

—Reviews—

クロベ (*Thuja standishii* (Gord.) Carr.) 樹皮の含有成分に関する研究

西澤 学

Study of Components from the Stem Bark of *Thuja standishii* (Gord.) Carr.

Manabu NISHIZAWA

Research & Development Center, Fuso Pharmaceutical Industries, Ltd., 2-3-30, Morinomiya, Joto-ku, Osaka  
536-8523, Japan

(Received October 18, 2007; Accepted November 19, 2007)

As part of a series about effective utilization of unused resources, I examined the stem bark of the *Thuja standishii* (Gord.) Carr. (Cupressaceae), Japanese name: Kurobe. Eight new (**1-8**) and thirteen known (**9-21**) terpenoids were isolated from the stem bark of this tree, which were almost diterpenoids, and their structures were established by spectroscopic methods and chemical conversion. In particular, standishinal (**1**), 6 $\alpha$ ,12-dihydroxy-6(7 $\rightarrow$ 11)abeo-abieta-8,11,13-trien-7-al, was found to be a new irregular abietane-type diterpenoid. Upon evaluation of compounds from this stem bark and their analogues for inhibitory effects against Epstein-Barr virus early antigen (EBV-EA) activation induced by 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA), 15,16-bisnor-13-oxolabda-8(17),11*E*-dien-19-oic acid (**16**) was revealed to have the strongest inhibitory effect. Among these compounds, **16** and 15-oxolabda-8(17),11*E*,13*E*-trien-19-oic acid (**3**) were investigated for their inhibitory effects in a two stage mouse skin carcinogenesis test on mouse skin using 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and TPA. Compound **16** was found to exhibit excellent anti-tumor promoting activity in the *in vivo* carcinogenesis test. In addition, compound **16** was also found to exhibit anti-tumor initiating activity in the two-stage mouse skin carcinogenesis test using ultraviolet-B (UVB) and TPA. When compounds **1-21** were evaluated using a recombinant human aromatase and 5 $\alpha$ -reductase, compounds **1** and its diacetyl derivative (**1a**) had significant aromatase inhibitory activities and labda-8(17),13-dien-12*R*,15-olid-19-oic acid (**2**) had 5 $\alpha$ -reductase inhibitory activities.

**Key words**—*Thuja standishii* (Gord.) Carr.; cupressaceae; 6 $\alpha$ ,12-dihydroxy-6(7 $\rightarrow$ 11)abeo-abieta-8,11,13-trien-7-al; 15,16-bisnor-13-oxolabda-8(17),11*E*-dien-19-oic acid; diterpene; abietane; labdane; epstein-barr virus; two-stage mouse skin carcinogenesis test; aromatase inhibitory activity

## 1. はじめに

近年、癌を予防することが癌克服において非常に重要な課題と認識されるようになってきた。癌はイニシエーション、プロモーション、プログレッションの主要な3つの段階を経て発症するといわれており、イニシエーション及びプロモーション

のいずれかの段階を阻害することが出来れば癌の発症を防ぐことができると考えられ、多くの研究者により天然物からの発癌抑制物質が報告されている。また、近年の癌の化学療法、すなわち抗癌剤の研究開発はシグナル伝達、血管新生、転移、細胞周期などに関与する分子を標的とするものに移行してきている。

天然物由来のテルペン化合物は発癌プロモーション抑制活性を含め、さまざまな薬理活性について報告されており、ヒノキ科 (Cupressaceae) 植物及びクロベ属 (*Thuja*) にもテルペン化合物が含有されていることが報告されている。<sup>1,2)</sup> そこで我々はヒノキ科に属するクロベ (*Thuja standishii* (Gord.) Carr.) について樹皮に関する研究は報告されていないことから、未利用資源の有効利用のため、樹皮のクロロホルム抽出エキスについて成分研究を開始し、新規 6(7→11)abeo-abietane 骨格を有する standishinal (**1**), 6 種の new labdane 型ジテルペン (**2** ~ **7**), 新 nordrimane 型セスキテルペン (**8**) 及び構造既知のジテルペン (**9** ~ **21**) を単離し化学構造を解明した。

これら単離された化合物あるいは誘導体について、癌の化学予防剤のリード化合物を探索する目的で、*in vitro* Epstein-Barr virus 初期抗原 (EBV-EA) 誘導化抑制試験を一次スクリーニングとして行った。更に、強い活性を示した化合物に対して、*in vivo* による発癌イニシエーション及びプロモーションの抑制作用を検討するためにマウス皮膚二段階発癌抑制試験を行った。また、ホルモン依存性癌治療剤のスクリーニングとして、新規化合物 standishinal (**1**), labda-8(17),13-dien-12R,15-

olid-19-oic acid (**2**) 及び数種類の既知化合物、並びにそれらの誘導体について、*in vitro* ヒトアロマターゼ阻害活性試験及び *in vitro* ヒト 5 $\alpha$ -レダクターゼ阻害活性試験を行った。

