アクチン脱重合分子の 合成と活性

末永 聖武*

木越 英夫

Synthesis and Biological Activity of Actin-depolymerizing Substances

Kiyotake Suenaga* and Hideo Kigoshi

Aplyronine A **1** is a potent antitumor macrolide isolated from the sea hare *Aplysia kurodai*. Aplyronine A interacts with actin, one of the major proteins in cytoskeleton. We achieved total synthesis of aplyronine A and its 18 analogs and investigated structure-activity relationships. Analysis of the interaction of aplyronine analogs with actin by a photoaffinity labeling method and X-ray crystal structure analysis of actin complex with aplyronine A have been carried out. These results revealed that aplyronine A binds to actin at the hydrophobic cleft between subdomains 1 and 3 of actin. The binding mode of the macrolactone part of aplyronine A was different from previously reported macrolides. In addition, the trimethylserine moiety of aplyronine A, the essential functional group for cytotoxicity against HeLa S₃ cells, was sticking out from a surface of actin-aplyronine A complex.

Key words: actin depolymerization, cytoskeleton, antitumor macrolide, cytotoxicity, crystal structure

はじめに

化学療法は現在の医学において最も重要な治療法の1つである。現在の最大の課題である癌克服に対しても、多くの制癌剤が開発されている。現在用いられている代表的な制癌剤は、(1)アルキル化剤(2)代謝拮抗剤(3)アルカロイド(4)抗生物質(5)ホルモン薬などに大別できる。これらはDNAを修飾したり、複製や転写を阻害したり、細胞が正常に分裂するために必須の細胞骨格タンパク質であるチューブリン(微小管)に作用したり、細胞周期調節酵素やそのほか細胞分裂に必要な酵素の働きを損なうなどの作用により、制癌性を示していることが判明している¹⁾。

化学療法の見地から、新しい作用機構に基づく生物活性物質の発見は非常に重要であり、発癌や制癌に関与する新たな生体分子の探索と機構の解明に関して研究が推進されている。本稿では、これまでに知られている抗腫瘍性物質とは異なり、細胞骨格タンパク質であるアクチンを標的とする新しい型の海洋産抗腫瘍性物質に関する生物有機化学的研究について述べる。

1. 細胞骨格タンパク質アクチン

アクチンは、ほとんどすべての真核細胞に存在し、主要な細胞骨格を形成している。いわゆるミクロフィラメントであり、多くの非筋細胞でも最も含量の多いタンパク質である。そのアミノ酸配列は多くの生物においてかなり共通しており、保守的構造を持っていることから、機能に必要な配列が多いことが示されている。

アクチンは、濃度、塩、アクチン調節タンパク質などの影響により、モノマー状態のG-アクチンと繊維状重合体であるF-アクチン(アクチンフィラメント)の2つの形態をとる。これらの状態を使い分けることにより、アクチンは筋収縮、細胞分裂、細胞運動などの重要な役割を演じている。

アクチンに作用する生体高分子としては、アクチンとともに筋肉を構成するタンパク質として有名なミオシンや多くのアクチン調節タンパク質が知られている。ところが、アクチンに作用する有機小分子としては、わずかにカビやキノコから単離されたサイトカラシン類やファロイジンなどが知られているのみであった。

最近になって、強い細胞増殖抑制作用を持つ海洋産マクロリドのいくつかはアクチンに作用することが発見された。また最近、アクチンとある種のPKCが結合することや、アクチン脱重合物質が有糸分裂を遅らせる新たなチェックポイント系を活性化することなどの生物化学

* 慶應義塾大学理工学部化学科

* Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Keio University

的研究も活発に報告されている²⁾。そのため、アクチンは抗癌剤・抗腫瘍性物質の新しい標的分子として注目され³⁾、アクチンに作用するマクロリドの合成研究も活発に行われている⁴⁾。

