薬 学 雑 誌
YAKUGAKU ZASSHI
103 (11) 1109-1128 (1983)

マイコトキシンの化学—細胞毒性を指標とした検索から出発して

名取信策

明治薬科大学, 〒188 東京都田無市谷戸町 1-22-1

Chemical Surveys on Mycotoxins Using Cytotoxicity Testing with Special Reference to Cytochalasins

SHINSAKU NATORI

Meiji College of Pharmacy, 1-22-1, Yato-cho, Tanashi-shi,
Tokyo, 188, Japan

This review describes our surveys on mycotoxins using cytotoxicity testing, chemical studies on new mycotoxins such as terphenyllin, xanthoascins, chaetochromin, cochliodinol isomers, and chaetoglobosins A—G and J, and their toxic effects. Since chaetoglobosins belong to the new type of cytochalasins, present status of chemical and cell biological studies on cytochalasins was mentioned. Our recent observations on the effects of cytochalasins at molecular and cellular levels were also described.

Keywords—mycotoxin; cytotoxicity; xanthoascins; chaetochromin; chaetoglobosins A—G, J; cytochalasin; HeLa cell; microfilament; actin; toxicology

はじめに

天然物化学の現在の動向の1つは、生物活性を指向するものである。ヒトに作用する物質の科学である薬学領域の天然物質の研究の場合の問題点は、ヒトに対する作用を直接調べることが困難である以上、全動物から器官、組織、細胞あるいは酵素などのどの系を使って生物活性を検べながら仕事を進めてゆくことが適切かということである。とくに天然物質の分離の指標として使う方法となると、分離技術の精密化に対応して、微量の試料で多数の検体を迅速に処理しうる方法が望ましいことになる。

私達は過去十数年にわたって変異・発癌物質、マイコトキシンなどの天然有害物質の研究を行ってきたが、その間で一番労力を使ってきたワラビの発癌物質の研究の場合は、物質が不安定なことも考えられるが、適当なモニターの方法が見つからないため、現在までその本体の究明に成功していない。¹⁾ その間偶然 quercetin, kaempferol などの flavonol が Ames 法で強い変異原性を示すことが判ったが、²⁾ 結局発癌性はないことになり、改めて変異原性と発癌性の関係に問題提起する³⁾ と同時に、生物活性の指標の難しさを痛感させられた。

今回の主題であるマイコトキシンの研究の場合は、各分野の方々との共同研究のおかげで、いくつかの新マイコトキシン、特に actin に作用する物質として注目されている cytochalasin に属する化合物などを見つけることができた。

I. 細胞毒性を指標としたマイコトキシンの検索

マイコトキシン (mycotoxin) とは、哺乳動物、ヒトや家畜に害を与える真菌、主としてカビの2次代謝産物である。キノコ毒や麦角アルカロイドも古くから知られている菌類の毒だが、マイコトキシンが食品衛生上の問題として広く注目されるようになったのは aflatoxin の強力な発癌性が明らかにされてからで、世界の多くの研究者によって多方面から研究が行われている。Chart 1 に現在までに知られている主な発癌性マイコトキシンを示した。

菌類は種類も多いが、株によっても代謝物が異なり、さらに同一の株でも環境(培養条件)の影響を著しくうけるので、各種の生物活性を示す代謝物の産生の可能性は無限ともいえる。一方、食糧・飼料の保存状態が不完全な地域では、マイコトキシンがヒトや家畜の健康に及ぼす影響も極めて大きい。

本総説は昭和 58 年度日本薬学会特別講演者に薬誌編集委員会より執筆を依頼したものである。

Chart 1. Carcinogenic Mycotoxins

私達のマイコトキシンの研究は、1968年、斎藤教授（東大医科研）、倉田博士（国立衛試）らによる総合的なマイコトキシンの検索の化学面を分担するようになって始ったものである。この研究では、まず疫学・病理学・菌学のグループによって日本国内6市町村において固有の食品の調査・収集と汚染カビの実態調査が行われ、その間にえられた *Penicillium* 124株、*Aspergillus* 101株、その他180株の培養菌体抽出物・培養汙液についてマウスに対する急性毒性と病理検査、HeLa細胞に対する障害性が検索された。⁴⁾ その結果と既知のマイコトキシ生産の知見をにらみ合せて亜急性・慢性毒性を検討する一方、我々が協力を開始して、薄層クロマトグラフィー (TLC) と細胞毒性試験を組み合わせた検索が行われた。^{5,6)}

細胞毒性の試験は、天然物質の場合、制癌剤のスクリーニングにも用いられてきたものだが、今回の試験法は共同研究者の梅田博士（現横浜市大医）によって開発されたもので、HeLa細胞に対する障害濃度とともに、細胞質・核・核小体の変化、分裂像、多核細胞の形成などの形態変化を、既知の細胞毒によるそれらと比較して、蛋白質・DNA・RNA合成阻害剤、purine同族体、アルキル化剤、微小管・アクチン繊維作用物質などのタイプに分類するもので (Table I)、これらの特徴は分離に際しても指標として利用しうるものである。⁴⁻⁶⁾

最近、発癌物質の検索には Ames法に代表される変異原性の試験が繁用されているが、われわれの研究では、初期のスクリーニングの段階ではこれらの方法が一般化していなかったため採用しえなかったが、分離同定された化合物については後から一通りのテストを行っている。⁷⁾

さて、細胞毒性の試験と組み合わせて繁用された分離法が TLCである。現在では精密な分離法としては液体クロマトグラフィーに優位を譲ったとしても、本体が不明な段階で適当にフラクションを分ける簡便迅速な方法として、TLCの役割は極めて大きい。従来知られているマイコトキシン（一般にカビの2次代謝産物の大部分）が、培養菌体・汙液あるいは培養穀類から非極性溶剤で抽出される化合物であり、極性の大きい水溶性化合物や配糖

TABLE I. Representative Drug-induced Morphological Changes of HeLa Cells (HE Stain) Classified According to Mechanism of Action

Symbol	Class of drug	Cytoplasm	Nucleus	Nucleolus	Mitotic cells	Others
D	Inhibitor of DNA synthesis (FUDR, araC, hydroxyurea)	Enlarged, polygonal	Enlarged, fine granular chromatin	Enlarged, irregular contour	Scanty, abnormal	
A	Alkylating agent (mitomycin C, nitromine)	Enlarged and small	Enlarged and small, fine granular chromatin	Enlarged, irregular contour	Slightly increased, abnormal	Poly-nuclear cells
R	Inhibitor of RNA synthesis (actinomycin D, proflavine)	Enlarged, spindle-shaped, faintly stained	Enlarged, spotty chromatin (fine nucleoplasm)	Very small, round	Not decreased	
S	Purine analog (8-azaguanine, 6-mercaptopurine)	Small, spindle-shaped	Small, clear nucleoplasm	Small, round	Not decreased, atrophic	Poly-nuclear cell
P	Inhibitor of protein synthesis (cycloheximide, fusarenon-X)	Small, spindle-shaped, scanty	Small, thick nuclear membrane	Enlarged, irregular or round shape	Decreased, atrophic	
C	Spindle-fiber poison (colcemid, vinblastine)	Polymorphic	Enlarged and small		Increased, clumped chromosomes	Poly-nuclear cells
M	Inhibitor of cytokinesis (cytochalasin B)		Multiple nuclei of equal size		Multipolar division	Poly-nuclear cells
V	Cytoplasmic vacuolation	Large vacuoles (not stained by fat staining)

Fig. 1. Thin-Layer Chromatogram and Cytotoxicity Data for the Extract of *P. brevicompactum*

The degree of cytotoxicity is estimated on a scale ranging from 0 (no cellular damage) through 4 (complete cytolysis).