本稿ではこれらの結果と考察について詳細を報告する。

## 2. クロベ樹皮の抽出と分離精製

1995 年に和歌山県橋本市において採集したクロベ (*Thuja standishii* (Gord.) Carr.) の樹皮 5.3 kg を CHCl<sub>3</sub>, 次いで MeOH で抽出した。CHCl<sub>3</sub> エキス (966.4 g) の約半量 (558.8 g) をシリカゲル 3 kg を用いたカラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub> CC) に付し、6 つの画分に分離し、各画分を SiO<sub>2</sub> CC, HPLC を含む octadecylsilane-bonded silica (ODS) カラムクロマトグラフィー, Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー, 及び分取薄層クロマトグラフィー (PTLC) により分離精製し、**1** から **8** の新規化合物及び **9** から **21** の既知化合物を単離した (Fig.1)。化合物 **5** 及び **6** は分離困難のため、N-(クロロメチル)フタルイミドによって対応するエステル体 (**5a** 及び **6a**) として単離した。

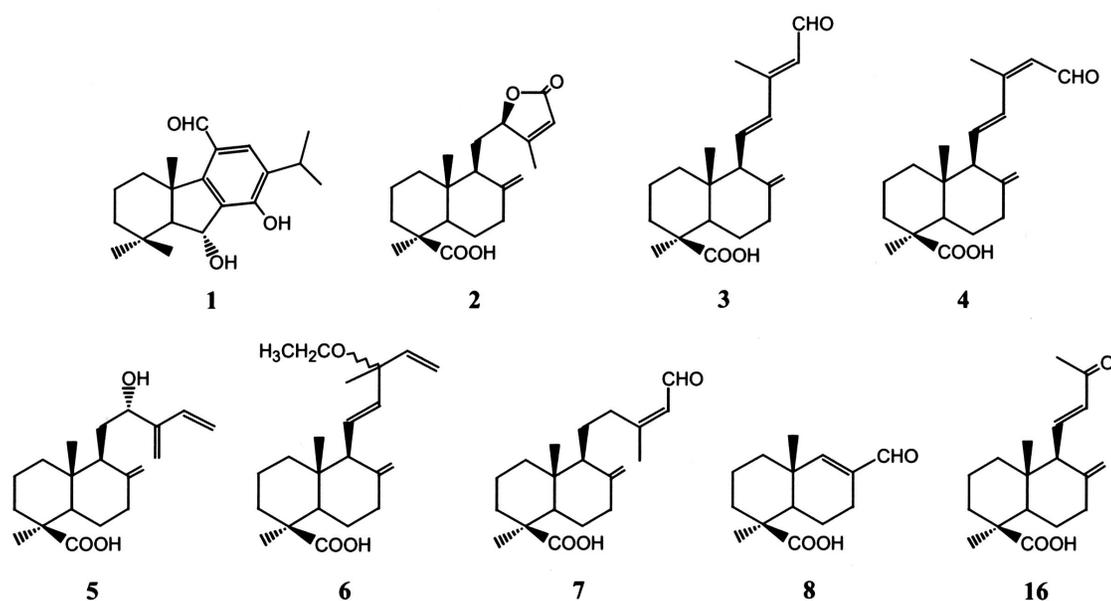


Fig. 1 The compounds isolated from the stem bark of *Thuja standishii* (Gord.) Carr.

### 3. クロベ樹皮の含有成分の構造

#### 3.1. 変型 abietane 型新規ジテルペン化合物

化合物 **1** は mp 164-165.5 °C,  $[\alpha]_D^{25} - 90.7^\circ$  ( $c$  0.28, CHCl<sub>3</sub>) を示す無色針状晶で, 分子式は, HREIMS における分子イオン値に基づいて C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub> ( $m/z$  316.2021 [M]<sup>+</sup>: calcd. for 316.2037) と決定した. 本品は UV 及び IR スペクトルにおいて  $\nu_{\max}$  3327 cm<sup>-1</sup> に水酸基,  $\lambda_{\max}$  288 nm (log  $\epsilon$  4.1) と  $\nu_{\max}$  1662 cm<sup>-1</sup> に共役アルデヒド基,  $\lambda_{\max}$  1609 と 1578 cm<sup>-1</sup> にベンゼン環の吸収を示した. DEPT データ及び <sup>13</sup>C-NMR スペクトルからメチル基 5 個, メチレン基 3 個, メチン基 2 個, 二級水酸基 1 個 [ $\delta_c$  75.5 (d)], アルデヒド基 1 個 [ $\delta_c$  189.9 (d)],  $sp^2$  メチン 1 個, 四級炭素 2 個, 及び  $sp^2$  四級炭素 5 個が推定された. <sup>1</sup>H-NMR スペクトルにおいては, 三級メチル基 3 個 [ $\delta_H$  1.17, 1.19, 1.26 (each s)], ベンゼン環に

結合したイソプロピル基 [ $\delta_H$  1.24, 1.25 (each 3H, d,  $J = 7.0$  Hz) and 3.27 (1H, septet,  $J = 7.0$  Hz)], 二級水酸基 [ $\delta_H$  5.40 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz)], 五置換ベンゼン環 [ $\delta_H$  7.69 (1H, s)] 及びアルデヒド基 [ $\delta_H$  10.21 (1H, s)] に基づくシグナルが観測された. また, **1** をアセチル化するとジアセチル体 (**1a**) が生成したことからフェノール性水酸基の存在が証明された. **1** の HMBC スペクトル (Fig.2) においては, H-6 と C-5, C-11, C-12, 並びに H-7 と C-8, C-9, C-14 との間に long range 相関が見られた. さらに, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY スペクトル (Fig.2) では, H-6 が H-5 のみと相関していることが確認された. また, H-5 及び H-6 の  $J$  値は共に 10.0 Hz であった. これらの結果から, **1** は, C-6 と C-12 に水酸基を持ち, C-8 にアルデヒド基が結合した新規の 8-formyl-6(7→11)abeo-abietane 骨格を有することが示唆された.