2. アプリロニン A

アプリロニン A は筆者らの研究室において、海洋軟体動物アメフラシから単離・構造決定された 24 員環マクロリドである⁵⁾。構造上の特徴は、末端にエナミド基を有する長い側鎖と 2 種のアミノ酸エステルを持つ点などである。アプリロニン A は腫瘍細胞に対して強力な細胞毒性を示すとともに、既存の抗癌剤を上回る強力な抗腫瘍性を持っていることから注目されている。そこで、アプリロニン A の生体内標的分子を探索した結果、抗腫瘍性物質の一般的な標的である DNA、微小管、細胞周期調節酵素群には影響を及ぼさず、細胞骨格タンパク質のアクチンに作用することが明らかになった。アプリロニン A は G-アクチンの重合を阻害し、F-アクチンの脱重合を促進することにより、アクチンの平衡を G-アクチンの方へ傾ける作用を有する⁶⁾。アプリロニン A は G-アクチンと安定な 1:1 の複合体を形成する。アクチンに対する上記の作用は、これまでにアクチンに作用することが知られている低分子(サイトカラシン類、ファ

ロイジン類)とは全く異なっている。

アプリロニン A はアメフラシにごく微量しか含まれておらず、100 kg の動物からわずか数 mg しか得られない。そこで、アプリロニン A の立体構造の確定とともに、量的供給を目的としてその合成研究を行い、この型の海洋産マクロリドとしては初めて合成を達成した⁷⁾。その結果、アプリロニン A の構造を確定し、生物活性を確認し、さらに量的供給への道を拓いた。なお、本合成については以前本誌に掲載されているので⁸⁾、本稿では割愛し、合成達成後の研究について述べたい。

3. アプリロニン A の構造活性相関

アプリロニン A の合成が達成されたことにより、種々の人工類縁物質の合成が可能となった。そこで、アプリロニン A の合成中間体から種々の人工類縁物質を合成し、腫瘍細胞に対する細胞毒性およびアクチン脱重合活性を評価し、構造活性相関研究を行った⁹⁾。全部で 18 種類の類縁物質を合成したが、特に重要なデータを表 1 に示した。まず細胞毒性については、側鎖末端のエナミド基を水酸基に置き換えた類縁物質 4 およびジメチルアラニン基を持たない類縁物質 5 は、ともにアプリロニン A 1 と同程度の細胞毒性を示したことから、エナミド基およびジメチルアラニン基は細胞毒性に影響しないこと

Table 1 Cytotoxicity and actin-depolymerizing activity of natural aplyronines and artificial analogs.

Compound	Cytotoxicity against HeLa S ₃ cells		Actin-depolymerizing activity ^a	
	IC ₅₀ (ng/mL)	Relative potency ^b	IC ₅₀ (μM)	Relative potency ^b
Aplyronine A (1)	0.48	100	31	100
Aplyronine C (2)	21.2	2.3	32	97
3	216	0.22	57	54
4	1.72	28	78	40
5	1.03	47	35	86
6	113	0.42	35	86
7	57	0.84	70	44
8	>2000	<0.02	4500	0.69
9	2100	0.023	n.d.	
10	n.d.		Inactive	0
11	>10000	<0.004	330	9.9

^a Activity was monitored by measuring flow birefringence.^b The relative potencies were calculated from the IC₅₀ values of the compounds (aplyronine A = 100).^c IC₅₀ is the concentration required to depolymerize F-actin (40 μM) to 50% of its control amplitude.

Scheme 1 Synthesis of C 21-C 27 segment of aplyronine A.