体などが高等植物と比べると少ないことから、クロロホルム (またはジクロロメタン) あるいは酢酸エチルで抽出したエキスをそのまま TLC にかける、そのフラクションを適当に分けて細胞毒性をしらべ、その結果から活性物質の分離を行う方法が採用された。⁵⁾ この方法によって *R* 型の細胞毒性物質として、*Penicillium brevicompactum* の培養液の酢酸エチルエキスのフラクション 6 から mycophenolic acid を分離同定した場合の例を、Fig. 1 に示す。⁶⁾

II. マイコトキシンの同定・構造と作用

このような方法で検出されたものについては、必要に応じて大量培養を行い、シリカゲルを中心としたクロマトグラフィーによる分離などを行って単離を試みる一方、動物実験の結果と従来の報告などを比較して、それらのカビの毒性の本体の究明を行った。単離された化合物については、各種の物理定数の測定を行い、既知物質については標品との比較を行って同定した。Table II にその結果を示したが、^{b)} 印をつけた新化合物については後で述べる。Chart 2 にはそのうちマイコトキシンとして問題のあるものの構造を示したが、発癌性が知られている penicillic acid がいくつかの菌によって産生されること、^{5,9)} 腎毒性を示しその後発癌性も明らかになった ochratoxin A 産生菌が我が国の食品汚染菌として存在すること、⁹⁾ 肝毒性を示す rubratoxin B の新しい生産

TABLE II. Fungal Source and Metabolites

Species	Metabolites
<i>Alternaria</i> sp. ⁵⁾	Alternariol, ^{a)} alternariol methyl ether ^{a)}
<i>Aspergillus amstelodami</i> ⁵⁾	Flavoglaucin, echinulin
<i>A. candidus</i> ⁶⁾	Terphenyllin, ^{a, b)} deoxyterphenyllin, ^{a, b)} xanthoascins ^{a, b)}
<i>A. clavatus</i> ⁵⁾	Patulin ^{a)}
<i>A. ochraceus</i> ⁹⁾	Penicillic acid, ^{a)} ochratoxin A ^{a)}
<i>A. ostianus</i> ⁵⁾	Mellein, penicillic acid ^{a)}
<i>A. sulphureus</i> ⁵⁾	Penicillic acid ^{a)}
<i>Chaetomium globosum</i> ^{5,10,11)}	Chaetoglobosin A—G, J, ^{a, b)} flavipin
<i>C. cochliodes</i> ⁵⁾	Chaetoglobosin C, ^{a)} emodin, chrysophanol
<i>Epicoccum nigrum</i> ⁵⁾	6-Methylsalicylic acid
<i>Penicillium brevicompactum</i> ⁵⁾	Mycophenolic acid ^{a)}
<i>P. charlesii</i> ¹²⁾	Parietin, flavoglaucin, tetrahydroauroglaucin
<i>P. cyclopium</i> ⁵⁾	Puberulonic acid, ^{a)} erythritol
<i>P. martensii</i> ⁵⁾	Penicillic acid ^{a)}
<i>P. meleagrinum</i> ⁵⁾	Mycophenolic acid ^{a)}
<i>P. oxalicum</i> ¹³⁾	Secalonic acid D ^{a)}
<i>P. paraherquetii</i> ⁵⁾	Penicillic acid ^{a)}
<i>P. purpurogenum</i> ¹⁴⁾	Rubratoxin B ^{a)}
<i>Phoma</i> sp. ¹⁵⁾	6-Methylsalicylic acid, cynodontin, a chromanone

a) Compounds are toxic principles and b) are new compounds.

Chart 2. Some Mycotoxins from *Penicillium* and *Aspergillus*

TABLE III. *Chaetomium* and Allied Species and Metabolites¹⁶⁾

Species	Metabolites
<i>Chaetomium amygdalisporum</i> ²³⁾	Neocochliodinol, ^{a, b)} mollicellin G ^{a)}
<i>C. caprinum</i>	Chaetochromin ^{a)}
<i>C. elatum</i>	Cochliodinol ^{a)}
<i>C. gracile</i>	Chaetochromin ^{a)}
<i>C. mollipilium</i>	Chaetoglobosin A—D ^{a)}
<i>C. murorum</i> ²³⁾	Isocochliodinol ^{a, b)}
<i>C. rectum</i>	Chaetoglobosin A—E ^{a)}
<i>C. subaffine</i>	Chaetoglobosin A—E ^{a)}
<i>C. subglobosum</i>	Chetomin ^{a)}
<i>C. tetrasporum</i>	Chaetochromin ^{a)}
<i>C. thielavioides</i> (<i>C. virescens</i>) ²⁰⁾	Chaetocin, ^{a)} sterigmatocystin, ^{a)} <i>O</i> -methylsterigmatocystin, ^{a)} eugenitin, chaetochromin ^{a, b)}
<i>C. udagawae</i>	Sterigmatocystin ^{a)}
<i>Farrowia</i> sp.	Sterigmatocystin ^{a)}
<i>C. abuense</i> ¹³⁾	Cochliodinol ^{a)}
<i>C. retardatum</i> ¹³⁾	11 α ,11' α -Dihydroxychaetocin ^{a)}
<i>C. tenuissimum</i> ¹³⁾	Chetomin ^{a)}

Chart 3. Mycotoxins from *Chaetomium*

菌¹⁴⁾などを明らかにした。これらの化合物はさらに毒性や分析の研究の試料として利用された。

Table II の化合物のうち chaetoglobosins が後述するように細胞生物学の分野で注目されている cytochalasin の仲間であることが判ったので、改めて *Chaetomium* 属の菌約 120 株についても培養米を用いて同様のスクリーニングを行った。その結果を Table III に示したが、chaetoglobosins の産生は *Chaetomium globosum* group の菌に限られること、発癌性マイコトキシン sterigmatocystin とその *O*-メチル化物を産生する菌があること、sporidesmin 型のマイコトキシン chaetocin, chetomin の新しい産生菌、変異原性が報告されている depsidone, mollicellin G の産生などが明らかになった (Chart 3).¹⁶⁾

この間にえられた新しいマイコトキシンの構造決定と作用は次の通りである。

Terphenyllin (1 : R=OH), Deoxyterphenyllin (1 : R=H) と Xanthoascins (2) *Aspergillus candidus* が R 型の細胞毒性物質をつくることはスクリーニングの段階で注目されたが,⁵⁾ 米培養のエキスを TLC にかけて細胞毒性を検べると, Fig. 2 に示すように 2 種のタイプの毒性物質が存在することが判った. これらを溶解度とシリカゲルクロマトによって分離し, R 型の細胞毒 terphenyllin (1 : R=OH) (Fig. 2 のフラクション 6 に相当) と微量のその deoxy 体 (1 : R=H), 分離後の動物実験で肝・心に障害性を示し, ウズラの産卵を抑制するなど興味あるマイコトキンであることが判った¹⁷⁾ xanthoascins (2) (Fig. 2 のフラクション 2 に相当) がえられた.

