardiospermum halicacabum</i>	種子	-	-
	リュウガン	<i>Euphoria longana</i>	葉	-	-
			小枝	-	-
	レイシ	<i>Litchi chinensis</i>	葉	-	-
			小枝	-	-
	ムクロジ	<i>Sapindus mukurossi</i>	果皮	++	+
			種子	-	-
ムラサキ科 (Boraginaceae)	ムラサキ	<i>Lithospermum officinale</i> var. <i>erythrorhizon</i>	根	-	-
メギ科 (Berberidaceae)	トクワイカリソウ	<i>Epimedium grandiflorum</i> subsp.	根、根莖	-	-
	イカリソウ	<i>Epimedium sagittatum</i>	地上部	-	-
	ヒイラギナンテン	<i>Mahonia japonica</i>	莖	+	++
			根	+	+
			葉	-	+
ナンテン	<i>Nandina domestica</i>	樹皮	+	-	
		葉	-	-	
モクセイ科 (Oleaceae)	ネズミモチ	<i>Ligustrum japonicum</i>	未熟果実	-	-
	トウネズミモチ	<i>Ligustrum lucidum</i>	葉	-	-
			果実	-	-
	オオバイボタ	<i>Ligustrum ovalifolium</i>	葉	-	-
		<i>Ligustrum purpurascens</i>	葉	-	-
ヤナギイボタ	<i>Ligustrum salicinum</i>	葉	-	-	
モクレン科 (Magnoliaceae)	ハウノキ	<i>Magnolia ovata</i>	樹皮	-	-
モチノキ科 (Aquifoliaceae)	ヒイラギモチ	<i>Ilex cornuta</i>	葉	+	++
			果実	-	-
		<i>Ilex kudingcha</i>	葉	-	-
	タラヨウ	<i>Ilex latifolia</i>	葉	-	-
	クロガネモチ	<i>Ilex rotunda</i>	葉	+	+
			果実	+	+

科名	和名	学名	部位	MT-1	MT-2
ヤブコウジ科 (Myrsinaceae)	マンリョウ	<i>Ardisia crenata</i>	根 葉 茎	++ - -	++ - -
	ヤブコウジ	<i>Ardisia japonica</i>	茎、地下部 葉	- -	- -
ヤマゴボウ科 (Phytolaccaceae)	ヨウシュヤマゴボウ	<i>Phytolacca americana</i>	根	-	-
	ジュズサンゴ	<i>Rivina humilis</i>	地上部	-	-
ヤマモガシ科 (Proteaceae)	マカダミアナッツ	<i>Macadamia ternifolia</i>	葉	-	-
ヤルマ科 (Cecropiaceae)		<i>Cecropia obtusifolia</i>	葉 新鮮葉	- -	- -
ユズリハ科 (Daphniphyllaceae)	ユズリハ	<i>Daphniphyllum macropodum</i>	葉 樹皮	- -	- -
ユリ科 (Liliaceae)	アロエ	<i>Aloe spp.</i>	AcOEt 可溶部 Dia 水溶出部 Dia MeOH 溶出部	- - -	- - -
	ニンニク	<i>Allium sativum var. pekinense</i>	鱗茎	-	-
	アオワニロカイ	<i>Aloe ferox</i>	葉	-	-
	ハナスゲ	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	根、根茎	+	+
	ドラセナ・ドラコ	<i>Dracaena draco</i>	葉 樹皮	- -	- -
	アミガサユリ	<i>Fritillaria verticillata var. thungergii</i>	鱗茎	-	-
	ジャノヒゲ	<i>Ophiopogon japonicus</i>	根	-	-
	サルトリイバラ	<i>Smilax china L.</i>	根茎	-	-
	メキシコサルサ	<i>Smilax medica</i>	根茎	-	-
ラン科 (Orchidaceae)	セッコク	<i>Dendrobium spp.</i>	地上部	-	-

* 網掛け部分は成分検索を行った植物エキス

Table 1. Shows the anti-proliferative activity of the 537 extracts against MT-1 and MT-2 cells.

第 2 節 小括

MT-1、MT-2 細胞に対して 537 種類の抽出物について MTT 法を用いスクリーニングを行った。これらの抽出物のうち 1 種類（ギユウシンリ: *Annona reticulata* 葉部）は MT-1、MT-2 両細胞に対し最も強い ($EC_{50} < 0.1 \mu\text{g/mL}$: +++) 細胞増殖抑制活性を示した。一方で MT-1 細胞に対して 5 種類の抽出物（ツルモウリンカ: *Tylophora tanakae* 根部、バンレイシ: *Annona squamosa* 葉部、ニオイヒバ: *Thuja occidentalis* 葉部、ニオイヒバ根部、マツカゼソウ: *Boenninghausenia albiflora* 根部）は高程度 ($EC_{50} 0.1-1 \mu\text{g/mL}$: +++) の細胞増殖抑制活性を示し、17 種類の抽出物（ツルモウリンカ地上部、イヌガヤ: *Cephalotaxus harringtonia* 葉部、カンアオイ: *Heterotropa nipponica* 根部、*Tylophora ovata* 葉部、*Tylophora ovata* 枝部、*Tylophora ovata* var. *brownii* 葉部、トウワタ: *Asclepias curassavica* 茎部、ミフクラギ: *Cerbera manghas* 葉部、シヨクヨウホオズキ: *Physalis pruinosa* 根部、チェリモヤ: *Annona cherimola* 樹皮、ネズ: *Juniperus rigida* 葉部、*Haematoxylum brasileto* 材部、マンリヨウ: *Ardisia crenata* 根部、ヒヨウタン: *Langenaria leucabtha* 果実部、キツネノマゴ: *Justicia procumbens* 全草、カイヅカイブキ: *Juniperus chinensis* 茎、ムクロジ: *Sapindus mukurossi* 果皮) は中程度 ($EC_{50} 1-10 \mu\text{g/mL}$: ++) の細胞増殖抑制活性を示し、102 種類の抽出物は弱い ($EC_{50} 10-100 \mu\text{g/mL}$: +) 細胞増殖抑制活性を示し、残りの抽出物は任意の細胞増殖抑制活性を示さなかった。

また MT-2 細胞に対して 4 種類の抽出物（バンレイシ葉部、ツルモウリンカ根部、ツルモウリンカ地上部、ニオイヒバ葉部）は高程度 ($EC_{50} 0.1-1 \mu\text{g/mL}$: +++) の細胞増殖抑制活性を示し、22 種類の抽出物（イヌガヤ葉部、カンアオイ根部、*Tylophora ovata* 葉部、*Tylophora ovata* 枝部、*Tylophora ovata* var. *brownii* 葉部、トウワタ茎部、ミフクラギ葉部、シヨクヨウホオズキ根部、チェリモヤ樹皮、ネズ葉部、*Haematoxylum brasileto* 材部、マンリヨウ根部、トカドヘチマ: *Luffa acutangula* 種子、トウワタ根部、モッコウ: *Saussurea lappa* 根部、シヨウガ: *Zingiber officinale* 根茎、セイロンベンケイ: *Bryophyllum pinnatum* 根部、キハダ: *Phellodendron amurense*、ヘンルーダ: *Ruta graveolens* 根部、ヘンルーダ葉部、ヒイラギナンテン: *Mahonia japonica*、ヒイラギモチ: *Ilex cornuta* 葉部) は中程度 ($EC_{50} 1-10 \mu\text{g/mL}$: ++) の細胞増殖抑制活性を示し、114 種類の抽出物は弱い ($EC_{50} 10-100 \mu\text{g/mL}$: +) 細胞増殖抑制活性を示し、残りの抽出物は任意の細胞増殖抑制活性を示さなかった。

以上の結果をまとめると以下のようなになる。

Table 2. スクリーニング結果

EC ₅₀ (μg/mL)	MT-1	MT-2
< 0.1 ++++	ギユウシンリ (葉部)	ギユウシンリ (葉部)
0.1-1 +++	バンレイシ (葉部) マツカゼソウ (根部) ツルモウリンカ (根部) ニオイヒバ (葉部) ニオイヒバ (根部)	バンレイシ (葉部) ツルモウリンカ (葉部) ツルモウリンカ (根部) ニオイヒバ (葉部)
1-10 ++	シヨクヨウホオズキ (根部) ツルモウリンカ (葉部) など 17 種類	シヨクヨウホオズキ (根部) ヘンルーダ (根部) など 22 種類
10-100 +	シヨクヨウホオズキ (葉部) ヘンルーダ (根部) など 102 種類	シヨクヨウホオズキ (葉部) など 114 種類

以上の結果と抽出エキスの量を考慮して、バンレイシ葉部、ギユウシンリ葉部、シヨクヨウホオズキ地上部、ヘンルーダ根部、ツルモウリンカ地上部の計 5 種について活性成分の探索を行ったので、次章より記す。

第2章 *Annona* 属の成分探索

第1節 バンレイシ (*Annona squamosa*) について

バンレイシ科バンレイシ属の半落葉性低木。原産地は西インド諸島、ペルーなど中南米といわれ、タイやベトナムなど東南アジアで広く栽培されている。英名は『シュガーアップル』、日本では果実が仏像の頭に似ていることから『釈迦頭』と呼ばれている。

既知成分として、種子にacetogeninが含まれており、抗マラリア・免疫抑制・摂食抑制・細胞傷害活性作用が知られている¹⁹⁾。また、葉には aporphine alkaloids が含まれている²⁰⁾。



Fig. 6. バンレイシ (*Annona squamosa*)

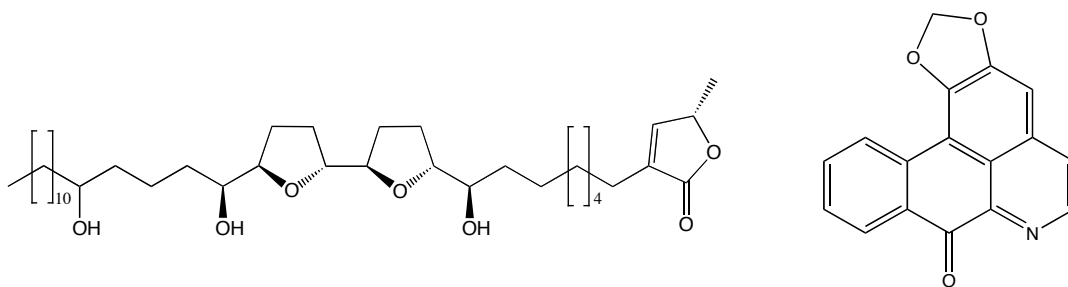


Fig. 7. バンレイシ科の既知成分

第 1 項 分離

今回のエキスクリーニングでは、バンレイシの枝と葉について行い、葉に強い活性がみられた。前述したように acetogenin は種子に多く含まれるが枝から単離された報告もある²⁾。しかしながら、葉からの報告例がないことから acetogenin 以外の成分が活性を担っているのではないかと考え、aporphine alkaloid を単離することを目的として分離を行った。

バンレイシの葉 (159g) を MeOH で還流し、MeOH ext. (30.0 g) を得た。得られた MeOH ext. を EtOAc と Tartaric Acid (3%) で分配し、それぞれ濃縮した。Tartaric Acid (3%) L. を中和後、更に CHCl₃ と分配を行った。Water L. に関しては Diaion HP-20 を用いて Water fr. と MeOH fr. を得た。

EtOAc L., CHCl₃ L., MeOH fr. においてそれぞれ MTT assay を行ったところ、以下のようになった。CHCl₃ L. において最も活性が強い結果が得られたため、CHCl₃ L. についてさらに各種クロマトグラフィーにて分離・精製を行い **AS-1 (1)** と仮称する化合物を得た。

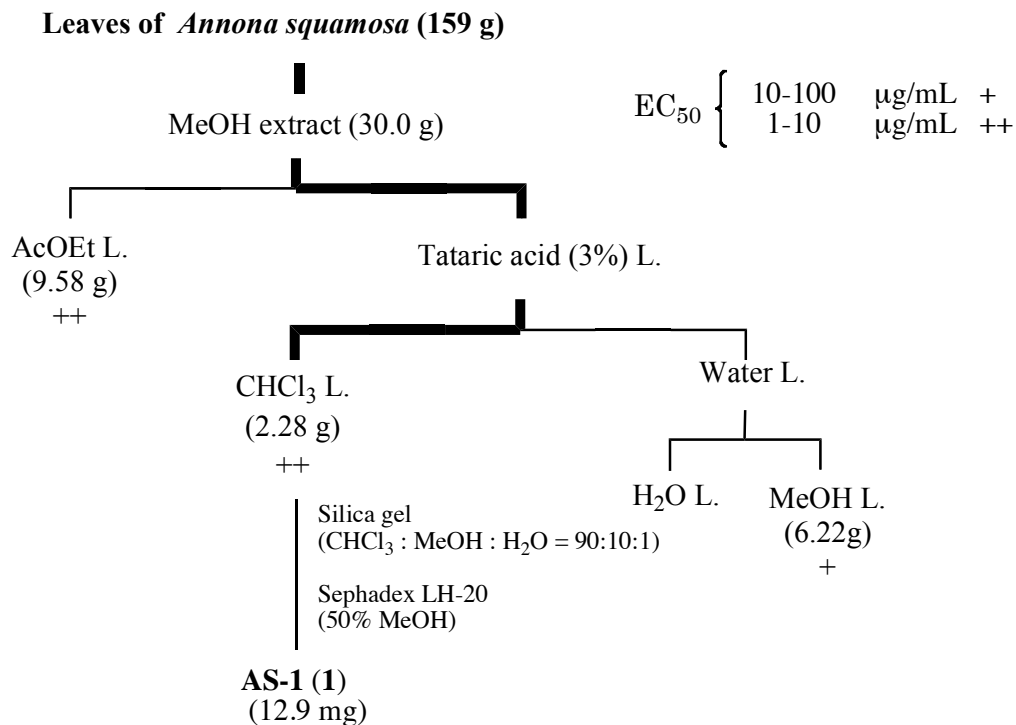


Chart 1.

第 2 項 構造決定

AS-1 (1) = Lanuginosine

AS-1 (1) は positive FAB-MS において m/z 306 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 306.0770 に $[M+H]^+$ が認められ、分子式は $C_{18}H_{11}NO_4$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 6.35 に methylene 基由来のシグナルが、 δ 4.00 に methoxy 基由来のシグナルが観察された。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 18 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較したところ、1,2 位に methylenedioxy 基を持ち、9 位に methoxy 基を持つ Lanuginosine と同定した²²⁾。

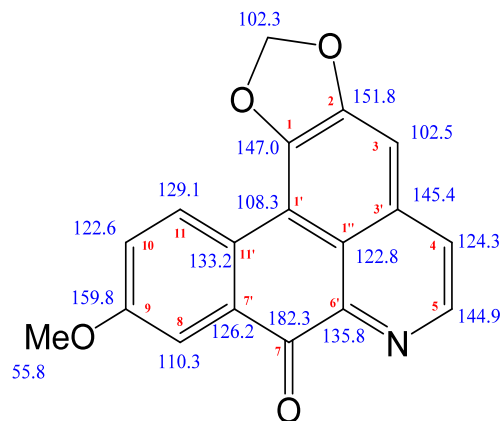


Fig. 8. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3$) of AS-1 (1)

第2節 ギュウシンリ (*Annona reticulata*) について

バンレイシ科バンレイシ属の半落葉性低木。原産地は西インド諸島、中央アメリカといわれている。英名は『カスタードアップル』、日本では果実が牛の心臓に似ているため、『牛心梨』と呼ばれる。

既知成分として前述したバンレイシよりと同様にanonaine、liriodenine、reticuline等のアルカロイドが報告されている²²⁾。



Fig. 9. ギュウシンリ (*Annona reticulata*)

第 1 項 分離

ギョウシンリの葉 (577 g) を MeOH で還流し、MeOH ext. (55.7 g) を得た。得られた MeOH ext. を EtOAc と Tartaric Acid (3 %) で分配し、それぞれ濃縮した。Tartaric Acid (3 %) L. を中和後、更に CHCl₃ と分配を行った。

EtOAc L., CHCl₃ L., Water L においてそれぞれ MTT assay を行ったところ、以下のようになった (EC₅₀: 0.1-1 μg/mL, +++; 1-10 μg/mL, ++; 10-100 μg/mL, +; >100 μg/mL, -)。CHCl₃ L. において最も強い活性がみられたため、CHCl₃ L. について更に各種クロマトグラフィーにて分離・精製を行い **AR-1 (2)** を、HPLC を用いて **AR-2 (3)** と仮称する化合物をそれぞれ得た。

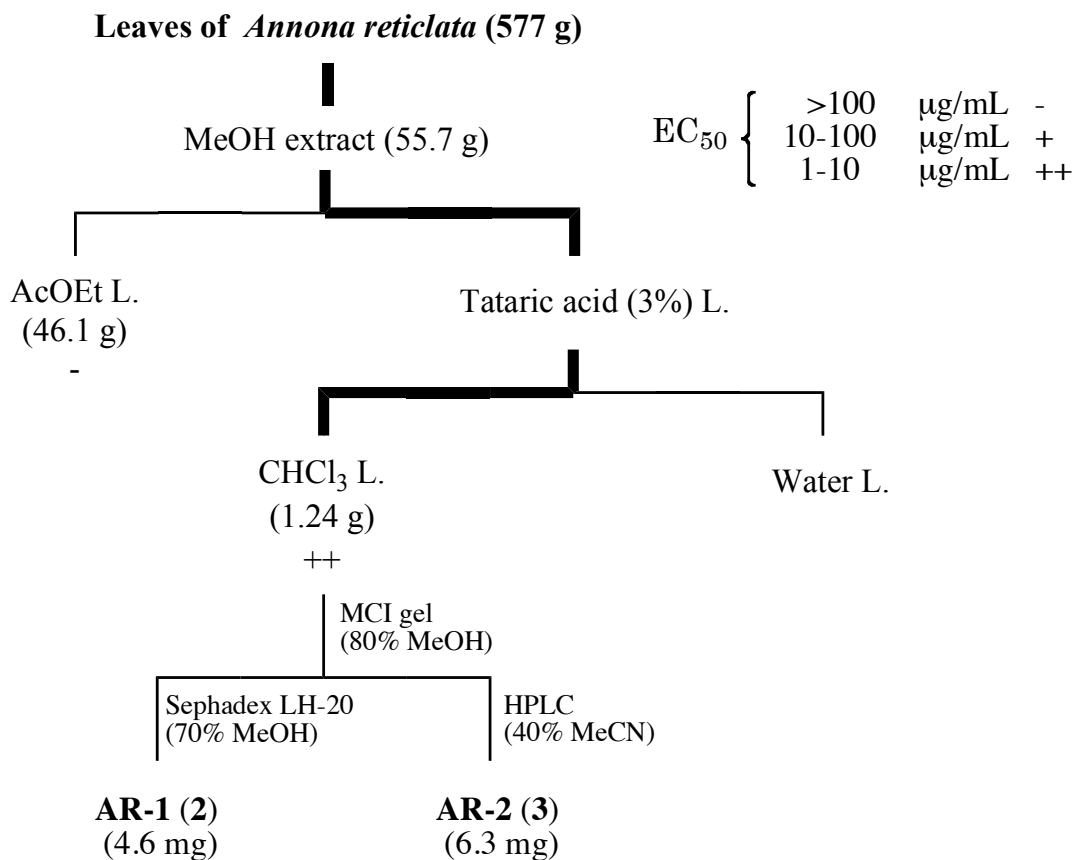


Chart 2.

第 2 項 構造決定

AR-1 (2) = Liriodenine

AR-1 (2) は positive FAB-MS において m/z 276 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 276.0661 に $[M+H]^+$ が認められ、分子式は $C_{17}H_9O_3N$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて先述した Lanuginosine と同様に δ 6.35 に methylene 基由来のシグナルが観察されたが、methoxy 基由来のシグナルは観察されなかった。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 17 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較したところ、1,2 位に methylenedioxy 基を持つ Liriodenine と同定した²²⁾。

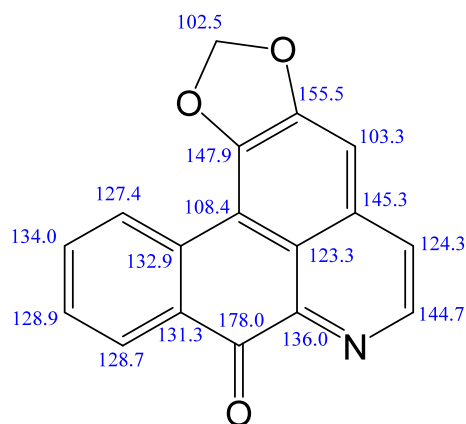


Fig. 10. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3$) of AR-1 (2)

AR-2 (3) = Lysicamine

AR-2 (3) は positive FAB-MS において m/z 314 $[M+Na]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 314.0793 に $[M+Na]^+$ が認められ、分子式は $C_{18}H_{13}O_3N$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて先述した Liriodenine のような methylene 基由来のシグナルは観察されず、一方で δ 4.03、 δ 4.11 において methoxy 基由来のシグナルが観察された。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 18 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較したところ、1,2 位両方に methoxy 基を持つ Lysicamine と同定した²²⁾。

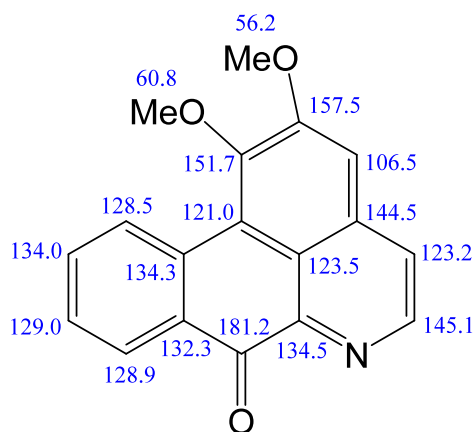


Fig. 11. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in CDCl₃) of AR-2 (3)

第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

AS-1 (1)、AR-1(2)、AR-2 (3) の細胞増殖抑制活性を示す。Positive control として Doxorubicin を用いた。

Table 3. 1~3 の細胞増殖抑制活性 (EC₅₀)

Compounds	EC ₅₀ (μM)	
	MT-1	MT-2
AS-1 (1)	1.34	4.49
AR-1 (2)	3.09	3.62
AR-2 (3)	31.61	16.25
Doxorubicin	0.02	0.02

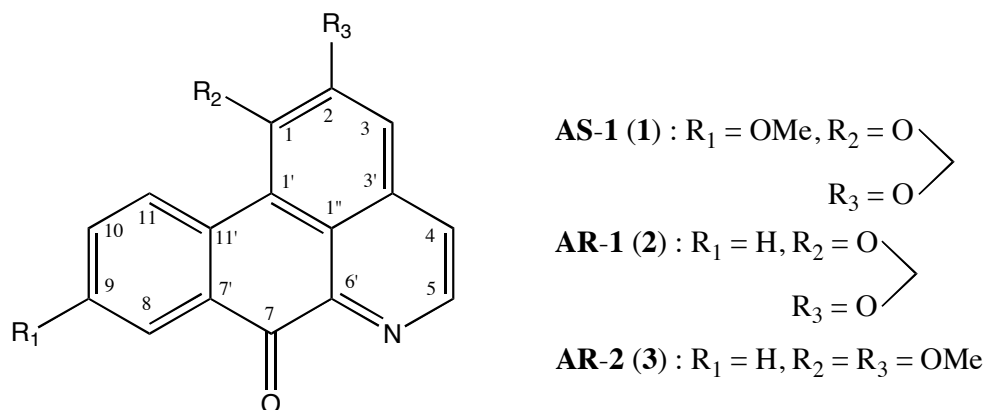


Fig. 12. 構造まとめ

得られた化合物の EC₅₀ を比較すると 1、2、3 の順に細胞増殖抑制活性が強かった。最も活性の強い 1 は 9 位に methoxy 基を有している。また、最も活性の弱い 3 は 1,2 位の methylenedioxy 基が開裂しており、これら methoxy 基の有無、結合位置等の相違により活性に差が生じたと考えられる。

第4節 Liriodenine (2) の細胞周期に対する影響について

Annona 属植物より3種の aporphine alkaloids を得た。そのうち、**2** はヒトの大腸がん細胞に対して G1/S 期での細胞周期停止を起こすことが報告されている²³⁾。そこで、MT-1、MT-2 細胞に対する影響の検討を行った。今回は、propidium iodide (PI) を用いてフローサイトメトリーで細胞周期に対する影響を検討した。

