

未利用微生物・細胞性粘菌から得られた新規生物活性物質

菊地 晴久

Novel Biologically Active Compounds Isolated from Unexploited Organisms,
Cellular Slime Molds

Haruhisa KIKUCHI

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University,
6-3 Aramaki Aoba, Aoba-ku, Sendai 980-8578, Japan

(Received May 23, 2007)

Cellular slime molds are thought to be excellent model organisms for the study of cell and developmental biology because of their simple pattern of development. However, there have been few reports on secondary metabolites of them. We have focused on the utility of cellular slime molds as novel resources for natural product chemistry, and have studied the diversity of secondary metabolites produced by them as well as their physiological and pharmacological activities. We have recently isolated many novel compounds from the fruiting bodies of various species of *Dictyostelium* cellular slime molds. Total syntheses and biological evaluation of these compounds have been carried out. It was shown that dictyopyrones and dictyomedins may regulate *Dictyostelium* development. Amino sugar derivatives such as furanodictines and dictyoglucosamines induced neuronal differentiation of rat PC-12 cells. In addition, brefelamide inhibited the cellular proliferation of 1321N1 human astrocytoma cells. These results show that cellular slime molds are promising sources in natural product chemistry.

Key words—cellular slime molds; unexploited organisms; secondary metabolites; *Dictyostelium*

1. 細胞性粘菌とは

天然物化学は、新規な母核構造と魅力ある生物活性を有した多種多様な化合物を生命科学の様々な分野に対して提供するという重要な役割を担っている。その中でも、これまでに数多くの天然化合物が医薬品の開発に利用されるなど、創薬における役割は非常に大きい。

天然物化学に用いられる生物資源の中でも微生物は有用な化合物を産生する生物群の1つである。特に放線菌類や子囊菌・担子菌・不完全菌などの真菌からは、抗生物質を始めとする数多くの生物活性物質の産生が報告されている。しかし、今後も継続的に新規生物活性物質を見出していくためには、これまでに利用されることがなかった微生物資源の開拓が必要である。筆者らは、そのような未利用微生物

として細胞性粘菌という生物種に着目した。

細胞性粘菌は広く土壌表層に分布している原生生物の1種であり、その特徴としては特殊な生活環が挙げられる (Fig. 1)。まず、胞子から発芽すると単細胞の粘菌アメーバとなり、大腸菌などの細菌を餌として捕食しながら分裂によって増殖する動物的な性質を示す。しかし、周囲に餌がなくなり飢餓状態に陥ると、約10万個の細胞が集合して多細胞の集合体を形成する。そして、予定胞子細胞と予定柄細胞という2種の細胞に分化して移動体となり、最終的に飢餓状態になってから約24時間で植物的な性質を持った子実体を形成する。このように細胞性粘菌は、その短い周期の生活環の中に、動物的と植物的、単細胞と多細胞といった大きく異なる性質を併せ持つとともに、細胞運動、細胞質分裂、分化など多細胞生物の発生系を構成する主要過程を含んでいる。また、特定の遺伝子を欠損あるいは過剰発現させることによってその機能を解析し易いことなどから、細胞性粘菌は細胞運動や発生研究の優れたモデル生物として用いられている。¹⁻³⁾

東北大学大学院薬学研究科 (〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3)