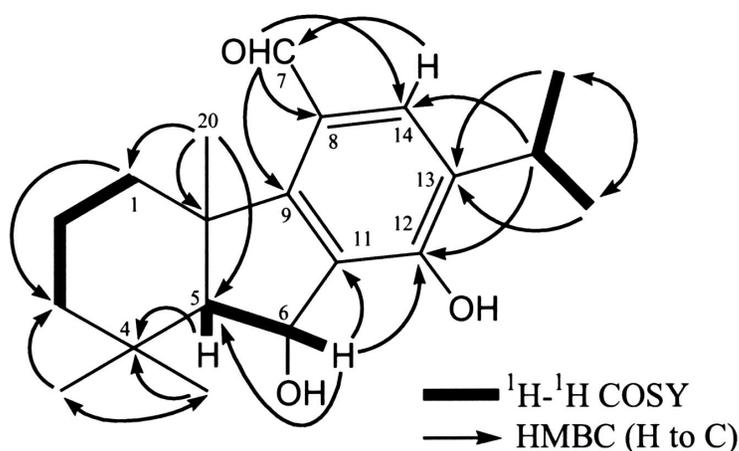


Fig. 2 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY and HMBC correlations of **1**

立体配置については NOESY スペクトル (Fig.3) において, H-5 $\alpha$  と H-1 $\alpha$ , H-3 $\alpha$ , Me-18 の間, H-6 $\beta$  と Me-19, Me-20 の間, H-7 と H-14, Me-20 の間で NOE 相関が見られたことから決定した. また, **1** の構造証明は X 線結晶解析により行った. Fig.4 にその ORTEP 図を示した. 以上の結果より, **1** の構造は推定通り 6 $\alpha$ ,12-dihydroxy-6(7 $\rightarrow$

11)*abeo*-abieta-8,11,13-trien-7-al と判明した.

**1** の絶対立体構造については, **1** を *p*-bromobenzoyl chloride と反応させて得られた, 6 位の水酸基が脱離した *p*-bromobenzoate (**1b**) の単結晶 X 線構造解析により検討した (Fig.4). その結果, **1** の絶対立体構造は Fig.4 に示すように決定し, 化合物 **1** を standishinal と命名した.

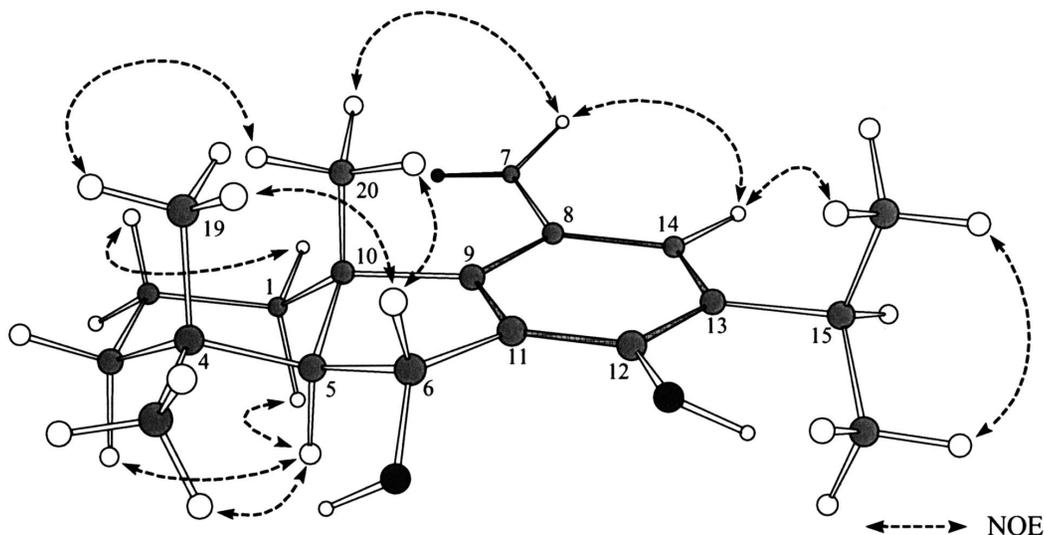
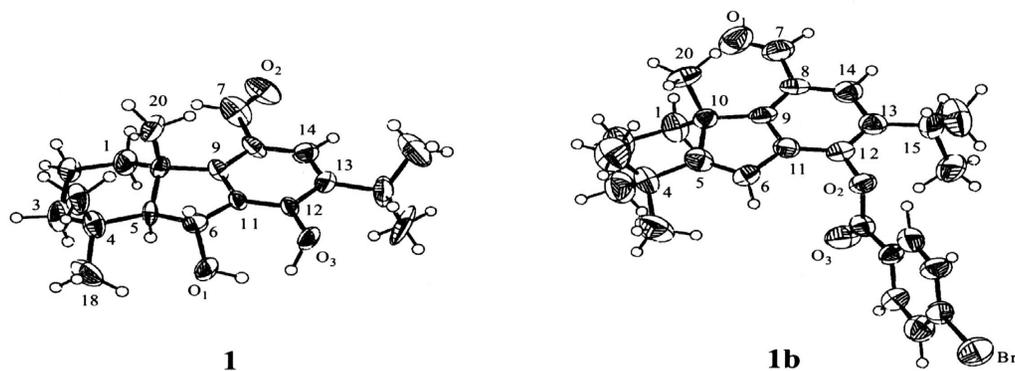