Terphenyllin (1 : R=OH), $C_{20}H_{18}O_5$, はその誘導体の 1H 核磁気共鳴スペクトル (1H -NMR) などから, 3 個の水酸基, 2 個のメトキシル基を持つフェノール性化合物で, アルカリ-過酸化水素酸化で *p*-オキシ安息香酸が, 脱メチル化後塩化第二鉄又はクロム酸酸化で紫外吸収スペクトル (UV) から *p*-terphenylquinone と考えられる benzoquinone 誘導体がえられることからその骨核も明らかになった. これを確かめるため, そのトリメチルエーテルを合成し, 最後に水酸基とメトキシル基の相互の関係は誘導体の 1H -NMR の比較によって決定し, 1 (R=OH) 式が確定した. 微量に共存する deoxyterphenyllin は, その分子式, スペクトルデータから, 1 (R=H) と推定された.⁸⁾

Xanthoascins (2), $C_{28}H_{20}O_2N_2$, は, その IR (ν_{max} 2150 cm^{-1}) と UV から xanthocillin に類似したイソニトリル基を持つ diphenylbutadiene 誘導体と推定された. 1H -NMR から予測された芳香環上の置換基は, クロム酸酸化によって *p*-オキシ安息香酸と 2,2-dimethylchromane-6-carboxylic acid がえられたことから確定され, イソニトリル基を確かめるため加水分解によってえられた化合物が formylamino 誘導体であることをスペクトルデータで明らかにした. 以上から xanthoascins は 2 式で示されることになった.⁸⁾

Xanthoascins は prostaglandin の生合成を阻害する.¹⁸⁾

Aspergillus candidus の代謝するこれらの phenolics がカビの代謝物としては珍しく acetogenin (polyketide) 型の化合物ではないことは注目されよう.

Fig. 2. Thin-Layer Chromatogram and Cytotoxicity Data for the Extract of *A. candidus*

Details of the scoring system for cytotoxicity are given in Fig. 1.

Chart 4. Structures of Mycotoxins from *A. candidus*

Chart 5. Structure Elucidation of Chaetochromin

本菌がマレーシアで集めた米の汚染菌として高率で出てくることが判ったので、これらの菌株の代謝物を検討したところ、すべての株が terphenyllin を作るが、xanthoascin を産生する株は限られていることが判明した。¹⁸⁾

Chaetochromin (3) *Chaetomium thielavioideum* (*C. virescens*¹⁸⁾) は予試験に際して強い細胞毒性から注目された菌であるが、¹⁸⁾ 培養米の抽出物の分離によって、細胞毒性の本体である chaetocin, 変異・発癌性を示す sterigmatocystin, *O*-methylsterigmatocystin (Chart 3) と共に細胞毒性を示すフェノール性物質として chaetochromin が分離された。²⁰⁾ この化合物はその他の *Chaetomium* 属の菌によっても代謝されることがその後明らかにされた (Table III).¹⁸⁾ このマイコトキシンは、肝・リンパ系・骨髄の造血細胞などに障害性を示し、また催奇形性も示すもので、²¹⁾ 目下、さらに病理学的検討も継続されているが、一方、NCI の制癌物質の 2 次スクリーニングも行われているものである。²²⁾

その構造は、分子式、¹H-NMR, UV, 赤外吸収スペクトル (IR) などから、対称構造の dimethyltrihydroxynaphthodihydropyran-4-one (3 個のうち 2 個は水素結合している OH を持つ) の dimer であることが判ったが、Chart 5 に示すように linear (a) か angular (b,c) か、さらに残りの水素結合していない OH と dimer の結合の位置 (d,e,f) が判らなかつた。これを解決するには ¹³C-NMR, とくに ¹³C-¹H の long range coupling (²J, ³J) の詳細な検討を行い、D₂O 置換, gated decoupling, selective decoupling 等の方法によって環上の H, OH と環の各位置の C との相対的な位置を明らかにすることによって、chaetochromin は (a), (e) の場合に対応する 3 式でなければならないことを明らかにした。²⁰⁾

Isocochliodinol (4) と Neocochliodinol (5) これらは *Chaetomium* 属の菌から cochliodinol の異性体としてえられたもので (Chart 3, Table III), 分子式, UV, IR, ¹H-NMR から両者ともに cochliodinol の prenyl 基の位置異性体であることが判った。前者の場合は cochliodinol と比較して nuclear Overhauser effect (NOE) を検討し, prenyl 基は indole の 6 位に存在することが判った。後者の場合は proton の重なりのため、この手技が使えなかつたので、水素化, アルカリ-過酸化水素酸化で 7-(3-methylbutyl)-indole-3-carboxylic acid がえられたことから、結合位は 7 位と決定された。以上から、両異性体の構造は 4, 5 と決定された。²³⁾

Chaetoglobosins A—G, J (6—13) *Chaetomium globosum* の菌体抽出物, 培養液が強い細胞毒性を示し多核細胞を形成することが注目され、^{4,5)} その本体の究明が行われた。細胞毒性を指標として菌株の選択・培養条件・分離法の検討を行い、最終的に

Chart 6. Structures of Cochliodinol Isomers

は 8 種の関連化合物 chaetoglobosins A—G, J (6—13) がえられた. このうち A—D, G は $C_{32}H_{38}O_5N_2$, E, F は $C_{32}H_{38}O_5N_2$, J は $C_{32}H_{38}O_4N_2$ の分子式を示す. これらの化合物は質量分析と UV から indole 基, IR から γ -lactam, UV から (C, E, F, G 以外) 共役 enedione 等のグループの存在が予想され, A, F, G, J は mono-acetate, B, D, E は diacetate を形成し, 1H -NMR からこれらの水酸基は 2 級である. さらに酸処理によって A から B と D が, C から G が, F から E がえられること (Chart 7) から, A, C, F には epoxy 基が存在すると考えられ, O, N の存在様式はすべて判明したが, その他の部分の炭素骨格については手がかりがつかめな

Chart 7. The Correlation Reactions of Chaetoglobosins

a: Ac_2O /pyridine, b: Et_3N /MeOH, c: Et_3N /pyridine, d: BF_3 /CHCl₃, e: HOAc, f: H_2SO_4 /HOAc, g: H^+ (CHCl₃), h: Bi_2O_3 /HOAc, i: WCl_6 -BuLi.

Chart 8. The Partial Structures (a), (b) and (c) and 1H -NMR Parameters of Chaetoglobosin A (R=H) and the Acetate (R=Ac) (in CDCl₃)

The chemical shifts in parentheses are those for A-Ac. $\leftrightarrow$ indicates geminal or vicinal coupling, $\longleftrightarrow$ long-range coupling, and $\circ \rightarrow$ NOE.

かった。しかし $^1\text{H-NMR}$ のシグナルが、広い範囲に分れて現われるので、主代謝物 **A** と acetate を中心として、徹底的に decoupling を行って骨格を追求したところ、Chart 8 に示す全分子をカバーする (a), (b), (c) の部分式がえられた。

これらの部分の組み合せを考えているうち、当時その構造が確立しその作用が注目されるようになってきた cytochalasins²⁴⁾ の関連化合物で、それまでに知られていたものの phenyl 基が indol-3-yl 基に変わったものではないかという考えがでてきた。そこで cytochalasins の各種のデータと比較することによって、**A**, **B** の平面構造式が提出された。¹⁰⁾ ついで Silverton, 秋山, 甲博士らの協力によって、**A** の X 線解析が行われ、この推定を確かめると共に、絶対構造 (**6**) が決定された。^{10,11)}

B, **D** は **A** の epoxy の開裂した異性体で、その $^1\text{H-NMR}$ のデータを **A** と比較して、**7**, **8** 式で示されることが判った。^{10,11)}

C, **G** は分子式も **A**, **B**, **D** と同じであり、塩基で処理することによって **A** から **C** が、**B** から **G** がえられ

chaetoglobosin **A** (**6**) chaetoglobosin **B** (**7**) chaetoglobosin **D** (**8**) chaetoglobosin **C** (**9**) chaetoglobosin **E** (**10**) chaetoglobosin **F** (**11**) chaetoglobosin **G** (**12**) chaetoglobosin **J** (**13**)

Chart 9. Structures of Chaetoglobosins

(Chart 7), そのスペクトルデータの比較から, C は A と, G は B と, 他の部分は同じだが, C₂₀—C₂₃ の共役 enedione が存在せずその異性化 (互変異性の繰り返し) によって生じた 9, 12 式で示されるものではないかと推定された. 恰度その頃, Clardy らは *Penicillium aurantiovirens* から C と同一物と思われるものを分離し我々の予報のデータを見て連絡があり, 直接比較したところ, 同一物であることが判った. 彼らの X 線解析により, 我々の推定が正しいことが判り, その結果は同時に報告された.^{10,25)}

E, F は上記の化合物より水素原子が 2 個多く, F が A と E が B と同じ perhydroisoindole 部分を持っている. ¹H-NMR から, A, B, D の低磁場の特徴的な enedione の 2 重結合が消失し, C₁₉ と C₂₀ のアルコールとケトンが入り変った化合物と推定された. そこで F を Bi₂O₃ 酸化したところ, G と共に C がえられたので, この推定が正しいことが判った (Chart 7).^{10,11)}

J は分子式が A, B, D より酸素原子 1 個少なく, ¹H-NMR から他の部分は同じと考えられるので, A の deoxy 体と推定された. J の収量が少なく選択的な epoxidation は無理なので, A-acetate の WCl₆-BuLi による脱酸素反応を行ったところ, 好収量で J-acetate がえられたので, 13 式が確定した.^{10,11)}

以上によって明らかにされた chaetoglobosins A—G, J の式 (6—13) を Chart 9 に示す.

Chaetoglobosins の培養細胞に対する作用は次項で一括してのべる. Chaetoglobosin A は, 皮下, 腹腔内注射ではかなり強い毒性 (LD₅₀ 5—15 mg/kg) を各種の実験動物に示すが, 経口ではその作用はずっと弱くなる. これが従来食品衛生上の問題としては無視されてきた理由と考えられる. その作用は血管壁機能の損傷による血液成分の管外への流出によるものと考えられる.²⁶⁾ 弱い変異原性が A について認められており,⁷⁾ さらに実験動物に外脳症などの催奇形性を示すことも知られている.²⁷⁾

III. Cytochalasins²⁸⁾ とその細胞骨格・運動・機能に対する作用

1966 年, Rothweiler, Tamm²⁹⁾ は *Phoma* sp. の代謝する特異な化学構造をもつ化合物として, phomin, dehydrophomin を報告した. 当時, ICI 研究所では哺乳動物培養細胞の分裂を阻害し多核細胞を形成し, 細胞運動を阻止する菌類代謝産物があることを発見しており,³⁰⁾ そのうち *Helminthosporium dematioideum* から cytochalasin A, B を分離して, これらが dehydrophomin, phomin とそれぞれ同一であることを明らかにした.³¹⁾ Cytochalasin の名称はその作用から, ギリシャ語の cytos (cell), chalisis (relaxation) から名付けられたものである. その後数年の間に, ICI グループによって *Metarrhizium anisopliae* から cytochalasin C, D³²⁾ が, 湊らのシオノギ研グループによって *Zygosporium masonii* から zygosporin A (cytochalasin D と同一物), D, E, F, G³³⁾ などの類縁化合物も分離され, これらの構造研究によって一群の新化合物の化学が確立された.²⁴⁾

我々の chaetoglobosins は phenyl の部分が 3-indolyl になった最初の例だが, その後 isobutyl になったもの (aspochalasin A—D³⁴⁾) も報告され, 現在までに 40 の化合物が報告されている.^{24,35)}

これらを代謝する菌は *Chaetomium*, *Nigrosabulum* のような子囊菌, *Phoma*, *Zygosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* のような不完全菌が大部分だが, ツヤウチハタケ (*Microsporus affinis*) のように担子菌の例もあり, 分類学上は極めて広い真菌類が代謝するものである. これらの名称, 構造, 起原を Table IV に示した.

これらの構造上の共通性は cis 型の perhydroisoindol-2-one 骨格を中心として 3 位に benzyl 基, 3-indolyl-methyl 基又は isobutyl 基が置換され, 8—9 位を結んで 11—14 員環の炭素環 (または Baeyer-Villiger 酸化型に酸素がはいった環) が trans 型に結合したもので, この環は 16 位およびその他にメチル基が, 水酸基, ケトン, 二重結合など酸化の程度の差が導入されることによって変化している. Table IV に示したように isoindole 環は 6(7) に 2 重結合を持つもの, 6,7-epoxide, 5(6)-en-7-ol, 6(12)-en-7-ol の 4 通りの場合がある.

Tamm らの cytochalasin B, D についての生合成実験から, これらが phenylalanine 1 mol, acetate-malonate 8—9 mol, C₁ 単位 2—3 mol から生成することが証明されているが,³⁶⁾ 我々も chaetoglobosins の ¹³C-NMR の帰属を完全に行ったのち, *C. globosum* に [1-¹³C]-, [2-¹³C]-, [1,2-¹³C₂]-acetate, [¹³C-methyl]-L-methionine, [1-¹³C]-, [2-¹³C]-DL-tryptophan を投与し, chaetoglobosin A, C へのとり込みを ¹³C-NMR でしらべた結果, これらが 9 mol の acetate-malonate, 3 mol の C₁ 単位, 1 mol の tryptophan から生合成されることを明らかにし (Chart 10), これらの生合成経路を Chart 11 のように推定した.³⁶⁾

Cytochalasins の合成についても多くの報告があるが, Masamune ら³⁷⁾による cytochalasins A, B の部分合成, Stork ら³⁸⁾による A の完全合成が報告されている.

Cytochalasansの作用^{24,30,39)} Cytochalasansの

発見は、細胞分裂を阻害して多核細胞をつくり、細胞運動を阻害し、より高濃度では脱核を起こすなどの作用から、細胞生物学者の注目を集めた。³⁰⁾ これらの作用は各種の細胞に共通に見られるもので、いくつかの cytochalasin が市販されるようになって、極めて多様な現象が続々と報告されることになった。すなわち、細胞骨格の変化、膜の ruffling の停止、飲細胞・食細胞の阻害、表面接着性と microfilament の変化、膜構成成分の合成ととりこみの減少、血小板凝集・心筋収縮・生長ホルモン遊離への影響などである。²⁴⁾

我々の chaetoglobosins は、HeLa 細胞の多核細胞形成によって発見されたわけだが、⁴⁾ その作用は cinemicrography でも追跡され、各化合物の細胞毒性の強さは Table V のように比較されている。^{10,11)} この結果、当時までに知られていた十数種の cytochalasin はいずれも 10 位に phenyl 基を持つものであったが、これが indol-3-yl 基となった chaetoglobosins も同様な作用を示すことが明らかになった。

通常細胞と transformed cell を比較すると、後者の方がより高度に多核になることが知られていたが、chaetoglobosins を腎の培養細胞に適用した場合も 2 核でとまり、HeLa 細胞とちがって 4 核の細胞はほとんどできなかった。⁴⁰⁾

この当時は microtubule (微小管) と microfilament の本体が、今ほどは判っていなかった。そして、cytochalasin²⁸⁾ の多様な作用には後者が直接関与するか、あるいは間接的に作用を示すのかは議論のあるところであった。梅田は chaetoglobosin が筋の培養で myotube の形成を阻害することを見出し、cytochalasin の作用には

Chart 10. The Labelling Pattern of Chaetoglobosin A

● [1-¹³C]-acetate, ■ [2-¹³C]-acetate, ○ [1-¹³C]-DL-tryptophan, □ [2-¹³C]-DL-tryptophan, ▲ [methyl-¹³C]-L-methionine, ●—■ [1,2-¹³C₂]-acetate.

Chart 11. Biosynthesis of Chaetoglobosins

TABLE IV. Structures and Sources of Cytochalasans

	source
(11)Cytochalasans				
Cytochalasin C	phe ^{a)}			<i>Metarrhizium anisopliae</i>
Cytochalasin D (zygospurin A)	phe			<i>Metarrhizium anisopliae</i> <i>Zygosporium masonii</i> <i>Engleromyces goetzii</i> <i>Microporus affinis</i>
Zygosporin D	phe			<i>Zygosporium masonii</i>
Zygosporin E	phe			<i>Zygosporium masonii</i>
Zygosporin F	phe			<i>Zygosporium masonii</i>
Zygosporin G	phe			<i>Zygosporium masonii</i>
Cytochalasin H (kodocytchalasin-1, paspalin-P1)	phe			<i>Phomopsis paspalli</i>
Cytochalasin J (kodocytchalasin-2, paspalin-P2, deacetylcytochalasin H)	phe			<i>Phomopsis paspalli</i>
Epoxyoctachalasin H	phe			<i>Phomopsis sojae</i>
Epoxydeacetylcytochalasin H	phe			<i>Phomopsis sojae</i>
Engleromycin	phe			<i>Engleromyces goetzii</i>
Cytochalasin G	ind ^{a)}			<i>Nigrosabulum</i> sp.
Aspochalasin A	ipro ^{a)}			<i>Aspergillus microcysticus</i>
Aspochalasin B	ipro			<i>Aspergillus microcysticus</i>
Aspochalasin C	ipro			<i>Aspergillus microcysticus</i>
Aspochalasin D	ipro		an epimer of aspochalasin C	<i>Aspergillus microcysticus</i>
Dioxa-[13]cytochalasans				
Cytochalasin E	phe			<i>Rosellinia necatrix</i> <i>Aspergillus clavatus</i> <i>A. terreus</i>
Cytochalasin K ^{b)}	phe			<i>A. clavatus</i>

	R ¹	R ²	R ³	source
(13) Cytochalasans				
Deoxaphomin	phe			<i>Phoma</i> sp.
Proxiphomin	phe			<i>Phoma</i> sp.
Protophomin	phe			<i>Phoma</i> sp.
Cytochalasin K ^{b)}	phe			<i>Chalara microspora</i>
Chaetoglobosin A	ind			<i>Chaetomium globosum</i> , <i>C. cochliodes</i> , <i>C. subaffine</i> , <i>C. rectum</i> , <i>C. mollipilium</i>
Chaetoglobosin B	ind			<i>C. globosum</i> , <i>C. subaffine</i> , <i>C. rectum</i> , <i>C. mollipilium</i>
Chaetoglobosin C	ind			<i>C. globosum</i> , <i>C. cochliodes</i> , <i>C. subaffine</i> , <i>C. rectum</i> , <i>C. mollipilium</i> <i>Penicillium</i> , <i>aurantio-virens</i>
Chaetoglobosin D	ind			<i>Chaetomium globosum</i> , <i>C. subaffine</i> , <i>C. rectum</i> , <i>C. mollipilium</i>
Chaetoglobosin E	ind			<i>C. globosum</i> , <i>C. rectum</i>
Chaetoglobosin F	ind			<i>Chaetomium globosum</i>
Chaetoglobosin G	ind			<i>Chaetomium globosum</i>
Chaetoglobosin J	ind			<i>Chaetomium globosum</i>
19-Acetylchaetoglobosin A	ind			<i>Chaetomium globosum</i>
19-Acetylchaetoglobosin B	ind			<i>Chaetomium globosum</i>
19-Acetylchaetoglobosin D	ind			<i>Chaetomium globosum</i>
Chaetoglobosin K	ind (10-methyl)			<i>Diplodia macrospora</i>
Chaetoglobosin L	ind (10-methyl)			<i>Diplodia macrospora</i>
Oxa-[14]cytochalasans				
Cytochalasin F	phe			<i>Helminthosporium dematioideum</i>
Phomin (cytochalasin B)	phe			<i>Helminthosporium</i> <i>Phoma</i> sp. <i>dematioideum</i> <i>Hormiscium</i> sp. <i>Culvclaria lunata</i>
Dehydrophomin (cytochalasin A)	phe			<i>Helminthosporium</i> <i>Phoma</i> sp. <i>dematioideum</i>
Cytochalasin L	phe			<i>Chalara microspora</i>
Cytochalasin M	phe			<i>Chalara microspora</i>

b) The same trivial name was given for the two different compounds characterized nearly at the same time.

TABLE V. Cytotoxicity of Chaetoglobosins to HeLa Cells

	32	10	3.2	1.0	0.32 ($\mu\text{g/ml}$)
Chaetoglobosin A	4	4	1	0	
Chaetoglobosin B	4	3—4	0—1	0	
Chaetoglobosin C	3—4	1	0—1	0	
Chaetoglobosin D	4	4	2	0	
Chaetoglobosin E	4	4	2	0	
Chaetoglobosin F	4	2	1	0	
Chaetoglobosin G	4	3	1	0	
Chaetoglobosin J	4	4	3	1	
Isochaetoglobosin D	4	3	2	0	
Chaetoglobosin A monoacetate	4	2	1	0	
Chaetoglobosin B diacetate	4	2	0—1	0	
Chaetoglobosin E diacetate	4	1	0	0	
Chaetoglobosin F monoacetate	4	3	2	0	
Chaetoglobosin G monoacetate	4	0	0	0	
Isochaetoglobosin D monoacetate	4	3	0	0	
Cytochalasin A (dehydrophomin)	4	4	2	0—1	0
Cytochalasin B (phomin)	4	3—4	2—3	1	0
Cytochalasin C	4	3—4	3—4	3	2
Cytochalasin D (zygospurin A)	4	3	3	2—3	1

Fig. 3. Effects of Cytochalasins on Actin *in Vitro*

a) Effect of cytochalasins on actin filament elongation. b) Effect of cytochalasins on viscosity of fully polymerized actin.

○, control; ●, ChE; □, CB; ■, CH; △, ChJ; and ▲, ChA.
(Ch: chaetoglobosin; C: cytochalasin).

actin との結合が関係しているのではないかと考えた。⁴⁰⁾

最近になって、細胞骨格・運動と分裂を支配する繊維としての tubulin の重合体である microtubule (微小管) と actin の重合体である microfilament (アクチン繊維) の構造と機能がはっきりしてきた。一方, cytochalasin の作用として知られてきたもののうち、膜の糖の輸送に関連したものは、一部の cytochalasins だけが示すもので、共通の作用ではなく、共通の主作用は microfilament が関与するものであることが明らかになり、⁴¹⁾ 我々の chaetoglobosins を含む多くの cytochalasins について赤血球膜を用いた結合部位の研究でもこれが明らかにされた。⁴²⁾ Cytochalasins の作用が actin との結合によることは、骨格筋からえた G-actin の塩による重合の阻害を粘度で測定することによっても支持された。⁴³⁾

Fig. 4. Immunofluorescence Staining with Mouse C3H Cells Untreated or Treated with Cytochalasins at 37°C

a) untreated cells, b) treated with 20 μ M chaetoglobosin B, c) with cytochalasin B, d) chaetoglobosin A, e) chaetoglobosin K, f) aspochalasin D.

我々は矢原博士(都臨床医研)との共同研究によって, chaetoglobosins とその acetate のほか 主な cytochalasins 約 20 種について, 分子レベルの低濃度効果としては, アクチン繊維の MgCl_2 存在下での actin monomer の添加の阻害を粘度で追跡し, 分子レベルの高濃度効果としては, F-actin の比粘度の低下を調べた (Fig. 3). 一方, 細胞レベルの低濃度効果として, C3H-2K 細胞 (マウスの繊維芽細胞由来) の膜 ruffling の阻害を, 細胞レベルの高濃度効果として, 同じ細胞の形態変化, 抗アクチン抗体を使った蛍光抗体法による stress fiber (アクチン繊維が数百本集った束) の収縮と毛状繊維の形成 (Fig. 4), およびリンパ球を用いた capping の阻害を調べた.⁴⁴⁾

この結果は Table VI に示す通りで, 数量化する actin の重合と脱重合あるいは capping の阻害の強さを比較すると Fig. 5 のように関連づけられ, 分子レベル・細胞レベルの低濃度・高濃度の作用は, Fig. 6 に示すように極めてよく相関していることが判る. これによって, cytochalasins の主作用は actin との結合によるものであることに大きな支持を与えた.⁴⁴⁾

一方, cytochalasins は tubulin には作用せず, cytochalasin A だけが例外であることを示した.⁴⁵⁾

アクチン繊維には H-メロミオジンと複合体を作らせると矢じり構造をつくるような極性があり, その先端と後端を P 端, B 端と呼ぶが, アクチン繊維の重合は P 端と比べて B 端で速く monomer の添加を起こし, cyto-

TABLE VI. Effect of Cytochalasans

Drugs	(1) Cell rounding up	(2) Inhibition of membrane ruffling	(3) Actin-cables contraction	(4) Formation of hairy structures	(5) Inhibition of capping (%)	(6) Inhibition of actin filament elongation (%)	(7) Decrease in viscosity of actin filaments (%)
10-Phenylcytochalasans							
Cytochalasin A	++	++	+	±	95	63	22
Cytochalasin B	+	+	+	+	47	44	9
Cytochalasin C	++	+	+	+	64	63	27
Cytochalasin D	++	++	+	+	79	88	62
Cytochalasin E	++	++	+	—	94	77	52
Cytochalasin H	++	+	+	+	73	69	25
Cytochalasin J	+	+	+	+	41	42	23
Deoxaphomin	+	+	+	+	70	66	12
10-Indolylcytochalasans							
Cytochalasin G	+	+	+	+	27	32	5
Chaetoglobosin A	++	++	+	—	98	85	43
Chaetoglobosin B	++	++	+	±	93	80	36
Chaetoglobosin C	+	+	+	+	59	28	24
Chaetoglobosin D	++	++	+	—	93	84	49
Chaetoglobosin E	+	+	+	+	49	33	5
Chaetoglobosin F	+	+	+	+	67	48	6
Chaetoglobosin J	++	++	+	—	90	77	38
Chaetoglobosin K	—	++	—	—	93	71	31
ChA monoacetate	++	++	+	—	97	79	40
ChD diacetate	+	+	+	—	60	34	10
ChE diacetate	—	—	—	—	20	7	0
ChF monoacetate	±	+	±	±	24	20	3
ChJ monoacetate	++	++	+	—	79	45	23
10-Isopropylcytochalasans							
Aspochalasin B	+	+	+	±	39	8	0
Aspochalasin D	+	+	+	+	60	13	0

Fig. 5. Correlation between the Three Effects

● phenyl, ○ indolyl, □ isopropyl,

Fig. 6. Correlation between the Molecular and Cellular Level Effects at High (2–20 μM) and Low (0.2–2 μM) Dose

chaetoglobosin A

chaetoglobosin C

chaetoglobosin F

chaetoglobosin E

Fig. 7. Conformations of Chaetoglobosins

chalasans は B 端を選択的にブロックする。³⁹⁾

一方, cytochalasans の方の作用点, 構造活性については, その作用が可逆的なことから共有結合を作らぬことはまちがいないとして, 明確な結論はえられていない。^{46, 47)} 我々は chaetoglobosins の構造研究に際して, X線解析の結果と $^1\text{H-NMR}$ のデータを比較して, A–J の構造の差, 測定溶剤の差に関係なく perhydroisindole の環から 13 員環の C₁₉ まではほとんど同一の conformation をとることを示したが⁴¹⁾ (Fig. 7), 従来 X 線解析が行われている 8 種の cytochalasans についても同様なことがいえることも報告されている⁴⁹⁾ (Fig. 8).

目下, 誘導体など関連化合物をふくめて構造-活性相関については検討が続けられている。

植物起源の細胞毒-抗癌剤として知られている colchicine, podophyllotoxin, *Vinca* アルカロイド, maytansinoids, あるいは griseofulvin (Chart 12) は, 現在では微小管に作用する薬物であることが知られているが, アクチン繊維に作用する薬物としてはテングダケ *Amanita* のキノコ毒 phallotoxins (Chart 13), cyclochlorotine な

Fig. 8. Least-squares Fit of Chemically Similar Regions of Eight Cytochalasan Structures

Chart 12. Drugs Affecting Microtubule

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
phalloidin	OH	H	CH ₃	CH ₃	α -OH
phalloin	H	H	CH ₃	CH ₃	α -OH
prophalloin	H	H	CH ₃	CH ₃	H
phallicin	OH	OH	CH ₃	CH ₃	α -OH
phallacin	H	H	CH(CH ₃) ₂	CO ₂ H	α -OH
phallacidin	OH	OH	CH(CH ₃) ₂	CO ₂ H	α -OH
phallisatin	OH	OH	CH(CH ₃) ₂	CO ₂ H	α -OH

Chart 13. Phallotoxins

どの環状ペプチドと cytochalasans が知られているに過ぎない。⁸⁹⁾ 今後、細胞生物学の道具としてだけでなく、医学・生物学への広い応用が期待される。

おわりに

我々のマイコトキシンの探索は、直接ヒトの健康に影響を及ぼすものの探索を目的として出発したものである。その結果として強い発癌性を示すような新しいマイコトキシンに相遇しなかったのは、我々の周辺の食品汚染カビの中にそのようなものがなかったことを喜ぶべきか、検索法に問題があったと考えるべきかは、改めて考えさせられることである。結果としては細胞毒性の強いもの、特異なものが注目され、cytochalasan 系化合物にぶつかったこととなった。

いずれにしても十数年にわたってこのような仕事を続けることができたのは、広い分野の方々との共同研究を行うことが可能だったからで、今後、化学-生物学をつなぐ仕事ますます重要になる折から、各研究者の広い視野と共に関連分野の方々との協力の重要性が痛感される。

謝辞 この研究の化学面は1982年3月まで在職した国立衛生試験所において義平邦利博士、関田節子博士、高橋千加子氏(現春日部市立病院)の協力によって行われたもので、とくに十年余にわたって本研究に専念した関田博士の努力に感謝したい。またマイコトキシンの研究の菌学面は倉田 浩博士、宇田川俊一博士、坂部フミ博士ら(国立衛試)、病理・毒性学面は斎藤 守教授、大坪浩一郎博士(現・都老人研)、梅田 誠博士(現・横浜市大医)ら(東大医科研)の両グループとの共同研究によるものである。また $^1\text{H-NMR}$ の測定について桑野晴光氏(三共代謝・分析研)、X線解析についてJ. V. Silverton 博士、秋山敏行博士(現・東大薬)、甲千寿子博士(現・東北大理)(NIH)に協力して頂き、目下、細胞生物学面の発展は、矢原一郎博士(都臨床医学研)と共同研究中である。これらの方々およびその各研究室の多くの方々との共同研究によって得られた結果を御紹介した次第である。

引用文献および注

- 1) M. Fukuoka, M. Kuroyanagi, K. Yoshihira, S. Natori, M. Nagao, Y. Takahashi, T. Sugimura, *J. Pharm. Dyn.*, **1**, 324 (1978) およびその引用文献。
- 2) T. Sugimura, M. Nagao, T. Matsushima, T. Yahagi, Y. Seino, A. Shirai, M. Sawamura, S. Natori, K. Yoshihira, M. Fukuoka, M. Kuroyanagi, *Proc. Jpn. Acad.*, **53B**, 194 (1977); M. Nagao, N. Morita, T. Yahagi, M. Shimizu, M. Kuroyanagi, M. Fukuoka, K. Yoshihira, S. Natori, T. Fujino, T. Sugimura, *Environmental Mutagenesis*, **3**, 401 (1981).
- 3) 杉村 隆, “発がん物質,” 中央公論, 東京, 1982, p. 111.
- 4) M. Saito, *et al.*, *Jpn. J. Exptl. Med.*, **41**, 1 (1971); *ibid.*, **44**, 63 (1974).
- 5) M. Umeda, T. Yamashita, M. Saito, S. Sekita, C. Takahashi, K. Yoshihira, S. Natori, H. Kurata, S. Udagawa, *Jpn. J. Exptl. Med.*, **44**, 83 (1974); K. Ohtsubo, M. Saito, T. Ishiko, M. Umeda, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, F. Sakabe, S. Udagawa, H. Kurata, *ibid.*, **48**, 257 (1978).
- 6) 名取信策, 梅田 誠, “天然有機化合物実験法,” 名取, 池川, 鈴木編, 講談社, 東京, 1977, pp. 126—142.
- 7) 長尾美奈子, 本田雅子, 浜崎 敏, 名取信策, 上野芳夫, 山崎幹夫, 清野祐子, 矢作多貴江, 杉村 隆, マイコトキシン, No. 3/4, 41 (1976).
- 8) C. Takahashi, K. Yoshihira, S. Natori, M. Umeda, K. Ohtsubo, M. Saito, *Experientia*, **30**, 529 (1974); C. Takahashi, K. Yoshihira, S. Natori, M. Umeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **24**, 613 (1976); C. Takahashi, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, *ibid.*, **24**, 2313 (1976).
- 9) S. Natori, S. Sakaki, H. Kurata, S. Udagawa, M. Ichinoe, M. Saito, M. Umeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 2259 (1970).
- 10) S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, H. Kuwano, *Tetrahedron Lett.*, **1973**, 2109; M. Umeda, K. Ohtsubo, M. Saito, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, S. Udagawa, F. Sakabe, H. Kurata, *Experientia*, **31**, 435 (1975); J. V. Silverton, T. Akiyama, C. Kabuto, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 1349; S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, H. Kuwano, *ibid.*, **1976**, 1351; *idem*, *ibid.*, **1977**, 2771.
- 11) S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, S. Udagawa, F. Sakabe, H. Kurata, M. Umeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1609 (1982); S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, H. Kuwano, *ibid.*, **30**, 1618 (1982); *idem*, *ibid.*, **30**, 1629 (1982); J. V. Silverton, C. Kabuto, T. Akiyama, *Acta Cryst.*, **B34**, 588 (1978).
- 12) K. Yoshihira, C. Takahashi, S. Sekita (née Sakaki), S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 2727 (1972).
- 13) 未発表データ。
- 14) S. Natori, S. Sakaki, H. Kurata, S. Udagawa, M. Ichinoe, M. Saito, M. Umeda, K. Ohtsubo, *Appl. Microbiol.*, **19**, 613 (1970).
- 15) C. Takahashi, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, S. Udagawa, H. Kurata, M. Enomoto, K. Ohtsubo, M. Umeda, M. Saito, *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 2286 (1973).
- 16) S. Udagawa, T. Muroi, H. Kurata, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, M. Umeda, *Canad. J. Microbiol.*, **25**, 170 (1979); S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, S. Udagawa, T. Muroi, Y. Sugiyama, H. Kurata, M. Umeda, *ibid.*, **27**, 766 (1981).