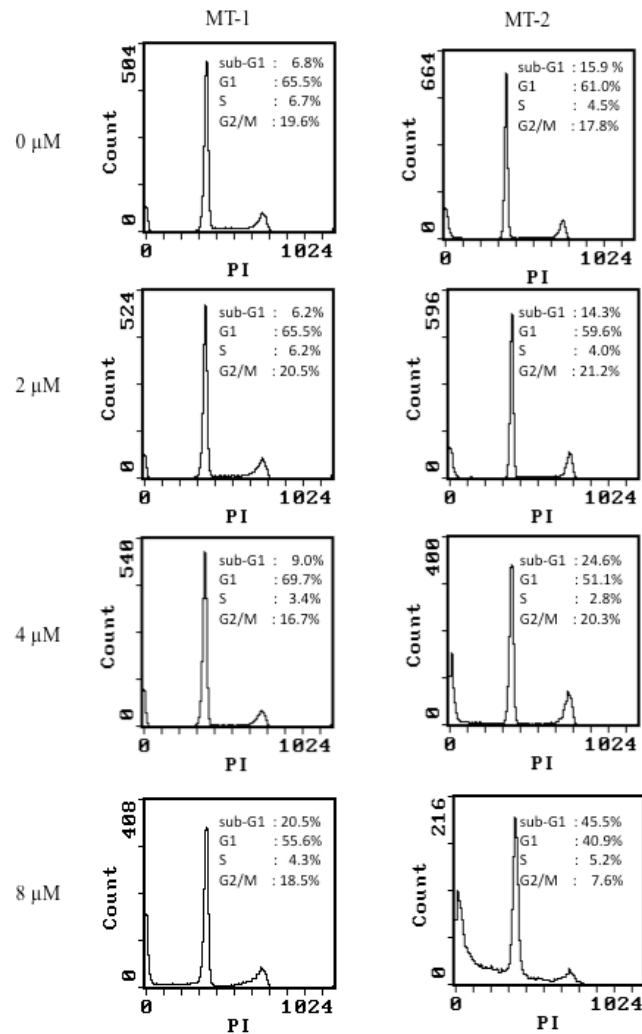


Fig. 13. フローサイトメトリー

結果として、MT-1, MT-2 両細胞に対して、Sub-G1 期において細胞凝集を起こしていることがわかった。

第5節 小括

活性が認められた植物の中でバンレイシ (*Annona squamosa*) 及びギョウシシリ (*Annona reticulata*) の葉部について成分研究を行った。その結果、Lanuginosine (1)、Liriodenine (2)、Lysicamine (3)の3種の aporphine alkaloid を単離し、その構造を明らかにした (Fig. 14)。

MT-1、MT-2 細胞に対する細胞増殖抑制活性を試験したところ、活性の強いものから **1** > **2** > **3** となり次のような構造活性相関が示唆された。**2** と比較すると **3** は 1,2 位の methylenedioxy 基が開裂しており、これにより活性が低下していた。また、**1** は **2** と比較すると 9 位に methoxy 基を持ち、これが活性を増強させる可能性が示唆された。

また、細胞周期に対する影響としては Sub-G1 期の細胞凝集を引き起こすことからアポトーシスを誘導しているのではないかと考えられた。

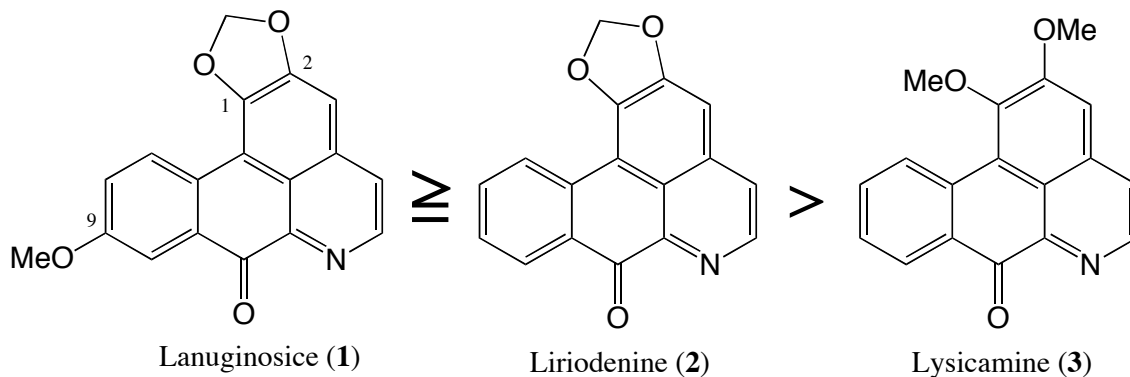


Fig. 14. 構造と活性の順序

第3章 ショクヨウホウズキ (*Physalis pruinosa*) について

ナス科、ホウズキ属、半耐寒性多年草で、南半球温帯原産。英名で『ケーズグーズベリー』、別名『ストロベリートマト』という。果実は直径2cmほどの球形の液果で、黄色に熟し、甘酸っぱく食用にされる。

既知成分としては、withaferin A に代表される withanolide 類が報告されている²⁴⁾。



Fig. 15. ショクヨウホオズキ
(*Physalis pruinosa*)

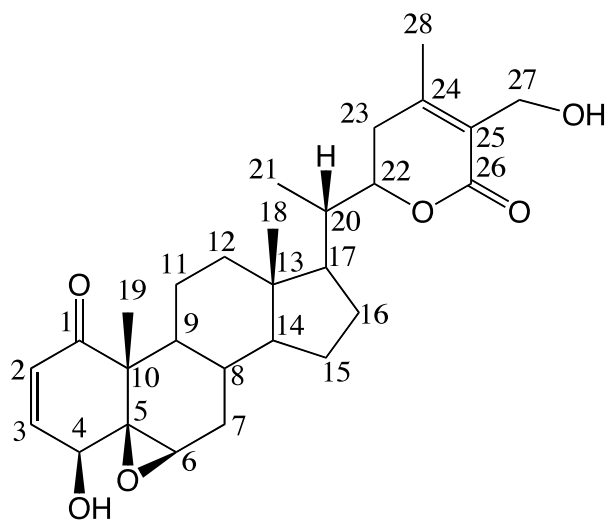


Fig. 16. withanolide

第 1 節 ショクヨウホウズキの分離

ショクヨウホウズキ地上部 (158 g) を MeOH で抽出し、MeOH ext. (50 g) を得た。続いて、H₂O と 1-BuOH-EtOAc (1 : 1) で分配した²⁴⁾。MeOHL、Water L、1-BuOH-EtOAc L. について MTT assay を行なった結果、EC₅₀ はそれぞれ 0.6 µg/mL、4.9 µg/mL、0.3 µg/mL であった。そこで、活性の一番強かった 1-BuOH-EtOAc L. についてさらなる分離を行った。

1-BuOH-AcOEt L. を以下の Chart 3 に示すように、各種クロマトグラフィーにて分離・精製を行い、**PP-1**~**5** と仮称する 5 種類の化合物を得た。

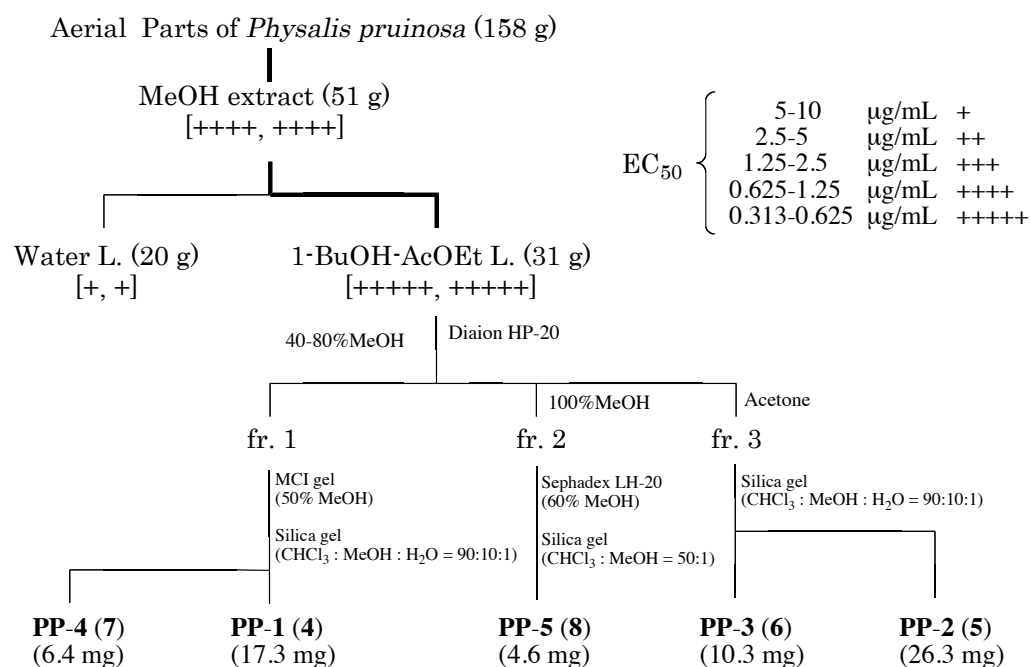


Chart 3

第 2 節 構造決定

PP-1 (4) = 4 β -hydroxywithanolide E

PP-1 (4) は $[\alpha]_D +56.8^\circ$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 525 $[M+Na]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 525.2452 に $[M+Na]^+$ が認められ、分子式は $C_{28}H_{38}O_8Na$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 1.07~1.96 に 5 本の tertiary methyl、 δ 7.03, 6.18 に olefinic proton のシグナルが観察された。

また、 ^{13}C -NMR スペクトルでは、計 28 本のシグナルが観察された。文献値と比較した結果、5 位と 6 位に epoxy 基を持つ 4 β -hydroxywithanolide E²⁵⁻²⁷) と同定した。

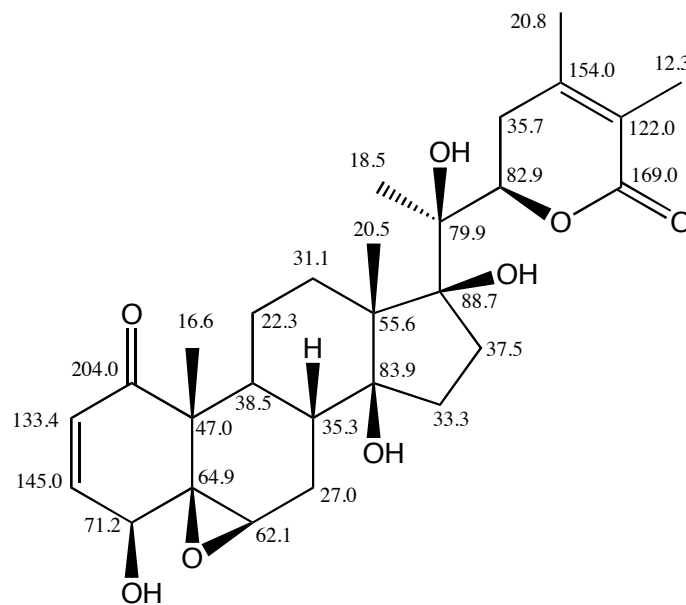


Fig. 17 ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in CDCl₃) of PP-1 (4)

PP-2 (5) = Withanolide S

PP-2 (5) は $[\alpha]_D +83.7^\circ$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 527 $[M+Na]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 527.2639 に $[M+Na]^+$ が認められ、分子式は $C_{28}H_{40}O_8Na$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 1.18~1.98 に 5 本の tertiary methyl、 δ 6.73, 5.81 に olefinic proton のシグナルが観察された。

また、 ^{13}C -NMR スペクトルでは、計 28 本のシグナルが観察され、文献値と比較した結果 5 位に hydroxy 基が結合した、Withanolide S と同定した²⁸⁾。

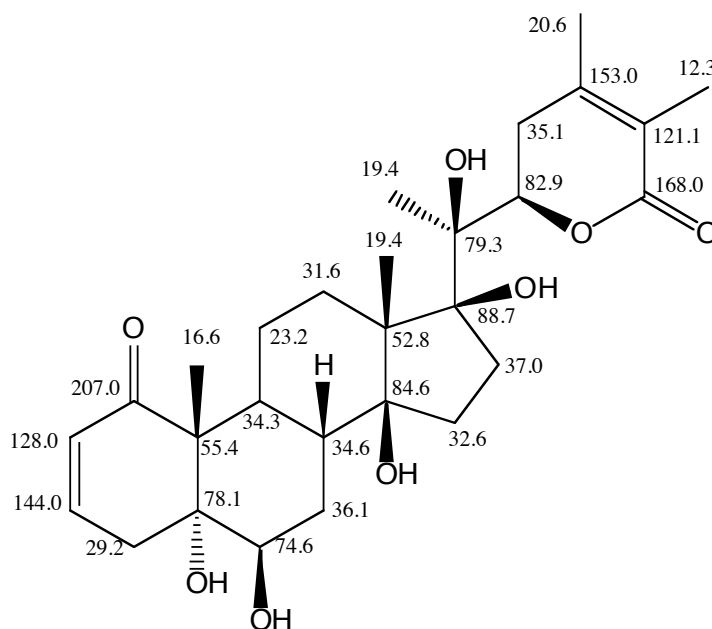


Fig. 18 ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3$) of PP-2 (5)

PP-3 (6) = 5 α -metoxywithanolide S

PP-3 (6) は $[\alpha]_D +51.0$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 541 $[M+Na]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 541.2772 に $[M+Na]^+$ が認められ、分子式は $C_{29}H_{42}O_8 Na$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 1.14~1.94 に 5 本の tertiary methyl、 δ 6.51, 5.81 に olefinic proton のシグナルが観察された。

^{13}C -NMR スペクトルでは、計 29 本のシグナルが観察された。また methoxy 基の proton と 5 位の carbon に HMBC 相関がみられた。文献値と比較した結果、5 位に methoxy 基が結合した 5 α -metoxywithanolide S と同定した²⁸⁾。

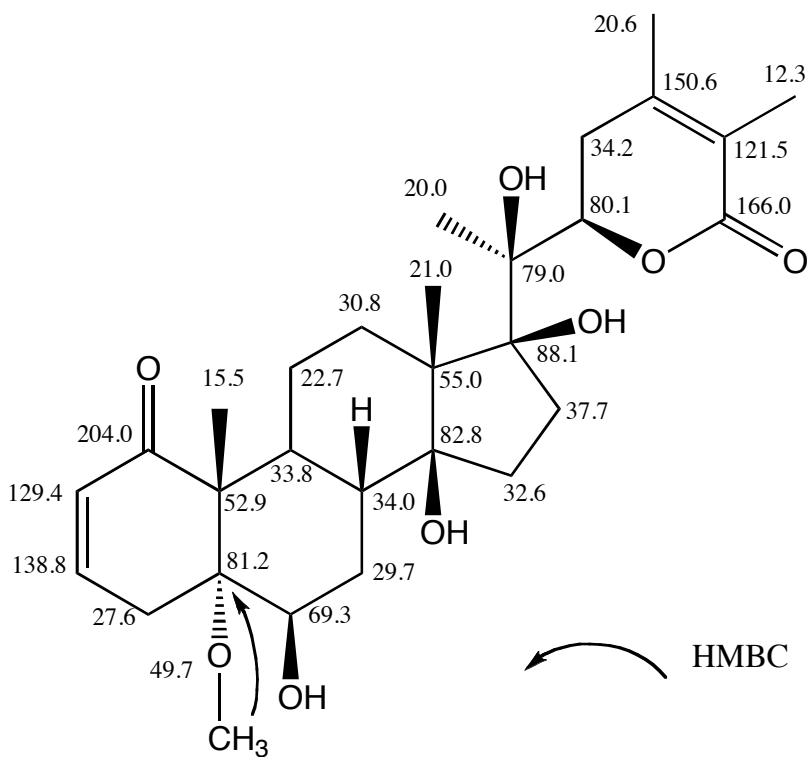


Fig. 19. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3$) of PP-3 (6)

PP-4 (7) = 5 α -butoxywithanolide S

PP-4 (7) は $[\alpha]_D +20.3^\circ$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 583 $[M+Na]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 583.3249 に $[M+Na]^+$ が認められ、分子式は $C_{32}H_{48}O_8 Na$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 1.19~1.92 に 5 本の tertiary methyl、 δ 6.61 と δ 5.72 に olefinic proton のシグナルが観察された。

^{13}C -NMR スペクトルでは、計 32 本のシグナルが観察された。また 1'位の proton と 5 位の carbon に HMBC 相関がみられた。5、6 と比較して下の構造のように 5 位に butoxy 基がついた 5 α -butoxywithanolide S と決定した。

PP-4 (7) は新規化合物であるが、分離操作中に BuOH を用いており、アーティファクトの可能性も否定できない。

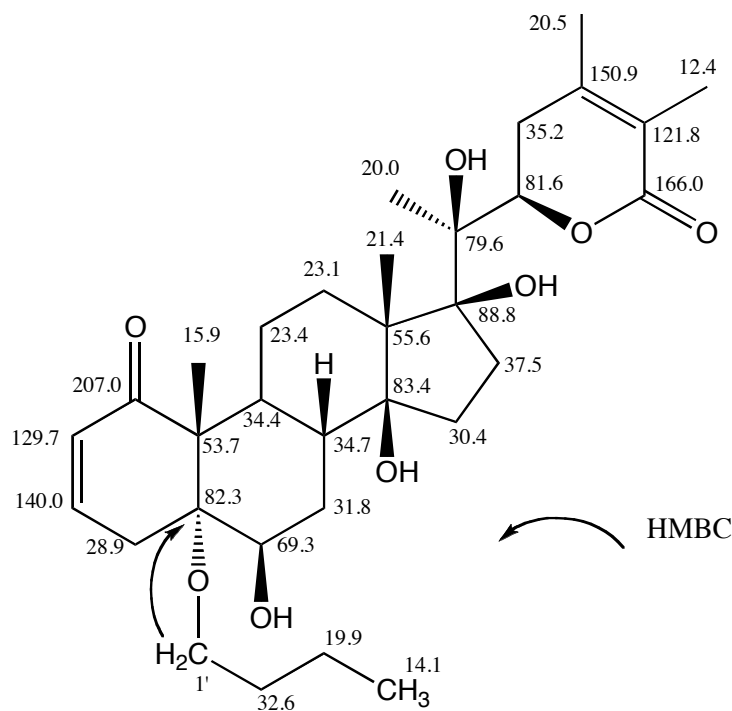


Fig. 20. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3$) of PP-4 (7)

PP-5 (8) = (3 β ,4 β ,5 β ,6 β ,17 α ,22R)-

5,6-epoxy- 4,14,17,20,22-pentahydroxy-3methoxy-1-oxo- ergost-24-en-26-oic acid

PP-5 (8) は Positive FAB-MS において m/z 557 [M+Na]⁺ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 557.2727 に [M+Na]⁺ が認められ、分子式は C₂₉H₄₂O₉Na と決定した。

¹H-NMR スペクトルにおいて δ 1.01~1.94 に 5 本の tertiary methyl がみられた。

また、¹³C-NMR スペクトルでは計 29 本のシグナルが観察され、methoxy 基の proton と 3 位の carbon に HMBC 相関がみられた。これらと文献値と比較して下の構造のように 2 位、3 位が単結合で 5 位と 6 位に epoxy 基をもつ (3 β ,4 β ,5 β ,6 β ,17 α ,22R)- 5,6-epoxy- 4,14,17,20,22-pentahydroxy-3methoxy-1-oxo- ergost-24-en-26-oic acid と同定した²⁹⁾。

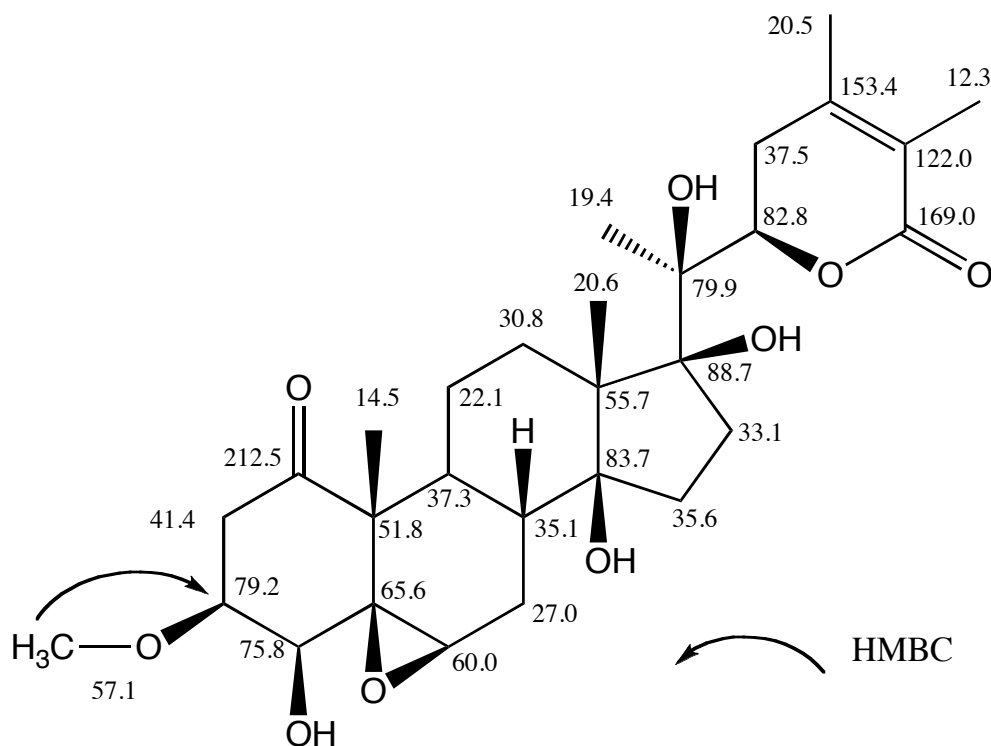


Fig. 21 ¹³C-NMR Chemical Shifts (in CDCl₃) of PP-5 (8)

第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

4~8 についての MTT assay 結果を Table 4 に示す。Positive control として Doxorubicin を用いた。

Table 4. 4~8 の細胞増殖抑制活性 (EC_{50}) (ND : not determine)

Compounds	EC_{50} (μ M)		
	MT-1	MT-2	Normal
PP-1 (4)	0.199	0.199	1.572
PP-2 (5)	196.1	80.5	ND
PP-3 (6)	20.8	3.6	ND
PP-4 (7)	2.4	0.8	ND
PP-5 (8)	1.9	1.7	ND
Doxorubicin	0.015	0.013	ND

シヨクヨウホオズキ地上部から単離した5つの withanolide 類のなかで最も細胞増殖抑制活性が強かったのが 5,6 位に epoxy 基を持つ 4 であった。

第4節 小括

抗成人 T 細胞白血病 (ATL) 成分探索研究の一環としてスクリーニングを行い、活性が認められた植物の中で、シヨクヨウホウズキ (*Physalis pruinosa*) の地上部の成分について研究を行なった。その結果、4 β -hydroxywithanolide E (**4**)、withanolide S (**5**)、5 α -methoxywithanolide S (**6**)、5 α -butoxywithanolide S (**7**)、(3 β ,4 β ,5 β ,6 β ,17 α ,22R)-5,6-epoxy-4,14,17,20,22-pentahydroxy-3-methoxy-1-oxo-ergost-24-en-26-oic acid (**8**) の withanolide 類 5 種を単離し、それらの構造を明らかにした。

5~**7** の構造は類似しており、5 位の炭素についている置換基がそれぞれ、hydroxy 基、methoxy 基、butoxy 基という差異であった。**7** に関しては、新規化合物であるが、実験操作中に 1-BuOH を使用しているため、アーティファクトである可能性も否定できない。

MT-1、MT-2 細胞に対する細胞増殖抑制活性を試験したところ、活性の強い順に **4** > **8** > **7** > **6** > **5** となり次のような構造活性相関が観測された。**5**~**7** の withanolides は極性の変化により活性に影響が現れたと考えられる。また、同じ epoxy 基を持つ **4**、**8** において、2 位と 3 位の二重結合が活性の強さに影響を与えることも示唆された。以上のことから、A 環の 2, 3 位二重結合、B 環の 5, 6 位に epoxy 基を持つことが強い活性を発現する要因の一つであると推測される。

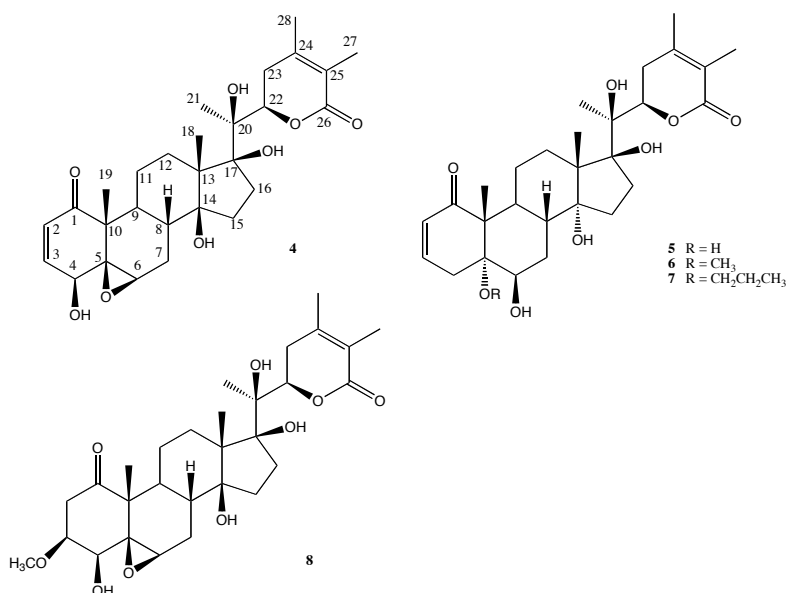


Fig. 22. 構造まとめ

また、最近では 4 β -hydroxywithanolide E がヒト肺がん細胞の増殖を抑制することが報告されている³⁰⁾。その報告によると細胞に対してアポトーシスを誘導し、細胞周期に対して G2/M arrest を引き起こすことも報告されている。さらに、Withanolide D は白血球細胞に対してアポトーシスを誘導することがわかっており、c-Jun N-terminal kinase と p38 mitogen-activated protein kinase を亢進させることが明らかとなっている³¹⁾。