Fig. 3 NOESY correlations of **1**



**Crystal Data of **1****

Crystal system : orthorhombic  
 Formula : C 20.0, H 28.0, O 3.0  
*Mr* : 481.430  
 Space group :  $P2_12_12_1$   
 Cell dimension :  $a$  (Å) 9.684 (3)  
                    $b$  (Å) 23.019 (11)  
                    $c$  (Å) 8.073 (3)  
*R*-Value : 0.128 for 1117 reflection

**Crystal Data of **1b****

Crystal system : orthorhombic  
 Formula : C 27.0, H 29.0, O 3.0, Br 1.0  
*Mr* : 481.430  
 Space group :  $P2_12_12_1$   
 Cell dimension :  $a$  (Å) 14.132 (3)  
                    $b$  (Å) 25.144 (9)  
                    $c$  (Å) 6.660 (3)  
*R*-Value : 0.0825 for 2311 reflection

Fig. 4 ORTEP drawing of **1** and **1b**

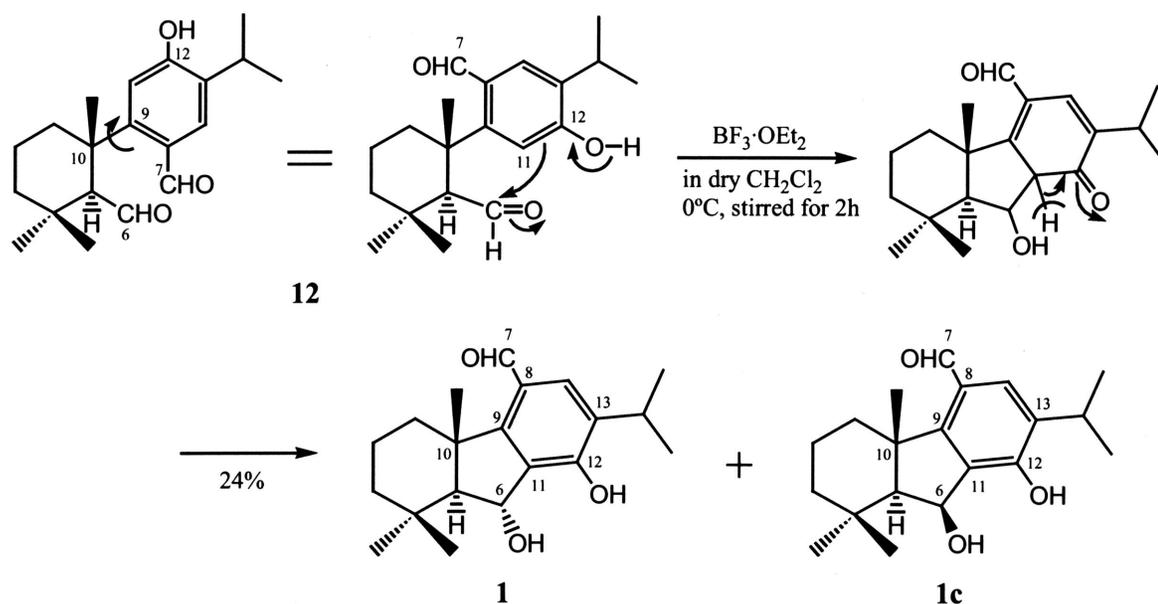


Fig. 5 Possible biosynthetic pathway of **1** from **12**

次に、**1**の生合成経路について考察を行った。**1**はクロベ樹皮より単離された既知化合物 12-hydroxy-6,7-secoabieta-8,11,13-triene-6,7-dial (**12**)のC-11の二重結合がC-6のアルデヒド基を攻撃することによって生合成されると考えられた。そこで、**12**を無水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中0℃でBF<sub>3</sub>・OEt<sub>2</sub>を用いて処理し、**12**から**1**への変換を試みたところ、**1**とその6β-epimer (**1c**)が6:4の割合で生成した (Fig.5)。この化学的相関関係から、植物における**12**から**1**への可能な生合成経路が推定された。<sup>3)</sup>