がわかった。一方、水酸基がアセチル化された類縁物質 3, トリメチルセリン基を持たないアプリロニン C 2 および 6, 共役ジエン部分を還元した類縁物質 7 では細胞毒性が非常に弱くなった。このことから、アプリロニン A の強力な細胞毒性には 2 級水酸基, トリメチルセリン部, 共役二重結合が重要な役割を果たしていることがわかった。また、ラクトン側鎖が短い 8 および側鎖を持たない 9 は細胞毒性をほとんど示さなかったことから、細胞毒性にはラクトン側鎖が非常に重要であることもわかった。

アクチン脱重合活性については、類縁物質 2-7 は、いずれもアプリロニン A 1 と同程度の活性を示した。このことから、アクチン脱重合活性には細胞毒性の場合とは異なり、水酸基やトリメチルセリン基などの官能基が影響しないことがわかった。一方、側鎖が短い 8 の活性は大幅に低下し、側鎖を持たない 10 は全く活性を示さなかったことから、細胞毒性の場合と同様に側鎖がアクチン脱重合活性に重要であることがわかった。また、側鎖部分に相当する類縁物質 11 がアプリロニン A 1 の 10 分の 1 程度の活性を示したことは特筆すべきことである。アクチンに対する活性について構造式レベルの研究はほとんど行われておらず、上記の研究はアクチンに対する活性と化学構造の相関を詳細に明らかにした初めての例である。そこで、アクチンと有機小分子の作用を

より詳細に理解するために、アクチンに対して活性を示した 11 を用いて、アプリロニン A 側鎖とアクチンの相互作用について研究を進めることにした。

4. アプリロニン A 側鎖分子の効率的合成

アプリロニン A 側鎖分子 11 はアプリロニン A 全合成の中間体から合成することが可能であるが、活性に重要な側鎖部分をより短段階で効率よく合成するべく、合成法の改良を行った^{9c, 10)}。アプリロニン A の合成においては 11 に含まれる 2 組の四連続不斉中心を Evans アルドール反応と Sharpless エポキシ化反応を用いて構築していたが、改良合成においては Paterson アルドール反応¹¹⁾とヒドロキシケトンの立体選択的還元¹²⁾を鍵反応に用いることにした。

側鎖の左半分に相当する C 21-C 27 セグメント 15 の合成は以下のように行った(スキーム 1)。まず、エチルケトン 12 と 3-(ベンジルオキシ)プロパナールの Paterson アルドール反応を行うと、ヒドロキシケトン 13 が立体選択的に得られた。ついで 13 を水素化トリアセトキシホウ素テトラメチルアンモニウムにより還元すると、目的の立体配置を有するジオール 14 が選択的に得られた。ジオール 14 について、4 段階の官能基変換を行い、C 21-C 27 セグメント 15 を得た(6 段階, 56%)。

側鎖の右半分に相当する C 28-C 34 セグメント 21 の

合成をスキーム 2 に示した。エチルケトン 16 とクロトンアルデヒドの Paterson アルドール反応により得られたヒドロキシケトン 17^{11b)}を立体選択的に還元した後、水酸基を保護してアセトニド 18 を得た。つぎに、アセトニド 18 のベンジル基を除去した後、一炭素増炭反応を行い、アルデヒド 19 へ導いた。これをメタノール中、酸処理することでメチルアセタール 20 を得た。20 の水酸基をベンジル基で保護した後、オレフィン部を酸化的に切断すると、C 28-C 34 セグメント 21 が得られた(10 段階, 48%)。

こうして得られた 2 種のセグメント 15, 21 を Julia オレフィン化反応により連結した後、2 重結合の接触還元および保護基の付け替えを行い、シリルエーテル 22 を得た(スキーム 3)。トリエチルシリル(TES)基は、後のメチルアセタールの酸加水分解に耐えられないので、この段階で TBS 基に付け替えた。最後に、アプリロニン A の合成と同様に、メチルアセタール部をエナミド基へと変換し、ジメチルアラニンを導入することで、アプリロニン A の側鎖部分に相当する類縁物質 11 が得られた。

Scheme 2 Synthesis of C 28-C 34 segment of aplyronine A.

Scheme 3 Synthesis of the side-chain portion of aplyronine A.