- 17) K. Ohtsubo, *et al.*, *Jpn. J. Exptl. Med.*, **46**, 277 (1976); *Ann. Nutr. Alim.*, **31**, 771 (1977); Y. Ito, K. Ohtsubo, K. Yoshihira, S. Sekita, S. Natori, H. Tsunoda, *Jpn. J. Exptl. Med.*, **48**, 187 (1978).
- 18) 遠藤 章博士 (東京農工大) よりの私信.
- 19) 高橋千加子, 関田節子, 義平邦利, 名取信策, 宇田川俊一, 坂部フミ, 倉田 浩, マイコトキシン, No. 2, 26 (1976).
- 20) S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 2428 (1980).
- 21) 大坪浩一郎, マイコトキシン, No. 12, 28 (1980); No. 15, 25 (1982); 伊藤美武, 大坪浩一郎, 同誌, No. 16, 22 (1982).
- 22) Screening Data Summary, National Cancer Institute, Bethesda, MD, U.S.A.
- 23) S. Sekita, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 2998 (1983).
- 24) S. Natori, "Mycotoxins in Human and Animal Health," ed. by J. V. Rodricks, C. W. Hesseltine, M. A. Mehlman, Pathotox, Illinois, 1977, pp. 559—582; M. Binder, Ch. Tamm, *Angew. Chem.*, Intern. Ed., **12**, 370 (1973); S. B. Carter, *Endeavour*, **13**, 77 (1972); S. W. Tannenbaum (ed.), "Cytochalasins, Biochemical and Cell Biological Aspects," North-Holland, Amsterdam, 1978.
- 25) J. P. Springer, J. Clardy, J. M. M. Wells, R. J. Cole, J. W. Korksey, R. D. MacFarlane, D. F. Torgarson, *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 1355.
- 26) K. Ohtsubo, M. Saito, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, *Jpn. J. Exptl. Med.*, **48**, 105 (1978).
- 27) 大坪浩一郎, マイコトキシン, No. 10, 17 (1980).
- 28) 現在 Chemical Abstracts に採用されている命名によると, cytochalasins, chaetoglobosins などは trivial name とされ, Tamm-Turner-Minato の提唱によって Table IV に示した共通骨格を cytochalan としてよぶ化学名が与えられるようになっている. これによれば総称としては cytochalasans とよぶのが正しい.
- 29) W. Rothweiler, C. Tamm, *Experientia*, **22**, 750 (1966); *idem*, *Helv. Chim. Acta*, **53**, 696 (1970).
- 30) S. B. Carter, *Nature* (London), **213**, 261 (1967).
- 31) D. C. Aldridge, J. J. Armstrong, R. N. Speake, W. B. Turner, *Chem. Commun.*, **1967**, 26; *idem*, *J. Chem. Soc. (C)*, **1967**, 1667.
- 32) D. C. Aldridge, W. B. Turner, *J. Chem. Soc. (C)*, **1969**, 923.
- 33) H. Minato, M. Matsumoto, *J. Chem. Soc. (C)*, **1970**, 38, 45.
- 34) W. Keller-Schielein, E. Kupfer, *Helv. Chim. Acta*, **62**, 1501 (1979).
- 35) Ch. Tamm, "Biosynthesis of Mycotoxins," ed. P. S. Steyn, Academic Press, New York, 1980, pp. 269—300.
- 36) S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 490 (1983).
- 37) S. Masamune, Y. Hayase, W. Schilling, W. K. Chan, G. S. Bates, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 6756 (1977).
- 38) G. Stork, Y. Nakahara, Y. Nakahara, W. J. Greenlee, *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 7775 (1978); G. Stork, E. Nakamura, *ibid.*, **105**, 5510 (1983).
- 39) 名取信策, 飯田和子, 矢原一郎, 蛋白質・核酸・酵素, **28**, 789 (1983).
- 40) M. Umeda, "Mycotoxins in Human and Animal Health," ed. by J. V. Rodricks, C. W. Hesseltine, M. A. Mehlman, Pathotox, Illinois, 1977, pp. 713—729.
- 41) S. J. Atlas, S. Lin, *J. Cell. Biol.*, **76**, 360 (1978).
- 42) A. L. Rampal, H. B. Pinkofsky, C. Y. Jung, *Biochemistry*, **19**, 679 (1980).
- 43) I. Löw, W. Jahn, Th. Wieland, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, *Anal. Biochem.*, **95**, 14 (1979); Th. Wieland, I. Löw, *Biochemistry*, **19**, 3363 (1980).
- 44) I. Yahara, F. Harada, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Natori, *J. Cell. Biol.*, **92**, 69 (1982).
- 45) Y. Sato, Y. Saito, T. Tezuka, S. Sekita, K. Yoshihira, S. Sekita, S. Natori, *J. Pharm. Dyn.*, **5**, 418 (1982).
- 46) H. Minato, T. Katayama, T. Matsumoto, M. Katagiri, S. Matsuura, N. Sunagawa, K. Hori, M. Harada, M. Takeuchi, *Chem. Pharm. Bull.*, **21**, 2268 (1973).
- 47) S. W. Tannenbaum, B. H. Patwardhan, L. Haynes, M. Flashner, *Life Science*, **30**, 1927 (1982); B. H. Patwardhan, M. Flashner, C. A. Miller, S. W. Tannenbaum, *J. Med. Chem.*, **25**, 663 (1982).
- 48) J. F. Griffin, A. L. Rampal, C. Y. Jung, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **79**, 3759 (1982).