### 3.2. その他の新規化合物の構造決定

化合物**2**は各種スペクトルデータと加水分解による化学変換等により、12位と15位の間でラクトン環を形成している labda-8(17),13-dien-12*R*,15-olid-19-oic acid と決定した。<sup>4)</sup> 12位の絶対配置についてはCDスペクトルによりα,β-不飽和-γ-ラクトン環に基づく負のコットン効果曲線を示したことから*R*配置と判明した。<sup>5)</sup> 化合物**3**, **4**において両者は類似のスペクトルデータを示したが、

ビニルメチル基及び*trans*-二置換二重結合に基づくケミカルシフト値において特に差が見られたことから、互いに13位に関して幾何異性体であることが推定され、**3**を15-oxolabda-8(17),11*E*,13*E*-trien-19-oic acid、**4**を15-oxolabda-8(17),11*E*,13*Z*-trien-19-oic acid と決定した。<sup>6)</sup> 化合物**5**は分離精製が困難であったため、N-(クロロメチル)フタルイミドと反応させ、そのN-メチルフタルイミド(NMP)エステル体(**5a**)として単離した。<sup>4,7)</sup> 絶対立体構造は*trans*-communic acid (**15**)からの誘導によりを決定した。<sup>8)</sup> また12位の絶対配置については改良 Mosher 法により確定し、(12*S*)-hydroxyabda-8(17),13(16),14-trien-19-oic acid と決定した。化合物**6**は**5**と同様にNMPエステル体(**6a**)として単離して、各種スペクトルデータから相対立体構造を13-ethoxyabda-8(17),11*E*,14-trien-19-oic acid と決定した。<sup>4)</sup> 化合物**7**及び**8**については、各種スペクトルデータからそれぞれの相対立体構造を15-oxolabda-8(17),13*Z*-dien-19-oic acid 及び12-oxo-11-nordrim-8-en-14-oic acid と決定した。<sup>6)</sup>

#### 4. 発癌プロモーション及び発癌イニシエーション抑制試験

クロベ樹皮から単離された既知及び新規化合物、並びにそれらの誘導体を含めた 32 種について、発癌抑制作用を持つ化合物を探索する目的で、*in vitro* Epstein-Barr virus 初期抗原 (EBV-EA) 誘導化抑制試験<sup>10)</sup>を一次スクリーニングとして行った。このうち主だった 6 種の化合物の結果を Table 1 に示した。その中で 15,16-bisnor-13-oxolabda-8(17),11*E*-dien-19-oic acid (**16**) は非常に強い抑制作用を持つ事が認められ、また 15-oxolabda-8(17),11*E*,13*E*-trien-19-oic acid (**3**) は低濃度で比較的強い抑制作用を示した。両化合物

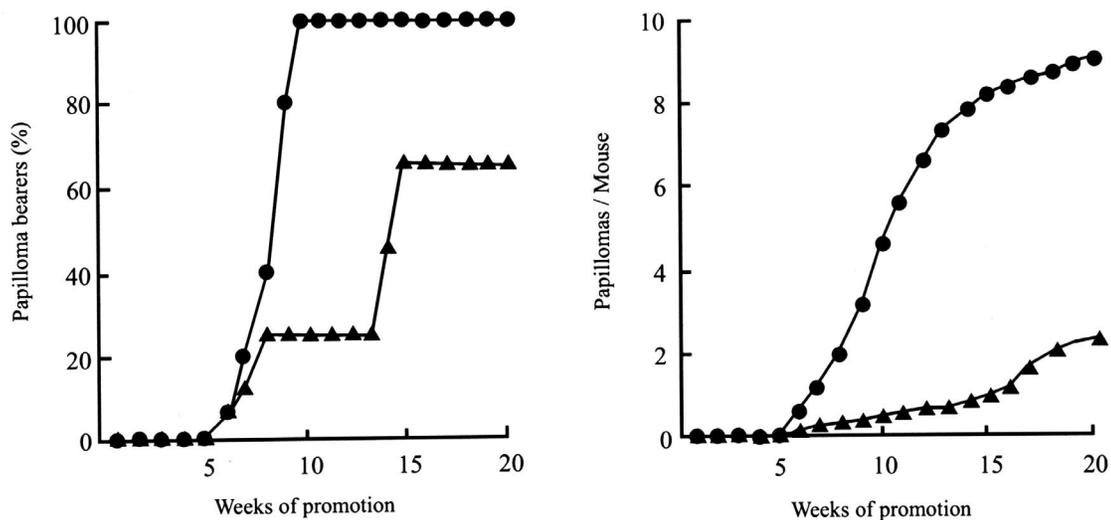
は収量も多いことから、イニシエーターとして 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)、プロモーターとして 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) を用いる *in vivo* マウス皮膚二段階発癌プロモーション抑制試験を行った。その結果、**3** 及び **16** は共に強く腫瘍の発生を抑制した (Fig.6 and Fig.7)。この結果は、すでに発癌プロモーション抑制作用が報告されている glycyrrhetic acid<sup>11)</sup> やジテルペン化合物である *ent*-3 $\beta$ -hydroxy-15-beyeren-2-one<sup>12)</sup> の文献データと比較して有意な抑制活性を示した。特に **16** は非常に強い発癌プロモーター抑制物質であることが明らかとなった。<sup>13)</sup>