e-mail: hal@mail.pharm.tohoku.ac.jp

本総説は、平成18年度日本薬学会東北支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

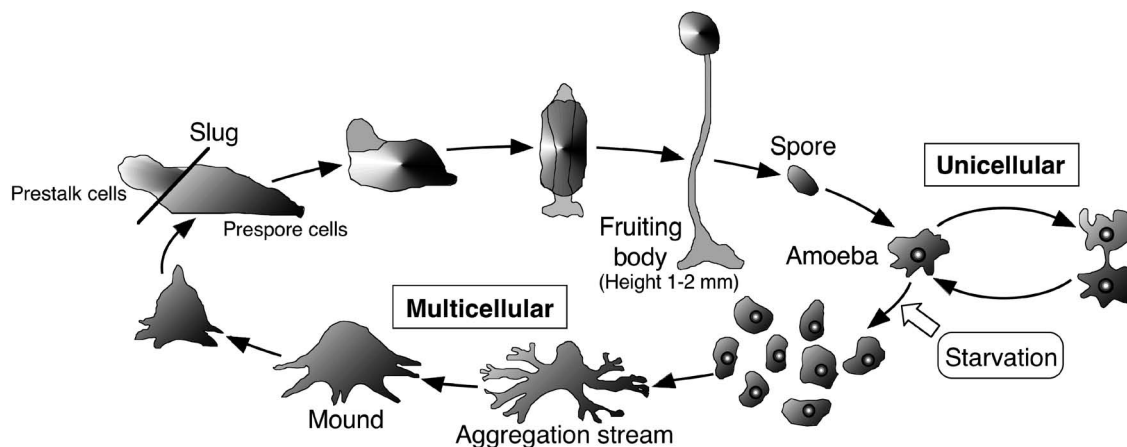


Fig. 1. Life Cycle of Cellular Slime Mold, *Dictyostelium discoideum*

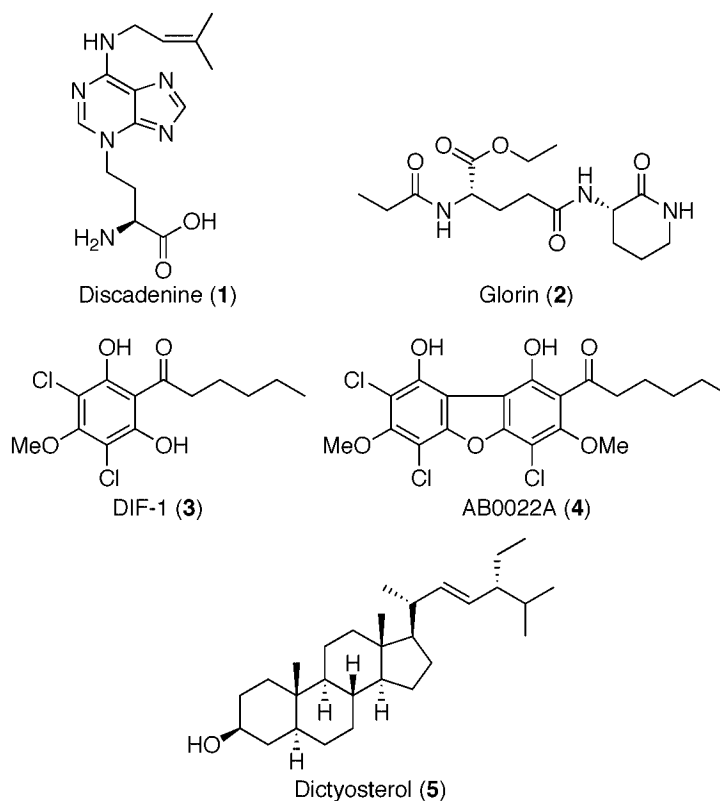


Fig. 2. Known Compounds Isolated from Cellular Slime Molds

一方、細胞性粘菌が産生する低分子有機化合物としては、主に生活環の制御に用いられている化合物がわずかに知られているに過ぎない (Fig. 2). 例えば、discadenine (1) は、胞子塊中で胞子の発芽を抑制する物質として細胞性粘菌の 1 種 *Dictyostelium discoideum* より単離された.⁴⁾ Glorin (2) は *Polysphondylium violaceum* が飢餓状態に陥ったときに単細胞の粘菌アメーバを集合させる走化性物質

である.⁵⁾ また、*D. discoideum* の移動体においてこれまで単一の集団であった細胞が分化する際に、cAMP の存在下で予定柄細胞への分化を誘導する因子として DIF-1 (3) が単離されている.^{6,7)} さらに、*D. purpureum* からは 3 が 2 量化して生合成されたと考えられる AB0022A (4) が抗菌物質として単離されている.⁸⁾ 一方、dictyosterol (5) は細胞性粘菌の細胞膜を構成するステロールであり、動物・

植物・菌類といった他の生物における代表的なステロール (cholesterol, ergosterol, β -sitosterol など) とは異なる構造を有している.^{9,10)} なお, dictyosterol (5) とその誘導体にはラット視床下部由来初代培養神経細胞に対する強い神経突起伸張作用が報告されている.¹⁰⁾

細胞性粘菌は生物の分類学上, 独立したタマホコリカビ門 (Dictyosteliomycota) を形成しており, 天然物化学において従来よく利用されている生物種とは大きく異なっているため, 様々な新規化合物を産生していることが十分に期待できる. しかしながら, これまで天然物化学における研究対象とされたことはなかった. そこで, 筆者らは細胞性粘菌を新たな生物資源として活用することを目的として, 大量培養によって得られた子実体に含まれる化合物の探索, 及びそれに関連する化学的研究を展開した. 本総説ではこれまでの研究成果について, いくつかの具体的な例を交えながら紹介する.

2. Dictyopyrone 類

D. discoideum を始めとした数種の細胞性粘菌の子実体から新規 α -pyrone 型化合物 dictyopyrone A-D (6-9)¹¹⁻¹⁴⁾ 及び dihydrodictyopyrone A (10), C (11)¹⁵⁾ をそれぞれ単離し, 構造決定を行った (Fig. 3). なお, これらの化合物の絶対配置は, (2*S*,4*S*)-2,4-pentanediol をキラル源として得られる β -ケトエステルに対して, 酸化及び環化を行うことで, 6-9 をそれぞれ合成することにより決定した (Scheme 1). Dictyopyrone 類のように α -pyrone 環の 4 位がメチル化された化合物が天然から見出された例はほとんどなく, その生合成にも興味を持たれる. ところで dictyopyrone 類は, われわれがこれまでに成分探索を行った十数種の *Dictyostelium* 属

細胞性粘菌のうちほぼ半数に当たる 6 種から共通して単離されており, これらの化合物が細胞性粘菌の生活環を制御する上でなんらかの役割を担っていることが推測された. そこで, 細胞性粘菌 *D. discoideum* の生活環に対する dictyopyrone C (8) の作用について検討した. その結果, 8 は栄養条件下における単細胞の粘菌アメーバに対して増殖抑制作用を 15 μ M で示した. また, 飢餓後の細胞が集合体を形成する過程 (形態形成過程) に対して 3 μ M で促進作用を示すことが明らかとなった.¹²⁾