このように、withanolide 類には興味ある活性が報告されている。そこで、これらについてさらなる知見を得るために他の植物から分離された withanolide 類の構造活性相関を追求することにした。

第4章 withanolid 類について

第1節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

第2章で述べたように withanolid に強い細胞増殖抑制活性が認められた。そこで、当研究室にて単離された withanolid の活性についても検討したので、報告する。以下に用いた化合物の構造(9~38)を示す。

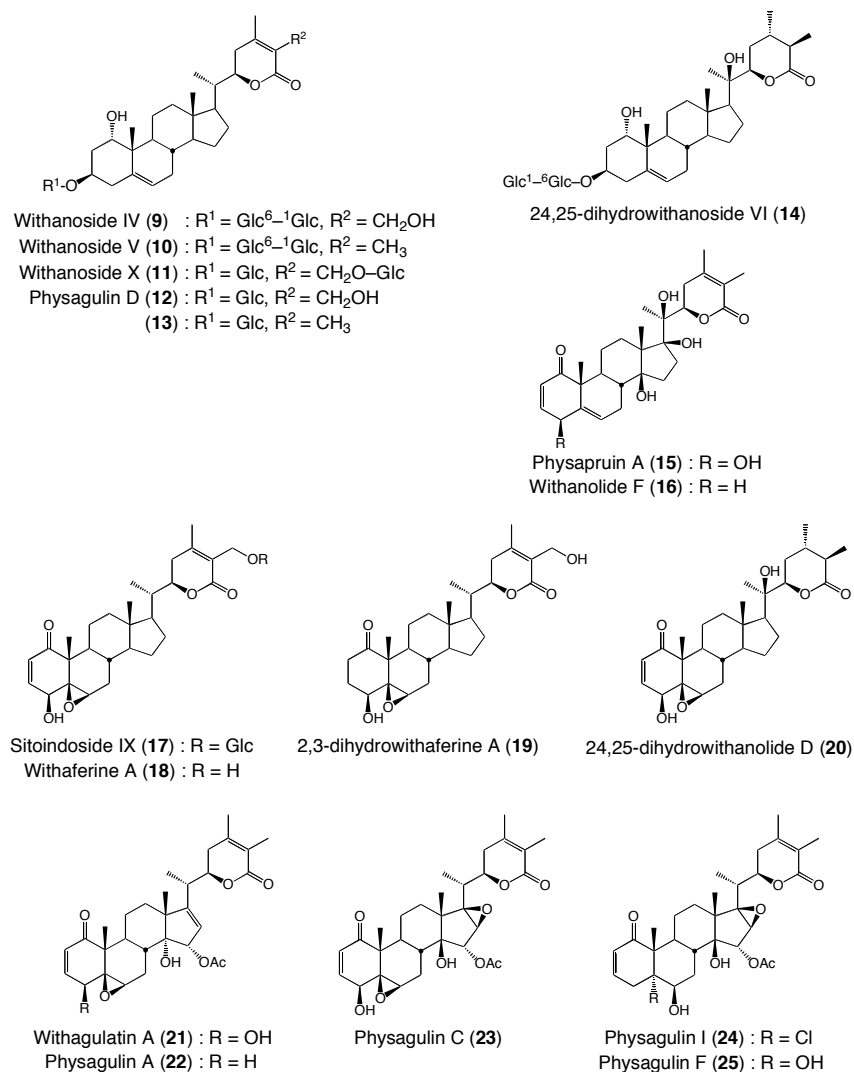


Fig. 23. Withanolid (9~25)

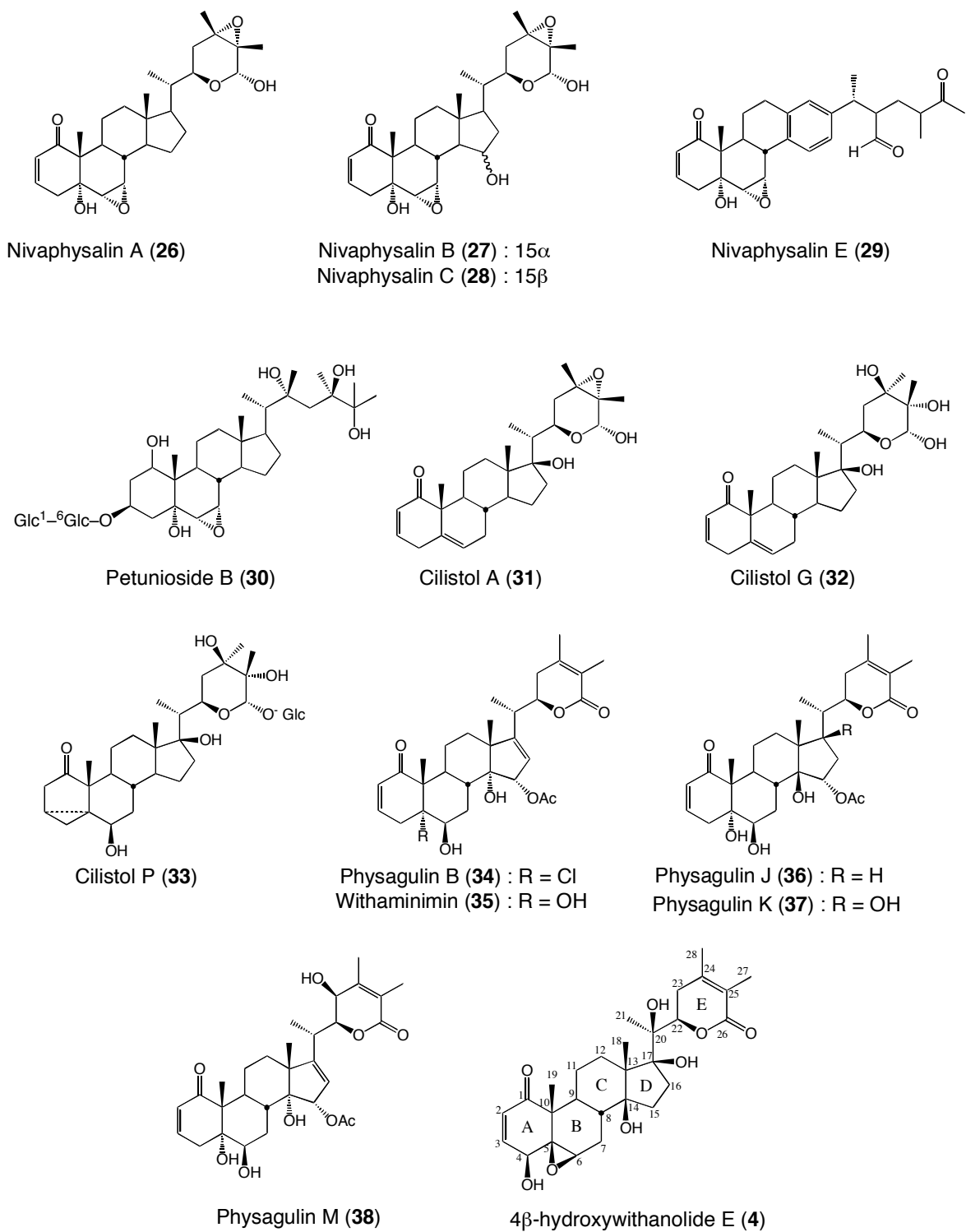


Fig. 24. Withanolide (**26**~**38**, **4**)

各 withanolide を MT-1, MT-2 細胞に対して細胞増殖抑制活性を測定した。その結果を以下に示す。Positive control として Doxorubicin を用いた。

Table 5. **9**~**38** の細胞増殖抑制活性 (EC₅₀)

Compounds	EC ₅₀ (μM)		
	MT-1	MT-2	Normal
9	> 100	> 100	ND
10	> 100	> 100	ND
11	> 100	> 100	ND
12	> 100	> 100	ND
13	> 100	> 100	ND
14	> 100	> 100	ND
15	0.178	0.156	ND
16	1.55	1.68	ND
17	0.320	3.01	ND
18	0.110	1.28	ND
19	0.031	0.430	ND
20	0.020	0.051	1.059
21	2.72	3.52	ND
22	2.29	2.53	ND
23	1.58	1.68	ND
24	2.49	2.49	ND
25	3.64	3.11	ND
26	> 100	> 100	ND
27	> 100	> 100	ND
28	40.8	76.4	ND
29	10.1	17.2	ND
30	> 59.7	> 59.7	ND
31	14.9	19.6	ND
32	> 42.2	> 42.2	ND
33	> 76.3	> 76.3	ND
34	6.98	7.07	ND
35	71.7	39.9	ND
36	49.5	39.6	ND
37	18.0	17.1	ND
38	> 100	> 100	ND
4	0.199	0.199	1.572
Doxorubicin	0.015	0.013	ND

結果として **17** を除く糖鎖をもつ化合物 (**9~14, 30, 33**) は細胞増殖抑制活性を示さなかった。**17** については第 2 章で述べたように、構造上 5,6 位の epoxy 基を持つため細胞増殖抑制活性がみられたのではないかと示唆された。そこで **17** から糖鎖の外れた **18** と比較したところ **18** の活性は約 3 倍も強いことがわかった。以上の点から糖鎖を有することが活性を減弱する要因であると判明した。

また 6,7 位、24,25 位に epoxy 基をもつ **26~31** も活性を有するが 5,6 位の epoxy 基には劣ることから、5,6 位の epoxy 基が細胞増殖抑制作用における活性を強める主因であることが確認された。さらに 2,3 位二重結合をもつ **18** と持たない **19** を比較すると **19** の方が約 3 倍近く細胞増殖抑制活性が強いことから 2,3 位二重結合は作用を減弱させると推察された。

さらに、**15** と **16** を比較すると **15** は **16** より約 10 倍以上も強い細胞増殖抑制活性が得られ、活性を強める要因として 4 位の hydroxy 基も関与していると考えられる。同様に強く細胞増殖抑制活性のみられた **19, 20** も 4 位に hydroxy 基を有しており、この根拠を裏付けるものと考えられる。また、15 β -hydroxy 基をもつ **28** と 15 α -hydroxy 基をもつ **27** の比較から 15 α -hydroxy 基は活性を減弱する作用を有するのではないかと推測された。一方、**21** については、上記で述べてきた活性を強める 5,6 位の epoxy 基、4 位の hydroxy 基を有するにもかかわらず、細胞増殖抑制活性は強いとはいえない。これは **23** にもいえることであり、15 α 位 acetoxyl 基の影響ではないかと推定された。16,17 位に epoxy 基を持つ **23, 24, 25** が細胞増殖抑制活性をさほど強く示さなかったことも 15 α 位 acetoxyl 基によるものではないかと推定される。

これら検討した withanolide 類 30 種のうち最も活性の強かったものは、**20** (24,25-dihydrowithanolide D)であった。**20** についてはさらに健常人単核球分画を用いた毒性試験を行い、健常人に対する選択性を検討した。その結果、MT-1 では 50 倍、MT-2 では 20 倍の差があり、細胞選択性があると判断した。

第 2 節 24,25-dihydrowithanolide D (20) のメカニズム解析

前節で述べたように、24,25-dihydrowithanolide D (20) が withanolide の中で最も強い活性を示した。そこで作用機序解明のため、フローサイトメトリー、ウエスタンブロットティングを用いてアポトーシスの有無についての試験を行った。

第 1 項 フローサイトメトリーについて

MT-1, MT-2, freshATL (ATL 患者から直接提供していただいたもの) に 20 を各濃度 (0.5, 1, 2 μM) で添加し、72 時間培養した。

アポトーシスの初期段階で検出できる APO2.7 の割合を APO2.7-PC5 を用いて観測した。結果、各 3 種の細胞とも APO2.7-positive cell は濃度依存的に増加していた (Fig. 25)

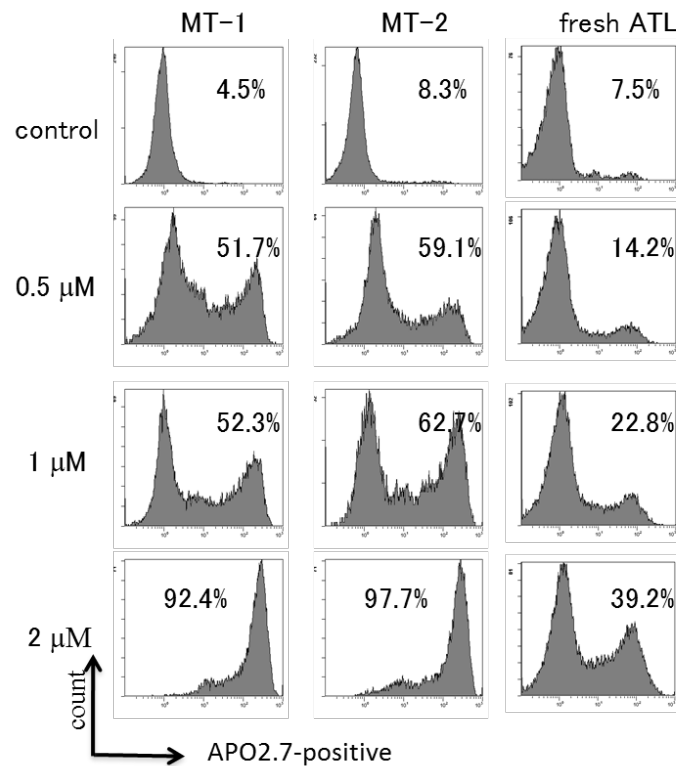


Fig. 25. フローサイトメトリーによる APO2.7 抗体反応

第2項 ウェスタンブロッティングについて

MT-1, MT-2, fresh ATL に **20** を各濃度 (0.25, 1 μM) で添加し、24 時間培養後、PBS で洗い、2 mM Na_3VO_4 , 5 mM NaF, 1 mM フッ化フェニルメチルスルファニル, 5 mg/mL ロイヘプチン, 5 mg/mL アプロチニンを添加したドデシル硫酸ナトリウム (SDS) に溶解させる。Cell lysates を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) 後、ポリフッ化ビニリデン (PVDF) 膜に転写する。1 時間、室温で 5% non-fat dry milk 用いて poly(ADP-ribose)polymerase (PARP) の抗体を 4°C 下で一晩インキュベートした。

結果、PARP について cleaved form が認められた (Fig. 26)。

しかし、caspase 3, 8, 9 も同様に試験を行ったが、反応はほとんど認められなかった。

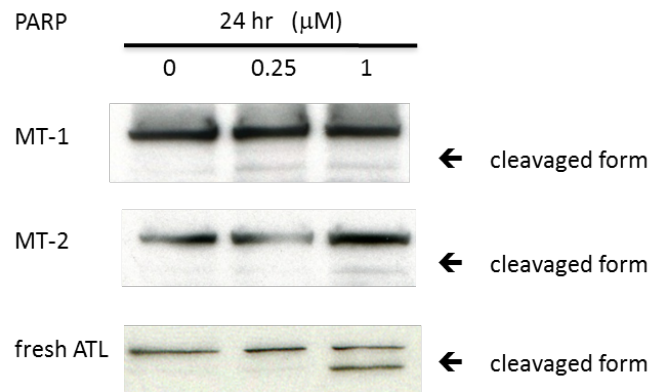


Fig. 26. ウェスタンブロッティング (24hr)

第3節 小括

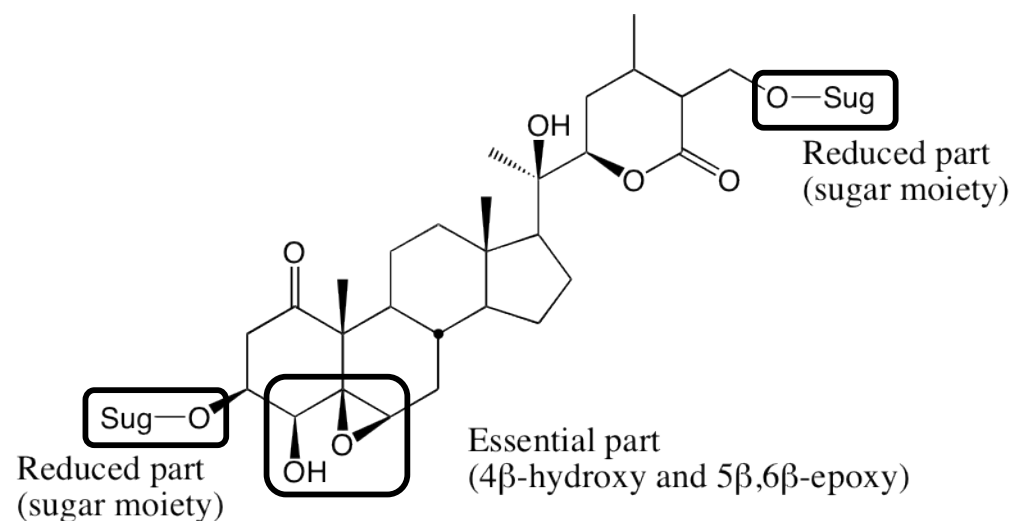


Fig. 27. 構造活性相関図

Withanolide 類 30 種を MT-1, MT-2 細胞に対して細胞増殖抑制活性試験を行った結果、最も細胞増殖抑制活性の強かったものは 24,25-dihydrowithanolide D (**20**) であった。

これらから推測される構造活性相関について、4 位の hydroxy 基や 5,6 位の epoxy 基は活性を強めるのに重要であると判明した。一方、糖鎖が結合すると活性は弱くなることも明らかになった。また 15 α 位の hydroxy 基、2,3 位の二重結合は活性を弱めると推測された。15 α 位の acetoxy 基も活性を減弱させる因子ではないかと示唆された。

最も細胞増殖抑制効果の強かった 24,25-dihydrowithanolide D (**20**) について、正常細胞との選択性では MT-1, MT-2 共に大きく差がみられ、選択性が認められた。アポトーシスの有無に関してフローサイトメトリーによる APO2.7 抗体による試験において顕著な細胞増加がみられ、アポトーシス陽性と推定された。ウエスタンブロッティングでは PARP の開裂が認められた。一般的にアポトーシスを起こさせるシグナル伝達経路を構成する酵素として caspase があげられる。しかし、caspase 3, 8, 9 も同様に試験を行ったが、反応はほとんど認められなかった。いくつかのシグナル伝達経路で PARP によるアポトーシスの開始反応が認められるという例もあるため、それらの経路によるものであると結論し、アポトーシス陽性と判断した。

第5章 ヘンルーダ (*Ruta graveolens*) について

ミカン科ヘンルーダ属の常緑多年草で、ハーブの一種。強い香気があり、ルー、または猫寄らず草と言う呼び名で流通している。南ヨーロッパ原産の植物で、主な成分としてアルカロイドやクマリン等を有する。茶剤として通経、駆風、鎮痙、ヒステリー等に用いるが、多量は無毒であり、食用としては利用されていない³²⁻³³。葉には防虫効果がある。



Fig. 28. ヘンルーダ (*Ruta graveolens*)

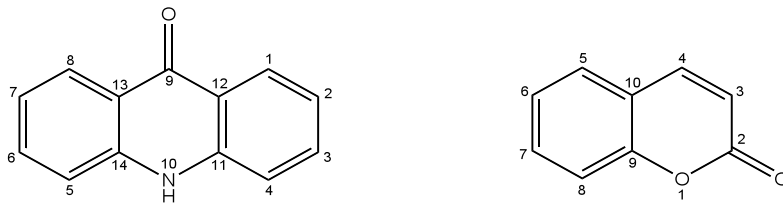


Fig. 29. ヘンルーダの既知成分 (左: acridone alkaloid, 右: coumarin)

第 1 節 ヘンルーダの分離

ヘンルーダ根 (240 g) から抽出によりメタノールエキス (22 g) を得た後、EtOAc と Water で分配し、各種クロマトグラフィーを用いて分離を行い **RG-1~15** と仮称する化合物を得た。

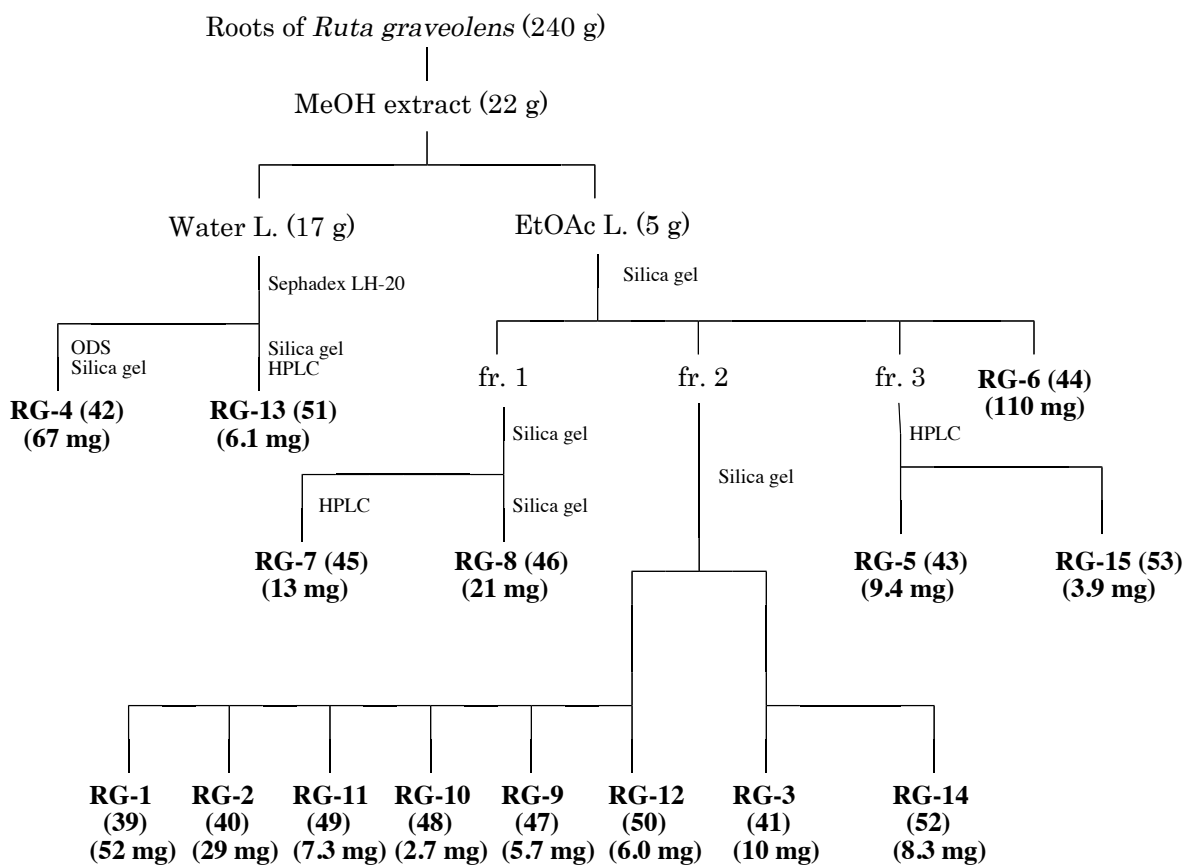


Chart 4.