更に **16** について、中波長紫外線 (ultraviolet-B: UVB) をイニシエーター、TPA をプロモーターと

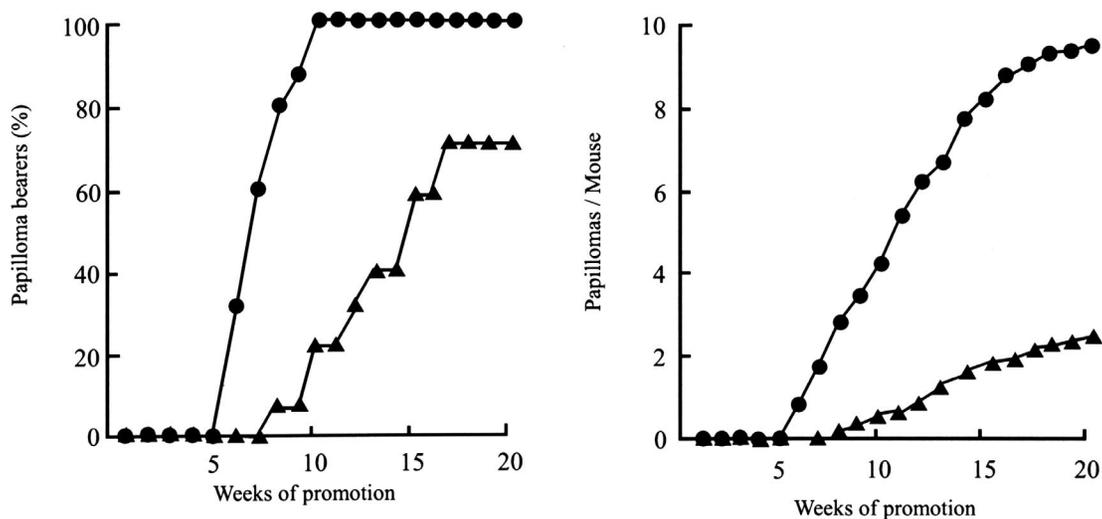
Table 1 Percentage of EBV-EA induction in the presence of compounds isolated from *Thuja standishii* (Gord.) Carr. with respect to positive control (100%)

Compounds	Concentration (mol ratio / TPA) <sup>a</sup>			
	1000	500	100	10
<b>1</b>	14.1 (60)	68.0	83.3	100
<b>2</b>	19.4 (60)	64.8	84.1	100
<b>3</b>	0 (60)	45.1	72.0	88.3
<b>4</b>	0 (60)	42.0	69.3	83.0
<b>8</b>	2.5 (60)	27.7	71.9	94.7
<b>16</b>	0 (60)	19.3	65.8	85.9
$\beta$ -Carotene	9 (90)	34	82	100

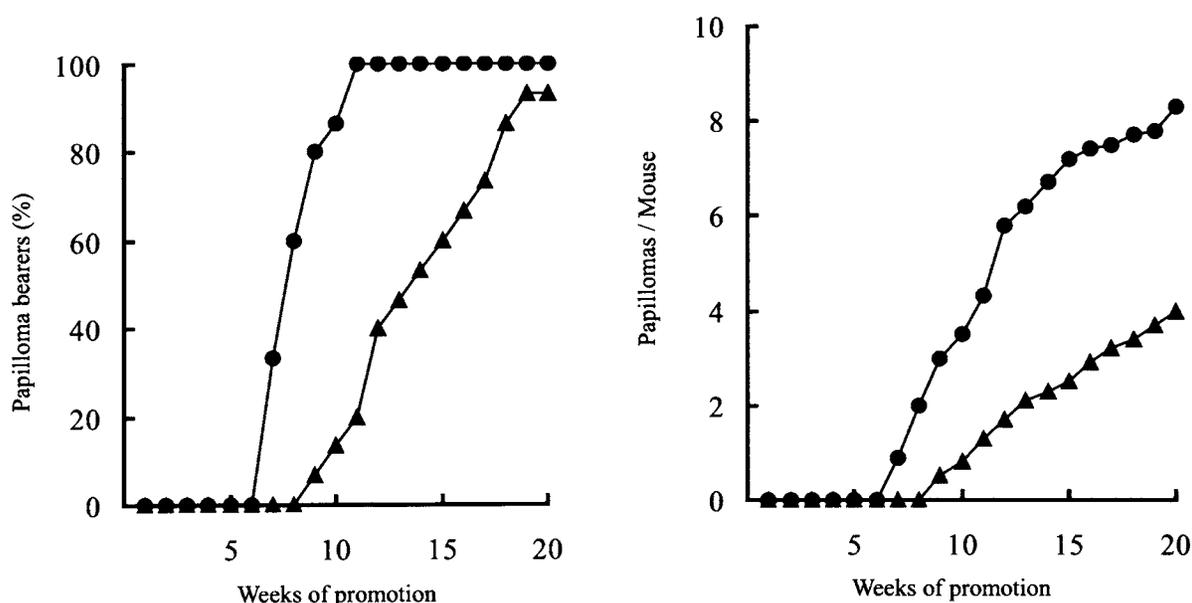
<sup>a</sup> TPA concentration was 20 ng / ml (32 pmol / ml). <sup>b</sup> Values represent relative percentages to the positive control value (100 %). <sup>c</sup> Values in parentheses are viability percentages of Raji cells.