このような生物活性の発現に必要な構造部位を明らかにするため, 様々な誘導体を合成し, 構造活性相関について検討した.¹³⁾ Scheme 1 に示した合成経路を利用し, 原料となるカルボン酸及び 1,3-ジオールを変化させることによって, α -pyrone 環上の置換基や側鎖エステルのアルキル基の長さ・形状を変化させた化合物をそれぞれ合成した. これらの誘導体について *D. discoideum* に対する活性を検討した結果, α -pyrone 環に結合したアシル基の炭素数は, 細胞増殖抑制作用の発現には 8-12 個, 形態形成促進作用の発現には 8 個以上必要であることが明らかとなった. また, 6 位のメチル基の立体配置は生物活性に影響を与えないが, 形態形成促進作用の発現には α -pyrone 環とそれに結合するメチル基の数が保持されていることが必要であった. アシル基末端にアミノ基を導入した化合物 12 (Fig. 4) は形態形成促進作用を維持していたことから, 本化合物を蛍光あるいはバイオチンラベル化体へと誘導することにより, dictyopyrone 類の生物活性発現機構のさらなる解明へとつなげていきたいと考えている.

一方, 細胞性粘菌がモデル生物として用いられていることから分かるように, 細胞性粘菌と哺乳類

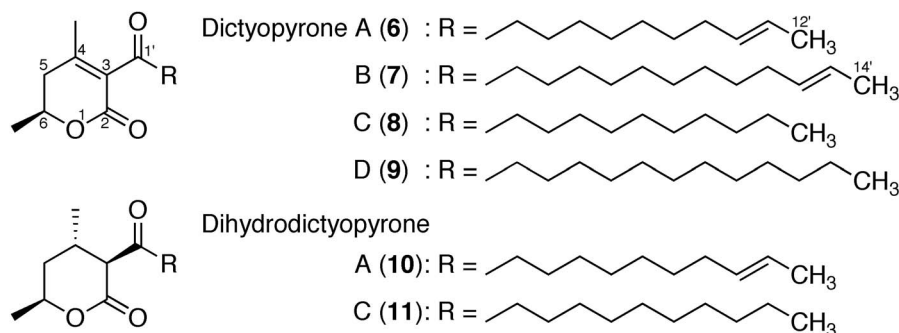
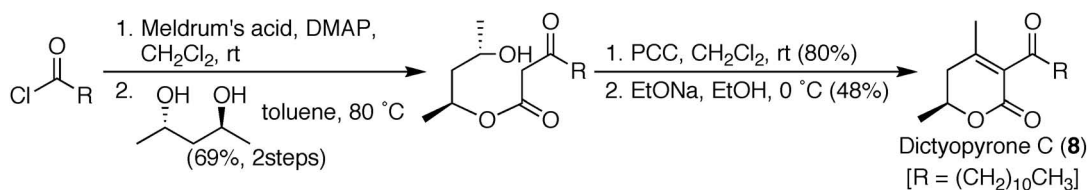
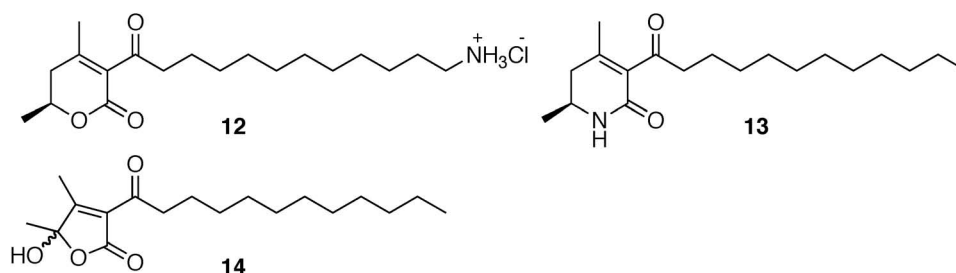


Fig. 3. Structures of Dictyopyrone A-D (6-9), Dihydrodictyopyrone A (10) and C (11)

Scheme 1. Synthesis of Dictyopyrone C (**8**)Fig. 4. Structures of Dictyopyrone Derivatives **12-14**

細胞との間には様々な点で共通性がみられる。この点に着目して、これらの dictyopyrone 誘導体についてヒト白血病 K562 細胞に対する増殖抑制作用を検討した。その結果、ラクタム構造を有した **13** (IC_{50} 25 μM) やフラン環を有した **14** (IC_{50} 3 μM) など大部分の化合物が活性を示した。¹³⁾

ところで dictyopyrone 類は、細胞分化誘導因子 DIF-1 (**3**) と相互作用することも明らかとなった。¹⁴⁾ すなわち極めて低濃度 (0.2 nM) の DIF-1 (**3**) 存在下に dictyopyrone A (**6**) 5 μM を添加して、*D. discoideum* の細胞を培養すると、予定柄細胞へと分化した細胞の割合は **6** を添加しなかった場合と比較して有意に増加していた。このことは dictyopyrone A (**6**) が DIF-1 (**3**) の柄細胞分化誘導活性を増強する作用を有していることを意味している。