第 2 節 構造決定

RG-1 (39) = Psoralen

RG-1 (39) は positive FAB-MS において m/z 187 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて δ 8.00, 7.84, 7.82, 7.49, 6.92, 6.38 にクマリン骨格を支持するシグナルが観察された。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 11 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、Psoralen と同定した³⁴⁾。

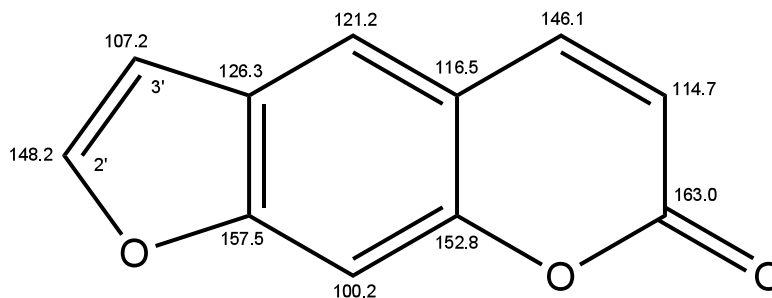


Fig. 30. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CD₃OD) of **RG-1 (39)**

RG-2 (40) = Bergapten

RG-2 (40)は positive FAB-MS において m/z 217 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて **39** と比較すると芳香族水素のシグナルが 1 つ少なく、 δ 4.27 に methoxy 基を支持するシグナルが観察された。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 12 本のシグナルが確認された。また、methoxy 基の proton と 5 位の carbon に HMBC 相関が見られた。

本データを文献値と比較し、Bergapten と同定した^{35,36)}。

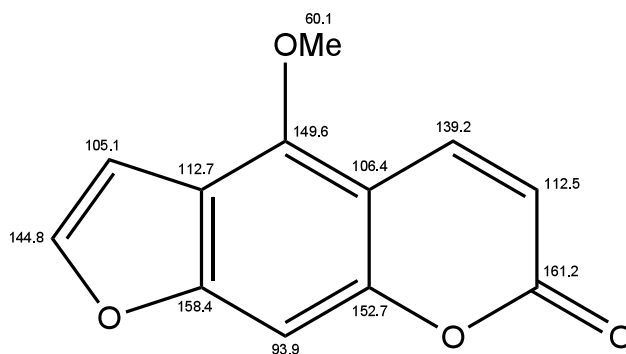


Fig. 31. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CDCl_3) of **RG-2 (40)**

RG-3 (41) = Xanthotoxin

RG-3 (41) は positive FAB-MS において m/z 217 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。
 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて δ 4.30 に methoxy 基を支持するシグナルが観察された。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 12 本のシグナルが確認された。また、methoxy 基の proton と 8 位の carbon に HMBC 相関が見られた。

本データを文献値と比較し、Xanthotoxin と同定した^{36, 37)}。

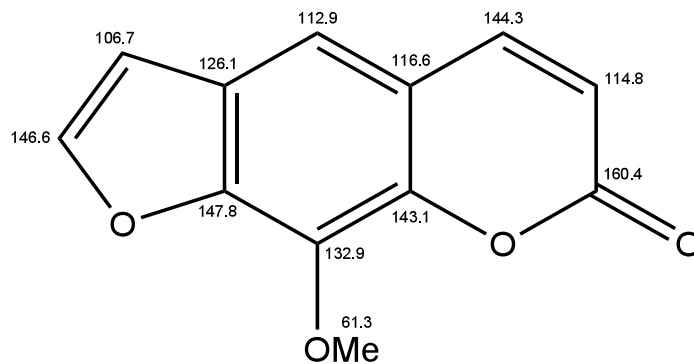


Fig. 32. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CDCl_3) of **RG-3 (41)**

RG-4 (42) = Rutarin

RG-4 (42) は $[\alpha]_D +20.3^\circ$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 425 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて δ 1.36、1.23 に methyl 基を支持するシグナルが観察された。また、 δ 5.21 に anomeric proton が観測された。

$^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 20 本のシグナルが確認された。また、anomeric proton と 8 位の carbon に HMBC 相関が見られた。

本データを文献値と比較し、Rutarin と同定した^{38,39)}。

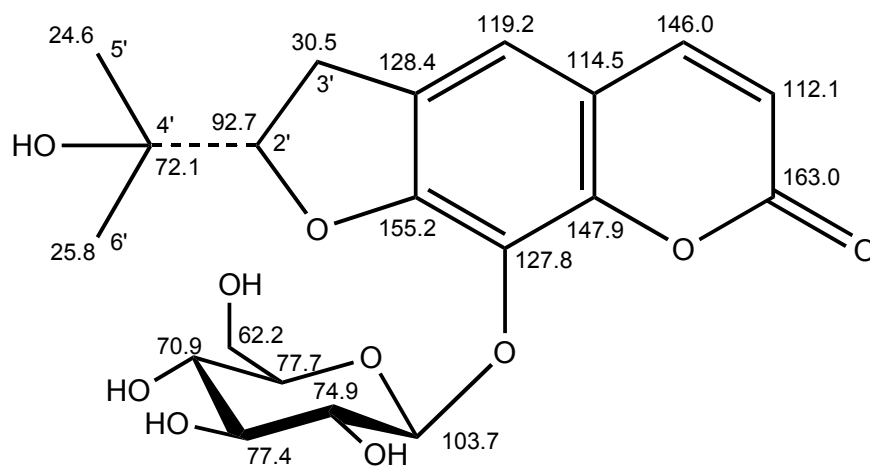


Fig. 33. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CD_3OD) of **RG-4 (42)**

RG-5 (43) = Rutaretin

RG-5 (43) は $[\alpha]_D -28.1^\circ$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 263 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて **42** と同様に δ 1.44, 1.27 に methyl 基を支持するシグナルが観察された。しかし、anomeric proton は観測されなかった。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 14 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較したところ、Rutaretin と同定した⁴⁰⁻⁴²⁾。

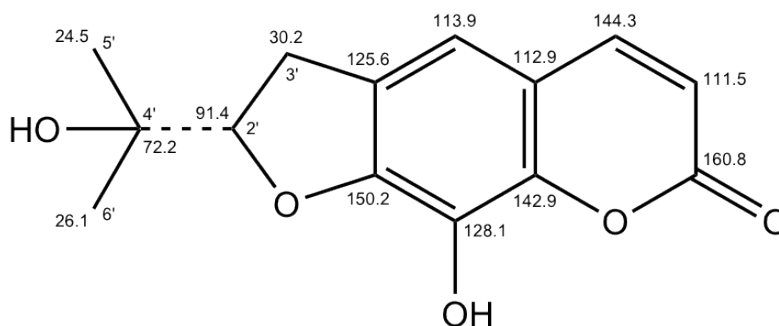


Fig. 34. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CDCl_3) of **RG-5 (43)**

RG-6 (44) = Rutamarin

RG-6 (44) は $[\alpha]_D +21.1^\circ$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 357 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて **42** と同様に δ 1.56、1.50 に methyl 基を支持するシグナルが観察された。また、 δ 6.17、5.08 に2つの olefinic proton が、 δ 1.47 に2つの methyl 基由来の proton が観察された。さらに、 δ 1.98 に methyl 基由来の proton が観察された。一方、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 21 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、Rutamarin と同定した⁴³⁾。

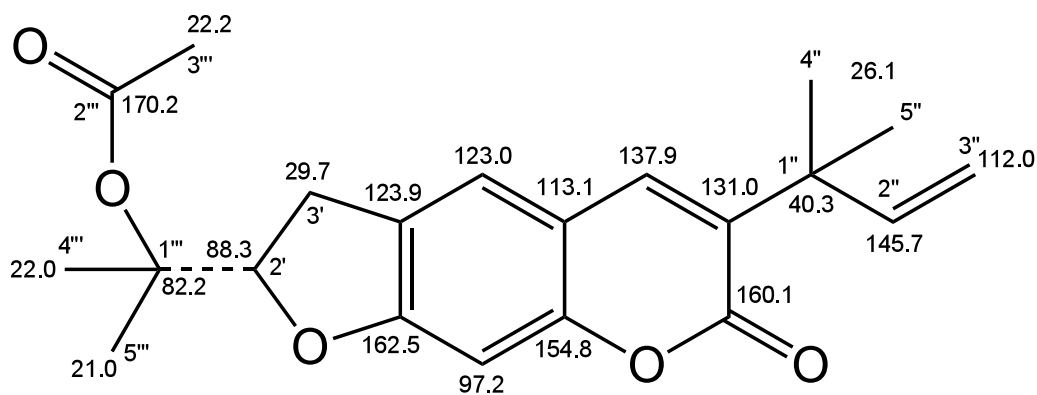


Fig. 35. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CDCl_3) of **RG-6 (44)**

RG-7 (45) = Chalepensisin

RG-7 (45) は positive FAB-MS において m/z 255 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。
 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて δ 6.20、5.12、5.11 に 3 つの olefinic proton が、 δ 1.51 に 2 つの methyl 基由来のプロトンが観察された。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 15 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、Chalepensisin と同定した^{44,45)}。

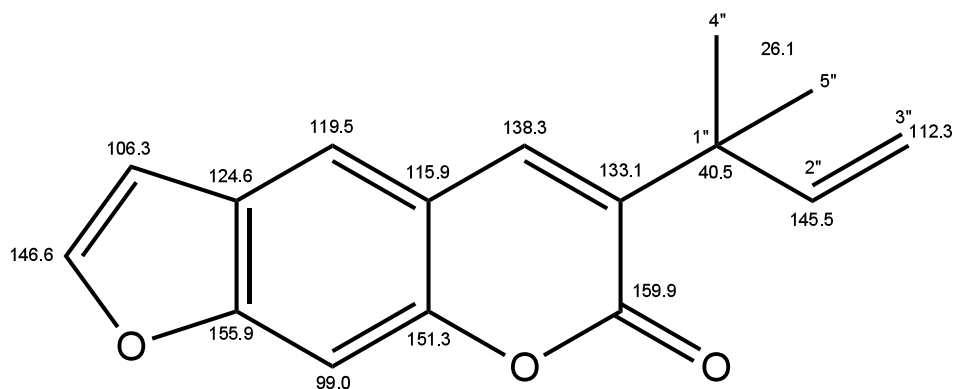


Fig. 36. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CDCl_3) of **RG-7 (45)**

RG-8 (46) = 3-(1,1-Dimethylallyl)-7,8-dimethoxycoumarin

RG-8 (46) は positive FAB-MS において m/z 275 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。¹H-NMR スペクトルにおいて **45** と同様に δ 6.18、5.11、5.08 に 3 つの olefinic proton が、 δ 1.47 に 2 つの methyl 基由来の proton が観察された。また、 δ 4.00、3.94 に 2 つの methoxy 基由来のシグナルが観測された。一方、¹³C-NMR スペクトルにおいて計 15 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、3-(1,1-Dimethylallyl)-7,8-dimethoxycoumarin と同定した⁴⁶⁾。

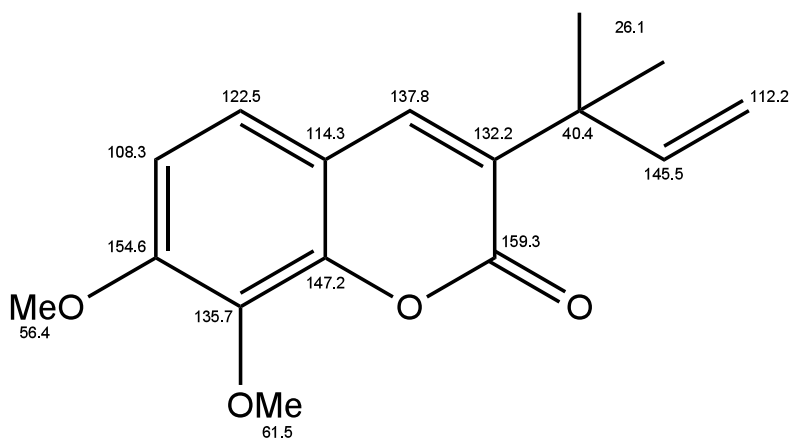


Fig. 37. ¹³C-NMR Chemical Shifts (in CDCl₃) of **RG-8 (46)**

RG-9 (47) = 3-(1,1-Dimethyl-2-propen-1-yl)-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-buten-1-yl)-7-methoxy-2H-1-benzopyran-2-one

RG-9 (47) は positive FAB-MS において m/z 329 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 329.1755 に $[M+H]^+$ が認められ、分子式は $C_{20}H_{24}O_4$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて 45 と同様に δ 6.17、5.04、5.03 に 3 つの olefinic proton が、 δ 1.46 に 2 つの methyl 基由来の proton が観察された。さらに加えて、 δ 4.77、4.74 に末端二重結合に由来するシグナル、 δ 1.79 に methyl 基由来のシグナル、 δ 3.91 に methoxy 基由来のシグナルが観測された。一方、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 20 本のシグナルが確認された。

本データの 2 次元 NMR を用いて構造の検討を行い、3-(1,1-Dimethyl-2-propen-1-yl)-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-buten-1-yl)-7-methoxy-2H-1-benzopyran-2-one と決定した^{47, 48)}。

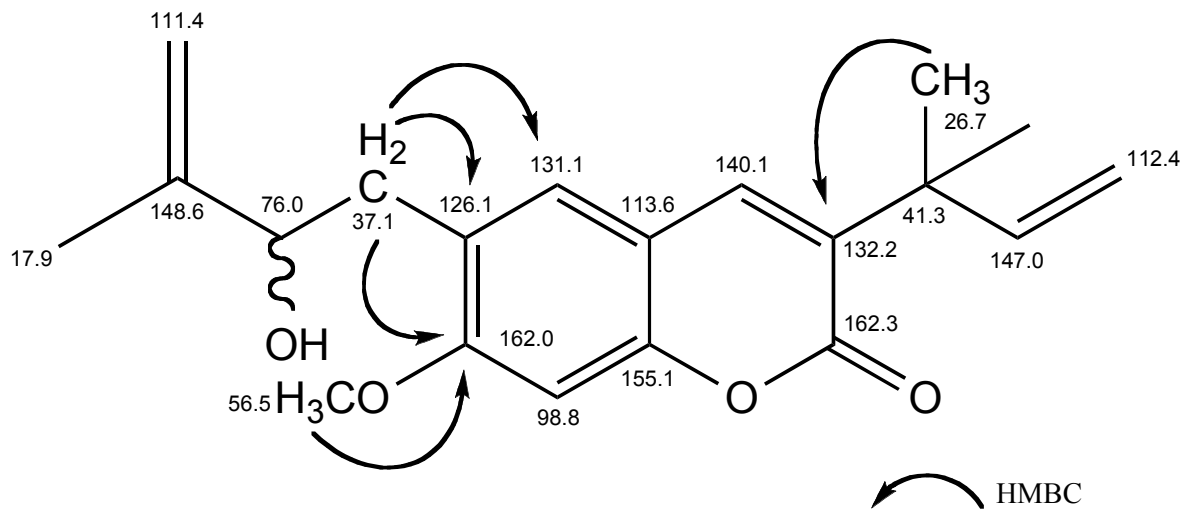


Fig. 38. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in CD_3OD) of RG-9 (47)

RG-10 (48) = 3-(1,1-Dimethyl-2-propen-1-yl)-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-buten-1-yl)-7-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one

RG-10 (48) は positive FAB-MS において m/z 315 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 315.1597 に $[M+H]^+$ が認められ、分子式は $C_{19}H_{22}O_4$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて **45** と同様に δ 6.15、5.08、5.07 に 3 つの olefinic proton が、 δ 1.46 に 2 つの methyl 基由来の proton が観察された。さらに加えて、 δ 4.99、4.89 に末端二重結合に由来するシグナル、 δ 1.81 に methyl 基由来のシグナルが観測された。しかし、methoxy 基のシグナルは観測されなかった。一方、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 19 本のシグナルが確認された。

本データの 2 次元 NMR を用いて構造の検討を行い、3-(1,1-Dimethyl-2-propen-1-yl)-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-buten-1-yl)-7-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one と決定した^{49,50}。

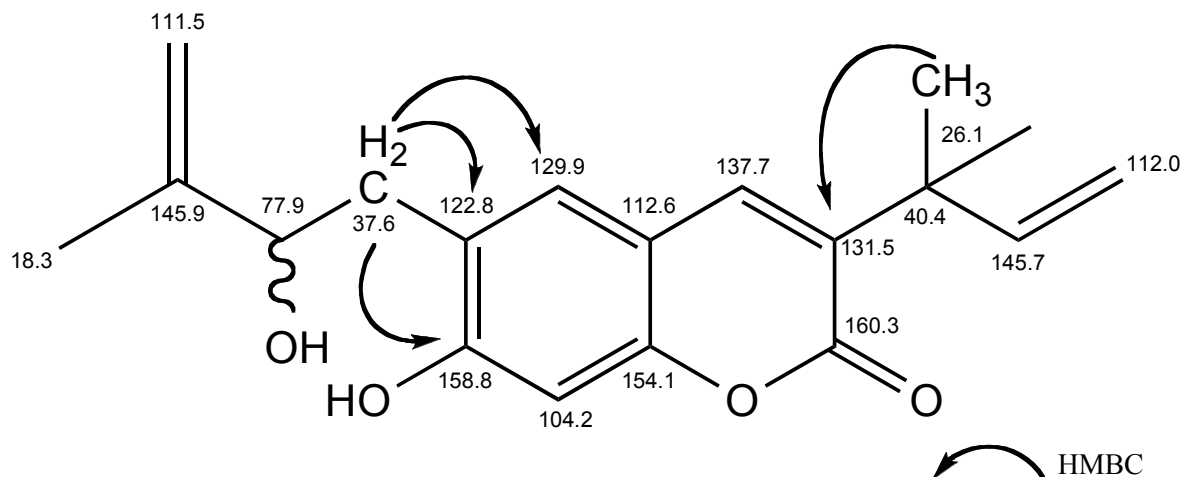


Fig. 39. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3$) of **RG-10 (48)**

RG-11 (49) = 1-Hydroxy-10-methylacridone

RG-11 (49) は positive FAB-MS において m/z 226 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて δ 3.94 に N-methyl 基に由来するシグナルが観測された。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 14 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、1-Hydroxy-10-methylacridone と同定した⁵¹⁾。

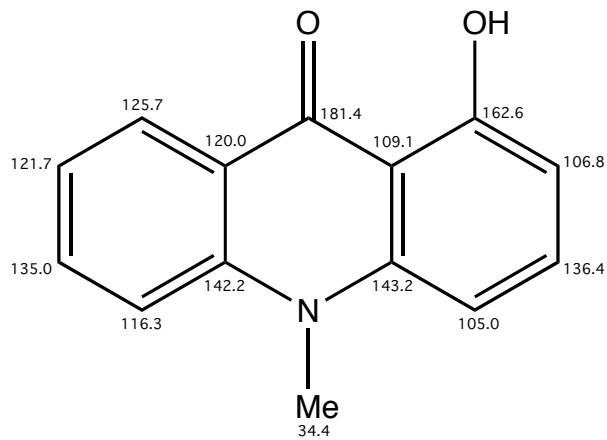


Fig. 40. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in $\text{DMSO-}d_6$) of **RG-11 (49)**

RG-12 (50) = (S)-Rutacidone

RG-12 (50) は $[\alpha]_D -60.3^\circ$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 308 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて **49** と同様に δ 3.99 に N-methyl 基に由来するシグナルが観測された。また、 δ 5.09、4.95 に末端二重結合に由来するシグナル、 δ 1.76 に methyl 基由来のシグナルが観測された。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 19 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、Rutacidone と同定した⁵²⁻⁵⁶。

不斉炭素である、2' 位について CD を測定したところ、268.5 nm、273.3 nm において負のコットン効果を観測した。文献値と比較検討した結果立体は S 配置と結論し、以下のように構造決定した。

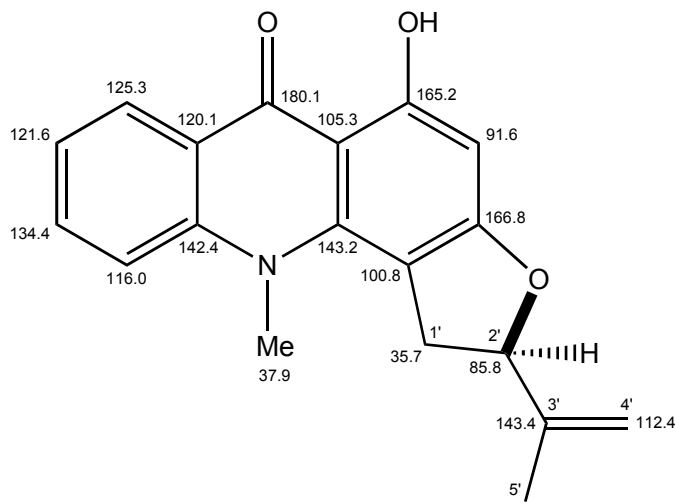


Fig. 41. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in $\text{DMSO-}d_6$) of **RG-12 (50)**

RG-13 (51) = Gravacridonediol-glucoside

RG-13 (51) は $[\alpha]_D -91.3^\circ$ の無晶形粉末として得られた。Positive FAB-MS において m/z 504 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて **49** と同様に δ 4.04 に N-methyl 基に由来するシグナルが観測された。また、 δ 1.38 に methyl 基由来のシグナルが、 δ 4.70 に anomeric proton が観測された。一方、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 25 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、Gravacridonediol-glucoside と同定した⁵⁶⁻⁵⁷⁾。

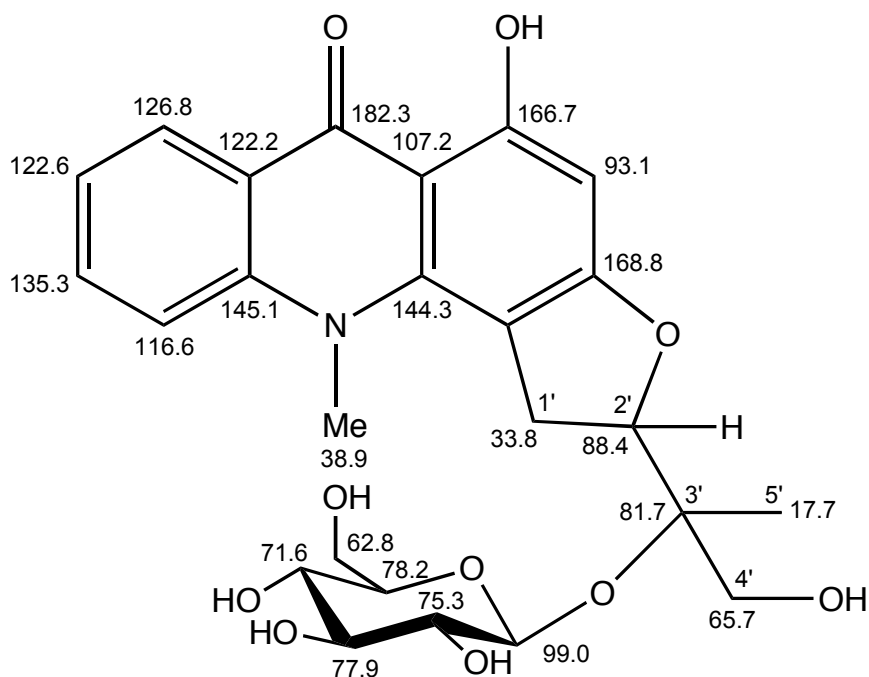


Fig. 42. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CD_3OD) of **RG-13 (51)**

RG-14 (52) = Dictamnin

RG-14 (52) は positive FAB-MS において m/z 200 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて δ 4.46 に methoxy 基由来のシグナルが観測された。また、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて計 12 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、Dictamnin と同定した^{58, 59)}。

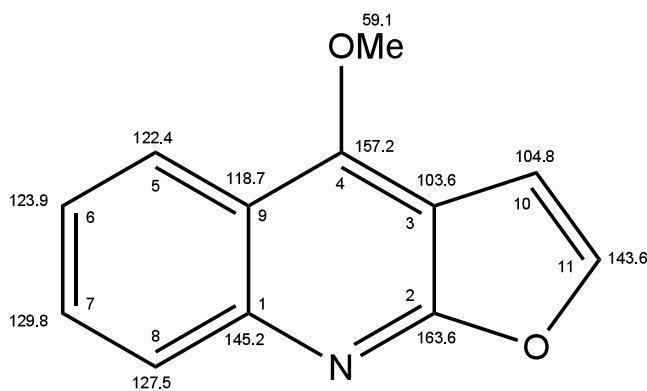


Fig. 43. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CDCl_3) of **RG-14 (52)**

RG-15 (53) = 3-Methoxy-1-methyl-2(1H)-quinolinone

RG-15 (53) は positive FAB-MS において m/z 190 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルにおいて δ 3.96 に methoxy 基由来のシグナルが観測された。また、 δ 3.69 に N-methyl 基由来のシグナルが観測された。一方、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルにおいて 11 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、3-Methoxy-1-methyl-2(1H)-quinolinone と同定した⁶⁰⁾。

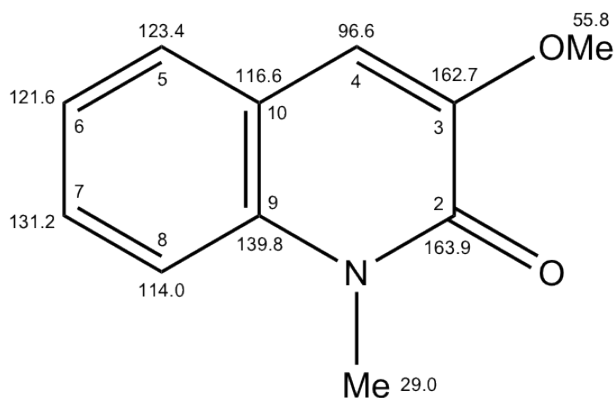


Fig. 44. $^{13}\text{C-NMR}$ Chemical Shifts (in CDCl_3) of **RG-15 (53)**

第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

39～53 についての MTT assay 結果を Table 6 に示す Positive control として Doxorubicin を用いた。

Table 6. 細胞増殖抑制活性 (EC₅₀)

Compounds	EC ₅₀ (μM)	
	MT-1	MT-2
RG-1 (39)	334.6	176.9
RG-2 (40)	189.4	213.9
RG-3 (41)	73.1	48.1
RG-4 (42)	>235.8	>235.8
RG-5 (43)	286.6	255.0
RG-6 (44)	27.0	22.5
RG-7 (45)	53.9	27.1
RG-8 (46)	36.5	35.4
RG-9 (47)	39.3	32.6
RG-10 (48)	13.4	2.6
RG-11 (49)	107.6	87.6
RG-12 (50)	57.7	69.7
RG-13 (51)	>198.8	>198.8
RG-14 (52)	61.8	62.8
RG-15 (53)	264.6	219.6
Doxorubicin	0.015	0.013

得られた結果より、aporphine alkaloid、withanolide 類に比べ弱い細胞増殖抑制活性を示すことが明らかとなった。

第4節 小括

スクリーニングの結果活性が認められた植物の中でヘンルーダ (*Ruta graveolens*) 根部の成分について研究を行った。その結果、クマリン 10 種、アルカロイド 5 種の計 15 種類の化合物を単離し、その構造を明らかにした。うち新規化合物は **48** の 1 種であった。

これらの化合物を MT-1、MT-2 細胞に対する細胞増殖抑制活性を試験した。**39**~**41** を比較すると、フラノクマリンに methoxy 基が結合していると活性が強く、また 5 位に methoxy 基が付加した化合物よりも 8 位に付加したもののほうがさらに強い活性を示した。また **39** と **45** を比較すると、フラノクマリンの 3 位に dimethylallyl 基が付加した化合物の方が強い腫瘍細胞増殖抑制活性を示すことが明らかとなった。