**Fig. 6** Inhibition of TPA-induced tumor promotion by multiple application of 16. All mice were initiated with DMBA (390 nmol) and promoted with 1.7 nmol of TPA, given twice weekly starting 1 week after initiation. Percentage of mice bearing papillomas and average number of papillomas per mouse. ●, Control (TPA alone); ▲, TPA + 85 nmol of 16. Papillomas per mouse of 16 treatment were significantly different from the positive control at 20 weeks after promotion,  $p < 0.005$ .



**Fig. 7** Inhibition of TPA-induced tumor promotion by multiple application of 3. All mice were initiated with DMBA (390 nmol) and promoted with 1.7 nmol of TPA, given twice weekly starting 1 week after initiation. Percentage of mice bearing papillomas and average number of papillomas per mouse. ●, Control (TPA alone); ▲, TPA + 85 nmol of 3. Papillomas per mouse of 3 treatment were significantly different from the positive control at 20 weeks after promotion,  $p < 0.005$ .



**Fig. 8** Inhibition of UVB-induced tumor initiation by multiple application of **16**. All mice were initiated with UVB ( $3430 \text{ J/m}^2$ ) and promoted with  $1.7 \text{ nmol}$  of TPA, given twice a week, starting 1 week after initiation. Percentage of mice bearing papillomas and average number of papillomas per mouse. ●, Control (TPA alone); ▲, TPA +  $85 \text{ nmol}$  of **16**. Papillomas per mouse of **16** treatment were significantly different from the positive control at 20 weeks after promotion,  $p < 0.05$ .

して用いて *in vivo* マウス皮膚二段階発癌イニシエーション抑制試験を行った。この試験は日常生活での癌予防を考慮して飲水による経口投与とした。その結果、**16** は陽性コントロール群と比較して有意な発癌イニシエーション抑制効果が見られた (Fig. 8)<sup>14)</sup>。

## 5. アロマトラーゼ阻害活性試験及び $5\alpha$ -レダクターゼ阻害活性試験

クロベ樹皮から単離された既知及び新規化合物、並びにそれらの誘導体を含めた 12 種について、ホルモン依存性癌治療剤のスクリーニングとして、遺伝子組換え体を用いた *in vitro* ヒトアロマトラーゼ阻害活性試験及びヒト  $5\alpha$ -レダクターゼ阻害活性試験を行った。その結果、陽性対照物

質 4-hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione (4-HOA) と比較して強い作用ではなかったが、新規ジテルペンである standishinal (**1**) 及びそのジアセチルペンである standishinal (**1a**) はアロマトラーゼ阻害活性を示した<sup>15)</sup>。また、labda-8(17),13-dien-12*R*,15-olid-19-oic acid (**2**) は緩和な  $5\alpha$ -レダクターゼ阻害活性を示した (Table 2)。そこで、**1** の構造活性相関について検討したところ、A/B 環が *cis* 配置を示す非天然型の化合物群が天然型よりも強い抑制活性を示すことが明らかとなった。<sup>16)</sup>

## 6. 結語

クロベ樹皮のクロロホルム抽出エキスは含有成分として、そのほとんどがジテルペン化合物であった。単離された新規化合物の中で

Table 2 Aromatase<sup>a</sup> and 5 $\alpha$ -reductase<sup>b</sup> inhibitory activities of compounds

Compounds	Concentration ( $\mu$ M)	Aromatase inhibition (%)	5 $\alpha$ -Reductase inhibition (%)
<b>1</b>	1.0	50.2	0
<b>1a</b>	1.0	38.6	23.7
<b>2</b>	1.0	7.2	65.5
<b>2-Me<sup>c</sup></b>	1.0	0	32.6
<b>15</b>	1.0	0	3.5
<b>16</b>	1.0	0	23.4
<b>4-HOA<sup>d</sup></b>	0.6	63.7	-
<b>Finasteride</b>	1.0	-	100.0

<sup>a</sup> Substrate : 0.06  $\mu$ M androst-4-ene-3,17-dione

<sup>b</sup> Substrate : 0.1  $\mu$ M testosterone

<sup>c</sup> Methyl labda-8(17),13-dien-12R,15-olid-19-oic acid

<sup>d</sup> 4-hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione (formestane)

standishinal (**1**) は通常の abietane 骨格と異なり、6-5-6 員環を形成した新規な骨格であった。今回単離された化合物は強い発癌プロモーション抑制活性を有するものが多く見られた。特に化合物 **16** は *in vivo* において非常に強い発癌プロモーション抑制活性を示し、UV 照射による発癌イニシエーション抑制活性も有していた。ジテルペン化合物である **16** は分子量も小さく、合成も可能なため<sup>17)</sup> 発癌予防剤のリード化合物としての可能性が示唆された。

一方、弱いながら、standishinal (**1**) 及びそのジアセチル体 (**1a**) はアロマターゼ阻害活性が認められ、新規化合物 **2** は 5 $\alpha$ -レダクターゼ阻害活性が認められた。**1** は非天然型の化合物群において活性が強くなったことから、構造変換によって更なる活性の強化が期待できる。

**謝辞** 本研究に際して終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜りました大阪薬科大学 田中麗子 教授に衷心より感謝致します。御懇篤な御指導と

御鞭撻を賜りました大阪薬科大学 松永春洋 名誉教授に心から感謝の意を申し上げます。更に、有益な御助言と御指導を賜りました故 吉武彬 博士に謹んで御礼申し上げます。 *In vitro* EBV-EA 誘導化抑制試験、*in vivo* 発癌抑制試験を実施して頂きました京都府立医科大学 西野輔翼 教授並びに徳田春邦 助手に謹んで御礼申し上げます。また、standishinal (**1**)、及び 15,16-bisnor-13-oxolabda-8(17),11*E*-dien-19-oic acid (**16**) の合成を実施して頂きました京都薬科大学 野出學 教授に厚く御礼申し上げます。更に、*in vitro* ヒトアロマターゼ阻害活性試験を実施して頂きました大日本住友製薬株式会社ゲノム科学研究所 山田徹 博士並びに *in vitro* ヒト 5 $\alpha$ -レダクターゼ阻害活性試験を実施して頂きました住友化学株式会社生物環境科学研究所 松永治之 博士に深謝致します。本研究を遂行するにあたり、終始御指導頂きました大阪薬科大学 和田俊一 講師、日本新薬株式会社創薬研究所 大津博則 博士に深謝致します。また、X 線結晶構造解析を行って頂きました大阪薬科大学 大石宏文

講師, NMR スペクトルを測定して頂きました大阪薬科大学 箕浦克彦 助教, MS スペクトルを測定して頂きました大阪薬科大学 藤嶽美穂代 助手に深謝致します。更に, 実験に御協力頂きました大阪薬科大学医薬品化学研究室出身の方々に深く感謝致します。

なお, 本研究の大部分は本学大学院在籍中に実施したものであり, 一部はその後に追加して行ったものであります。

### REFERENCES

- 1) Nakatsuka T., Hirose Y., *J. Japan Forestry Soc.*, **37**, 496-498 (1955).
- 2) Jolad S. D., Hoffmann J. J., Schram K. H., Cole J. R., Bates R. B., Tempesta M. S., *J. Nat. Prod.*, **47**, 983-987 (1984).
- 3) Ohtsu H., Iwamoto M., Ohishi H., Matsunaga S., Tanaka R., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 6419-6422 (1999).
- 4) Iwamoto M., Ohtsu H., Tokuda H., Nishino H., Matsunaga S., Tanaka R., *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 1911-1921 (2001); Corrigendum, *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 1572 (2007).
- 5) Edward J. A., Sundeen J., Salmond W., Iwadare T., Fried J. M., *Tetrahedron Lett.*, **9**, 791 (1972).
- 6) Iwamoto M., Ohtsu H., Matsunaga S., Tanaka R., *J. Nat. Prod.*, **63**, 1381-1383 (2000); Additions and Corrections, *J. Nat. Prod.*, **69**, 1666 (2006).
- 7) Lindner W., Santi W., *J. Chromatogr.*, **176**, 55 (1979).
- 8) Ohtani I., Kusumi T., Kashman Y., Kakisawa H., *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4092 (1991).
- 9) Iwamoto M., Minami T., Tokuda H., Ohtsu H., Tanaka R., *Planta Med.*, **69**, 69-72 (2003).
- 10) Tokuda H., Ohigashi H., Koshimizu K., Ito Y., *Cancer Lett.*, **33**, 279-285 (1986).
- 11) Nishino H., Nishino A., Takayasu J., Hasegawa T., Iwashima A., Hirabayashi K., Iwata S., Shibata S., *Cancer Res.*, **48**, 5210-5215 (1988).
- 12) Konishi T., Takasaki M., Tokuda H., Kiyosawa S., Konoshima T., *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 993-996 (1998)
- 13) Tanaka R., Ohtsu H., Iwamoto M., Minami T., Tokuda H., Nishino H., Matsunaga S., Yoshitake A., *Cancer Lett.*, **161**, 165-170 (2000).
- 14) Nishizawa M., Ohtsu H., Tanaka R., Tokuda H., Katoh T., Takeo M., Node M., *Chem. Biodiv.*, **4**, 1003-1007 (2007).
- 15) Minami T., Iwamoto M., Ohtsu H., Ohishi H., Tanaka R., Yoshitake A., *Planta Med.*, **68**, 742-745 (2002).
- 16) Katoh T., Akagi T., Noguchi C., Kajimoto T., Node M., Tanaka R., Nishizawa (née Iwamoto) M., Ohtsu H., Suzuki N., Saito K., *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 2736-2748 (2007).
- 17) Katoh T., Tanaka R., Takeo M., Nishide K., Node M., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 1625-1629 (2002).