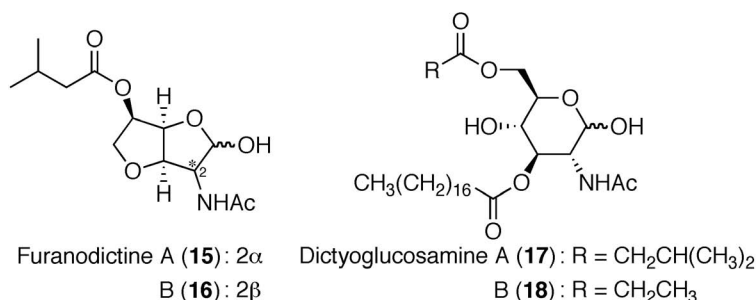
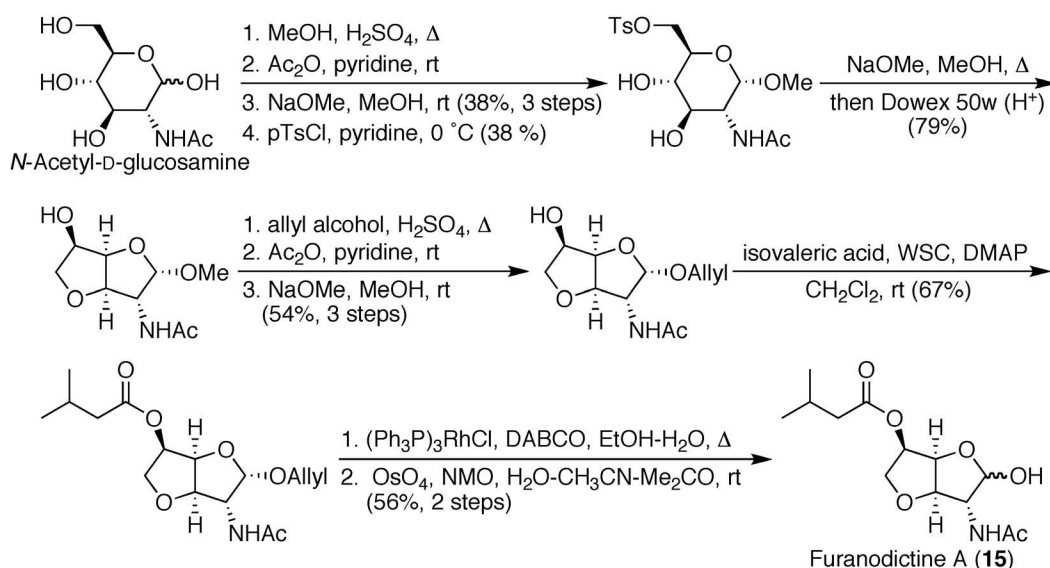
このように、dictyopyrone 類は細胞性粘菌に対して実に多彩な影響を与えることが明らかとなった。今後は、これらの生物活性の作用メカニズムを明らかにすることで、dictyopyrone 類が細胞性粘菌の生活環を調節する上で本質的に必要な分子であるかどうかを検証していく必要があると思われる。

3. 細胞性粘菌より得られたアミノ糖誘導体

細胞性粘菌からはユニークな構造を有したアミノ糖誘導体得られている (Fig. 5)。*D. discoideum* の子実体から新規化合物 furanodictine A (**15**) 及び B (**16**) を単離・構造決定した。¹⁶⁾ これらの化合

物はそれぞれヘミアセタール構造に起因する 2 種類のエピマーの平衡混合物であり、その比はそれぞれ $\alpha : \beta = 7 : 1$ (**15**), $3 : 2$ (**16**) であった。多糖の部分構造として確認された場合を除き、このような 3,6-anhydro 構造を有したアミノ糖誘導体が天然より得られたのは初めてである。また、**15** 及び **16** の絶対配置は全合成により決定した (Scheme 2)。Furanodictine A (**15**) の合成においては、*N*-acetyl-D-glucosamine から 4 工程で得られる 6-*O*-トシラートの分子内 S_N2 反応によって 3, 6 位間のエーテル結合を形成後、陽イオン交換樹脂で処理することでピラノース型からフラノース型への異性化を行った。続いて、アノマー水酸基のアリル基による保護と 5 位水酸基のイソ吉草酸エステル化を行い、最後にアリル基を脱保護することにより **15** を得た。合成品と天然物の比旋光度の符号及び絶対値が一致したことから、**15** の絶対配置は D 系列の糖と同一であると決定した。Furanodictine B (**16**) についても *N*-acetyl-D-mannosamine から Scheme 2 と同様の経路で合成し、合成品と天然物の比旋光度を比較することで絶対配置を決定した。なお、**16** は国内外の 2 つのグループが異なる経路による全合成を報告している。^{17,18)}

D. purpureum 及び *D. discoideum* の子実体から新規化合物 dictyoglucosamine A (**17**) 及び B (**18**) をそれぞれ単離・構造決定した。¹⁹⁾ これらは、*N*-

Fig. 5. Amino Sugar Analogs Isolated from *Dictyostelium* Cellular Slime MoldsScheme 2. Synthesis of Furanodictine A (**15**)