さらに、糖が付加すると活性が減弱されることが判明した。

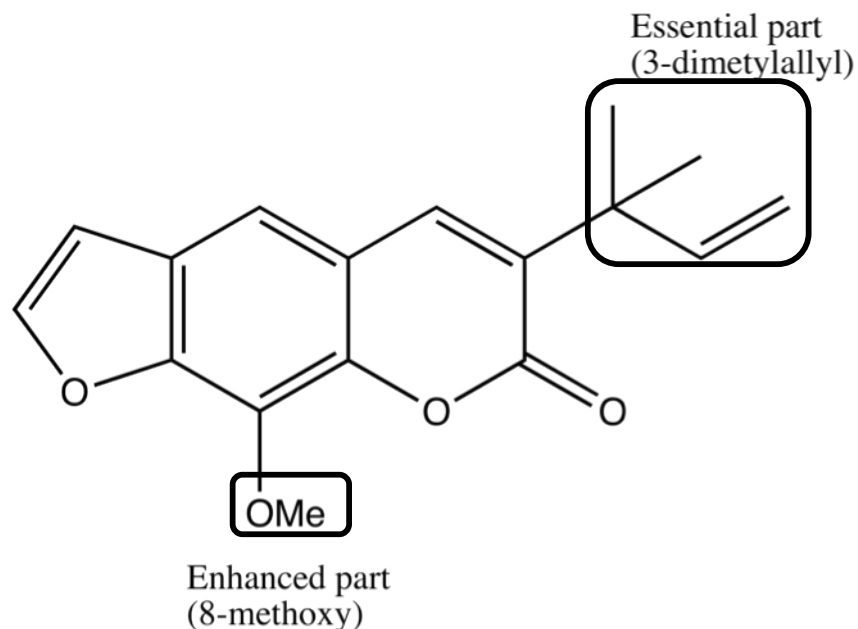


Fig. 45. 構造活性相関

第6章 ツルモウリンカ (*Tylophora tanakae*) について

ツルモウリンカはガガイモ科オオカモメヅル属の常緑蔓性多年草で、南九州以南～琉球列島原産である。アサギマダラの食草で、既知成分として pregnane glycosides や抗腫瘍効果や神経毒性を示す phenanthroindolizidine alkaloids が報告されている⁶¹⁾。



Fig. 46. ツルモウリンカ (*Tylophora tanakae*)

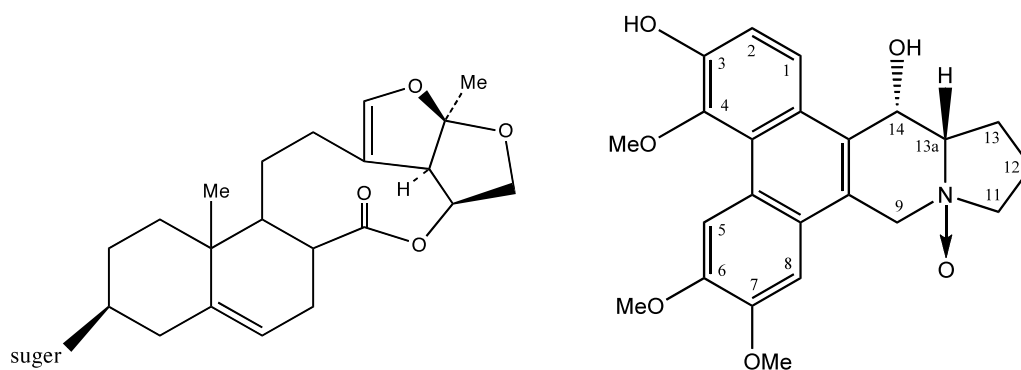


Fig. 47. ツルモウリンカの既知成分

(左: pregnane glycoside, 右: phenanthroindolizidine alkaloid)

第 1 節 分離

今回のエキスクリーニングでは、ツルモウリンカの地上部について行い、強い活性が見られた。前述の pregnane glycosides の一つである 14,15-Seco-and13,14:14,15-Disecopregnanes は根から単離された報告があるが地上部から単離された報告は無い。よって、地上部に含まれる phenanthroindolizidine alkaloids が活性を担っているのではないかと推定し、分離を行った。

福岡大学薬草園より採集したツルモウリンカの地上部 (1340 g) を MeOH で還流し、MeOH ext. (215 g) を得た。得られた MeOH ext. を EtOAc と Tartaric acid (3%) で分配し、それぞれを濃縮した。Tartaric acid (3%) L. を中和後、更に CHCl₃ と分配を行った。Water L. に関しては Diaion HP-20 を用いて H₂O fr. と MeOH fr. を得た。

EtOAc L., CHCl₃ L., MeOH fr. においてそれぞれ MTT assay を行ったところ、以下のようになった。CHCl₃ L. において活性が強い結果が得られたため、CHCl₃ L. について更に各種クロマトグラフィーにて分離・精製を行い **TT-1~5** と仮称する化合物を得た。

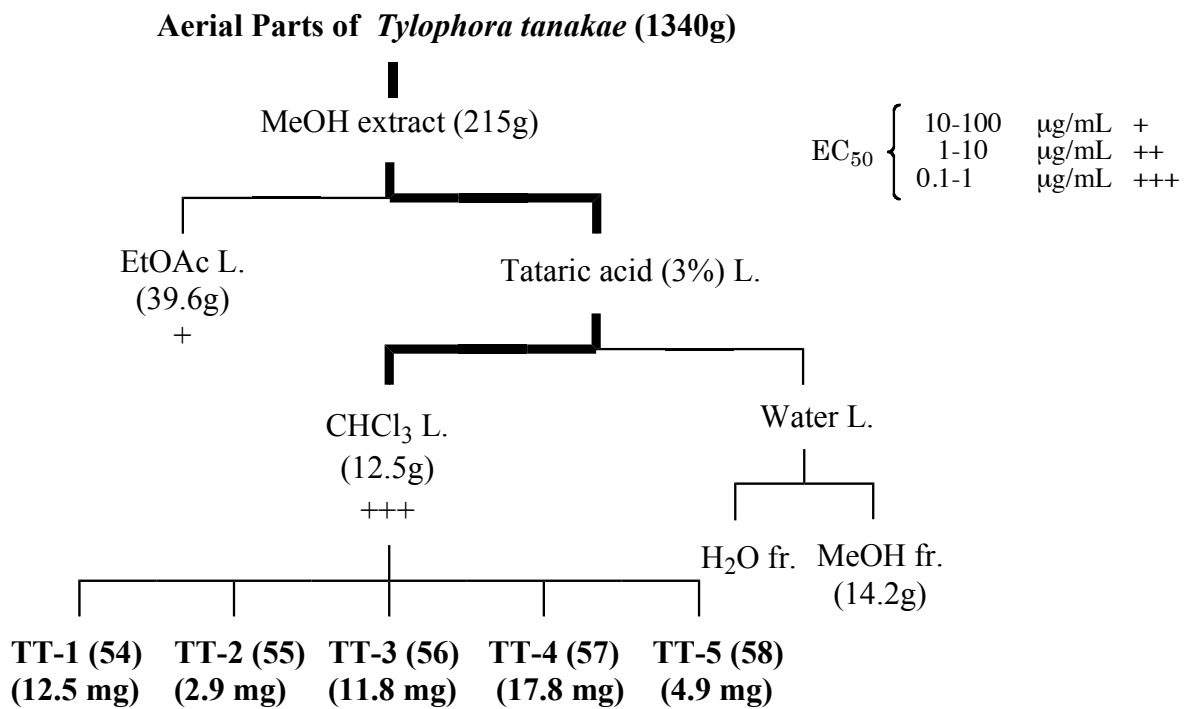


Chart 5.

また、同様に橿原市昆虫館よりいただいたツルモウリンカの地上部 (803 g) を MeOH で還流し、MeOH ext. (38 g) を得た。得られた MeOH ext. を Hexane と MeOH で分配し、それぞれを濃縮した。MeOH L. を更に BuOH と Water で分配を行った。BuOH L. を続けて、分配や各種クロマトグラフィーにて分離・精製を行い **TT-6 (59)** と仮称する化合物を得た。

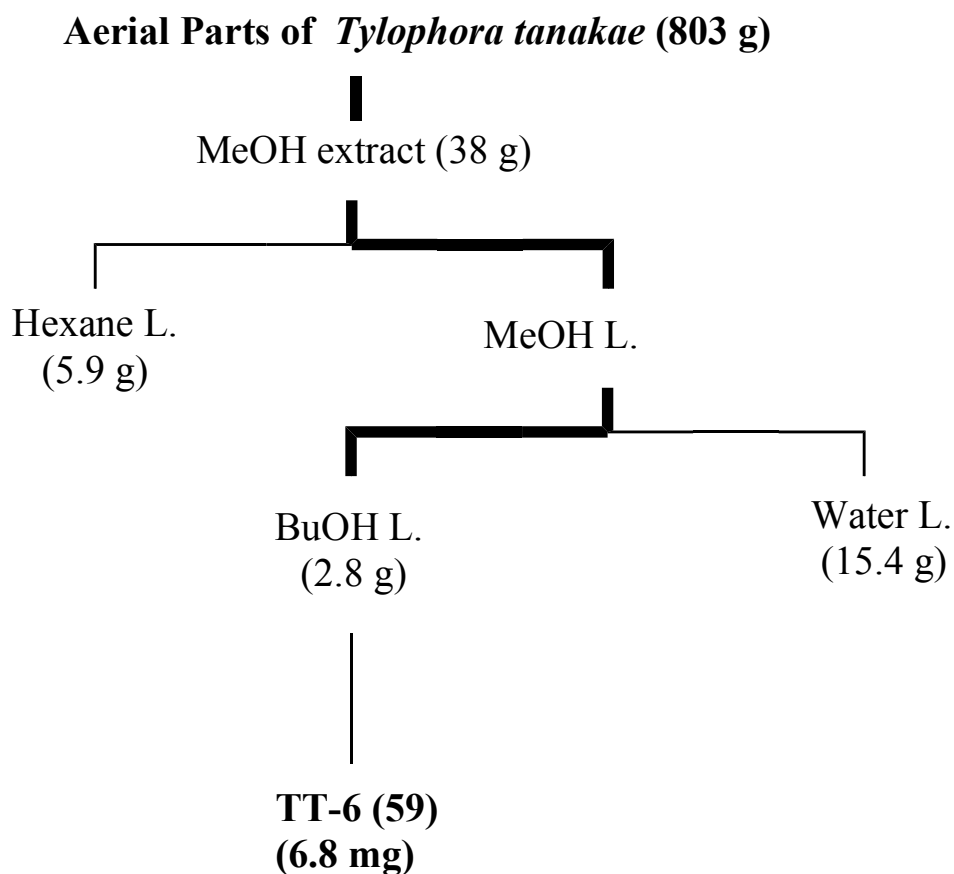


Chart 6.

第 2 節 構造決定

TT-1 (54) = 3-Demethyl-14 α -hydroxyisotylocrebrine N-oxide

TT-1 (54) は negative FAB-MS において m/z 410 に $[M-H]^-$ に由来するピークが認められた。また、HR negative FAB-MS により m/z 410.1617 に $[M-H]^-$ が認められ、分子式は $C_{23}H_{25}NO_6$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 4.01, 3.97, 3.83 に methoxy 基由来のシグナルが観察された。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 23 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、4, 6, 7 位に methoxy 基を持ち、14 位に hydroxy 基をもつ 3-Demethyl-14 α -hydroxyisotylocrebrine N-oxide と同定した^{62,63}。次に、CD スペクトルを測定したところ、264nm に正のコットン効果を示し、文献と比較した結果立体構造は H-13a、H-14 とも β と同定した^{64,65}。

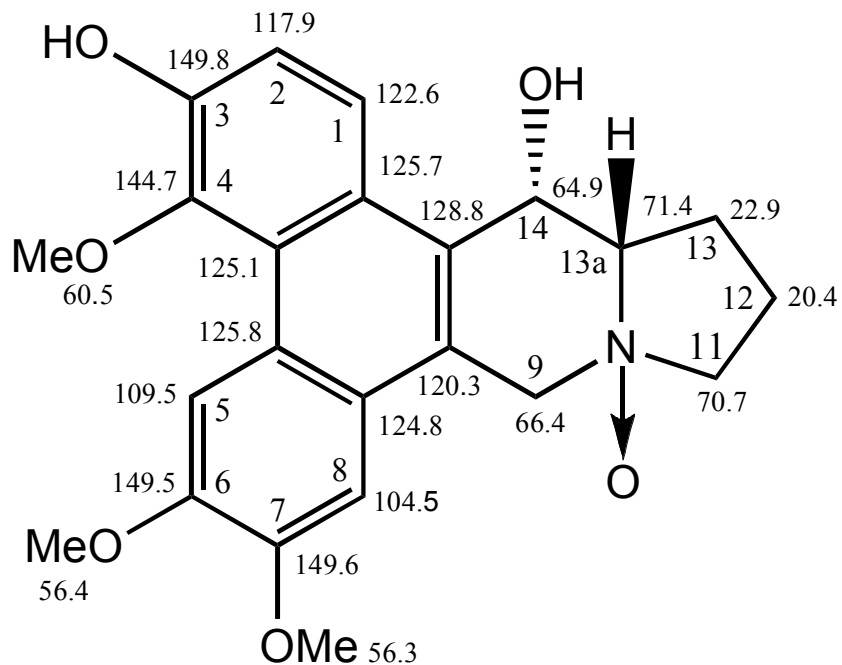


Fig. 48. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CD_3OD : D_2O = 1:1$) of TT-1 (54)

TT-2 (55)

TT-2 (55) は positive FAB-MS において m/z 448 に $[M+Na]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 448.1724 に $[M+Na]^+$ が認められ、分子式は $C_{24}H_{27}NO_6$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 4.06, 4.05, 4.02, 3.99 に methoxy 基由来のシグナルが観察された。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 24 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、2, 3, 6, 7 位に methoxy 基を持つ Tylophorine の 11 位、14 位にそれぞれ N-oxide 基、hydroxy 基が結合した化合物と決定した^{62,63}。次に、CD スペクトルを測定したところ、257nm に負のコットン効果を示し、文献と比較した結果 H-13a、H-14 とも α と決定した^{64,65}。

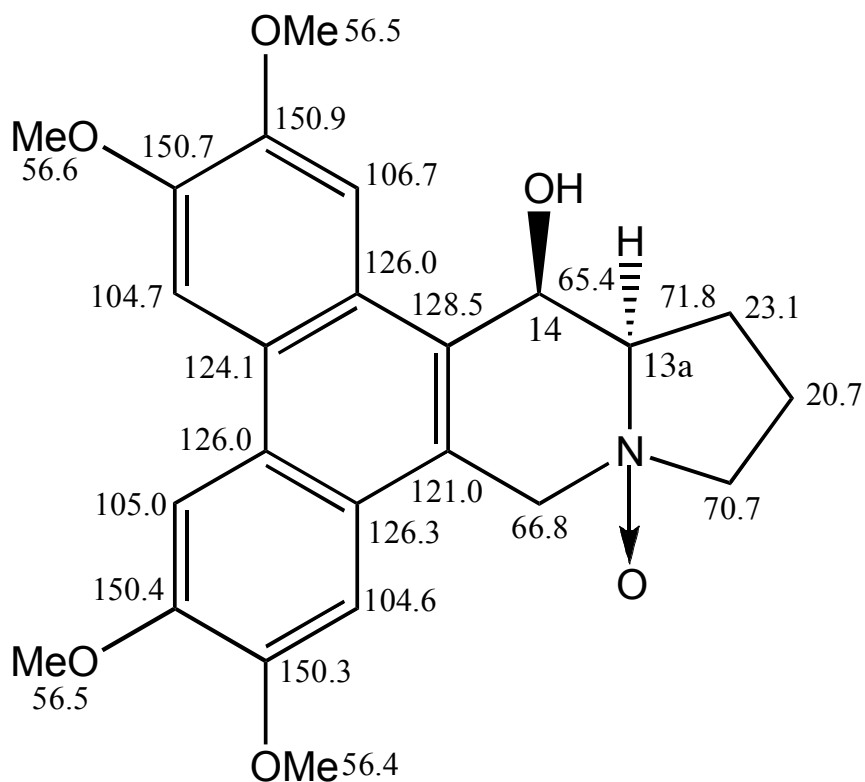


Fig. 49. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in CD_3OD) of TT-2 (55)

TT-3 (56) = Tylophorinine N-oxide

TT-3 (56)は positive FAB-MS において m/z 396 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 396.1811 に $[M+H]^+$ が認められ、分子式は $C_{23}H_{25}NO_5$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 4.07, 4.05, 4.01 に methoxy 基由来のシグナルが観察された。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 23 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、3, 6, 7 位に methoxy 基を持つ Tylophorinine N-oxide と同定した^{62,63}。次に、CD スペクトルを測定したところ、257nm に負のコットン効果を示し、文献と比較した結果立体構造は H-13a、H-14 とも α と同定した^{64,65}。

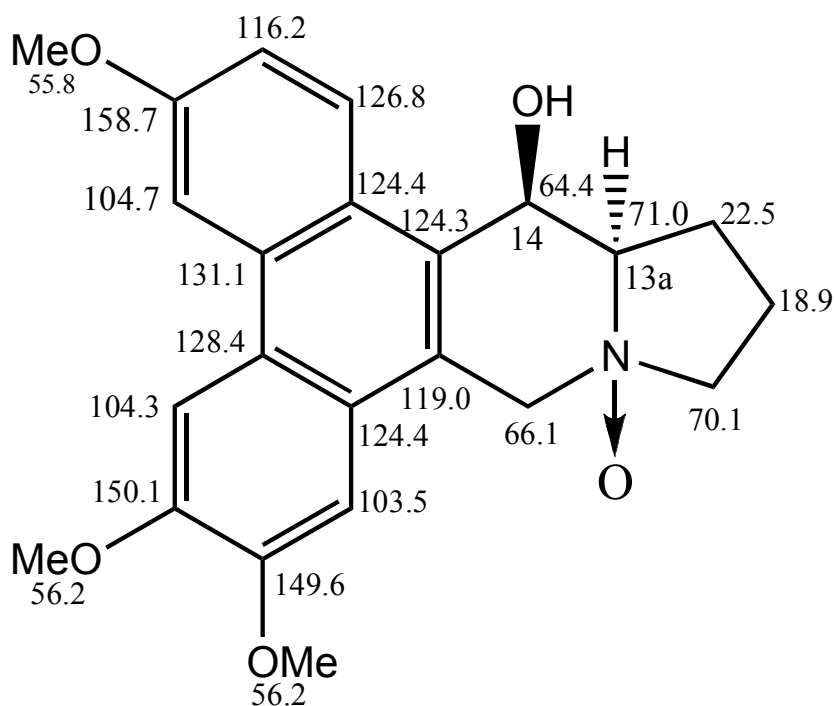


Fig. 50. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3 : CD_3OD = 1:1$) of TT-3 (56)

TT-4 (57) = Tylophorine N-oxide

TT-4 (57) は positive FAB-MS において m/z 410 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 410.1967 に $[M+H]^+$ が認められ、分子式は $C_{24}H_{27}NO_5$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 4.11, 4.10, 4.03, 4.00 に methoxy 基由来のシグナルが観察された。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 24 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、2,3,6,7 位に methoxy 基を持つ Tylophorine N-oxide と同定した^{62,63}。次に、CD スペクトルを測定したところ、258nm に負のコットン効果を示し、立体構造は文献と比較した結果、H-13a の立体構造は α と同定した^{64,65}。

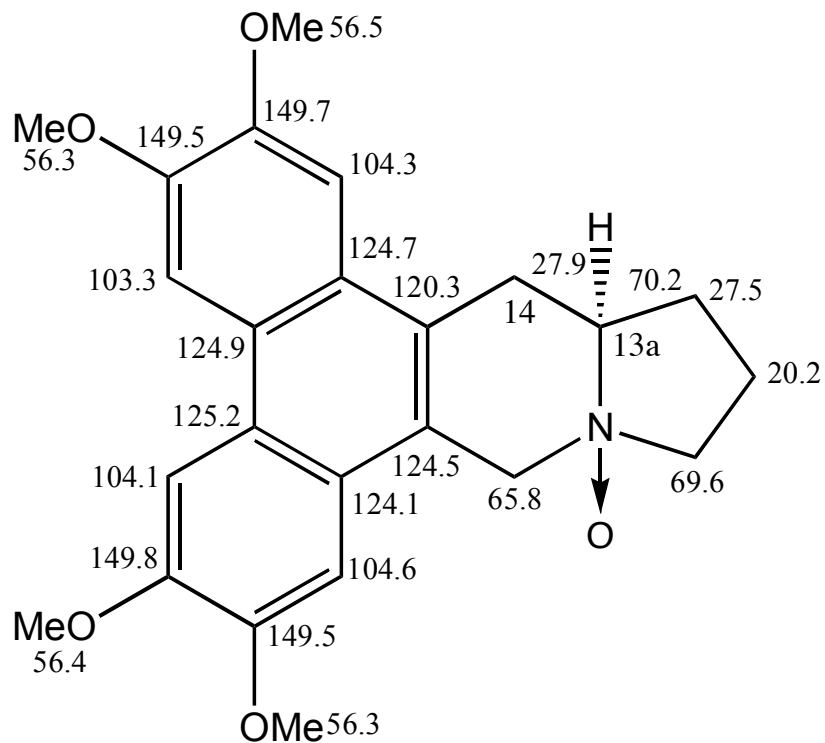


Fig. 51. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3 : CD_3OD = 1:1$) of **TT-4 (57)**

TT-5 (58) = Isotylocrebrine N-oxide

TT-5 (58) は positive FAB-MS において m/z 410 に $[M+H]^+$ に由来するピークが認められた。また、HR positive FAB-MS により m/z 410.1967 に $[M+H]^+$ が認められ、分子式は $C_{24}H_{27}NO_5$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 4.03, 4.02, 3.98, 3.91 に methoxy 基由来のシグナルが観察された。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計 24 本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、3, 4, 6, 7 位に methoxy 基を持つ Isotylophorine N-oxide と同定した^{62,63}。次に、CD スペクトルを測定したところ、279nm に正のコットン効果を示し、文献と比較した結果、H-13a の立体構造は β と決定した^{64,65}。

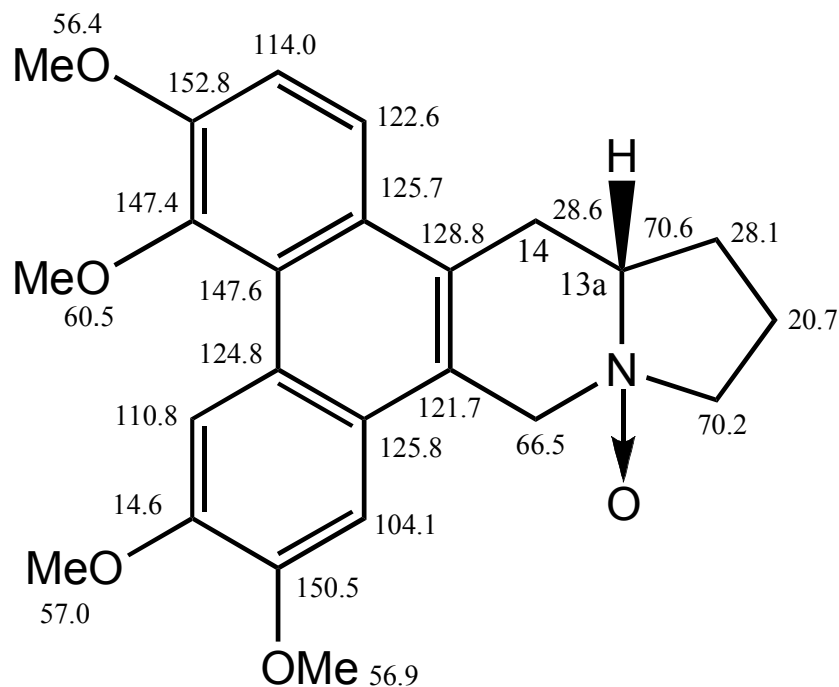


Fig. 52. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in CD_3OD) of TT-5 (58)

TT-6 (59) = 3-Demethyl-14 β -hydroxyisotylocrebrine

TT-6 (59) は negative FAB-MS において m/z 394 に $[M-H]^-$ に由来するピークが認められた。また、HR negative FAB-MS により m/z 394.1654 に $[M-H]^-$ が認められ、分子式は $C_{23}H_{25}NO_5$ と決定した。

1H -NMR スペクトルにおいて δ 4.08, 3.97, 3.89 に methoxy 基由来のシグナルが観察された。また、 ^{13}C -NMR スペクトルにおいて計本のシグナルが確認された。

本データを文献値と比較し、4, 6, 7 位に methoxy 基を持つ 3-Demethyl-14 β -hydroxyisotylocrebrine と同定した^{62,63}。次に、CD スペクトルを測定したところ、262nm に負のコットン効果を示し、文献と比較した結果、立体構造は H-13a、H-14 とも α と決定した^{64,65}。