5. アプリロニン A 側鎖分子を用いたアクチンの光標識実験

アプリロニン A 側鎖部の効率的合成法が確立できたので、つぎにアプリロニン A のアクチン脱重合活性の分子機構を解明することを目的として、アプリロニン A 側鎖分子を用いたアクチンの光標識実験を行った¹³⁾。活性に重要な側鎖部に光アフィニティ標識基を連結したプローブ分子 23 を設計・合成した。タンパク質の光親和性標識実験では、ラベル化タンパク質の検出に放射性同位体やビオチンなどが用いられるが、本実験では蛍光基を用いることにした。蛍光基を用いれば、特別な装置/設備や後処理をすることなく、直接的にラベル化タンパク質を検出することができる。蛍光基としては、ピレニル基、NBD 基およびフルオセイン基について検討したが、本実験では最も蛍光強度が強かったフルオセイン基を用いた。ピレニル基および NBD 基の場合には消光のために蛍光強度が弱く、また水溶性も低いため光標識実験には適さなかった。

Fig. 1 SDS-PAGE analysis of actin ($10 \mu\text{M}$) photolabeled in various concentrations of probe 23 in the absence (—) or presence (+) of aplyronine A ($100 \mu\text{M}$).

Fig. 2 SDS-PAGE analysis of actin ($10 \mu\text{M}$) photolabeled with probe 23 ($20 \mu\text{M}$) in the absence or presence of well-known actin depolymerizing reagents: aplyronine A (apA, $100 \mu\text{M}$), mycalolide B (myB, $100 \mu\text{M}$), and cytochalasin D (CD, $100 \mu\text{M}$).

実際に、プローブ分子 23 とアクチンを混合した後、光照射を行い、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動により分析したところ、標識アクチンを検出することに成功した(図 1)。標識アクチンの蛍光強度はプローブ分子 23 の濃度に依存して増大した。また、アプリロニン A の共存下で光標識実験を行うと、アクチンの光標識が阻害されたことから、プローブ分子 23 はアクチンに対して、

アプリロニン A と同じ位置で特異的に結合していることが明らかとなった。以上の結果は、アプリロニン A の側鎖部分がアクチンと直接作用していることを化学的に示したものである。さらに、他のアクチン脱重合剤の存在下でも光標識実験を行ったところ、アプリロニン A と同様の作用を有するミカロライド B ²⁴ はアクチンの光標識を阻害した(図 2)。このことから、ミカロライド B

はアプリロニンAと同じ位置でアクチンに結合することが明らかとなった。一方、アクチン脱重合の作用機構が異なるサイトカラシンD 25はアクチンの光標識に全く影響しなかった。

6. アクチン-アプリロニンA複合体の結晶構造

上記の光標識実験と並行し、アクチンとアプリロニンAの相互作用を詳細に明らかにすることを目的として、アクチン-アプリロニンA複合体の結晶構造解析を検討した。2003年にミカロライドB 24の類縁体であるカビラミドC 26¹⁵⁾について、アクチンとの複合体の結晶構造が初めて報告された¹⁶⁾。この条件を参考に検討したところ、類似の結晶化条件でアプリロニンA-アクチン複合体の良質な結晶が得られた。放射光を用いて回折データを収集し、構造解析を行った。アクチンは4個のサブドメイン1-4からなるが、アプリロニンAはサブドメイン1と3の間の脂溶性クレフトに結合することがわかった(図3)¹⁷⁾。また、アプリロニンAの側鎖部分がアクチンの内部へ深く挿入されており、側鎖末端のエナミド部分はアクチンと水素結合により親水的な相互作用をしていることがわかった。これらの構造はカビラミドC-アクチン複合体の構造と良く類似している。一方、マクロラクトン部分の相互作用はアプリロニンAとカビラミドCでは大きく異なることがわかった。カビラミドCの場合にはマクロラクトン環がアクチンのサブドメイン1の方へ向いているのに対し、アプリロニンAの場合は、マクロラクトン環がそれとは逆にサブドメイン3の方へ向いている(図4)。2つのマクロリドでこのような構造の違いが生じた理由は主に以下の2つが考えられる。1つはマクロリドの付け根の炭素の立体化学が逆であるからである。アプリロニンA 1のC23位が α 配置であるのに対し、カビラミドC 26では対応するC24位が β 配置である。アクチンに対して、ラクトン側鎖は2つのマクロリドで同様に結合するので、ラクトン環は逆の方向を向くことになる。もう1つは、アプリロニンAのC9位水酸基とアクチンのGlu³³⁴の間の強い水素結合の存在である。2つのマクロリドとも、マクロリド環の部分とアクチンの相互作用は脂溶性のものが大部分であり、弱い上記の水素結合によって、アプリロニンAのマクロラクトン環はサブドメイン3の側へしっかりと固定されている。