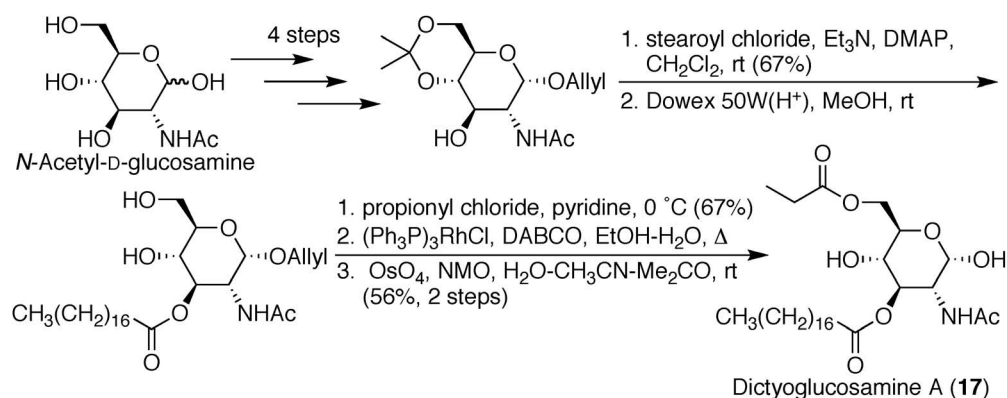
acetyl-D-glucosamine の 3 位の水酸基がステアリン酸エステル化, 6 位の水酸基がプロピオン酸あるいはイソ吉草酸エステル化された比較的単純な構成要素からなる化合物であるにも係わらず, これまでにこのような天然化合物はほとんど報告されていない. なお, これらの化合物についても *N*-acetyl-D-glucosamine から比較的短工程で合成することができた (Scheme 3).

以上 4 種のアミノ糖誘導体について様々な生物活性試験を行ったところ, いずれの化合物も, 神経分化のモデル細胞として広く用いられているラット PC-12 細胞に対して分化誘導作用を示すことが明らかとなった. 特に dictyoglucosamine A (**17**) 及び B (**18**) はともに 1 μ M 以上で濃度依存的に, PC-12 細胞における神経突起の伸張をもたらした.¹⁹⁾ このような活性を有した化合物は生体内で NGF などの神経栄養因子に類似した作用を示す可能性があり,

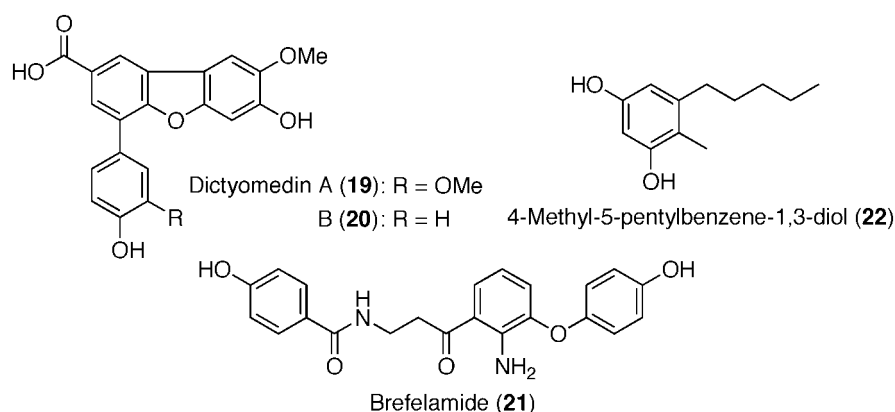
痴呆症などの神経変性疾患に対する治療薬のリード化合物になり得ると考えられる.

4. 細胞性粘菌より得られた芳香族化合物

細胞性粘菌から種々の芳香族化合物が単離されている (Fig. 6). *D. medium* の子実体から新規化合物 dictyomedin A (**19**) 及び B (**20**) を単離・構造決定した.²⁰⁾ ジベンゾフラン環に 1 個のベンゼン環が結合した骨格を有する天然化合物は数多く知られているが,^{21,22)} いずれも *p*-terphenyl 型の化合物から合成されたと推測され, ジベンゾフラン環の 3 位にベンゼン環が結合している. これに対して **19** 及び **20** はジベンゾフラン環の 4 位にベンゼン環が結合しているというほかにはみられない構造を有した化合物であり, その生合成にも興味を持たれる. これらの化合物による細胞性粘菌 *D. discoideum* の生活環に対する影響を検討したところ, 飢餓後の細胞が集合体を形成する過程 (形態形成過程) に対し



Scheme 3. Synthesis of Dictyoglucosamine A (17)

Fig. 6. Aromatic Compounds Isolated from *Dictyostelium* Cellular Slime Molds

て 3–30 μM で阻害作用を示した。なお、最近 dictyomedin A (19) は根東らによって全合成が達成されている。²³⁾

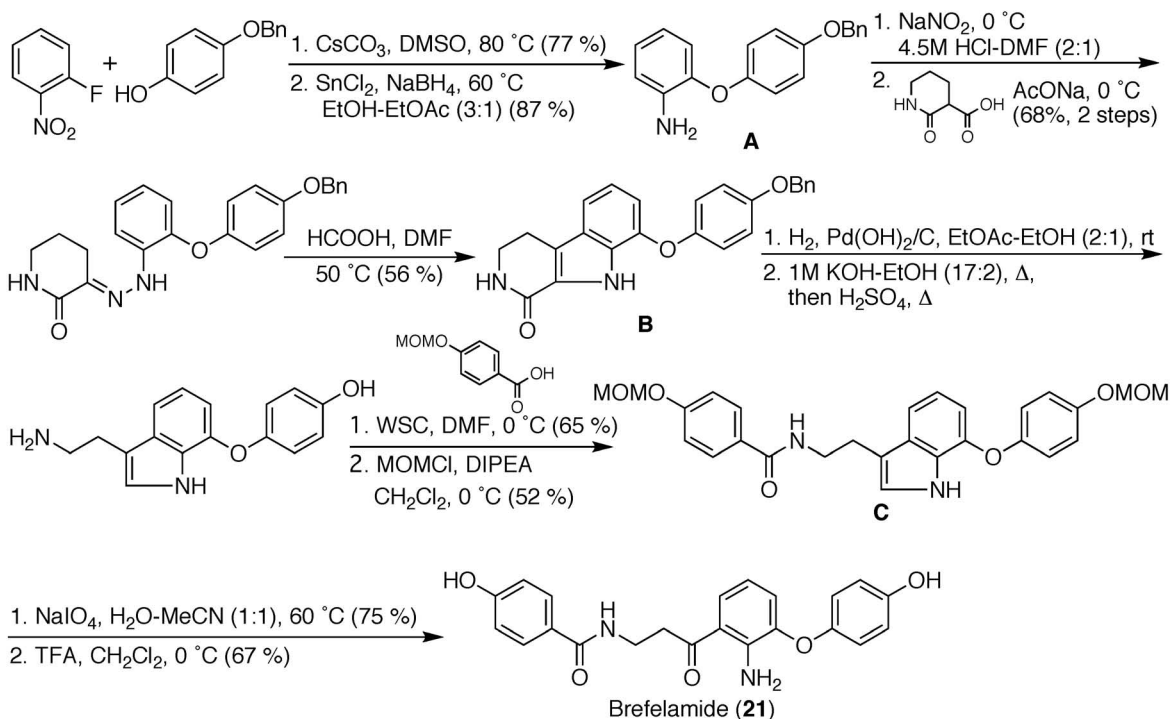
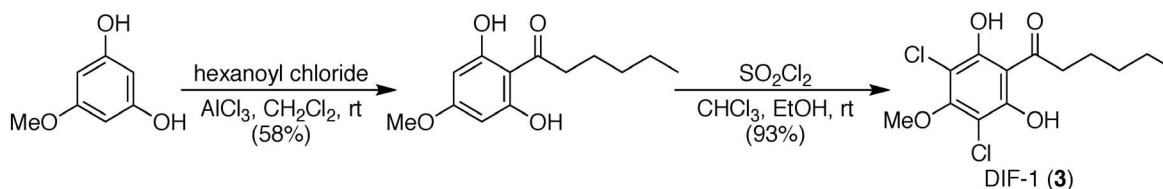
続いて、*D. brefeldianum* 及び *D. giganteum* の子実体から新規化合物 brefelamide (21) を単離・構造決定し、その全合成を行った (Scheme 4)。²⁴⁾ まず、2-fluoronitrobenzene と 4-(benzyloxy)phenol を原料として得られるジフェニルエーテル誘導体 **A** から改良 Abramovitch-Shapiro トリプタミン合成²⁵⁾ を用いて tetrahydro- β -carboline **B** を得た。さらに脱炭酸と 4-(methoxymethoxy) benzoic acid とのカップリングを経て **C** とし、最後にインドール環の酸化的開裂と保護基の脱保護を行い、brefelamide (21) の合成を達成した。合成して得られた 21 を用いて種々の生物活性試験を行ったところ、ヒトアストロサイトーマ 1321N1 細胞に対する増殖抑制活性 (IC_{50} 10 μM) を有することが明らかとなった。本化合物中の 2-amino-3-hydroxy- β -aminopropiophe-

none 構造はトリプトファン代謝物由来であると考えられる。Brefelamide (21) と類似の構造を有した天然化合物は海綿由来の erebusinone²⁶⁾ 以外は知られておらず、非常に珍しいタイプの化合物であるといえる。

D. mucoroides の子実体から 4-methyl-5-pentylbenzene-1,3-diol (22) を単離・構造決定した。²⁷⁾ この化合物はヒト白血病 K562 細胞及び HL60 細胞に対して増殖抑制作用を示すと同時に、細胞性粘菌 *D. discoideum* の細胞に対して弱い柄細胞分化誘導作用を示した。なお、われわれの本化合物の発見とほぼ同時期に、Kay らのグループによって *D. discoideum* の子実体より 22 の単離・同定及び合成が報告されている。²⁸⁾

5. 細胞性粘菌の細胞分化誘導因子 DIF-1 及びその誘導体の合成

前述のように DIF-1 (3) は Kay らのグループによって細胞性粘菌 *D. discoideum* から単離された細

Scheme 4. Synthesis of Brefelamide (**21**)Scheme 5. Synthesis of DIF-1 (**3**)

胞分化誘導因子であり,⁶⁾ 塩素原子 2 個を含む 6 置換ベンゼン構造というユニークな構造を有した化合物である (Fig. 1). 細胞性粘菌の生活環において, 単一の細胞集団である集合体は, 2 種類の細胞 (予定柄細胞・予定孢子細胞) によって構成される移動体へと移行する. DIF-1 (**3**) は, この過程において予定柄細胞への分化に必要な因子として同定されているが, その作用メカニズムはいまだ明らかになっていない. 一方, **3** は細胞性粘菌に対してだけでなく, 哺乳類の腫瘍細胞に対しても再分化誘導作用²⁹⁾ や増殖抑制作用³⁰⁻³²⁾ を示すことが明らかとなっている.

そこで, これらの生物活性の発現に必要な構造部位を明らかにするため, DIF-1 (**3**) 及びその誘導体の合成を行った.³³⁾ DIF-1 (**3**) は Scheme 5 に示した合成経路によって容易に大量合成が可能である.

また, 本経路を応用することで構造中のアシル基・アルコキシル基や塩素原子を改変した多くの誘導体を合成し, 細胞性粘菌に対する柄細胞分化誘導作用及びヒト白血病 K562 細胞に対する増殖抑制作用に関する構造活性相関を検討した. その結果, 柄細胞分化誘導作用にはベンゼン環上のメトキシル基と塩素原子 2 個が, 細胞増殖抑制作用にはヘキサノイル基と塩素原子 1 個がそれぞれ必要な構造部位であることが示された. 今後はこれらの知見を生かして, 細胞分化機構解明のための分子プローブの開発や新規抗腫瘍薬のリード化合物としての応用を検討していく予定である.

ところで最近, 共同研究者である群馬大学の久保原らによって DIF-1 (**3**) とその誘導体が, マウス前駆脂肪細胞株 3T3-L1 細胞に対してグルコースの取り込みを促進するという知見が示された.³⁴⁾ この

ことは DIF-1 誘導体が糖尿病治療薬としても展開していくことが可能であることを示唆しており、非常に興味深い。

6. 今後の展望

以上のように未利用微生物である細胞性粘菌は、他の生物にはみられないユニークな構造を有した新規化合物を産生しており、天然物化学における生物資源として非常に優れていることが明らかとなった。今後は様々な生物活性・薬理活性を生かすことで、モデル生物でもある細胞性粘菌を用いたケミカルバイオロジーや、これらの化合物をリード化合物とした創薬へと展開させていきたいと考えている。また、これまでは細胞性粘菌の大部分を占める *Dictyostelium* 属の種を中心に探索研究を行ってきたが、それ以外の 2 属 (*Acytostelium*, *Polysphondylium*) を探索源とすることで、さらなる新規化合物の発見につながるのではないかとと思われる。

細胞性粘菌の探索研究を行う際に問題となるのは、大量培養の困難さである。これまでに細胞性粘菌が未利用微生物であったのもこのことが主な要因であると推測される。実際に、筆者らが探索研究を行った際にも、直径 15 cm のシャーレ 1000–3000 枚を用いて培養し、子実体 100–300 g (湿重量) を得たものの、単離した新規化合物はいずれもごく微量 (0.5–5 mg 程度) であった。細胞性粘菌の探索研究においては、微量化合物の取扱いと構造決定のためのさらなる技術の発展が必要不可欠であるといえよう。

最近では、創薬を始めとする様々な分野において、コンビナトリアルケミストリーとハイスループットスクリーニングを組み合わせることで、大量のサンプルを迅速に処理する形での生物活性物質の探索が広く行われている。その反面、天然物からの探索研究は効率が悪いという理由で敬遠される傾向があるように思われる。しかし、われわれ人間が考え出し得ない新規な構造・生物活性を有した化合物を見出すことができるのが、他の手法では得ることができない天然物化学の利点であり、魅力でもある。これからも、細胞性粘菌のようにいまだに利用されていないまま残されている様々な生物資源に着目することで、天然物化学の魅力をアピールすることができるような研究をしていきたいと考えている。

謝辞 本研究は、東北大学大学院薬学研究科医薬資源化学分野にて行ったものであり、御懇篤な御指導、御鞭撻を賜りました大島吉輝教授に謹んで御礼申し上げます。細胞性粘菌を用いた研究に導いて下さり、培養方法など実験全般に関して御助言と御協力を賜りました東北大学生命科学研究科 前田靖男名誉教授、両貝愛子博士に厚く御礼申し上げます。化合物の生物活性評価に関して多大なるお力添えをいただきました群馬大学生体調節研究所 久保原 禅准教授、群馬大学医学部 保坂公平教授、東北大学大学院薬学研究科 中畑則道教授に心から御礼申し上げます。細胞性粘菌の貴重な試料を御提供いただきました伊藤 明博士を始めとする杏林製薬株式会社の方々に深く感謝いたします。また、東北大学大学院薬学研究科医薬資源化学分野の学生諸氏を始め多くの共同研究者の方々に深く感謝いたします。

REFERENCES

- 1) “*Dictyostelium* A Model System for Cell and Developmental Biology, Frontiers Science Series No. 21,” eds. by Maeda Y., Inoue K., Takeuchi I., Universal Academy Press, Inc., Tokyo, 1997.
- 2) “*Moderu Seibutsu: Saibousei Nenkin*,” ed. by Maeda Y., Industrial Publishing & Consulting, Inc., Tokyo, 2000.
- 3) Maeda Y., “*Pawahuru Nenkin*,” Tohoku University Press, Sendai, 2006.
- 4) Abe H., Uchiyama M., Tanaka Y., Saito H., *Tetrahedron Lett.*, **17**, 3807–3810 (1976).
- 5) Shimomura O., Suthers H. L. B., Bonner J. T., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **79**, 7376–7379 (1982).
- 6) Morris H. R., Taylor G. W., Masento M. S., Jermyn K. A., Kay R. R., *Nature*, **328**, 811–814 (1987).
- 7) Morris H. R., Masento M. S., Taylor G. W., Jermyn K. A., Kay R. R., *Biochem. J.*, **249**, 903–906 (1988).
- 8) Sawada T., Aono M., Asakawa S., Ito A., Awano K., *J. Antibiot.*, **53**, 959–966 (2000).
- 9) Nes W. D., Norton R. A., Grumley F. G., Madigan S. J., Katz E. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **87**, 7565–7569 (1990).
- 10) Tachibana Y., *Yakugaku Zasshi*, **126**, 1139–1154 (2006).

- 11) Takaya Y., Kikuchi H., Terui Y., Komiya J., Furukawa K., Seya K., Motomura S., Ito A., Oshima Y., *J. Org. Chem.*, **65**, 985–989 (2000).
- 12) Maeda Y., Kikuchi H., Sasaki K., Amagai A., Sekiya J., Takaya Y., Oshima Y., *Protoplasma*, **221**, 185–192 (2003).
- 13) Kikuchi H., Sasaki K., Sekiya J., Maeda Y., Amagai A., Kubohara Y., Oshima Y., *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 3203–3214 (2004).
- 14) Arai A., Goto Y., Hasegawa A., Hosaka K., Kikuchi H., Oshima Y., Tanaka S., Kubohara Y., *Differentiation*, **73**, 377–384 (2005).
- 15) Kikuchi H., Nakamura K., Kubohara Y., Gokan N., Hosaka K., Maeda Y., Oshima Y., *Tetrahedron Lett.*, **48**, 5905–5909 (2007).
- 16) Kikuchi H., Saito Y., Komiya J., Takaya Y., Honma S., Nakahata N., Ito A., Oshima Y., *J. Org. Chem.*, **66**, 6982–6987 (2001).
- 17) Matsuura D., Nojiri T., Suzuki Y., Takabe K., Yoda H., *Synlett*, 287–288 (2005).
- 18) Mereyala H. B., Baseeruddin M., Koduru S. R., *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 3457–3460 (2004).
- 19) Kikuchi H., Komiya J., Saito Y., Sekiya J., Honma S., Nakahata N., Oshima Y., *Tetrahedron Lett.*, **43**, 1477–1480 (2002).
- 20) Takaya Y., Kikuchi H., Terui Y., Komiya J., Maeda Y., Ito A., Oshima Y., *Tetrahedron Lett.*, **42**, 61–63 (2001).
- 21) Kobayashi A., Takemura A., Koshimizu K., Nagano H., Kawazu K., *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 585–589 (1982).
- 22) Kaniwa K., Ohtsuki T., Yamamoto Y., Ishibashi M., *Tetrahedron Lett.*, **47**, 1505–1508 (2006).
- 23) Ebisawa M., Ueno M., Kondo Y., Abstracts of papers, the 32nd Symposium on Progress in Organic Reactions and Syntheses, Hiroshima, 2006, p. 84.
- 24) Kikuchi H., Saito Y., Sekiya J., Okano Y., Saito M., Nakahata N., Kubohara Y., Oshima Y., *J. Org. Chem.*, **70**, 8854–8858 (2005).
- 25) Sóti F., Incze M., Kardos-Balogh Z., Kajtár-Peredy M., Szántay C., *Synth. Commun.*, **23**, 1689–1698 (1993).
- 26) Moon B., Park Y. C., McClintock J. B., Baker B. J., *Tetrahedron*, **56**, 9057–9062 (2000).
- 27) Kikuchi H., Oshima Y., Ichimura A., Gokan N., Hasegawa A., Hosaka K., Kubohara Y., *Life Sci.*, **80**, 160–165 (2006).
- 28) Saito T., Taylor G. W., Yang J., Neuhaus D., Stetsenko D., Kato A., Kay R. R., *Biochim. Biophys. Acta*, **1760**, 754–761 (2006).
- 29) Asahi K., Sakurai A., Takahashi N., Kubohara Y., Okamoto K., Tanaka Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **208**, 1036–1039 (1995).
- 30) Kubohara Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **236**, 418–422 (1997).
- 31) Kubohara Y., Kimura C., Tatemoto K., *Dev. Growth Differ.*, **37**, 711–716 (1995).
- 32) Kubohara Y., Saito Y., Tatemoto K., *FEBS Lett.*, **359**, 119–122 (1995).
- 33) Gokan N., Kikuchi H., Nakamura K., Oshima Y., Hosaka K., Kubohara Y., *Biochem. Pharmacol.*, **70**, 676–685 (2005).
- 34) Omata W., Shibata H., Nagasawa M., Kojima I., Kikuchi H., Oshima Y., Hosaka K., Kubohara Y., *FEBS J.*, **274**, 3392–3404 (2007).