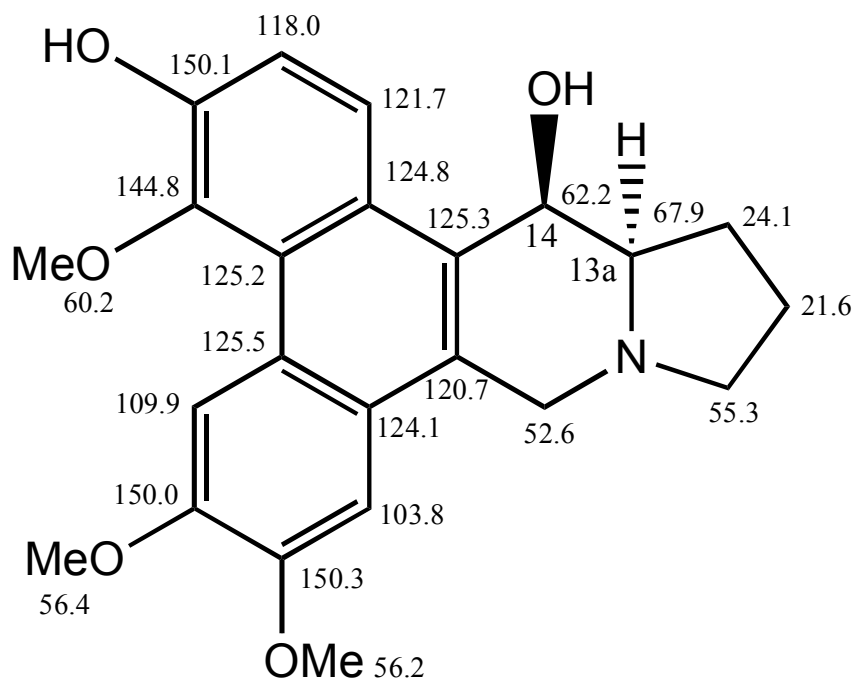


Fig. 53. ^{13}C -NMR Chemical Shifts (in $CDCl_3$: CD_3OD =1:1) of TT-6 (59)

第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

54～59に加え、以前単離した類似化合物の細胞増殖抑制活性を測定した (Table 7)。
Positive control として Doxorubicin を用いた。

Table 7. 54～62 の細胞増殖抑制活性 (EC₅₀)

Compounds	EC ₅₀ (nM)		
	MT-1	MT-2	Normal cell
TT-1 (54)	8.3	7.1	40.1
TT-2 (55)	69.8	26.8	ND
TT-3 (56)	28.8	4.81	ND
TT-4 (57)	1590	1490	ND
TT-5 (58)	379.5	246.7	ND
TT-6 (59)	2.8	2.6	ND
Isotylocrebrine (60)	48.3	25.4	ND
Tylophorine (61)	76.2	50.8	ND
7-Demethyltylophorine (62)	18.5	29.0	ND
Doxorubicin	15.0	13.0	ND

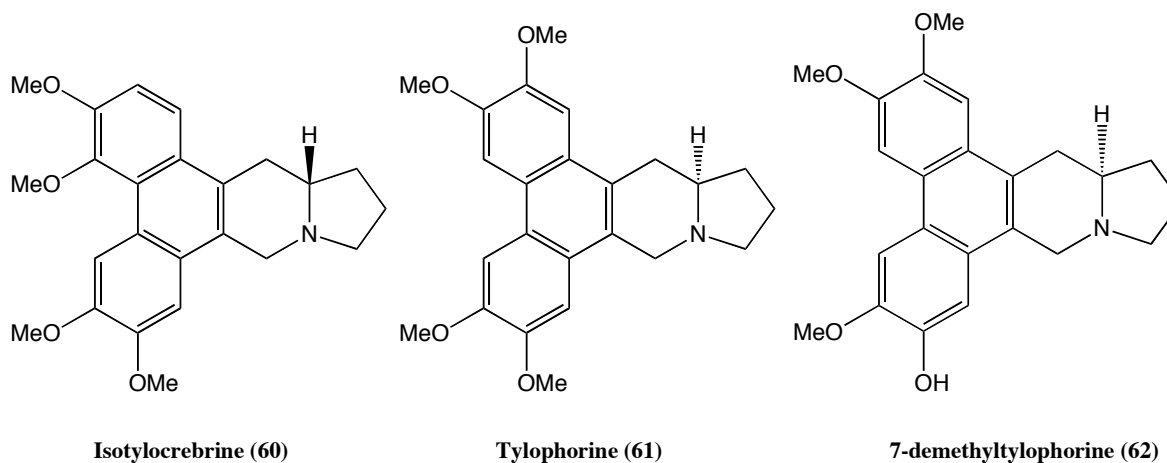


Fig. 54. Structures of Isotylocrebrine, Tylophorine and 7-Demethyltylophorine

ツルモウリンカ地上部から単離した alkaloids はいずれも phenathroindolizidine alkaloids (PIA) であり、大半がナノモルオーダーという強い活性を示した。その中でも **59** に特に強い細胞増殖抑制活性が認められた。また、**54** においても強い細胞増殖抑制活性が認められたため正常細胞との選択性を測定した結果、若干の選択性が認められた。

第4節 小括

スクリーニングの結果活性が認められた植物の中でツルモウリンカ (*Tylophora tanakae*) の地上部について成分研究を行った。その結果、新規化合物1種を含むアルカロイド6種を単離し、その構造を明らかにした。

これらの化合物の MT-1、MT-2 細胞に対する細胞増殖抑制活性を測定した。**54**~**59** と **60**~**62** を比較すると、活性の強いものから

59>**54**>**62**>**56**>**60**>**55**>**61**>**58**>**57** となり次のような構造活性相関が観測された。

62 は **61** の7位の methoxy 基が hydroxy 基になっており、活性が増強されている。また、**55** と **57** を比較すると14位に hydroxy 基を持ち、これらが活性を増強させる可能性も示唆された。一方、**61** と **57** を比較すると **57** は N-oxide を持ち、これにより活性が低下している可能性が示唆された。また、**60** と **58** の活性差もこのことを裏付ける。さらに、**55** と **56** を比較すると **56** の活性が強いことから2位の methoxy 基は活性を減弱させるものと推察される。

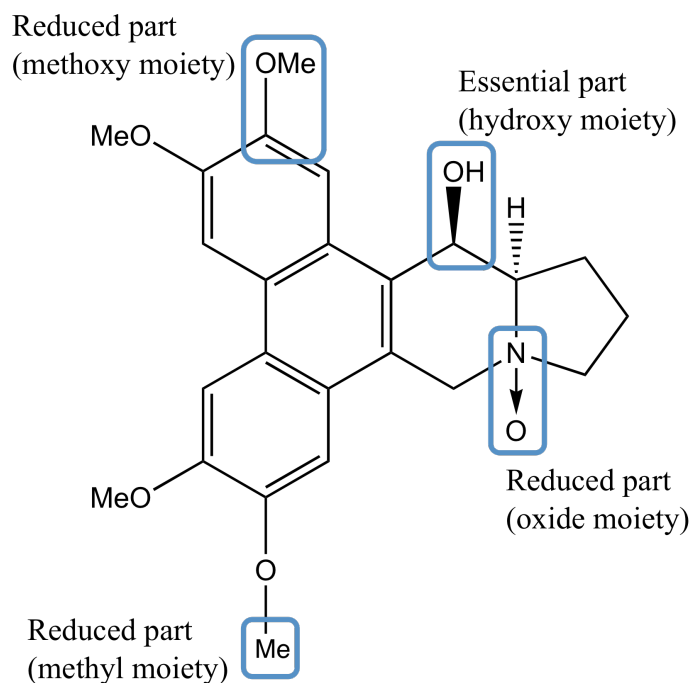


Fig.55. 構造活性相関

総括

著者らは成人 T 細胞白血病に対する治療薬確立のために、植物エキスクリーニングを行い、いくつかの候補植物を見出した。今回、それらの中からギユウシンリ、バンレイシ、シヨクヨウホオズキ、ヘンルーダについて成分検索を行い、活性について検討した。その結果、以下のような知見が得られた。

まず、植物エキス 537 種の細胞増殖抑制活性を ATL 患者由来細胞である MT-1, MT-2 細胞に対し検討した。その結果、約 4% の植物エキスが有力と判断され、特に強いエキスに含まれる活性成分の単離に着手した。

I バンレイシ、ギユウシンリ (aporphine alkaloid)

植物エキスのなかで最も強い活性を示したバンレイシ科ギユウシンリと近縁植物であるバンレイシ科バンレイシからは Lanuginosine (1), Liriodenine (2), Lysicamine (3) の 3 種の aporphine alkaloids を単離した。これらの活性はマイクロモルオーダーであり、構造活性相関としては、以下のようなことが明らかとなった。

- ・ 1,2 位の methylenedioxy 基が開裂してしまうと活性が減弱してしまう。
- ・ 9 位の methoxy 基が活性を増強する可能性がある。

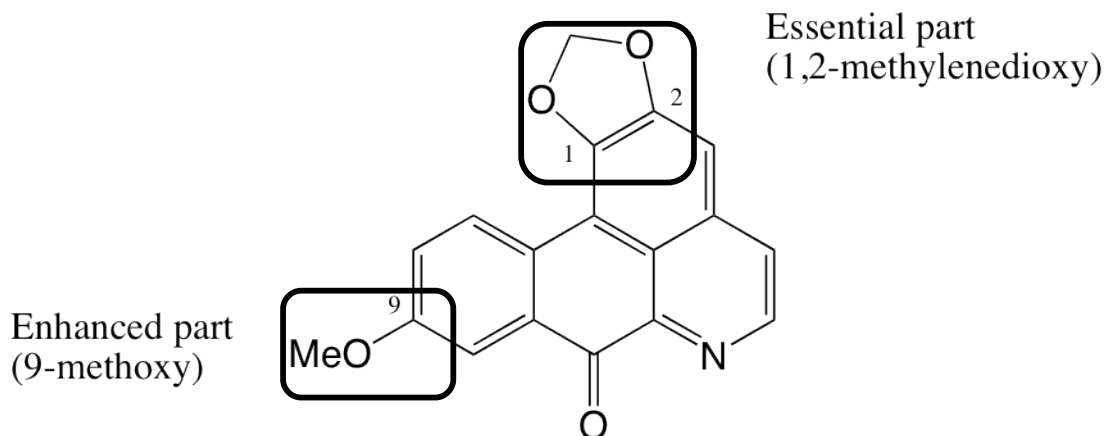


Fig. 56. 構造活性相関 (aporphine alkaloid)

エキスの活性に対し化合物の活性がそれほど強くない原因としては、分離操作中にアルカロイド類が各種担体へ吸着したものと推定される。そのため、単離収率が下がってしまったのではないかと推定された。

II ショクヨウホオズキ (withanolide)

ナス科植物のショクヨウホオズキについて成分検索を行った結果、新規化合物1種を含む5種の化合物を単離した。構造としては他のナス科植物にも含まれる withanolide であった。これらの活性を測定した結果、一番強い **4** は MT-1, MT-2 両細胞に対して EC_{50} : 199 nM であった。Positive control として用いた doxorubicin (EC_{50} : 13~15 nM) には及ばないものの強い活性を示した。また、構造活性相関より A 環の 2,3 位の二重結合、B 環の 5,6 位の epoxy 基の存在が活性を強める要因ではないかと推測された。また、5 位 hydroxy 基の炭素鎖による極性の差も活性に対して影響を及ぼしているのではないかと推定された。一方、**4** の正常細胞への影響として健常人単核球分画に対する毒性を試験したところ EC_{50} : 1.572 μ M であり、10 倍程度の選択性が認められた。これらの知見から withanolide 類のさらなる構造活性相関を明らかにするため、他の植物から単離した 30 種の withanolide 類について活性を検討した。その結果、以下のようなことが明らかとなった。

- ・ 糖鎖は活性を減弱させる。
- ・ 5,6 位の epoxy 基は活性を増強させる (6,7 位や 24, 25 位の epoxy 基は影響しない)
- ・ 4 位の hydroxy 基は活性を増強させる。

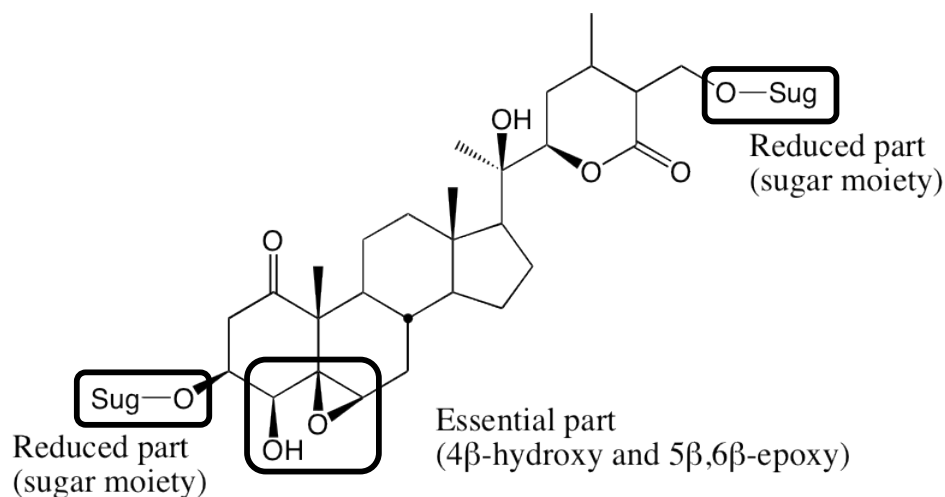


Fig. 57. 構造活性相関 (withanolide)

最も強かった withanolide は **20** であり、 EC_{50} はナノモルレベルであり、doxorubicin に匹敵するものであった。一方、健常人単核球分画に対する毒性は $1.059 \mu\text{M}$ であり、選択性も 20 倍程度あった。この知見より有力な化合物であると判断し、メカニズムの解明を試みた。まず、フローサイトメトリーを用いて細胞死について調べたところ、アポトーシスの初期段階で検出できる APO2.7 の濃度依存的な増加を確認できた。また、ウエスタンブロッティングにより PARP の検出をおこなったところ、開裂体が観測され PARP を介してのアポトーシス誘導の可能性が示唆された。

III ヘンルーダ (coumarin)

ミカン科ヘンルーダの根部について成分検索を行い、新規化合物 1 種を含むクマリン 10 種、アルカロイド 5 種の計 15 種類の化合物を単離し、その構造を明らかにした。これらの化合物を MT-1、MT-2 細胞に対する細胞増殖抑制活性を試験した結果、以下のような知見が明らかとなった。

- ・ クマリンの 5 位に methoxy 基が結合すると活性が増強される。
- ・ フラノクマリンの 3 位に dimethylallyl 基が付加すると活性が増強される。

- ・ 糖が結合すると活性が減弱される。

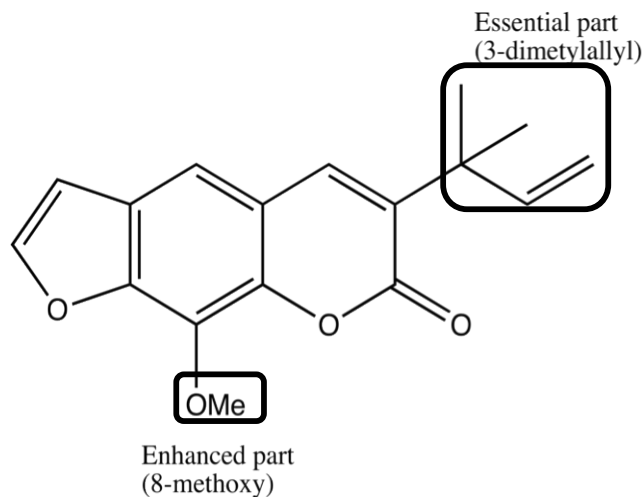


Fig. 58. 構造活性相関 (coumarin)

化合物として withanolide 類ほど強い活性を示すものはなかったが、単離された化合物の総量は aporphine alkaloid や withanolide に比べ多かった。

IV ツルモウリンカ(phenanthroindolizidine alkaloid)

ガガイモ科ツルモウリンカの地上部について成分検索を行い、新規化合物 1 種を含むアルカロイド 6 種の化合物を単離し、構造を明らかにした。これらの化合物の MT-1、MT-2 細胞に対する細胞増殖抑制試験では最も強い細胞増殖抑制活性が認められた。その中でも **54**、**59** の EC_{50} はそれぞれ MT-1 に対して 8.3 nM, 2.8 nM, MT-2 に対して 7.1 nM, 2.6 nM であった。構造活性相関を検討したところ以下のことが明らかとなった。

- ・ 14 位の hydroxy 基が活性を増強する。
- ・ N-oxide は活性を減弱する。
- ・ 2 位の methoxy 基が活性を減弱する。
- ・ 7 位の methoxy 基の methyl 基は活性を減弱する。

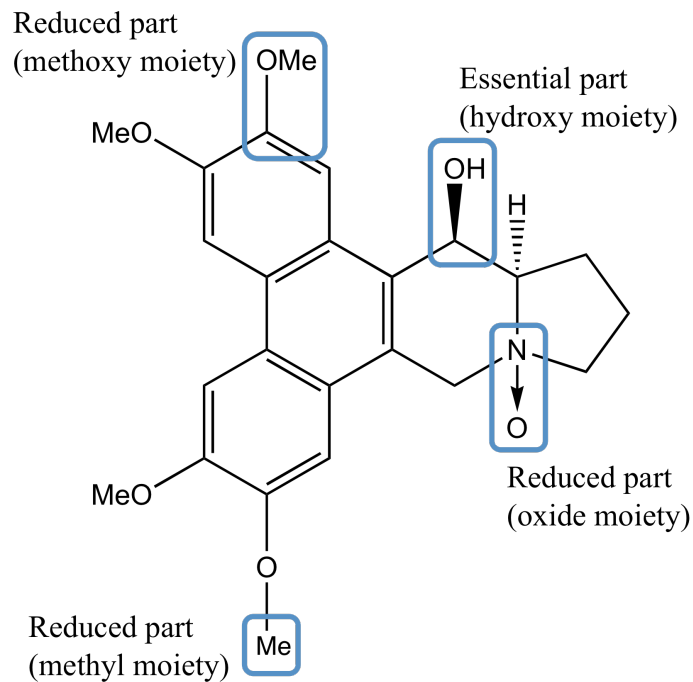


Fig. 59. 構造活性相関 (phenanthroindolizidine alkaloid)

本実験は植物エキスクリーニングから始め、活性成分の単離という正統的手法で、複数の有望な化合物を見出した。中でもナノモルレベルという現在の治療薬に匹敵するほど強い化合物が得られ、また構造的にもそれらの治療薬と全く異なるものが得られたことは特筆される。このように、天然物にはまだまだ未知の活性成分が埋もれていると考えられる。成人 T 細胞白血病は未だに根本的治療法が確立しておらず、多くの患者やその家族が苦しんでいる。今回の研究結果が、立派に育ち、薬というかたちで実になり、苦しんでいる患者やキャリアの方々の不安を幾分か拭い去ってくれればと期待している。

実験の部

カラムクロマトグラフィーは、充填剤として、Diaion HP-20 (三菱化成)、Sephadex LH-20 (pharmacia)、YMC GEL ODS-A 120-S150 (ワイエムシイ)、YMC GEL ODS-AQ 120-S50 (ワイエムシイ)、Silica gel 60 N (球状, 中性), <40~50, 40~100, 100~210 μ m> (関東化学)、Silica gel 60 (破砕状) <70~230mesh> (関東化学)、COSMPSIL 75SL-II-PREP (球状) (ナカライテスク)、COSMPSIL 140SL-II-PREP (球状) (ナカライテスク) を用いた。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、ポンプ Binary HPLC Pump 1525 (Waters)、UV/Visible Detector 2489 (Waters) を用い、カラムは COSMOSIL MS-II, AR-II, Cholester (4.6 \times 250mm) (ナカライテスク) を用いて分析した。

薄層クロマトグラフィー (TLC) は、Kieselgel 60F₂₅₄ プレート (メルク) と RP-18F_{254S} プレート (メルク) を用い、スポットの検出は UV ランプ (254 / 365nm) の照射、および 10% 硫酸試薬を噴霧後に加熱、またはドラーゲンドルフ試液を噴霧することによる呈色により行った。

¹H-NMR (500MHz) および ¹³C-NMR (125MHz) スペクトルは、JEOL JNM-A500 スペクトロメーターで測定した。[サンプル濃度 : 0.5~2% (w/v%)、測定温度 : 35°C、溶媒 : デジタル分解能 : ¹H-NMR (500MHz) 0.31 Hz ; ¹³C-NMR (125MHz) 1.03 Hz]。化学シフトは、Tetramethylsilane (TMS) を内部標準とし、 δ 値 (ppm) で表し、結合定数 (J) は Hz で表した。シグナルの表示には、次の略号を用いた。s : singlet、d : doublet、t : triplet、dd : double doublet、br : broad、m : multiplet。

MS は、JEOL JMS-HX110 二重収束質量分析計を用いて測定した。FAB-MS、イオン源 : Xe atom beam、加速電圧 : 10 KV、scan speed : 10 sec、scan range : 0~2000、分解能 : 3000 にて測定した。また、JEOL JMA-DA7000 data system を用いて処理した。

第 1 章 植物由来抽出物ライブラリーを用いたスクリーニング

第 1 節 スクリーニング

植物由来抽出物のライブラリー

スクリーニングを行なった植物由来抽出物のライブラリーは、福岡大学薬学部 岡部光名誉教授が採集されたもの、または、本学薬草園や植物園より採取したものを調製し、使用した。

細胞

腫瘍細胞種として、MT-1、MT-2 細胞を使用した。細胞培養は 37°C、5% CO₂ インキュベーター内静置培養した。MT-1 細胞および MT-2 細胞は L-glutamine、NaHCO₃、15% fetal bovine serum (FBS)、kanamycin を含む RPMI-1640 培地で培養した。

細胞増殖抑制活性

- 1) 被験体 80 mg/mL DMSO 溶液を調製し、原液とする。
- 2) 原液を 400 倍希釈し、200 μg/mL の試験液①を調製する。
- 3) 続けて、試験液の 10 倍希釈を 3 回行い、それぞれ 20、2、0.2 μg/mL の試験液②～④を調製する。
- 4) 96 well plate に細胞懸濁液 (2.0×10⁵ cells/mL) を 50 μL ずつ入れる(細胞数：1.0×10⁴ cell/well)。それに試験液①～④を 50 μL ずつ加える (終濃度 100、10、1、0.1 μg/mL)
- 5) 72 hr インキュベート (37°C、5%CO₂)する。
- 6) MTT 試薬を 10 μL ずつ播く。
- 7) 4 hr インキュベート (37°C、5%CO₂) する。
- 8) ホルマザンを溶解後、吸光度測定を行う。(波長：570 nm)。
- 9) 細胞生存率 (%) は (検体吸光度-ブランク吸光度/コントロール吸光度-ブランク吸光度)より算出した。

第2章 *Annona* 属植物の成分探索

第1節 バンレイシについて

バンレイシの抽出・分離

本実験に使用したバンレイシは花畑園芸公園よりいただいた。

バンレイシの葉 159.19g を MeOH で抽出し MeOH extract 29.98g を得た。これを EtOAc と Tartaric Acid (3 %) で分配を行い、Na₂CO₃ を加え中和後、更に CHCl₃ で分配した。最も活性の強い CHCl₃ L. について MCI gel、Silica gel、Sephadex LH-20 各種クロマトグラフィーを用いて **AS-1 (1)**, 1.0mg を得た。

構造

AS-1 (1) : Lanuginosine

$[\alpha]_D^{20}$ -230.4° (*c*=0.22, CDCl₃)

Yellow solid ; ¹H-NMR (CDCl₃ δ)

8.90 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-5),

8.59 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-11),

8.04 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-8),

7.78 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-4),

7.30 (1H, dd, *J* = 3.0, 9.0 Hz, H-1),

7.15 (1H, s, H-3),

6.35 (2H, s, -CH₂-),

4.00 (3H, s, -OCH₃)

FAB-MS *m/z* 306 [M+H]⁺

HR-FAB-MS *m/z* 306.0770 (calcd. for C₁₈H₁₂O₄N, 306.0776)

¹³C-NMR : Fig. 8. 参照

第2節 ギュウシンリについて

ギュウシンリの抽出・分離

本実験に使用したギュウシンリは花畑園芸公園よりいただいた。

ギュウシンリの葉 577.0g を MeOH で抽出し MeOH extract 55.7g を得た。これを EtOAc と Tartaric Acid (3 %) で分配を行い、Na₂CO₃ を加え中和後、更に CHCl₃ で分配した。バンレイシと同様に最も活性の強い CHCl₃ L. について MCI gel、Sephadex LH-20 各種クロマトグラフィーを用いて **AR-1 (2)**, 1.4mg) を得、MCI gel、HPLC 各種クロマトグラフィーを用いて **AR-2 (3)**, 3.0mg) を得た。

構造

AR-1 (2) : Liriodenine

$[\alpha]_D^{20}$ -203.8° (*c*=0.087, CDCl₃)

Yellow solid ; ¹H-NMR (CDCl₃ δ)

8.91 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-5),

8.66 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-11),

8.58 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-8),

7.79 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-4),

7.76 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, H-10),

7.58 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, H-9),

7.21 (1H, s, H-3),

6.38 (2H, s, -CH₃-),

FAB-MS *m/z* 276 [M+H]⁺

HR-FAB-MS *m/z* 276.0661 (calcd. for C₁₇H₁₀O₃N, 276.0661)