アプリロニンAの特徴的な構造である2種のアミノ酸エステルは、どちらもアミノ酸部分の立体化学に関する混合物であるが、アクチンとの複合体の結晶構造中ではジメチルアラニン部に関しては単一(S体)の立体異性体として存在していた。一方、トリメチルセリン部については天然物自身と同じく、約1:1の混合物であった。

Fig. 3 Crystal structure of actin-aplyronine A complex.

Fig. 4 (a) Crystal structure of actin-aplyronine A complex
(b) Crystal structure of actin-kabiramide C complex.

結晶中では、ジメチルアラニン部分はアクチンと親水的な相互作用(水分子を介した水素結合)をしているので、S体が選択されたものと考えられる。一方、トリメチルセリン部はアクチンと全く相互作用しておらず、溶媒領域に大きく突き出た構造をとっていた。この構造には先に述べた近傍のC9位水酸基とアクチンの直接水素結合も関与しているものと考えられる。

以上述べてきたように、アプリロニンA-アクチン複合体の結晶構造には、マクロラクトン環がサブドメイン3の側に結合していること、および溶媒領域に大きく突き出たアミノ酸エステル部分を持つ、という他のマクロリド-アクチン複合体には見られない特徴がある。この特徴的な構造が、アプリロニンAの顕著な抗腫瘍性に関係していると考えている。実際、上記の特徴的な構造をとることができない誘導体である水酸基をアセチル化した、3およびトリメチルセリン基を持たない2,6では腫瘍細胞に対する細胞毒性が著しく低下している。以上の事実をふまえ、現在アプリロニンAの作用機構につい

て次のような仮説を提唱しておきたい。すなわち、アプリロニン A は細胞内で含量の多いアクチンとまず結合し、ついで生じたアプリロニン A-アクチンの複合体がさらに別の生体高分子と結合し、細胞毒性や抗腫瘍性が発現する。この際、アクチンとの複合体において大きく突き出たトリメチルセリン部分が別の生体分子との結合に重要な役割を果たす、というものである。このような三元複合体の例は免疫抑制剤 FK 506 において知られている。今後、この仮説に基づいて研究を進め、アプリロニン A の作用機構を分子構造レベルで明らかにしていきたい。なお、ごく最近 reidispongioidide A 27 および C について、アクチンとの複合体の結晶構造が報告された¹⁸⁾。これらの結晶構造はアプリロニン A-アクチン複合体の構造とラクトン環部分が良く類似している。Reidispongioidide 類は多剤耐性がん細胞に対して強い細胞毒性を示す。

7. ミカロライド B 側鎖分子の合成とアクチン脱重合活性

ミカロライド B 24 は海綿動物由来のマクロリドであり^{14a, 14b)}、腫瘍細胞に対する細胞毒性、抗カビ性など多彩な生物活性を示し、アプリロニン A と同様の機構でアクチンを脱重合する^{14c)}。1999 年に、類縁体のミカロライド A の全合成が報告された¹⁹⁾。ミカロライド B はアプリロニン A と類似の化学構造の側鎖部を有すること、特にアプリロニン A のジメチルアラニン部分に対応するアシル基の存在に着目し、ミカロライド B 側鎖部分の合成とアクチン脱重合活性の測定を行った¹⁰⁾。