¹³C-NMR : Fig.10. 参照

AR-2 (3) : Lysicamine

$[\alpha]_D^{20}$ -8.6° ($c=0.075$, CDCl_3)

Yellow solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ)

9.19 (1H, dd, $J = 1.5, 7.9$ Hz, H-11),

8.93 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-5),

8.61 (1H, dd, $J = 1.2, 7.9$ Hz, H-8),

7.78 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-4),

7.77 (1H, dt, $J = 1.5, 7.9$ Hz, H-9),

7.58 (1H, dt, $J = 1.2, 7.9$ Hz, H-10),

7.22 (1H, s, H-3),

4.11 (3H, s, $-\text{OCH}_3$),

4.03 (3H, s, $-\text{OCH}_3$),

FAB-MS m/z 314 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺

HR-FAB-MS m/z 314.0793 (calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{NNa}$, 314.0793)

$^{13}\text{C-NMR}$: Fig. 11. 参照

第 3 節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

1~3 の細胞増殖抑制活性 (EC_{50})

1、2、3 のサンプルの調整は第 1 章と同様に調整を行なった。また、Normal : 正常細胞については健康人ボランティアから採血を行い、リンパ球画分を採取したものを MT-1、MT-2 細胞と同様に用いた。

第4節 細胞周期に対する影響について

MT-1, MT-2 細胞に **2** (0, 2, 4, 8 μM) を添加し 72 hr 培養後、propidium iodide (PI) 染色を行った。MT-1, MT-2 細胞に **2** を各濃度 (0, 2, 4, 8 μM) で添加し、72 時間培養後、70%エタノールで固定を行い、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ RNAse (Sigma) を反応させた。その後、細胞を PI 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で染色し、細胞周期のプロファイルを EPICS XL flow cytometer で測定した。

第3章 ショクヨウホウズキについて

第1節 分離

ショクヨウホウズキの抽出・分離

本実験に使用したショクヨウホウズキは福岡大学内薬草園で採取した。ショクヨウホウズキ地上部全量 286.4g を MeOH で抽出しメタノールエキス 50.7g を得た。このエキスを H_2O と 1-BuOH-AcOEt (1:1)で分配し、 H_2O 層を 20.0g、1-BuOH-EtOAc L.を 30.1g 得た。1-BuOH-EtOAc L.を Diaion HP-20 カラムクロマトに付し分画した。

それぞれの fraction をさらに Diaion HP-20、MCI gel、Silica gel、75C18-PREP、Sephadex LH-20 等各種クロマトグフィーを用いて、**PP-1** (4, 17.3 mg)、**PP-2** (5, 26.3 mg)、**PP-3** (6, 10.3 mg)、**PP-4** (7, 6.4 mg)、**PP-5** (8, 4.6 mg) を得た。

第 2 節 構造決定

構造

PP-1 (4) : 4 β -hydroxywithanolide E

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

7.03 (1H, dd, $J = 9.8, 6.4$ Hz, H-3),

6.18 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-2),

3.65 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-4),

3.21 (1H, brs, H-6),

1.96 (3H, s, H-28),

1.83 (3H, s, H-27),

1.39 (3H, s, H-19),

1.37 (3H, s, H-21),

1.07 (3H, s, H-18)

FAB-MS m/z 525 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 525.2452 (calcd. for $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{NaO}_8$, 525.2464)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 17. 参照

$[\alpha]_D +56.8(c=0.2, \text{MeOH})$

PP-2 (5) : Withanolide S

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

6.73 (1H, ddd, $J = 10.3, 5.1, 2.4$ Hz, H-3),

5.81 (1H, dd, $J = 10.3, 2.4$ Hz, H-2),

3.72 (1H, t like, $J = 2.7$ Hz, H-6),

3.25 (1H, dt, $J = 20.1, 5.1$ Hz, H-4),

2.15 (1H, m, H-4),

1.98 (3H, s, H-28),

1.84 (3H, s, H-27),

1.41 (3H, s, H-19),

1.33 (3H, s, H-21),

1.18 (3H, s, H-18)

FAB-MS m/z 527 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 527.2639 (calcd. for $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{NaO}_8$, 527.2621)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 18. 参照

$[\alpha]_{\text{D}}$ +83.7 ($c=0.3$, MeOH)

PP-3 (6) : 5 α -methoxywithanolide S

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

6.51 (1H, ddd, $J = 10.0, 5.5, 2.4$ Hz, H-3),

5.81 (1H, dd, $J = 10.0, 2.4$ Hz, H-2),

3.98 (1H, brs, H-6),

3.03 (3H, s, OCH_3),

3.00 (1H, dt, $J = 20.1, 5.5$ Hz, H-4),

2.51 (2H, d, $J = 7.9$, H-23)

1.93 (3H, s, H-28),

1.88 (3H, s, H-27),

1.42 (3H, s, H-19),

1.32 (3H, s, H-21),

1.14 (3H, s, H-18)

FAB-MS m/z 541 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 514.2772 (calcd. for $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{NaO}_8$, 541.2777)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 19 参照

$[\alpha]_{\text{D}} +51.0$ ($c=0.2$, MeOH)

PP-4 (7) : 5 α -butoxywithanolide S

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

6.61 (1H, ddd, $J = 10.1, 5.2, 2.4$ Hz, H-3),

5.72 (1H, dd, $J = 10.1, 2.4$ Hz, H-2),

3.89 (1H, t, like, $J = 2.7$ Hz, H-6),

3.03 (3H, s, OCH_3)

3.01 (1H, dt, $J = 20.0, 5.2$ Hz, H-4),

1.92 (3H, s, H-28),

1.85 (1H, m, H-4),

1.81 (3H, s, H-27),

1.41 (3H, s, H-19),

1.31 (3H, s, H-21),

1.19 (3H, s, H-18)

FAB-MS m/z 541 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 583.3249 (calcd. for $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{NaO}_8$, 583.3247)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 20 参照

$[\alpha]_{\text{D}} +20.3$ ($c=0.10$, MeOH)

PP-5 (8) : (3 β ,4 β ,5 β ,6 β ,17 α ,22R)-

5,6-epoxy-4,14,17,20,22-pentahydroxy-3methoxy-1-oxo-ergost-24-en-26-oic acid

White solid ; ¹H-NMR (CDCl₃ δ)

3.61 (1H, ddd, $J = 7.9, 3.9, 3.1$ Hz, H-3),

3.39 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-4),

3.36 (3H, s, OCH₃),

3.21 (1H, brs, H-6),

2.75 (1H, dd, $J = 15.6, 7.9$, Hz, H-2),

2.69 (1H, dd, $J = 15.6, 3.9$, Hz, H-2),

1.94 (3H, s, H-28),

1.82 (3H, s, H-27),

1.37 (3H, s, H-21),

1.23 (3H, s, H-19),

1.01 (3H, s, H-18)

FAB-MS m/z 557 [M+Na]⁺

HR-FAB-MS m/z 557.2730 (calcd. for C₂₉H₄₂NaO₉, 557.2727)

¹³C-NMR : fig. 21 参照

第3節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

4~8 の細胞増殖抑制活性 (EC₅₀)

4~8 のサンプルの調整と MT-1、MT-2、正常細胞は前述した方法で行い、評価に用いた。

第4章 Withanolide について

第1節 構造活性相関

9~38 の細胞増殖抑制活性 (EC₅₀)

9~38 のサンプルの調整と MT-1、MT-2、正常細胞は前述した方法で行い、評価に用いた。また、これらは以下の植物より単離した。Withanoside IV (9), Withanoside V (10), Withanoside X (11), Physagulin D (12), 13, 24,25-dihydrowithanoside VI (14), Sitoindoside (17), Withaferin A (18), 2,3-dihydrowithaferin A (19), 24,25-dihydrowithanolide D (20) はアシュワガンダ: *Withania somnifera* より単離した⁶⁶⁻⁷²⁾。Withanolide F (15) はシヨクヨウホオズキ²⁴⁾ Sitoindoside IX (16) は *Withania coagulans*^{73]}よりそれぞれ単離した。Withagulatin (21), Physagulin A (22), Physagulin C (23), Physagulin I (24), Physagulin (25), Physagulin B (34), Withaminimin (35), Physagulin J (36), Physagulin K (37) and Physagulin M (38) は *Physalis angulata* より単離した^{68, 74-76)}。Nivaphysalin A (26), Nivaphysalin B (27), Nivaphysalin C (28), Nivaphysalin E (29) は *Nicandra physaloides* より単離した⁷⁷⁾。Petunioside B (30) は *Petunia hybrida* より単離した⁷⁸⁾。Cilistol A (31), Cilistol G (32), Cilistol P (33) は *Solanum cilistum* より単離したものをを用いた^{79, 80)}。

第2節 細胞周期に対する影響

フローサイトメトリー

アポトーシスの誘導はミトコンドリア膜の7A6タンパクを検出する APO2.7-PC5 を用いて行った。測定機器として EPICS XL flow cytometer (Beckman Coulter, Hialeah, FL, USA).を用いた。MT-1, MT-2, ATL 患者由来細胞を培養した。その細胞に 20 を各濃度 (0.5, 1, 2 μ M) で添加し, 72 時間培養した。各細胞を APO2.7-PC5 試薬と遮光下、15 分室温で反応させフローサイトメトリーで分析した。

ウエスタンブロッティング

MT-1, MT-2, ATL 患者由来細胞に **20** を各濃度 (0, 0.25, 1 μ M) 添加し 24 時間培養する。2 mM Na_3VO_4 , 5 mM NaF, 1 mM phenylmethyl sulfonyl fluoride, 5 mg/mL leupeptin and 5 mg/mL aprotinin を含んだ sodium dodecyl sulfate (SDS) sample buffer で細胞を調製した。その後、各細胞を SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) で展開し、polyvinylidene difluoride 膜に転写した。転写した膜を blocking buffer (5 % non-fat dried milk) を用いて室温で 1 時間ブロッキングし、PARP 抗体と 4 °C で一晩反応させた。その後、二次抗体で処理し、可視化するために化学発光させた。

第5章 ヘンルーダについて

第1節 分離

本実験に使用したヘンルーダは本学薬草園にて栽培したものをを用いた。

ヘンルーダの根 240 g を MeOH で抽出し MeOH extract 22 g を得た。これを EtOAc と水 で分配した。各種クロマトグラフィーを用いて **RG-1** (39, 52 mg) 、**RG-2** (40, 29 mg) 、**RG-3** (41, 10 mg) 、**RG-4** (42, 67 mg) 、**RG-5** (43, 9.4 mg) 、**RG-6** (44, 110 mg) 、**RG-7** (45, 13 mg) 、**RG-8** (46, 21 mg) 、**RG-9** (47, 5.7 mg) 、**RG-10** (48, 2.7 mg) 、**RG-11** (49, 7.3 mg) 、**RG-12** (50, 6.0 mg) 、**RG-13** (51, 6.1 mg) 、**RG-14** (52, 8.3 mg) 、**RG-15** (53, 3.9 mg) を得た。

第2節 構造決定

構造

RG-1 (39) : Psoralen

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD δ)

8.00 (1H, d, $J=9.8\text{Hz}$, H-4)

7.84 (1H, s, H-5)

7.82 (1H, d, $J=2.4\text{Hz}$, H-2')

7.49 (1H, s, H-8)

6.92 (1H, d, $J=2.4\text{Hz}$, H-3')

6.38 (1H, d, $J=9.8\text{Hz}$, H-3)

FAB-MS m/z 187 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 187.0392 (calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_3$, 187.0395)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 30. 参照

RG-2 (40) : Bergapten

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

8.14 (1H, d, $J=9.8\text{Hz}$, H-4)

7.59 (1H, d, $J=2.4\text{Hz}$, H-2')

7.13 (1H, s, H-8)

7.01 (1H, d, $J=2.4\text{Hz}$, H-3')

6.26 (1H, d, $J=9.8\text{Hz}$, H-3)

4.27 (3H, s, -OMe)

FAB-MS m/z 217 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 217.0503 (calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_4$, 217.0501)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 31. 参照

RG-3 (41) : Xanthotoxin

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

7.75 (1H, d, $J=9.5\text{Hz}$, H-4)

7.69 (1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-2')

7.34 (1H, s, H-5)

6.81 (1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-3')

6.36 (1H, d, $J=9.5\text{Hz}$, H-3)

4.30 (3H, s, -OMe)

FAB-MS m/z 217 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 217.0501 (calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{O}_4$, 217.0501)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 32. 参照

RG-4 (42) : Rutarin

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD δ)

7.79 (1H, d, $J=9.8\text{Hz}$, H-4)

7.13 (1H, s, H-5)

6.23 (1H, d, $J=9.8\text{Hz}$, H-3)

5.21 (1H, d, $J=7.9\text{Hz}$, H-1'')

4.80 (1H, t, $J=8.7\text{Hz}$, H-2')

3.27 (2H, d, $J= 8.7\text{Hz}$, H-3')

1.36, 1.23 (3H, s, H-5', 6')

FAB-MS m/z 425 [M+H]⁺

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 33. 参照

$[\alpha]_D -205.9$ ($c=0.12$, MeOH)

RG-5 (43) : Rutaretin

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

7.49 (1H, d, $J=9.5\text{Hz}$, H-4)

6.72 (1H, s, H-5)

6.13 (1H, d, $J=9.5\text{Hz}$, H-3)

4.78 (1H, dd, $J=8.1, 9.5\text{Hz}$, H-2')

3.29 (1H, dd, $J=8.1, 15.7\text{Hz}$, H-3')

3.21 (1H, dd, $J=9.5, 15.7\text{Hz}$, H-3')

1.44, 1.27 (3H, s, H-5', 6')

FAB-MS m/z 263 [M+H]⁺

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 34. 参照

$[\alpha]_D -28.1$ ($c=0.3$, EtOH)

RG-6 (44) : Rutamarin

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

7.47 (1H, s, H-4)

7.18 (1H, s, H-5)

6.70 (1H, s, H-8)

6.17 (1H, dd, $J=11.0, 17.4\text{Hz}$, H-2")

5.08 (2H, d, $J=10.4\text{Hz}$, H-3")

5.07 (1H, t, $J=9.2\text{Hz}$, H-2')

3.24 (1H, dd, $J=9.5, 15.9\text{Hz}$, H-3')

3.15 (1H, dd, $J=7.6, 15.9\text{Hz}$, H-3')

1.98 (3H, s, H-3''')

1.56 (3H, s, H-4''')

1.50 (3H, s, H-5''')

1.47 (6H, s, H-4'', 5'')

FAB-MS m/z 357 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 35. 参照

$[\alpha]_{\text{D}}$ +21.1 ($c=0.4, \text{CHCl}_3$)

RG-7 (45) : Chalepensis

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

- 7.69 (1H, s, H-4)
- 7.68 (1H, d, $J=2.4\text{Hz}$, H-2')
- 7.65 (1H, s, H-5)
- 7.44 (1H, s, H-8)
- 6.82 (1H, d, $J=2.4\text{Hz}$, H-3')
- 6.20 (1H, dd, $J=10.7, 17.4\text{Hz}$, H-2")
- 5.12 (1H, dd, $J=1.2, 9.8\text{Hz}$, H-3")
- 5.11 (1H, dd, $J=1.2, 18.3\text{Hz}$, H-3")
- 1.51 (6H, s, H-4", H-5")

FAB-MS m/z 255 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 255.1020 (calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$, 255.1021)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 36. 参照

RG-8 (46) : 3-(1,1-Dimethylallyl)-7,8-dimethoxycoumarin

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

- 7.50 (1H, s, H-4)
- 7.14 (1H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-5)
- 6.85 (1H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-6)
- 6.18 (1H, dd, $J=10.4, 16.8\text{Hz}$, H-2')
- 5.11 (1H, dd, $J=1.2, 10.7\text{Hz}$, H-3')
- 5.08 (1H, dd, $J=1.2, 16.8\text{Hz}$, H-3')
- 4.00 (3H, s, C8-OMe)
- 3.94 (3H, s, C7-OMe)
- 1.47 (6H, s, H-4', H-5')

FAB-MS m/z 275 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 275.1282 (calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$, 275.1283)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 37. 参照

RG-9 (47) : 3-(1,1-Dimethyl-2-propen-1-yl)-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-buten-1-yl)-
7-methoxy-2*H*-1-benzopyran-2-one

White solid ; ¹H-NMR (CD₃ODδ)

7.73 (1H, s, H-4)
7.37 (1H, s, H-5)
6.88 (1H, s, H-8)
6.17 (1H, dd, *J*=10.7, 17.4Hz, H-2")
5.04 (1H, dd, *J*=1.2, 17.7Hz, H-3")
5.03 (1H, dd, *J*=1.2, 10.7Hz, H-3")
4.77 (1H, s, H-4')
4.74 (1H, s, H-4')
4.29 (1H, t, *J*=7.2Hz, H-2')
3.91 (3H, s, -OMe)
2.95 (1H, dd, *J*=5.8, 13.7Hz, H-1')
2.77 (1H, dd, *J*=5.8, 13.4Hz, H-1')
1.79 (3H, s, H-5')
1.46 (6H, s, H-4", H-5")

FAB-MS *m/z* 329 [M+H]⁺

HR-FAB-MS *m/z* 329.1755 (calcd. for C₂₀H₂₄O₄, 329.1753)

¹³C-NMR : fig. 38. 参照

[α]_D -74.5 (c=0.1, MeOH : CHCl₃ = 1 : 1)

RG-10 (48) : 3-(1,1-Dimethyl-2-propen-1-yl)-6-(2-hydroxy-3-methyl-3-buten-1-yl)-
7-hydroxy-2*H*-1-benzopyran-2-one

Yellow solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ)

7.47 (1H, s, H-4)

7.10 (1H, s, H-5)

6.82 (1H, s, H-8)

6.15 (1H, dd, $J=10.7, 17.2\text{Hz}$, H-2")

5.08 (1H, dd, $J=1.2, 10.4\text{Hz}$, H-3")

5.07 (1H, dd, $J=1.2, 18.2\text{Hz}$, H-3")

4.99 (1H, s, H-4')

4.89 (1H, s, H-4')

4.42 (1H, dd, $J=2.1, 7.9\text{Hz}$, H-2')

2.97 (1H, dd, $J=8.2, 15.0\text{Hz}$, H-1')

2.88 (1H, dd, $J=2.4, 15.0\text{Hz}$, H-1')

1.81 (3H, s, H-5')

1.46 (6H, s, H-4", H-5")

FAB-MS m/z 315 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 315.1597 (calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_4$, 315.1596)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 39. 参照

$[\alpha]_{\text{D}}$ -327.1 ($c=0.66$, CHCl_3)

RG-11 (49) : 1-Hydroxy-10-methylacridone

Yellow solid ; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 δ)

14.54 (1H, s, -OH)

8.36 (1H, dd, $J=1.5, 7.9\text{Hz}$, H-8)

7.91 (1H, td, $J=1.5, 7.9\text{Hz}$, H-6)

7.89 (1H, dd, $J=1.5, 7.9\text{Hz}$, H-5)

7.70 (1H, t, $J=8.4\text{Hz}$, H-3)

7.40 (1H, td, $J=1.8, 7.9\text{Hz}$, H-7)

7.21 (1H, d, $J=8.4\text{Hz}$, H-4)

6.66 (1H, d, $J= 8.4\text{Hz}$, H-2)

3.94 (3H, s, N-Me)

FAB-MS m/z 226 [M+H] $^+$

HR-FAB-MS m/z 226.0867 (calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_2$, 226.0868)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 40. 参照

RG-12 (50) : Rutacridone

Yellow solid ; $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$ δ)

15.33 (1H, s, -OH)
8.25 (1H, dd, $J=1.5, 7.9\text{Hz}$, H-8)
7.83 (1H, td, $J=1.5, 7.9\text{Hz}$, H-6)
7.72 (1H, d, $J=7.9\text{Hz}$, H-5)
7.35 (1H, t, $J= 7.9\text{Hz}$, H-7)
6.23 (1H, s, H-2)
5.30 (1H, t, $J=8.7\text{Hz}$, H-2')
5.09 (1H, s, H-4')
4.95 (1H, s, H-4')
3.99 (3H, s, N-Me)
3.96 (1H, dd, $J=5.2, 14.6\text{Hz}$, H-1')
3.55 (1H, dd, $J=6.7, 14.6\text{Hz}$, H-1')
1.76 (3H, s, H-5')

FAB-MS m/z 308 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 308.1290 (calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_3$, 308.1287)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 41. 参照

$[\alpha]_D -60.3$ ($c=0.07$, MeOH)

RG-13 (51) : Gravacridonediol-glucoside

Yellow solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD δ)

- 8.29 (1H, d, $J=7.9\text{Hz}$, H-8)
- 7.76 (1H, t, $J=7.9\text{Hz}$, H-6)
- 7.62 (1H, d, $J=7.9\text{Hz}$, H-5)
- 7.29 (1H, t, $J=7.9\text{Hz}$, H-7)
- 6.15 (1H, s, H-2)
- 5.00 (1H, t, $J=9.0\text{Hz}$, H-2')
- 4.70 (1H, d, $J=7.9\text{Hz}$, H-1'')
- 4.04 (3H, s, N-Me)
- 3.96 (1H, dd, $J=8.2, 14.6\text{Hz}$, H-1')
- 3.84 (1H, d, $J=12.2\text{Hz}$, H-4')
- 3.74 (1H, dd, $J=9.6, 14.5\text{Hz}$, H-1')
- 3.69 (1H, d, $J=12.2\text{Hz}$, H-4')
- 1.38 (3H, s, H-5')

FAB-MS m/z 504 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 42. 参照

$[\alpha]_{\text{D}}$ -91.3 ($c=0.3$, MeOH)

RG-14 (52) : Dictamnin

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

8.28 (1H, dd, $J=1.5, 8.5\text{Hz}$, H-5)

8.04 (1H, d, $J=8.5\text{Hz}$, H-8)

7.69 (1H, td, $J=1.5, 8.5\text{Hz}$, H-7)

7.63 (1H, d, $J=2.7\text{Hz}$, H-11)

7.45 (1H, , $J= 8.5\text{Hz}$, H-6)

7.09 (1H, d, $J=2.7\text{Hz}$, H-10)

4.46 (3H, s, -OMe)

FAB-MS m/z 200 [M+H]⁺

HR-FAB-MS m/z 200.0714 (calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{NO}_2$, 200.0712)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 43. 参照

RG-15 (53) : 3-Methoxy-1-methyl-2(1H)-quinolinone

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 δ)

7.99 (1H, dd, $J=1.5, 7.9\text{Hz}$, H-5)

7.59 (1H, td, $J=1.5, 7.9\text{Hz}$, H-7)

7.36 (1H, dd, $J=0.6, 7.9\text{Hz}$, H-8)

7.24 (1H, td, $J=0.6, 7.9\text{Hz}$, H-6)

6.14 (1H, s, H-4)

3.96 (3H, s, -OMe)

3.69 (3H, s, N-Me)

FAB-MS m/z 190 [M+H]⁺

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 44. 参照

第 3 節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

39～53 の細胞増殖抑制活性 (EC_{50})

39～53 のサンプルの調製と MT-1、MT-2、正常細胞は前述した方法で行い、評価に用いた。

第5章 ツルモウリンカについて

第1節 分離

本実験に使用したツルモウリンカは本学薬草園にて栽培したものと橿原市昆虫館よりいただいたものを用いた。

福岡大学薬草園にて採集したツルモウリンカの地上部 1340 g を MeOH で抽出し MeOH extract 215 g を得た。得られた MeOH ext. を EtOAc と Tartaric acid (3%) で分配し、それぞれを濃縮し EtOAc L 39.6 g を得た。Tartaric acid (3%) L. を中和後、更に CHCl₃ と分配を行い、CHCl₃ L 12.5 g を得た。Water L. に関しては Diaion HP-20 を用いて Water fr. と MeOH fr. 14.1 g を得た。各種クロマトグラフィーを用いて **TT-1 (54, 12.5 mg)**、**TT-2 (55, 2.9 mg)**、**TT-3 (56, 11.8 mg)**、**TT-4 (57, 17.8 mg)**、**TT-5 (58, 4.9 mg)**、を得た。また、橿原市昆虫館よりいただいたツルモウリンカの地上部 (803g) より各種クロマトグラフィーにて分離・精製を行い **TT-6 (59, 6.8 mg)** を得た。

第 2 節 構造決定

構造

TT-1 (54) : 3-Demethyl-14 α -hydroxyisotylocrebrine N-oxide

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ ($\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O} = 1:1$ δ)

9.06 (1H, s, H-5)

7.76 (1H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-1)

7.32 (1H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-2)

6.83 (1H, s, H-8)

5.10 (1H, d, $J=15.3\text{Hz}$, H-9)

4.99 (1H, d, $J=2.8\text{Hz}$, H-14)

4.38 (1H, d, $J=15.3\text{Hz}$, H-9)

4.01 (3H, s, OMe-6)

3.97 (3H, s, OMe-7)

3.83 (3H, s, OMe-4)

3.83 (1H, m, H-11)

3.66 (1H, m, H-11)

3.13 (1H, m, H-13a)

2.70 (1H, m, H-13)

2.42 (1H, m, H-12)

2.24 (1H, m, H-12)

2.19 (1H, m, H-13)

FAB-MS m/z 410 [M-H]

HR-FAB-MS m/z 410.1617 (calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{NO}_6$, 410.1604)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 48. 参照

TT-2 (55) :

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD δ)

7.90 (1H, s, H-5)

7.61 (1H, s, H-4)

7.60 (1H, s, H-1)

7.10 (1H, s, H-8)

5.26 (1H, m, H-9)

5.21 (1H, d, $J=3.1\text{Hz}$, H-14)

4.77 (1H, m, H-9)

4.07 (3H, s, OMe-2)

4.07 (3H, s, OMe-3)

4.03 (3H, s, OMe-7)

4.00 (3H, s, OMe-6)

3.80 (1H, m, H-11)

3.76 (1H, m, H-11)

3.65 (1H, m, H-13a)

2.86 (1H, m, H-13)

2.48 (1H, m, H-12)

2.27 (1H, m, H-13)

2.24 (1H, m, H-12)

FAB-MS m/z 448 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 448.1724 (calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_6\text{Na}$, 448.1736)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 49. 参照

TT-3 (56) : Tylophorinine N-oxide

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 : $\text{CD}_3\text{OD} = 1:1$ δ)

8.15 (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$, H-1)

7.80 (1H, d, $J=2.4\text{Hz}$, H-4)

7.76 (1H, s, H-5)

7.31 (1H, dd, $J=9.2, 2.4\text{Hz}$, H-2)

6.89 (1H, s, H-8)

5.12 (1H, d, $J=15.0$, H-9)

5.11 (1H, d, $J=3.1$, H-14)

4.55 (1H, d, $J=15.0$, H-9)

4.07 (3H, s, OMe-3)

4.05 (3H, s, OMe-6)

4.01 (3H, s, OMe-7)

3.78 (1H, m, H-11)

3.63 (1H, m, H-11)

3.40 (1H, m, H-13a)

2.80 (1H, m, H-13)

2.51 (1H, m, H-12)

2.22 (1H, m, H-12)

2.22 (1H, m, H-13)

FAB-MS m/z 396 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 396.1811 (calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{NO}_5$, 396.1811)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 50. 参照

TT-4 (57) : Tylophorine N-oxide

White solid ; ¹H-NMR (CDCl₃ : CD₃OD = 1:1 δ)

7.78 (1H, s, H-1)

6.87 (1H, d, *J*=8.6Hz, H-4)

7.77 (1H, d, *J*=7.6Hz, H-5)

7.22 (1H, s, H-8)

6.89 (1H, s, H-8)

5.07 (1H, dd, *J*=14.8, 4.6Hz, H-9)

4.62 (1H, dd, *J*=15.1, 4.9Hz, H-9)

4.11 (3H, s, OMe-3)

4.10 (3H, s, OMe-7)

4.03 (3H, s, OMe-2)

4.00 (3H, s, OMe-6)

3.93 (1H, m, H-11)

3.61 (1H, m, H-11)

3.19 (1H, m, H-13)

3.16 (1H, m, H-13)

2.40 (1H, m, H-12)

2.22 (1H, m, H-14)

2.18 (1H, m, H-14)

2.08 (1H, m, H-12)

FAB-MS *m/z* 410 [M+H]⁺

HR-FAB-MS *m/z* 410.1967 (calcd. for C₂₄H₂₈NO₅, 410.1967)

¹³C-NMR : fig. 51. 参照

TT-5 (58) : Isotylocrebrine N-oxide

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD δ)

9.28 (1H, s, H-5)

7.82 (1H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-1)

7.43 (1H, d, $J=8.9\text{Hz}$, H-2)

6.95 (1H, s, H-8)

4.99 (1H, d, $J=15.0\text{Hz}$, H-9)

4.61 (1H, d, $J=15.0\text{Hz}$, H-9)

4.03 (3H, s, OMe-3)

4.02 (3H, s, OMe-6)

3.98 (3H, s, OMe-7)

3.91 (3H, s, OMe-4)

3.80 (1H, m, H-11)

3.65 (1H, m, H-11)

3.34 (1H, m, H-13a)

3.20 (2H, d, $J=7.6\text{Hz}$, H-14)

2.35 (1H, m, H-12)

2.25 (1H, m, H-13)

2.10 (1H, m, H-13)

2.09 (1H, m, H-12)

FAB-MS m/z 410 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HR-FAB-MS m/z 410.1967 (calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{NO}_5$, 410.1967)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 52. 参照

TT-6 (59) : 3-Demethyl-14 β -hydroxyisotylolebrine

White solid ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 : $\text{CD}_3\text{OD} = 1:1$ δ)

9.28 (1H, s, H-5)

7.98 (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$, H-1)

7.32 (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$, H-2)

7.11 (1H, s, H-8)

5.52 (1H, m, H-14)

5.10 (1H, d, $J=14.6\text{Hz}$, H-9)

4.53 (1H, d, $J=14.6\text{Hz}$, H-9)

4.08 (3H, s, OMe-6)

3.97 (3H, s, OMe-7)

3.89 (3H, s, OMe-4)

$^{13}\text{C-NMR}$: fig. 53. 参照

第 3 節 細胞増殖抑制活性および構造活性相関

54~59 の細胞増殖抑制活性 (EC_{50})

54~59 のサンプルの調整と MT-1、MT-2、正常細胞は前述した方法で行い、評価に用いた。

引用文献

1. Kinjo J, Nagao T, Tanaka T, Nonaka G, Okabe H (2001) Antiproliferative constituents in the plants 8. Seeds of *Rhynchosia volubilis*. *Biol. Pharm. Bull.*, 24:1443-1445
2. Nagao T, Abe F, Kinjo J, Okabe H (2002) Antiproliferative constituents in the plants 10. Flavones from the leaves of *Lantana montevidensis* Briq. and consideration of structure-active relationship. *Biol. Pharm. Bull.*, 25:875-879
3. Kinjo J, Nagao T, Tanaka T, Nonaka G, Okawa M, Nahara T, Okabe H (2002) Activity-guided fractionation of green tea extract with antiproliferative activity against human stomach cancer cells. *Biol. Pharm. Bull.*, 25:1238-1240
4. Takatsuki K, Uchiyama T, Sagawa K, Yodoi J (1976) Surface markers of malignant lymphoid cells in the classification of lymphoproliferative disorders, with special reference to adult T-cell leukemia. *Rinsho Ketsueki* 17:416-421
5. Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H (1977) Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* 50:481-492
6. Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, Gallo RC (1980) Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:7415-7419
7. Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita KI, Shirakawa S, Miyoshi I (1981) Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:6476-6480
8. Ishitsuka K, Tamura K (2008) Treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma: past, present, and future. *Eur J Haematol* 80:185-196

9. Kawano R, Utsunomiya A, Matsuoka H, Kawano F, Ikeda S, Izumi Y, Tsukada J, Shibuya T, Okamura S, Uike K, Nagano M, Tamura K (2004) Registration of hematological disorders by the Kyushu Hematology Organization for Treatment (K-HOT) Study Group. *Rinsho Ketsueki* 45:478–480
10. Hino S, Katamine S, Miyata H, Tsuji Y, Yamabe T, Miyamoto T (1997) Primary prevention of HTLV-1 in Japan. *Leukemia* 11 (Suppl. 3):57–59
11. Uozumi K, Hanada S, Ohno N, Ishitsuka K, Shimotakahara S, Otsuka M, Chyuman Y, Nakahara K, Takeshita T, Kuwazuru Y, Saitou T, Makino T, Iwahashi M, Utsunomiya A, Arima T (1995) Combination chemotherapy (RCM protocol: response-oriented cyclic multidrug protocol) for the acute or lymphoma type adult T-cell leukemia. *Leuk Lymphoma* 18:317-323
12. Taguchi H, Kinoshita KI, Takatsuki K, Tomonaga M, Araki K, Arima N, Ikeda S, Uozumi K, Kohno H, Kawano F, Kikuchi H, Takahashi H, Tamura K, Chiyoda S, Tsuda H, Nishimura H, Hosokawa T, Matsuzaki H, Momita S, Yamada O, Miyoshi I (1996) An intensive chemotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma: CHOP followed by etoposide, vindesine, ranimustine, and mitoxantrone with granulocyte colony-stimulating factor support. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 12:182-186.
13. Matsushita K, Matsumoto T, Ohtsubo H, Fujiwara H, Imamura N, Hidaka S, Kukita T, Tei C, Matsumoto M, Arima N. (1999) Long-term maintenance combination chemotherapy with OPEC/MPEC (vincristine or methotrexate, prednisolone, etoposide and cyclophosphamide) or with daily oral etoposide and prednisolone can improve survival and quality of life in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 36:67-75.
14. Tsukasaki K, Utsunomiya A, Fukuda H, Shibata T, Fukushima T, Takatsuka Y, Ikeda S, Masuda M, Nagoshi H, Ueda R, Tamura K, Sano M, Momita S, Yamaguchi K, Kawano F, Hanada S, Tobinai K, Shimoyama M, Hotta T, Tomonaga M (2007) VCAP-AMP-VECP compared with biweekly CHOP for adult T-cell leukemia-lymphoma: Japan Clinical Oncology

Group Study JCOG9801. *J Clin Oncol.* 2007 25:5458-5464

15. Yamagishi M, Nakano k, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, and Watanabe T (2012) Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in Adult T cell Leukemia and other cancers. *Cancer Cell* 21:121-135
16. Miyoshi I, Kubonishi I, Sumida M, Hiraki S, Tsubota T, Kimura I, Miyamoto K, Sato J (1980) A novel T-cell line derived from adult T-cell leukemia. *Gann* 71:155-156
17. Miyoshi I, Kubonishi I, Yoshimoto S, Akagi T, Ohtsuki Y, Shiraishi Y, Nagata K, Hinuma Y (1981) Type C virus particles in a cord T-cell line derived by cocultivating normal human cord leukocytes and human leukaemic T cells. *Nature* 294:770-771
18. James C, William GD, Adi FG, John DM, James BM (1987) Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47:936-942
19. Chen Y, Chen JW, Li X (2011) Cytotoxic Bistetrahydrofuran Annonaceous Acetogenins from the Seeds of *Annona squamosa* J. *Nat. Prod.* 74: 2477–248
20. Bhakuni DS, Tewari S, Dhar MM (1972) Aporphine alkaloids of *annona squamosa*. *Phytochemistry* 11:1819-1822
21. Hopp DC, Zeng L, Gu ZM, Koziowski JF, Mclaughlin L (1997) Novel Mono-Tetrahydrofuran Ring Acetogenins, from the Bark of *Annona squamosa*, Showing Cytotoxic Selectivities for the Human Pancreatic Carcinoma Cell Line, PACA-2. *J. Nat. Prod.* 60 : 581-586
22. Zhizhen Z, Hala NE, Melissa RJ, David SP, Larry AW, Alice MC (2002) New sesquiterpenoids from the root of *Guatteria multivenia*. *J Nat Prod* 65:856–859

23. Chen CY, Chen SY, Chen CH (2012) Liriodenine induces G1/S cell cycle arrest in human colon cancer cells via nitric oxide- and p53-mediated pathway. *Process Biochem* 47:1460–1468
24. Shingu K, Miyagawa M, Yahara S, Nahara T (1993) Constituents of solanaceous plants, XXVII, Physapruins A and B, two new withanolides from *Physalis pruinosa* Bailey. *Chem Pharm Bull* 41:1873-1875
25. I Kirson, A Abraham, P D. Sethi, S. Sankara Subramanian, E Glotter (1976) 4 β -hydroxywithanolide E, a new natural steroid with a 17 β -oriented side-chain. *Phytochemistry* 15:340-342
26. Sakurai K, Ishii H, Kobayashi S, Iwao T (1976) Isolation of 4 β -hydroxywithanolide E, a new withanolide from *Physalis peruviana* L. *Chem Pharm Bull* 24:1403-1405
27. Yen CY, Chiu CC, Chang FR, Chen JYF, Hwang CC, Hseu YC, Yang HL, Lee AYL, Tsai MT, Guo ZL, Cheng YS, Liu YC, Lan YH, Chang YC, Ko YC, Chang HW, Wu YC (2010) 4 β -hydroxywithanolide E from *Physalis peruviana* (golden berry) inhibits growth of human lung cancer cells through DNA damage, apoptosis and G2 / M arrest. *BMC Cancer* DOI 10.1186/1471-2407-10-46
28. Emma M, Vita EA, Fernando RT, Mahinda M, Ana LPC (2005) Androstane and withanolides from *Physalis cinerascens*. *Planta Med* 71:548-553
29. Partha N, Mahendra S, Anil BR (1987) Withaperuvins F and G, two withanolides of *Physalis peruviana* roots. *Phytochemistry* 26:243-247
30. Yen CY, Chiu CC, Chang FR, Chen JYF, Hwang CC, Hseu YC, Yang HL, Lee AYL, Tsai MT, Guo ZL, Cheng YS, Liu YC, Lan YH, Chang YC, Ko YC, Chang HW, Wu YC (2010) 4b-Hydroxywithanolide E from *Physalis peruviana* (golden berry) inhibits growth of human lung cancer cells through DNA damage, apoptosis and G2 / M arrest. *BMC Cancer* 10:46

31. Susmita M, Chandan M, Rajender S, Sarmila C, Chitra M (2010) Withanolide D induces apoptosis in leukemia by targeting the activation of neutral sphingomyelinase-ceramide cascade mediated by synergistic activation of c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *Molecular Cancer* 9:239
32. 三橋 博監修 (1988) 原色牧野和漢藥草大図鑑、北隆館 P254
33. 柴田桂太編 (1949) 資源植物辞典、北隆館 P686-687
34. Renmin Liu , Aifeng Li , Ailing Sun , Lingyi Kong (2004) Preparative isolation and purification of coumarins from *Cnidium monnieri* (L.) Cusson by high-speed counter-current chromatography. *J.Chromatogr.A* , 225-228 , 1057
35. Teresa Zolek , Katarzyna Paradowska , Iwona Wawer (2003) ¹³C CP MAS NMR and GIAO-CHF calculations of coumarins , *Solid State Solid State Nucl.Magn.Reson.* , 77-87 , 23
36. Philip C.Stevenson , Monique S.J.Simmonds , Marianne A.Yule , Nigel C.Veitch , Geoffrey C.Kite , Dianna Irwin , Mike Legg (2003) Insect antifeedant furanocoumarins from *Tetradium daniellii* *Phytochemistry* , 41-46 , 63
37. T.Okuyama , M.Takata , S.Shibata (1988) Structures of linear furano- and simple-coumarin glycosides of Bai-Hua Qian-Hu *Planta Med.* , 64-67 , 55
38. A.Z.Abyshev , E.M.Agaev , M.A.Balabudkin (1993) Rutarin from the roots of *Seseli grandivittatum* *Chem.Nat.Comp.* , 250-251 , 29
39. John Lemmich , Marawan Shabana (1984) Apiumetin—a new furanocoumarin from the seeds of *Apium graveolens* *Phytochemistry* , 863-865 , 23

40. S.K.Garg , S.R.Gupta , N.D.Sharma (1978) Apiumetin—a new furanocoumarin from the seeds of *Apium graveolens* Phytochemistry , 2135-2136 , 17
41. Johannes Reisch , Stefan H.Achenbach (1992) Constituents of *boenninghausenia albiflora* : isolation and identification of some coumarins Phytochemistry , 4376-4377 , 31
42. Purusotam Basnet , Shigetoshi Kadota , Krishna Manandhar , Mangala Devi Manandhar , Tsuneo Namba (1993) A furanocoumarin glucoside from stem bark of *Skimmia japonica* Planta Med. , 384-386 , 59
43. Dieter Bergenthal , Kalman Szendrei , Johannes Reisch (1977)¹³C-NMR-Spektren einiger C-3 prenylierter Rutaceen-Cumarine Arch.Pharm. , 390-393 , 310
44. M.H.A.Elgamal , N.H.Elewa , E.A.M.Elkhaisy , Helmut Duddeck (1979)¹³C NMR chemical shifts and carbon-proton coupling constants of some furocoumarins and furochromones Phytochemistry , 139-143 , 18
45. Dieter Bergenthal , Zsuzsa Rozsa , Iuliu Mester , Johannes Reisch (1978) ¹³C-NMR-Spektroskopie von Rutaceen-Cumarinen , Arch.Pharm. , 1026-1029 , 311
46. Antonio G.Gonzalez , Rafael Estevez Reyes , Manuel Rivero Espino (1977) Two new coumarins from *Ruta pinnata* Phytochemistry , 2033-2035 , 16
47. F.A.Macias , G.M.Massanet , F.Rodriguez-Luis , J.Salva (1989) Mag.Reson.Chem. , 892-894 , 27
48. A.G.Gonzalez , J.T.Barroso , H.Lopezdorta , J.R.Luis , F.Rodriguez-Luis (1978) An.Quim. , 979-984 , 74
49. F.A.Macias , R.Hernandez-Galan , G.M.Massanet , F.Rodriguez-Luis , M.Vasquez , J.Salva (1990)¹³C NMR of coumarins. III—Simple coumarins Mag.Reson.Chem. , 732-735 , 28

50. Monira Ahsan , Alexander I.Gray , Greg Leach , Peter G.Waterman (1993)Quinolone and acridone alkaloids from *Boronia lanceolata* , *Phytochemistry* , *Phytochemistry* , 1507-1510 , 33
51. D.Bergenthal , I.Mester , Zs.Rozsa , J.Reisch (1979) ¹³C-NMR-Spektren einiger acridon-alkaloide *Phytochemistry* , 161-163 , 18
52. A.Nahrstedt , U.Eilert , B.Wolters (1981) Rutacridone-epoxide, a new acridone alkaloid from *Ruta glaveolens* *Z.Naturforsch.* , 200-203 , 36c
53. Kumudini M.Meepagala , Kevin K.Schrader , David E.Wedge , Stephen O.Duke (2005) Algicidal and antifungal compounds from the roots of *Ruta glaveolens* and synthesis of their analogs *Phytochemistry* 2689-2695 , 66
54. Kouassi Maximin Ahua , Jean-Robert Ioset , Adriana Ransijn , Jacques Mauel , Steven Mavi , Kurt Hostettmann (2004) Antileishmanial and antifungal acridone derivatives from the roots of *Thamnosma rhodesica* *Phytochemistry* , 963-968 , 65
55. Hubert Paulini , Reiner Waibel , Jutta Kiefer , Oskar Schimmer (1991) Gravacridondiolacetate, a new dihydrofuroacridone alkaloid from *Ruta graveolens* *Planta Med.* , 82-83 , 57
56. Inna Kuzovkina , Irina Al'terman , Bernd Schneider (2004) Specific accumulation and revised structures of acridone alkaloid glucosides in the tips of transformed roots of *Ruta glaveolens* *Phytochemistry* , 1095-1100 , 65
57. Jacques Puset , Jose Luis Lopez , Mary Pais , Mamdouh Al Neirabeyeh , Jean-Marie Veillon (1991) Isolation and 2D NMR studies of alkaloids from *Comptonella sessilifoliola* *Planta Med.* , 153-155 , 57

58. S.G.Jagadeesh , G.L.David Krupadanam , G.Srimannarayana (2000)Antifeedant activity of the constituents of *Evodia lunu-ankenda* Indian J.Chem. , 475-476 , 39B
59. Makoto Taniguchi , Yukio Satomura (1972)Structure and physiological activity of carbostyryl compounds Agr.Biol.Chem. , 2169-2175 , 36
60. Gary M.Coppola (1985) The chemistry of 2*H*-3,1-benzoxazine-2,4(1*H*)-dione (Isatoic Anhydride). 18. A short synthesis of swietenidin A J.Heterocyclic Chem. , 1087-1088 , 22
61. Ikeda T, Yaegashi T, Matsuzaki T, Yamazaki R, hashimoto S, Sawada S(2011)Synthesis of phenanthroindolizidine alkaloids and evaluation of their antitumor activities and toxicities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*21:5978-5981
62. Abe F, Iwase Y, Yamauchi T, Honda K, Hayashi N(1995)Phenanthroindolizidine Alkaloids From *Tylophora tanakae*. *Phytochemistry*39(3):695-699
63. Abe F, Hirokawa M, Yamauchi T, Honda K, Hayashi N, Ishi M, Imagawa S, Iwahana M(1998)Futher Investigation of Phenanthroindolizidine Alkaloids from *Tylophora tanakae*. *Chem Pharm Bull.* 46(5):767-769
64. Damu A.G., Kuo P.C., Shi L.S., Li C.Y., Kuoh C.S., Wu P.L., Wu T.S. (2005)Phenanthroindolizidine Alkaloids from the Stems of *Ficus septica*. *J. Nat. Prod.*68:1071-1075
65. Gellert E, Rudzats R, Craig J.C., Roy S.K., Woodard R.W.,(1978)The Absolute Cryptopleurine and Tylocrebrine.*Aust.J.Chem.*31:2095-7
66. Matsuda H, Murakami T, Kishi A, Yoshikawa M (2001) Structures of withanosides I, II, III, IV, V, VI, and VII, new withanolide glycosides, from the roots of Indian *Withania somnifera* Dunal. and inhibitory activity for tachyphylaxis to clonidine in isolated guinea-pig ileum. *Bioorg Med Chem* 9:1499-1507

67. Zhao J, Nakamura N, Hattori M, Kuboyama T, Tohda C, Komatsu K (2002) Withanolide derivatives from the roots of *Withania somnifera* and their neurite outgrowth activities. *Chem Pharm Bull* 50:760-765
68. Shingu K, Yahara S, Nohara T, Okabe H (1992) Three new withanolides, Physagulins A, B and D from *Physalis angulata* L. *Chem Pharm Bull* 40:2088-2091
69. Jayaprakasam B, Strasburg GA, Nair MG (2004) Potent lipid peroxidation inhibitors from *Withania somnifera* fruits 60:3109-3121
70. Zhang H, Samadi AK, Gallagher RJ, Araya JJ, Tong X, Day VW, Cohen MS, Kindscher K, Gollapudi R, Timmermann BN (2011) Cytotoxic withanolide constituents of *Physalis longifolia*. *J Nat Prod* 74:2532-2544
71. Anjaneyulu ASR, Rao DS (1997) A new withanolide from leaves of *Withania somnifera*. *Ind J Chem Sect B* 36:161-165
72. Kirson I, Glotter E, Abraham A, Lavie D (1970) Constituents of *Withania somnifera* dun-XI. The structure of three new withanolides. *Tetrahedron* 26:2209-2219
73. Glotter E, Abraham A, Gunzberg G, Kirson I (1977) Naturally occurring steroidal lactones with a 17 α -oriented side chain. Structure of withanolide E and related compounds. *J Chem Soc, Perkin Trans I* 4:341-346
74. Shingu K, Yahara S, Okabe H, Nohara T (1992) Three new withanolides, Physagulins E, F and G from *Physalis angulata* L. *Chem Pharm Bull* 40:2448-2451
75. Nagafuji S, Okabe H, Akahane H, Abe F (2004) Trypanocidal constituents in plants 4. Withanolides from the aerial parts of *Physalis angulata*. *Biol Pharm Bull* 27:193-197
76. Abe F, Nagafuji S, Okawa M, Kinjo J (2006) Trypanocidal constituents in plants 6. Minor withanolides from the aerial parts of *Physalis angulata*. *Chem Pharm Bull* 54:1226-1228

77. Shingu K, Yahara S, Nohara T (1994) Constituents of Solanaceous plants. 28. Five new ergostane-related compounds from *Nicandra physaloides*. *Chem Pharm Bull* 42:318-21
78. Shingu K, Fujii H, Mizuki K, Ueda I, Yahara S, Nohara T (1994) Ergostane glycosides from *Petunia hybrida*. *Phytochemistry* 36:1307-1314.
79. Zhu XH, Takagi M, Ikeda T, Mizuki K, Nohara T (2001) Withanolide-type steroids from *Solanum cilistum*. *Phytochemistry* 56:741-745
80. Zhu XH, Ando J, Takagi M, Ikeda T, Yoshimitsu A, Nohara T (2001) Four Novel Withanolide-Type Steroids from the Leaves of *Solanum cilistum*. *Chem Pharm Bull* 49:1440-1443

謝辞

本研究をまとめるにあたり、御指導および御高閲を賜り、また論文審査の主査を務めて頂きました金城順英教授、そして、副査を務めて頂いた機器分析学教室、藤岡稔大教授および大川雅史准教授に深謝致します。

本研究の遂行にあたり、御指導と御鞭撻を賜りました医学部腫瘍・血液・感染症内科学教室、田村和夫教授および石塚賢治講師に深謝致します。

本研究の端緒を賜りました実務薬剤学教室、緒方憲太郎講師に深謝致します。

本研究の遂行にあたり、御指導と御鞭撻を賜りました土橋良太助教に深謝致します。

本研究に関し、各種スペクトル測定して頂きました中央機器室、岩瀬由紀子助教および花園弘志氏に深謝致します。

本研究に御協力頂きました医学部腫瘍・血液・感染症内科学教室、勝屋弘雄氏、工並直子氏、野上留美子氏、吉村由香氏、牛嶋絵美子氏に心より感謝致します。

本研究に御協力頂きました初瀬貴祐学士、松田迪香学士、上川美緒学士、松田菜瑠美氏、池田瑞季氏をはじめとする教室諸氏に心より感謝致します。

最後に、終始温かく見守り励ましてくれた家族に心から感謝致します。

平成 25 年 9 月
中野 大輔