ミカロライド B 側鎖分子 28 の右半分はアプリロニン A とアミノ酸エステル部を除いて同一であり、アプリロニン A 合成における中間体 21 (ミカロライド B においては C 29-C 35 に相当) がそのまま利用できる。そこで、左半分に相当する C 22-C 28 セグメント 34 の合成を

行った(スキーム 4)。

クロチルボロン酸エステル 29 と 3-benzyloxypropanal とのクロチルボレーション反応を行うと²⁰⁾, *anti*-ホモアリルアルコール 30 が単一の立体異性体として得られた。30 のオレフィン部を酸化的に切断した後、還元し、水酸基をシリル基で保護した。ついで、ベンジル保護基を除去し、酸化することによりアルデヒド 31 を得た。つぎに、イミド 32 との Evans アルドール反応を行うと、ヒドロキシイミド 33 が立体選択的に得られた。33 のキラル補助基を還元により除去した後、3 段階の官能基変換を行って C 22-C 28 セグメント 34 を得た。

以上により得られた 34 と 21 の Julia 反応を行い(スキーム 5)、さらにアプリロニン A 側鎖分子 11 と同様の反応を行うことにより、ミカロライド B 側鎖分子 28 を得た。なお、最後の 2,3-ジ-O-メチル-D-グリセリン酸とのエステル化反応は、カルボン酸のラセミ化を伴って進行したため、28 のジアステレオマー 36 も得られた。

合成したミカロライド B 側鎖分子 28, 36 のアクチン脱重合活性を、アプリロニン A 1 およびアプリロニン A 側鎖分子 11 とともに蛍光標識アクチンを用いて測定した(表 2)。また、腫瘍細胞に対する細胞毒性試験の結果も合わせて示した。その結果、今回合成した側鎖分子はいずれも強いアクチン脱重合活性を有することが明らかになった。特に、ミカロライド B 側鎖分子 28 の活性は非常に強く、アプリロニン A 1 に匹敵するものであった。以上の結果から、ミカロライド B においても、アクチン脱重合活性にはその側鎖部が必須であり、ラクトン部がなくても強い活性を持つことがわかった。なお、ミカロライド B 側鎖分子 28, 36 はアプリロニン A 側鎖分子と同様に細胞毒性は全く示さなかった。

おわりに

海洋産抗腫瘍性物質アプリロニン A について、確立した全合成の経路に基づき、天然からは得られない種々の人工類縁物質を合成し、腫瘍細胞に対する細胞毒性およびアクチン脱重合活性の 2 種の生物活性について、構造活性相関を詳細に明らかにすることができた。さらに、光アフィニティ標識実験や複合体の結晶構造解析により、アプリロニン A とアクチンの相互作用を分子構造レベルで明らかにした。

しかし、アプリロニン A の抗腫瘍性とアクチン脱重合活性の関係についてはまだ不明な点が残されている。生体内のアクチンの濃度を考慮すると、アプリロニン A の強力な細胞増殖抑制作用が単にアクチン脱重合活性のみによっているとは考えにくい。また、アクチンは正常細胞内にも存在しているタンパク質であるので、アクチンを脱重合することはすべての細胞の細胞分裂を抑制する

Scheme 4 Synthesis of the C 22-C 28 segment of mycalolide B.

Scheme 5 Synthesis of side-chain portion of mycalolide B.

Table 2 Cytotoxicity and actin-depolymerizing activity of mycalolide B, aplyronine A, and their analogs.

Compounds	Cytotoxicity against HeLa S ₃ cells		Actin-depolymerizing activity ^a	
	IC ₅₀ (ng/ mL)	Relative potency ^b	IC ₅₀ (μM) ^c	Relative potency ^b
aplyronine A (1)	0.48 ^e	100	1.6	100
mycalolide B (24) ^d	3.5	14	nd	nd
11	>10000	<0.01	7.9	20
28	>10000	<0.01	2.7	59
36	>10000	<0.01	4.4	36

^a Activity was monitored by measuring the fluorescent intensity of pyrenyl actin.

^b The relative potencies were calculated from the IC₅₀ values of the compound (aplyronine A = 100).

^c IC₅₀ indicates the concentration required to depolymerize F-actin (3.7 μM) to 50% of its control amplitude.

^d Mycalolide B was purchased from Wako Pure Chemical Industries, Inc.

^e Ref. 9a.

ことになり、強力な抗腫瘍性をアクチン脱重合活性だけで説明することは難しい。しかし、タキソールがアクチンと同じく細胞骨格タンパク質であるチューブリン(微小管)に作用して優れた抗癌性を示していることや、アクチンが細胞分裂のチェックポイントを活性化しているという報告などのアクチンの新機能が見出されてきていることから、アクチンとアプリロニンAが結合した後の

細胞内信号伝達系などに興味を持たれる。我々は、ここに前述の三元複合体が関わっていると考えている。このように、アプリロニンAなどのアクチン脱重合海洋天然物の生物活性の詳細な研究は、新しい型の抗癌剤開発の重要な基礎研究となると考えられる。そのためにもその研究を支えるアクチン脱重合分子について、設計した分子を自由に合成する強力な有機合成化学が必要である。

今後は細胞内でアブリロニンAがアクチンと結合した後に、何が起きているのか、アクチン脱重合がどのように抗腫瘍性へとつながっていくのかを明らかにしていきたい。

謝 辞 本研究は山田静之名古屋大学名誉教授と多くの学生諸氏と共同で行ったものであり、ここに深く感謝いたします。アクチン脱重合活性試験をご指導いただきました宝谷紘一教授、滝口金吾博士(名古屋大学大学院理学研究科)、尾崎博教授、堀正敏助教授(東京大学大学院農学生命科学研究科)に感謝いたします。アクチン-アブリロニンA複合体の結晶構造解析は高田昌樹博士、平田邦生博士(JASRI/SPRING-8)との共同研究であり、ここに深く感謝いたします。

(2006年7月24日受理)

文 献

- 1) 市川英子, 加藤國基, 健康増進研究, 1, 30 (2002)
- 2) Y. Gachet, S. Tournier, J. B. A. Millar, J. S. Hyams, *Nature*, 412, 352 (2001)
- 3) G. Fenteany, Z. Shoutian, *Curr. Top. Med. Chem.*, 3, 593 (2003)
- 4) K.-S. Yeung, I. Paterson, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41, 4632 (2002)
- 5) (a) K. Yamada, M. Ojika, T. Ishigaki, Y. Yoshida, H. Ekimoto, M. Arakawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 11020 (1993); (b) M. Ojika, H. Kigoshi, T. Ishigaki, K. Yamada, *Tetrahedron Lett.*, 34, 8501 (1993); (c) M. Ojika, H. Kigoshi, T. Ishigaki, M. Nisiwaki, I. Tsukada, K. Mizuta, K. Yamada, *ibid.*, 34, 8505 (1993); (d) M. Ojika, H. Kigoshi, T. Ishigaki, I. Tsukada, T. Tsuboi, T. Ogawa, K. Yamada, *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 7441 (1994)
- 6) S. Saito, S. Watabe, H. Ozaki, H. Kigoshi, K. Yamada, N. Fusetani, H. Karaki, *J. Biochem.*, 120, 552 (1996)
- 7) H. Kigoshi, M. Ojika, T. Ishigaki, K. Suenaga, T. Mutou, A. Sakakura, T. Ogawa, K. Yamada, *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 7443 (1994)
- 8) 木越英夫, 山田静之, 有合化, 54, 1076 (1996)
- 9) (a) H. Kigoshi, K. Suenaga, T. Mutou, T. Ishigaki, T. Atsumi, H. Ishiwata, A. Sakakura, T. Ogawa, M. Ojika, K. Yamada, *J. Org. Chem.*, 61, 5326 (1996); (b) K. Suenaga, N. Kamei, Y. Okugawa, M. Takagi, A. Akao, H. Kigoshi, K. Yamada, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 7, 269 (1997); (c) H. Kigoshi, K. Suenaga, M. Takagi, A. Akao, K. Kanematsu, N. Kamei, Y. Okugawa, K. Yamada, *Tetrahedron*, 58, 1075 (2002)
- 10) (a) K. Suenaga, S. Miya, T. Kuroda, T. Handa, K. Kanematsu, A. Sakakura, H. Kigoshi, *Tetrahedron Lett.*, 45, 5383 (2004); (b) K. Suenaga, T. Kimura, T. Kuroda, K. Matsui, S. Miya, S. Kuribayashi, A. Sakakura, H. Kigoshi, *Tetrahedron*, 62, 8278 (2006)

- 11) (a) I. Paterson, R. D. Tiller, *Tetrahedron Lett.*, 32, 1749 (1991); (b) I. Paterson, M. A. Lister, G. R. Ryan, *ibid.*, 33, 4233 (1992)
- 12) D. A. Evans, K. T. Chapman, E. M. Carreira, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 3560 (1988)
- 13) T. Kuroda, K. Suenaga, A. Sakakura, T. Hanada, K. Okamoto, H. Kigoshi, *Bioconjugate Chem.*, 17, 524 (2006)
- 14) (a) N. Fusetani, K. Yasumuro, S. Matsunaga, K. Hashimoto, *Tetrahedron Lett.*, 30, 2809 (1989); (b) S. Matsunaga, P. Liu, C. A. Celatka, J. S. Panek, N. Fusetani, *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 5605 (1999); (c) S. Saito, S. Watabe, H. Ozaki, N. Fusetani, H. Karaki, *J. Biol. Chem.*, 269, 29710 (1994)
- 15) S. Matsunaga, N. Fusetani, K. Hashimoto, K. Koseki, M. Noma, *J. Am. Chem. Soc.*, 108, 847 (1986)
- 16) V. A. Klenchin, J. S. Allingham, R. King, J. Tanaka, G. Marriott, I. Rayment, *Nat. Struct. Biol.*, 10, 1058 (2003)
- 17) K. Hirata, S. Muraoka, K. Suenaga, T. Kuroda, K. Kato, H. Tanaka, M. Yamamoto, M. Takata, K. Yamada, H. Kigoshi, *J. Mol. Biol.*, 356, 945 (2006)
- 18) J. S. Allingham, A. Zampella, M. V. D'Auria, I. Rayment, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 14527 (2005)
- 19) (a) P. Liu, J. S. Panek, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 1235 (2000); (b) J. S. Panek, P. Liu, *ibid.*, 122, 11090 (2000)
- 20) W. R. Roush, K. Ando, D. B. Powers, A. D. Palkowitz, R. L. Halterman, *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 6339 (1990)

PROFILE

末永聖武 慶應義塾大学理工学部化学科・助教 博士(理学)

〔経歴〕1995年名古屋大学大学院理学研究科中退, 1995年名古屋大学理学部助手, 1996年名古屋大学大学院理学研究科助手, 2001年静岡県立大学薬学部助手, 2003年筑波大学化学系講師, 2004年筑波大学大学院数理学物質科学研究科講師, 2006年より現職。〔専門〕天然物化学。〔連絡先〕

e-mail:

木越英夫 筑波大学大学院数理学物質科学研究科・教授 理学博士

〔経歴〕1984年名古屋大学大学院理学研究科中退, 1984年名古屋大学理学部助手, 1990-91年米国ハーバード大学博士研究員(E. J. Corey研究室), 1994年名古屋大学理学部助教, 1996年名古屋大学大学院理学研究科助教, 1998年名古屋大学物質科学国際研究センター助教, 2000年筑波大学化学系教授, 2004年より現職。〔専門〕天然物化学, 生物有機化学。〔連絡先〕

e-mail: